

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aylin TAMAM

**BAZI AVOKADO (*Persea americana Mill.*) ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK
VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK VE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Aylin TAMAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 02/12/2008 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından **Oybirliği/**
Oyçokluğu ile Kabul edilmiştir.

İmza.....

Doç.Dr. Yıldız
AKA KAÇAR
DANIŞMAN

İmza.....

Prof. Dr.Turgut
YEŞİLOĞLU
II. DANIŞMAN

İmza.....

Prof. Dr. Selim
ÇETİNET
ÜYE

İmza.....

Doç. Dr. Yeşim
Y. MENDİ
ÜYE

İmza.....

Yard. Doç. Dr. Bilge
YILDIRIM
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr.Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No:ZF2008yl33

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK
VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Aylin TAMAM
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç.Dr. Yıldız AKA KAÇAR
İkinci Danışman : Prof. Dr.Turgut YEŞİLOĞLU
Yıl : 2008, **Sayfa :** 116
Jüri : Doç. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr.Turgut YEŞİLOĞLU
: Prof. Dr. Selim ÇETİNER
: Doç. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Yard. Doç. Dr. Bilge YILDIRIM

Avokadonun iki ırkını temsil eden 13 çeşit ile Meksika Guatemala melezi olan 7 çeşit SRAP ve RAPD markırları ile analiz edilmiştir. On sekiz RAPD primerinden 116 bant; 21 SRAP primerinden 122 bant elde edilmiştir. RAPD ve SRAP analizlerinde Jacard'ın benzerlik matriksi kullanılmış ve UPGMA analizi ile dendogram oluşturulmuştur. RAPD'ın genotipler arasındaki benzerlik derecesi %46 ile %86 iken SRAP da bu değerler %49 ile %90 olarak hesaplanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar avokado genotiplerinin karakterizasyonunda SRAP ve RAPD markırlarının kullanılabileceğini göstermiştir. Yirmi avokado çeşidine ait ağaç gücü, ağaç boyu, ağacın tacı, şekli, yaprak boyu, sürgün rengi, yaprak şekli gibi ağaç ve yaprak özellikleri IPGRI standartları baz alınarak incelenmiştir. Tüm morfolojik karakterler SAS bilgisayar programında analiz edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Persea americana*, Avokado, Genetik ilişkiler, RAPD, SRAP

ABSTRACT

MSc. THESIS

MORPHOLOGICAL and MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME AVOCADO CULTIVARS

Aylin TAMAM

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor : Assoc. Prof. Yıldız AKA KAÇAR
Second Supervisor : Prof. Dr.Turgut YEŞİLOĞLU
Year : 2008, **Pages:** 116
Jury : Assoc. Prof Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr.Turgut YEŞİLOĞLU
: Prof. Dr. Selim ÇETİNER
: Assoc. Prof. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Asist. Prof. Dr. Bilge YILDIRIM

The analyses of RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) and SRAP (Sequence Related Amplified Polimorphism) marker were carried out on 13 cultivars representing the two ecological races of avocado (*Persea americana* Mill.) and 7 cultivars of Mexican and Guatemalan hybrids. Eighteen RAPD primers produced 116 DNA fragments in RAPD assay at the avocado cultivars. Twenty one SRAP primer combination produced 122 bands. A jacard's similarity coefficient matrix was generated and a dendrogram was constructed using UPGMA (Unweighted Pair-Group Metod of Aritmetic Averages) cluster analysis for RAPD and SRAP analysis. Average similarity between genotypes ranged from %46 to %86 with RAPD marker and ranged from %49 to %90 with SRAP marker. The results obtained indicate that the SRAP and RAPD markes used are highly informative and are discussed in term of their implications for avocado germplasm characterization. Tree and leaf characteristics such as tree vigor, tree length, canopy of tree, tree shape, leaf length, color of shoots, leaf shape etc. are evaluated by using IPGRI standarts for twenty avocado cultivars. All quantitative morphological characters analysed by using SAS program.

Key words: *Persea americana*, avocado, , RAPD, SRAP, Genetic relationship

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bana bir abla gibi değerli öğütler veren, desteğini ve bilgisini benden esirgemeyen çok değerli danışman hocam **Doç.Dr. Yıldız Aka KAÇAR** 'a; örnek temini ve teşhisinde yardımcı olan, ikinci danışman hocam **Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU**'na çok teşekkür ederim

Tez çalışmam süresince benden bilgi ve kaynaklarını esirgemeyen sayın hocam **Yard. Doç. Dr. Bilge YILDIRIM**'a teşekkür ederim

İstatistiksel analizleri yaparken değerli yardımlarını gördüğüm sayın hocam **Doç.Dr. Sedat SERÇE**'ye teşekkür ederim

Desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli laboratuvar arkadaşlarım **Arş. Gör. Muharrem YILMAZ, Arş. Gör. İlknur SOLMAZ** ve özellikle **Biyolog Özhan ŞİMŞEK**'e çok teşekkür ederim.

Arazi çalışmalarımda beni yalnız bırakmayan değerli arkadaşlarım **Biyolog Fırat YEN, Ziraat Mühendisi Tahsin AYDIN**'a çok teşekkür ederim.

Her zaman maddi ve manevi desteklerini gördüğüm biricik annem **Vehibe Tamam** ve abim **Doktor Ali Tamam**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bana her durumda destek olan değerli nişanlım **Bilgiç BİNİCİ**'ye...

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGE VE KISALTMALAR.....	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Avokado'nun Dünya ve Türkiye'deki Yetiştiriciliği.....	2
1.2 Avokado'nun Sistematigi.....	5
1.3. Avokadonun Morfolojik Özellikleri.....	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. DNA Dizisinin Belirlenmesi.....	13
2.1.1. Bitkisel Materyalin Sağlanması ve DNA izolasyonu.....	14
2.1.2. DNA'nın analizi.....	16
2.1.2.1. Spektral Yöntemler.....	16
2.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	17
2.1.4. PCR (Polmerase Chain Reaction=Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	17
2.1.5 Markır Tipleri.....	20
2.1.5.1. Morfolojik Markırlar.....	20
2.1.5.2 Biyokimyasal Markırlar.....	20
2.1.5.3. DNA Markırları.....	21
2.2. Avokado'da Yapılan Morfolojik Çalışmalar.....	27
2.3. Avokado'da Yapılan Moleküler Çalışmalar.....	29
3. MATERYAL VE METOD.....	34
3.1. Bitkisel Materyal.....	34
3.2. Metod.....	40
3.2.1. Moleküler Karakterizasyon.....	40

3.2.1.1. DNA İzolasyonu.....	40
3.2.1.2. RAPD Analizleri.....	43
3.2.1.3. SRAP Analizleri.....	47
3.2.2. Morfolojik Karakterizasyon.....	49
3.2.2.1. Ağaç Özellikleri.....	49
3.2.2.2. Yaprak Özellikleri.....	50
3.2.2.3 Çiçek Özellikleri.....	52
3. 3. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	52
3. 3.1. DNA Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi.....	52
3. 3.2. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi.....	52
3. 3.3. Benzerlik İndeksleri ve Dendogramların Oluşturulması.....	53
3.3.4. Morfolojik Verilerin Analizi.....	53
3.3.5. Principle Coordinate Analizi.....	53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	55
4.1. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	55
4.1.1 Moleküler Çalışmalar.....	55
4.1.1.1. RAPD Analizi Sonuçları.....	55
4.1.1.1.(1). RAPD Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendogramın Değerlendirilmesi.....	64
4.1.1.2 SRAP Analizi Sonuçları.....	68
4.1.1.2.(1). SRAP Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendogramın Değerlendirilmesi.....	79
4.1.1.3. SRAP ve RAPD Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendogramın Değerlendirilmesi.....	83
4.1.1.4. Principle Coordinate Analizi Sonuçları.....	86
4.1.2 Morfolojik Çalışmalar.....	92
4.1.2.1. Ağaçlar Üzerinde Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler.....	92

4.1.2.2. Yapraklarda Yapılan Gözlem ve Ölçümlere	
Ait Veriler.....	96
4.2. TARTIŞMA.....	100
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	105
KAYNAKLAR.....	108
ÖZGEÇMİŞ.....	116

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.. Dünyadaki önemli Avokado Üreticisi Ülkeler, Üretim Değerleri, Üretim Alanları.....	3
Çizelge 1.2. Türkiye'nin 1987-2005 Yılları Arasındaki Toplam Üretim Alanı ve Üretim Miktarı.....	4
Çizelge 1.3. Avokadonun Üç Irkının Özellikleri.....	9
Çizelge 3.1. Tez Kapsamında Kullanılan Avokado Çeşitleri.....	39
Çizelge 3.1. RAPD Primer Dizinleri.....	44
Çizelge 3.2. SRAP Analiz Aşamasında Kullanılan Forward Primerleri.....	47
Çizelge 3.3. SRAP Analiz Aşamasında Kullanılan Reverse Primerleri.....	47
Çizelge 4.1. Avokado Çeşitlerinde Kullanılan 18 RAPD Primerinin İstatistiksel Verileri.....	61
Çizelge 4.2 Avokado Çeşitlerinde Kullanılan 21 SRAP Primerinin İstatistiksel Verileri.....	75
Çizelge 4.3 Yirmi Avokado Çeşidine Ait Ağaç Özellikleri.....	94
Çizelge 4.4 Yirmi Avokado Çeşidine Ait Yapraklarda Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler.....	98

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. DNA'nın Analiz Aşamaları.....	14
Şekil 2.2. PCR Reaksiyonu ve Aşamaları.....	20
Şekil 3.1. Füerte Çeşidini.....	34
Şekil 3.2. Zutano Çeşidi.....	35
Şekil 3.3. Bacon Çeşidi.....	35
Şekil 3.4. Hass Çeşidi.....	36
Şekil 3.5. Ettinger Çeşidi.....	36
Şekil 3.6. Würtz Çeşidi.....	36
Şekil 3.7. DNA İzolasyon Aşamaları.....	42
Şekil 3.8. PCR Aşamaları.....	45
Şekil 3.9 Agaroz Jel Aşamaları.....	46
Şekil 4.1 UBC-15 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	62
Şekil 4.2. UBC-41 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	62
Şekil 4.3 UBC-48 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	63
Şekil 4.4 S-270 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	63
Şekil 4.5. 20 avokado Genotipine RAPD Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Dendogram.....	66
Şekil 4.6. 20 avokado genotipine RAPD Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksi.....	67
Şekil 4.7. 21 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	76
Şekil 4.8. 22 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	76
Şekil 4.9. 26 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	77

Şekil 4.10. 31 no’lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	77
Şekil 4.11. 44 no’lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	78
Şekil 4.12. 56 no’lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri.....	78
Şekil 4.13. 20 Avokado Genotipine SRAP Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Dendogram.....	81
Şekil 4.14. 20 Avokado Genotipine RAPD Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksi.....	82
Şekil 4.15. 20 Avokado Genotipine SRAP ve RAPD Tekniklerinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Dendogram.....	84
Şekil 4.16. 20 Avokado Genotipine SRAP ve RAPD Tekniklerinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksi.....	85
Şekil 4.17 A, B. RAPD Principle Coordinate Analizi.....	87
Şekil 4.18 C, D. SRAP Principle Coordinate Analizi.....	89
Şekil 4.19. SRAP ve RAPD Principle Coordinate Analizi.....	90
Şekil 4.20 E, F. SRAP ve RAPD’in Jaccard Benzerlik Korelasyonu.....	91
Şekil 4.21. Yirmi Avokado Çeşidine ait Ağaç Resimleri.....	95
Şekil 4.22. Avokado Çeşitlerine ait Yaprak Resimler.....	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

bp : base pair

cDNA : Complementary deoxyribonucleic acid

CTAB: cetyltrimethylammoniumbromide

dATP : deoxy adenosine trifosfat

dCTP : deoxy cytidine trifosfat

dGTP : deoxy guanosine trifosfat

dTTP : deoxy thymine trifosfat

dk : dakika

DNA : Deoxyribonucleic acid

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

gr : Gram

ISSR : inter-simple sequence repeat

kb : kilobaz

mg : miligram

ml : mililitre

mm : milimetre

ng : nanogram

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

RAPD: Randomly Amplified Polymorphic DNA

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

rpm : revolution per minute

SDS : sodiumdodecylsulfate

SSR : Simple Sequence Repeat

Taq : *Thermus aquaticus*

TAE : Tris (acetate) EDTA (buffer)

TBE : Tris (borate) EDTA (buffer)

TBS : Toplam bant sayısı

TE : Tris EDTA (buffer)

Tris : tris (hydroxymethyl) aminomethane

UPGMA: Unweighted pair-group method analysis

μM : mikromolar

μl : mikrolitre

% : Yüzde

1.GİRİŞ

Moleküler markırların hızlı gelişimi biyoteknolojinin hızlı bir şekilde gelişmesine olanak sağlamıştır. Moleküler markır kullanımı bu sürecin ilk basamağını oluşturmaktadır; bu nedenle büyük öneme sahiptir. Rekombinant DNA teknolojisi ile DNA'ya istenilen parçaların eklenmesi ya da çıkarılması gerçekleştirilmiş; bu da yeni ürünlerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. Mendel genetiğine dayanan klasik ıslah çalışmalarının yerine moleküler markırların keşfi ile istenilen özelliklerin yerlerinin tespiti ve bulunan genlerin direkt aktarımı sonucu daha kesin sonuçlar elde edilmiş, klasik ıslahın dezavantajı olan istenmeyen genlerin kalıtımı bu şekilde engellenmiştir.

Avokado çeşitleri üzerine araştırmacılar farklı markır sistemlerini kullanarak çalışmalar yapmışlar, elde ettikleri bulgular ışığında çeşitler arasındaki benzerlikleri saptamışlar ve genetik haritalar oluşturarak ıslah çalışmalarında kullanmışlardır. Avokadonun ilk olarak 10.000 yıl önce Meksika'da yetiştiği ileri sürülmüştür. Avokado (*Persea americana* Miller) meyvelerinin binlerce yıldan beri Güney Amerika'nın belirli bölgelerinde günlük besinin büyük kısmını oluşturduğu bilinmektedir (Snowdon, 1991). Avokadonun, 17.yy'da Karayip adalarında ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. 19.yy'da Amerikanın merkezinde yayılma göstermiştir (Whiley, 1991). Kesin coğrafik kökeni bilinmemesine karşın, tüm çeşitleri Orta Amerika ve Meksika'da yetiştirilmektedir. Avokado kelimesi, Aztek ismi 'ahuacatl'dan gelmektedir. Amerika'nın keşfinden sonra, Avrupalılar Kuzey Meksika'dan Peru'ya kadar olan bölgelerde avokadonun yetiştiğini gözlemlemişlerdir. Bitki büyük olasılıkla Kolombiya'nın Santa Marta bölgesinde yapılan gözlemlere dayanarak, ilk defa 1510 yılında İspanyol coğrafyacı Martin Fernandez de Enrisco tarafından 'Suma de geografia' kitabında tanımlanmıştır. İspanyollar 16. ve 17. yüzyıllarda, avokadoyu Maya ve Aztekler'in yaşadığı alanlardan Venezuela, Batı Hint, Şili, Maderiya ve Kanarya Adalarına taşımıştır. Fransızlar, 18. yüzyılda Reunion, Madagaskar ve Martinique'te de yetiştirmişlerdir. Ayrıca, bitki 18. yüzyılın ilk yarısında Meksika'dan ABD'ye (Havai, Kaliforniya) geçmiştir (Anonim, 2006a). Afrika'ya yayılması ise çok geç olmuştur; 19. yüzyılın

sonlarına doğru Portekizliler, İspanyollar, Almanlar, İngilizler ve Fransızlar tarafından yetiştirilmiştir. Aynı şekilde, Malezya ve Filipinlerde ilk olarak yaklaşık 1900 yıllarda bulunduğu tespit edilmiştir **(Anonim, 2006a)**.

Avokado, kuzey yarı kürede Korsika’da ekvatorundan 43° enlemine, Guatemala ve Ruanda’da Güney yarı kürede de 39° enlemine kadar yetiştirilebildiği gibi deniz seviyesinden 2500 m yüksekliğe kadar olan çok değişik iklim koşullarında da yetiştirilebilmektedir. Fakat iki iklimsel koşul dikkate alınmalıdır. Bunlar: çiçeklenme görevini yerine getirme sürecinde, belirgin kuru bir dönemin olması gerekliliği ve çiçeklenme boyunca en az 19-20°C maksimum sıcaklık ve 7°C’ den daha az olmayan minimum sıcaklığa gereksinim bulunmasıdır. Avokado, yılda 2.300-2.500 saat güneş ışığına ihtiyaç duymaktadır. Yılda 2.000 saatten fazla güneş ışığı alan bölgeler, avokado üretimi için oldukça uygundur. Genel olarak, sıcaklık yükseldiğinde gelişim ve üretim dönemi kısalmaktadır. Optimum sıcaklık, sıcak aylar boyunca ortalama 25°C ve soğuk aylar boyunca ise 15°C olmalıdır **(Anonim, 2006a)**.

Avokado semitropik iklim bitkisi olmakla beraber, subtropik iklim meyvelerinin güvenle yetiştirildiği bölgelerde de yetiştirilmektedir. En önemli sınırlayıcı faktör düşük sıcaklıktır.

1.1. Avokado’nun Dünya ve Türkiye’deki Yetiştiriciliği

Avokado yaklaşık 50 ülkede yetiştirilen ve dünyadaki 60 önemli subtropik üründen biridir **(Ploetz, 1994)**. Yetiştiricilik alanları ve dünya üretiminin diğer bir çok meyve türünün çok altında olmasına karşın, avokado yüksek besin değeri ve kendine özgü tadı nedeniyle dünya tüketici pazarlarında çok iyi fiyatlarla alıcı bulan bir meyve türüdür. Dünya’da avokado üretimi Meksika, Brezilya, ABD, İspanya, İsrail ve diğer ülkeler tarafından yapılmaktadır **(Van Zyl ve Feraira, 1995)**. FAO 2007 verilerine göre toplam avokado üretimi dünyada 3.316.906 tondur **(Çizelge 1.1.)**. Türkiye ise 524 tonla çok düşük bir avokado üretimine sahiptir. **(Anonim, 2007)**.

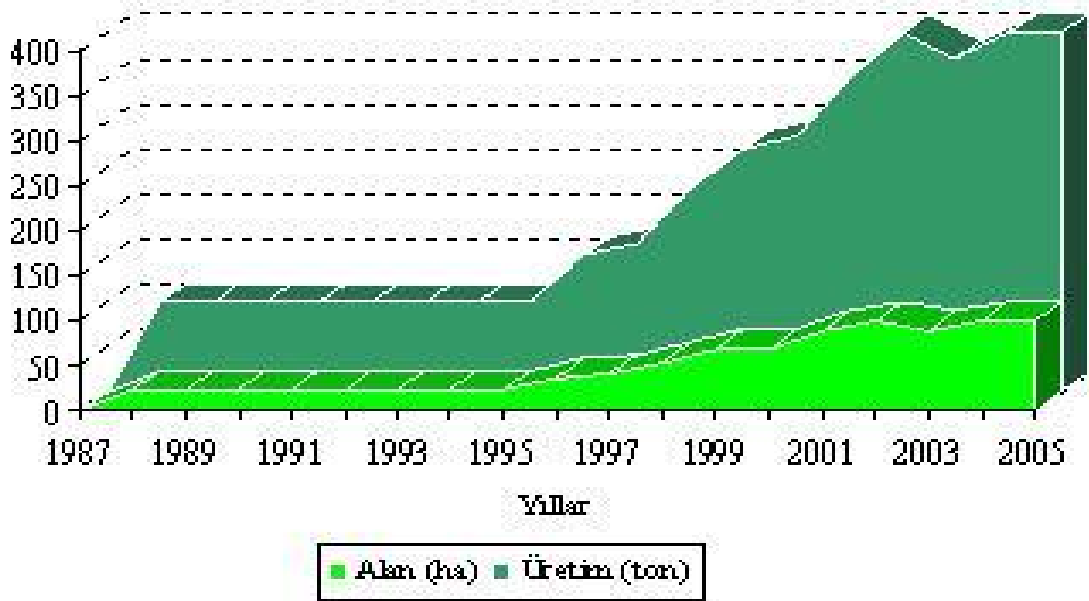
Çizelge 1. 1. Dünyadaki Önemli Avokado Üreticisi Ülkeler,
Üretim Değerleri, Üretim Alanları (Anonim, 2007)

Ülkeler	2007	
	Üretim (Ton)	Alan (Hektar)
Meksika	1.136.646	105.807
A.B.D.	247.000	27.357
Endonezya	227.577	41.232
Kolombiya	185.811	17.084
Brezilya	169.335	11.548
Şili	163.000	25.000
Dominik Cumhuriyeti	113.621	1.226
Peru	103.417	11.762
Çin	90.000	12.500
Etopya	83.359	10.420
İspanya	82.000	10.000
İsrail	77.909	5.100
Kenya	72.023	5.340
Konga	63.480	8.500
Güney Afrika	61.422	13.773
Türkiye	524	130
Dünya	3.316.906	388.101

Ülkemizde yetiştiriciliği Antalya, Mersin, Muğla ve Adana ile sınırlıdır. Ülkemizde avokadonun ticari yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması amacıyla, 1970’li yılların başında FAO aracılığıyla, Kaliforniya’dan dünyanın en önemli ticari çeşitleri ‘Fuerte’, ‘Hass’, ‘Bacon’ ve ‘Zutano’ ile ‘Nabal’, ‘Wurtz’, ‘Reed’ olmak üzere toplam yedi adet çeşit getirilmiştir. 1970 yılında Kaliforniya’dan getirilen çeşitler; Fuerte (21 adet), Hass (21 adet), Zutano (23 adet), Bacon (21 adet), Nabal (4 adet), Wurtz (5 adet), Reed (15 adet)’dir. Tohum olarak gelen anaçlık çeşitler ise Topa Topa, Hass ve Mexicola’dır. Bu çeşitler Antalya, Dalaman-Muğla, Alata-Mersin, Adana ve İskenderun-Hatay ekolojik koşullarında denemeye alınmıştır.

Antalya ve Alanya koşullarında 1969-1983 yılları arasında **Doğrular ve ark. (1983)** tarafından yapılan denemede; ‘Fuerte’, ‘Hass’, ‘Bacon’ ve ‘Zutano’ çeşitlerinin bölgeye adapte olabildikleri ve çeşide özel karakterler gösterdikleri görülmüştür. En düşük sıcaklık dereceleri -5°C’nin altına düşmeyen bölgelerimizde Meksika alt türüne ait olan çeşitlerin, -4°C’nin altına düşmeyen bölgelerimizde Meksika alt türüne ait olan çeşitler ile melezlerinin (örneğin Fuerte) yetiştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Batı Hint Adaları alt türü çeşitlerinin ise Demre (Kaş), Finike gibi yerlerde yetiştirilebilme olasılığı vardır. Bu çeşitlerin ticari yetiştiriciliği için Türkiye’nin Akdeniz sahil kuşağındaki bazı alanlar oldukça uygun bulunmuş ve daha sonra yayılmaya başlamıştır. Ülkemizde avokado üretimi 1980’li yılların ortalarından itibaren hızla artmıştır (**Çizelge 1.2.**). Akdeniz bölgesinde yer alan Antalya, Mersin ve Muğla illerinde, önemli miktarda avokado üretimi yapılmaktadır. Toplam avokado üretiminin yaklaşık % 60-65’i Antalya ilinde üretilmektedir (**Anonim, 2004**).

Çizelge 1.2. Türkiye’nin 1987-2005 Yılları Arasındaki Toplam Üretim Alanı ve Üretim Miktarı (**Anonim, 2007**)



1.2 Avokado'nun Sistematığı

Persea cinsi tarçın ve önemli ağaç türlerini içine alan *Lauraceae* familyasının 50 cinsinden biridir (Zentmyer, 1994). *Persea americana* içinde 3 botaniksel ırk bulunmaktadır. Bunlar; Meksika (*P. Americana* var. *drymifolia* Schlecht and Cham), Guatemala (*P. americana* var. *guatemalensis* Williams) ve Antil (*P. americana* Miller var. *americana* Mill.) olarak bilinir (Whiley, 1991). *Persea* alt türüne ait, *P. americana*'nın her bir üyesi coğrafik olarak farklı mikro çevrelere adapte olabilen alt türler veya birkaç çeşitten oluşan polimorfik türlerdir.

Familya: Lauraceae

Cins : *Persea*

Alt cins .: *Persea*

Türler: 1. *Persea schiedeana* Nees

2. *Persea parvifolia* Williams

3. *Persea americana* Mill

Irklar: 1. *Persea americana* var. *americana* (Antil Irkı)

2. *Persea americana* var. *drymifolia* (Meksika Irkı)

3. *Persea nubigena* var. *guatemala* (Guatemala Irkı)

Lauraceae (Defnegiller): Yaprakları almaşık ya da nadiren karşılıklı dizilişli, sarı ya da beyaz renkli, iki ya da nadiren tek eşeyli, ovaryumu üst durumlu, eriksi ya da bakka tipi meyveleri olan herdem yeşil ağaç ya da çalı formundaki bitkilerdir (Koral ve ark, 2000).

Persea: *Persea*, *Lauraceae* laurel familyasına ait herdem yeşil yaklaşık 150 türü bulunan bir cinstir. Cins içinde en iyi bilinen, yenilebilen meyvesiyle subtropik bölgede yetişen avokado, *P. americana*'dır. 15-30 m'ye kadar uzayabilen orta boylu ağaçlara sahiptir. Yaprakları gövdeye karşılıklı veya spiral dizilen, uzunluğu 5-30 cm arasında olan, 2-12 cm eninde, lanceolate veya geniş lanseolate yapılı basit yapraklardır. Çiçekleri tek embriyolu, 6 küçük yeşil sarı renkli çiçek örtüsüyle, 3-6 mm uzunluğunda 9 stamenli kısa bileşik salkım şeklindedir. Meyvelerin büyüklüğü

P. americana'da 10-20 cm ile, *P. borbania* ve *P. indica*'da 1-1.5 cm olan tohumun dışı etli, oval veya armut şeklindedir (Koral ve ark, 2000).

***Persea americana* (Avokado):** Çiçekli bitkilerden *Lauracea* familyasında sınıflandırılan Meksika ve Orta Amerika kökenli ağaçlardır. Ağaçları 20 metreye kadar uzar, 12-25 cm uzunluğundaki yaprakları gövde üzerine karşılıklı dizilir. Çiçekleri gösterişsiz, 5-10 mm genişliğinde yeşil-sarı renklidir. Meyveleri armut şeklinde, 5-6.4 cm uzunluğunda ortasında büyük bir çekirdeği olan, 100 ile 1000 gram ağırlığında, 7 ila 20 cm uzunluğunda bir tohumdan oluşur (Koral ve ark, 2000).

***Persea americana* var. *americana* (West Indian, Batı Hint, Antil ırkı):** Kolombiya kökenlidir. Tropik bölgelerdeki ovalarda bulunan subtropik bir ırktır. Tropikal bölgelerde yetişir. Ağaçlarının büyük, yeşil yaprakları vardır. Ağaçları 30 metreye kadar uzayabilen, seyrek dallanma gösteren bir ırktır. Yaprakları ekliptik veya ovoid şeklinde, yaprak boyu 10-30 cm, eni 3-19 cm genişliğindedir. Yaprak boyları diğer iki çeşide oranla daha büyüktür. Yapraklarında anason kokusuna rastlanmaz. Sürgün renkleri sarımsı-yeşil renklidir. Soğuğa ve kuraklığa karşı hassas, ama tuzluluğa dayanıklı olan bir ırktır (Yeşiloğlu, 2006). Meyveleri uzun ve genellikle büyüktür (400-900 g). Epidermisi oldukça ince (0.8-1.5 mm), pürüzsüz ve parlaktır. Olgunlaştığı zaman açık yeşil, yeşilimsi sarı veya kırmızımsı olabilmektedir. Meyve etinin yağ içeriği az (%10'den daha az) olmakla birlikte, suludur. Çekirdek, çoğunlukla meyve etine yapışık olmakla birlikte, büyüktür ve çekirdek yüzeyinde az veya çok oranlar da buruşukluk gözlenir. Bütün bu özellikler meyveyi narin göstermektedir. Depolama için yaygın olarak kullanılan ve diğer ırkların meyvelerinin frigorifik taşınabildiği sıcaklıklarda (+6°C, +8°C), genellikle meyve eti kararması (üşüme zararı) görülmektedir. Çiçeklenmeden hasat zamanına kadar olan süre 5 ile 7 ay arasındadır. Avokado çeşitlerinin yaklaşık %15'i bu ırktandır. En çok bilinenleri arasında 'Peterson', 'Pollock' ve 'Waldin' bulunmaktadır (Anonim, 2006a).

***Persea americana* var. *drymifolia* (Meksika ırkı):** Meksika'nın dağlık bölgelerindeki düşük sıcaklıklara adapte olabilen oldukça dayanıklı bir ırktır. Tropikal ve subtropikal bölgeler yetiştirme ortamlarıdır. Ağaçları 40 metreye kadar

uzar. Yapraklarının şekilleri oval veya ovoid olabilmektedir. Yaprak boyları 8-17 cm uzunluğunda, yaprak enleri 4-15 cm genişliğinde olmaktadır Yaprakları diğer iki ırka oranla daha küçüktür ve ezildikleri zaman karakteristik olarak anason kokusu vermektedirler. Genç sürgün rengi yeşildir. Diğer ırklara göre çiçeklenme daha erken olmakta ve çiçeklenmeden hasada kadar olan süre 7 ile 9 ay arasında olmaktadır. Meyveleri küçük ve uzundur. Meyve ağırlıkları 250 gramdan biraz fazladır. Kabuğu çok ince ve pürüzlüdür. Meyve eti genellikle liflidir ve yüksek bir yağ içeriğine (% 30'dan fazla) sahiptir. Çekirdeği genellikle büyük ve meyve etine bazen yapışık olmaktadır (**Yeşiloğlu, 2006**). Bu ırk, tuza karşı çok hassastır. Fakat yüksek sıcaklıklar ve düşük nispi neme dayanabilmektedir. Ayrıca, *Phytophthora cinnamomi* hastalığına karşı diğer cinslere göre daha dayanıklıdır. Bu nedenle iyi bir anaç olmakta ve genetik potansiyelinden ıslah programlarında yararlanılmaktadır. Meyveler yağ üretimi için kullanıldığında, bu cinsin yüksek yağ oranı önemli bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. Çeşitlerin yaklaşık %20'si bu ırka aittir. En çok bilinen çeşitleri 'Duke', 'Gottfried', 'Topa Topa' ve 'Meksikola' dır (**Anonim, 2006a**).

***Persea nubigena var.guatemala* (Guatemala ırkı):** Bu ırkın kökeninin, Guatemala'nın dağlık bölgelerinin olmasının yanında Meksika'da bulunan Chiapas'ın da olabileceği düşünülmektedir. Ağaçları 30 metreye kadar uzayabilmektedir. Yaprakları oval, ovoid veya dikdörtgen şeklinde olabilmektedir. Yaprak boyları 8-20 cm boyunda, yaprak genişliği 10-24 cm olmaktadır. Soğuklara ve tuzluluğa toleransları orta derecededir. Sürgün renkleri kırmızımsıdır. Yapraklarında anason kokusuna rastlanmamaktadır. Diğer ırklardan farklı olarak bu ırkta yüksek oranda periodisite görülmektedir (**Yeşiloğlu, 2006**). Yaprakları büyük ve koyu yeşil renklidir. Meksika ırkı kadar soğuğa dayanıklı olmasa da, özel tarım alanlarında yetiştirilmeye uygundur. Meyveleri yuvarlak, kalın kabuklu ve çok pürüzlüdür. Meyvelerinin boyutları değişmektedir; ama genelde Meksika ırkında bulunan meyvelerden daha büyük olduğu görülmektedir. Çekirdekleri oldukça küçük ve tamamı meyve etine sıkıca bağlıdır. Meyve etinin yağ içeriği %10-20 arasında orta derecededir. Çiçeklenmeden hasat zamanına kadar olan süre 8 ile 10 ay arasındadır. Kaliforniya'nın soğuk bölgelerinde daha uzun sürede olabilmektedir (12-

14 ay). Bu ırk melezler için iyi bir ebeveyndir (küçük çekirdekli çeşit elde etme de kullanılmaktadır). ‘Anaheim’, ‘Corona’, ‘Sharwil’in olduğu bu ırk, avokado çeşitlerinin yaklaşık % 40’ını içermektedir. En önemli ticari çeşitleri ‘Edranol’, ‘Nabal’, ve ‘Reed’ dir (**Anonim, 2006a**). Üç ırkın morfolojik özellikleri **Çizelge 1.3.**’de verilmiştir.

Melez Çeşitler: Uluslararası ticaret açısından önemli olan çeşitlerin büyük bir kısmı melezdir. Bunlar, genellikle doğal melezler olmakla birlikte, bazı nadir durumlarda üç ırkın üstün verimlilik özelliklerinden yararlanmak için yapılan ıslah çalışmaları sonucunda oluşturulmuşlardır. Temel seçim kriterleri agronomik (zararlılara ve hastalılarla özellikle kök çürüklüğü mantarına dayanıklılık, tuzluluğa ve soğuğa karşı dayanıklılık, verimlilik, vb.) ve meyve kalitesiyle (boyut, yüksek meyve eti oranı, tat, lıfızlık, yağ içeriği vb.) ilgili olmaktadır. ‘Bacon’, ‘Ettinger’, ‘Fuerte’ ve ‘Lula’ doğal Meksika x Guatemala melezleridir. Guatemala x Batı- Hint melezleri, genellikle Florida’da yetiştirilmekte olan ‘Ajax’, ‘Booth’, ‘Choquette’, ‘Collinson’ ve ‘Simpson’ çeşitlerini içermektedir. ‘Indian River’ gibi Meksika x Batı Hindistan melezleri nadir görülen çeşitlerdendir. Irklar arası melezlemeler sonucu farklı çeşitlerin elde edilmesi mümkün olmaktadır (**Anonim, 2006a**).

Çizelge 1.3. Avokadonun Üç Irkının Özellikleri (Yeşiloğlu, 2006)

ÖZELLİKLER	ÇEŞİT GRUBU		
	Meksika	Guatemala	West Indian
AĞAÇ (Genel)			
Doğal Kökeni	Meksika dağları	Guatemala dağları	Tropik ovalar
Ekolojik adaptasyon	Subtropik	Subtropik	Tropik
Soğuklara tolerans	Yüksek	Orta	Çok Düşük
Tuza tolerans	Çok Düşük	Orta	Yüksek
Periyodisite	Düşük	Çok	Düşük
YAPRAK			
Büyüklüğü	Küçük	İri	Çok iri
Rengi	Yeşil	Yeşil	Soluk Yeşil
Sürgün rengi	Yeşilimsi	Kırmızımsı	Sarımsı-yeşil
Anoson kokusu	Var (çoğunlukla)	Yok	Yok
ÇİÇEK			
Sezon	Erkenci	Geççi	Orta-Erkenci
Çiçek-Olgunluk	5 - 7 ay	10 - 18 ay	6 - 8 ay
MEYVE			
Büyüklüğü	Çok küçük-orta (150-200g)	Küçük-İri (200-350g)	Orta-Çok iri (400-900 g)
Şekli	Çoğunlukla Uzun	Çoğ.Yuvarlak	Değişken
MEYVE KABUĞU			
Kabuk Rengi	Genellikle Mor	Siyah yada yeşil	Kestane rengi
Kabuk Yüzeyi	Mumsu örtülü,düz	Değişken pürüzlü	Parlak
Kabuk Kalınlığı	İnce	Kalın	Orta
Kabuğun Soyulması	Yok	Değişken	Var
Tohum			
Tohum/Meyve Oranı	İri	Sıklıkla küçük	İri
Tohum Kabuğu	İnce	Genellikle ince	Kalın
Tohum Yüzeyi	Düz	Düz	Pürüzlü
MEYVE ETİ			
Aroma	Anoson kokulu	Sıklıkla zengin	Tatlı, yumuşak
Yağ İçeriği	En yüksek (%30)	Yüksek (%10-20)	Düşük (%10)

1.3. Avokadonun Morfolojik Özellikleri

Avokado ağaçları şekil olarak farklılıklar gösteren, 8 ile 20 metreye kadar büyüeyebilen herdem yeşil ağaçlardır (**Jackson, 1986**). Taç yapısı genelde yuvarlak ve sıkı yapıdadır. Gevrek yapıda ve çarpık dallanan, bol yapraklı bir taca sahiptir. Gövdesi mantar dokusu ile kaplı olup yaşlandıkça gövdede yarıklar oluşur. Yaprığı basit yaprak formundadır. Yaprakları oval ve eliptik şekildedir. Yaprak uzunlukları 7.5-35.5 cm kadar ve olgunlaşmamış yaprakların rengi açık yeşildir. Meksika (*Persea drymifolia*) alt türünün yaprakları anoson kokuludur. Genç sürgünler kırmızının tonları ve beyazımsı renkte olurlar (**Hodgson, 1947**).

Avokadonun çiçekleri salkım şeklinde oluşur. Açık yeşil renkli, küçük ve gösterişsiz çiçekleri vardır. Arıların sevdiği gösterişli çiçeklere sahip değildirler. Çiçekleri hermafrodittir, ancak fonksiyonel olma durumu güne ve çeşide göre farklılık gösterir. Dokuz adet erkek organı bulunur. Küçük soluk yeşil renkli çiçekler gün içinde iki kere açılır; ilk açıldığında dişi, ikinci açıldığında erkek özelliği gösterir (**Whiley, 1991**). A grubu çiçekler sabahdan öğlene kadar dişi, öğleden sonra erkek fonksiyonludur. B grubu çiçekler ise sabahdan öğlene kadar erkek, öğleden sonra dişi fonksiyonludur. Bir çiçeğin erkek veya dişi fonksiyonlu olduğunu anlayabilmek için erkek çiçek tozu keseciklerinin duruşuna bakmamız gerekir. Her çiçekte dokuz adet anter bulunur. Bu anterlerden altı adedi aşağıya üç adedi yukarıya dönükse dişi, altı adedi yukarıya üç adedi aşağıya dönükse erkek fonksiyonludur. Avokado çiçeklerinin erkek ve dişi organları farklı dönemlerde fonksiyonel olduklarından tek çeşit kendi kendine tozlanıp döllenememektedir. Bu nedenle tek çeşitle ya da tek grupla bahçe kurulmamalıdır. Bahçe tesis ederken bölge ekolojisi de göz önüne alınarak A ve B grubu çeşitler karıştırılarak dikilmelidir (**Tuzcu, 1996**). Avokadolar çiçeklenme şekilleri baz alınarak A tipi (Hass; Guatemala) ve B tipi (Bacon; Fuerte) (tozlanan) (**Nakasone ve Paul, 1998**) olmak üzere iki tip olarak gruplandırılır. Farklı zamanlarda çiçek açtığı için kendine verimsizdir. Meksika grubu erken, Antil orta ve Guetemala grubu çeşitler geç dönemde çiçek açmaktadırlar.

Meyve şekli armut (pyriform) veya oval şekildedir (**Nakasone ve Paul, 1998**). Meyveler çeşitli büyüklük, şekil, renk ve özelliklere sahiptir. Ağırlıkları 200-

600 gram arasında değişir. Kabuk rengi hafif sarımtırak yeşilden koyu yeşile, kahverengi-kestane renginden, erguvani-siyaha kadar değişir. Kabuk kalınlığı 0.8-6.0 mm'dir. Çekirdekle kabuk arasındaki etin açık sarı rengi kabuk yakınında yeşilimsi olur. Meyve eti yüksek yağ içerir (%7-25). Her meyvede tek bir çekirdek vardır. Şekilleri yuvarlak, yumurtamsı, konik veya silindiriktir. İki kotiledonludur, bazen kotiledon üç parçalı olabilir. Tohum kabuğu rengi açık kahverenginin tonlarıdır. Çekirdek içi beyaz, sarımsı veya yeşilimsi beyaz renktedir. Yüzeyi düz veya pürüzlüdür (**Hodgson, 1947**).

Meksika ve Guatemala, soğuğa dayanıklı gruplardır. Antil grubu soğuğa dayanıklı değildir. Meksika (*Persea drymifolia*) ve Guatemala (*Persea nubigena*) alt türlerinin çeşitleri, daha serin ve kurak bir iklimde; Antil (*Persea americana*) alttürü çeşit ve melezleri, yıllık yağış miktarı 2500 mm'yi geçebilen tropik ovalarda iyi gelişme göstermekle birlikte, avokado yetiştiriciliği için yıllık minimum yağış miktarı 750-1000 mm arasındadır. Yağışın yeterli olmadığı zamanlarda sulama yapmak gerekir. Tohumdan büyüyen avokado ağaçları 4 ile 8 yıl içinde ürün vermeye başlar, vejetatif çoğalanlar ise 3 yıl içinde ürün verir.

Avokado meyvelerinin etli olduğu bilinmektedir (**Zentmyer, 1994**). Meyveler klimatrik özellik göstermektedir. Avokado meyveleri ağaç üzerinde yeme olumuna gelmez, ağaçtan koparıldıktan sonra klimatrik yükselme ve solunum pikinden sonra tam olgunluk meydana gelir (**Phan, 1975**). Bu nedenle tereyağı kıvamına kadar yumuşayınca tüketilir. Meyve eti besleyici ve kalıncadır. Meyve et rengi açık sarı, fıstık yeşili ve soluk yeşil arasında değişir. A, D ve E vitaminleri ile Fe, P, Mg, S ve Cu elementleri bakımından zengindir. Doymamış yağ oranı yüksektir (%30) (**Yeşiloğlu, 2006**).

Avokadonun kendine özgü tadının ve aromasının oluşmasında yağının büyük önemi bulunmaktadır. Avokado yağının insan beslenmesindeki önemi; atherosklerotik kalp hastalıklarına neden olan kandaki düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini azaltan, tek zincirli doymamış oleik asit içermesidir. Ayrıca, diğer besinlerden daha yüksek yoğunlukta antioksidan A, B, E vitaminleri ve yüksek çözülebilir lif içeriği ile kalp sağlığını korumada avokadonun potansiyel yararları bulunmaktadır.

Avokadonun gıda endüstrisinde değerlendirilmesinin yanında yağ içeriklerinden dolayı, saç ve yüz bakım kremleri, el losyonları ve sabunları biçiminde kozmetik endüstrisinde de kullanılmaktadır. İtalya ve Fransa’da avokado yağı çok fazla tüketilmektedir (**Anonim, 2007**).

Avokado üzerine az sayıda morfolojik ve moleküler çalışma yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Genetik Kaynaklar koleksiyonunda bulunan avokado çeşitlerinin genetik ve morfolojik olarak karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

PCR tekniğinin 1990'larda bulunmasından bu yana DNA'yı moleküler düzeyde incelememizi sağlayan birçok markır sistemi ortaya çıkmıştır. Bu sistemlerle genom haritaları oluşturulmuş ve birçok hastalığın nedeni ortaya çıkartılmıştır.

2.1. DNA Dizisinin Belirlenmesi

Kalıtım şekilleri, morfolojik (çiçek rengi gibi), biyokimyasal (izoenzimler gibi) ve DNA düzeyinde (moleküler markırlar) izlenebilen karakterlere, genetik markırlar adı verilir. Moleküler markırlar, DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilir. Genetik markır kavramı yeni bir kavram değildir. Mendel'in 19. yüzyılın sonlarında kalıtım biliminin temellerini ortaya koymasından sonra bazı karakterlerin nesilden nesile birlikte aktarıldıkları ve Mendel'in rasgele açılım ilkesine uymadığı gözlenmiştir (**Yıldırım ve Kandemir, 2001**). Kalitatif açılım gösteren karakterlerin kantitatif açılım gösteren karakterlerle bağlantısı, yani gerçek anlamda markır anlayışı, **Sax'ın (1923)** fasulye tohum pigmentasyonu ile tohum iriliği arasındaki bağlantıyı gözlemesiyle şekillenmiştir.

DNA markırları birçok farklı mutasyon sınıflarının bir sonucu olarak ortaya çıkarlar, bunun en basit örneği iki genotipi birbirinden ayıran tek nükleotidin (bazın) yer değiştirmesi kadar küçük bir farklılıktır (**Paterson, 1996**). Tek bir bazın yer değiştirerek bir enzimin kesim noktasını değiştirmesi, DNA parçasının uzunluğunu değiştirerek ilgili gözlem metodunda direkt olarak bir bireyin genotipini temsil eden farklı bir markır ortaya çıkarır (**Yıldırım ve Kandemir, 2001**).

Her biri ökaryotik DNA'daki özelliklere dayalı olarak tasarlanan ve kalıtsal olarak izlenebilen moleküler markırlar, günümüzde bitki moleküler biyolojisi alanında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markırların bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak genetik karakterizasyon, bitki genom haritalanması, markırlar yardımıyla ıslah (marker-assisted breeding), gen klonlama,

tohum saflığı testleri ve saflık tayini verilebilir (**Brown ve ark., 1996; Ayres ve ark., 1997; Röder ve ark., 1995**).

Tüm yüksek yapılı organizmaların genomlarındaki bir veya daha fazla özelliğin karakterizasyonu DNA bantlarının ortaya koyulmasıyla olur. Farklı büyüklükteki ve farklı sayıdaki DNA bantlarının ortaya koyulması ile her birey için DNA parmakizi elde edilmiş olur.

DNA profilinin çıkarılması ve spesifik DNA parmakizlerinin elde edilmesinde izlenen yollar aşağıdaki gibidir (**Şekil 2.1.**).

- Bitkisel materyalin sağlanması,
- Bitkisel materyallerden DNA izolasyonu,
- Kullanılacak yöntemle göre, genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması (PCR),
- Bireyler arasındaki polimorfizimin farklı moleküler markır teknikleri ile belirlenmesi (RFLP, RAPD, AFLP, ISSR),
- DNA profilinin spesifik bir programda analiz edilmesidir (**Aka Kaçar, 2001**)



Şekil 2.1. DNA'nın Analiz Aşamaları

2.1.1. Bitkisel Materyalin Sağlanması ve DNA izolasyonu

Bitki dokularından saf DNA izolasyonu oldukça zordur. Bitki dokularının polisakkaritler, polifenoller ve karbonhidratlarca zengin olması DNA izolasyonunu güçleştirir. DNA yeterince saf değilse PCR sonucunda amplifikasyon gerçekleşmez (**Luro, 1992**).

Bu sorunun üstesinden gelmek için alternatif ekstraksiyon bufferı kullanılmaktadır. Ekstraksiyon bufferları hücre içindeki DNA dışındaki bileşiklerin uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Ekstraksiyon bufferı'nın pH'sı ve spesifik

koruyucu maddeler veya deterjanlar belirli türler için optimize edilmelidir. Özellikle DNA'yı parçalayan enzimler için optimum olan pH düzeyinden kaçınılmalıdır. Örneğin DNazların çalışma pH'sı 7.0 civarındadır (**Dunham ve Brayant, 1983**). Bu durumda DNazların çalışmasını ve DNA'yı parçalamasını önlemek için bitki ekstraksiyon bufferının pH 8.0 hatta pH 9.0 civarında olması gerekmektedir.

Fenolik bileşiklerden tamamen temizlenmemiş DNA'da kahverengileşme meydana gelmektedir. Bunu önlemek için 5-10 mM β -mercaptoethanol (BME) kullanılmaktadır (**Deng ve ark., 1995**).

Orijinal dokunun toplanması ve ekstraksiyondan önce korunması DNA'nın kalite ve kantitesini çok etkiler (**Pyle ve Adams, 1989**). Genel olarak en iyi doku taze olan dokudur. Çünkü taze dokularda yaşlı dokularda gözlenen fenolik bileşik oluşumu gözlenmemektedir. Bu durumun en önemli nedeni bitkinin dinlenme zamanlarında fenolik bileşik üretmesidir. Fenolik bileşik oluşumu saf DNA elde etmemizi zorlaştıracığından bitkinin aktif olduğu sürgünlerin oluşum dönemlerinde bitki materyalinin toplanması tercih edilmelidir. Toplanan yaprak örnekleri canlılıklarını korumalarını sağlamak amacıyla soğuk ve nemli bir ortamda saklanmalıdır. Bitkisel materyalin en iyi şekilde saklanması dondurularak ya da kurutularak olur (**Liston ve ark., 1990**).

Bitkilerden DNA izolasyonunda başarıda, DNA'nın miktarı, kalitesi ve kullanışlığı önemlidir. DNA hücrede serbest bir molekül halinde değildir. Bazı proteinler (histonlar, histon olmayan proteinler, HMG proteinleri) RNA ile bir kompleks halinde bulunur. İyi bir DNA izolasyonu gerçekleştirmek için hücre içinde hücre duvarının parçalanması, proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılması gerekmektedir. DNA izolasyonu değişik organizma gruplarında farklılık gösterse de temelde hepsinde aynı aşamalar meydana gelir (**Göksel, 1999**).

Başarılı bir DNA izolasyonu için aşağıdaki koşulların gerçekleşmesi gerekmektedir;

- İlk olarak hücre duvarı parçalanmalıdır. Bu amaçla bitki materyali sıvı azot, kuru buz ya da sıcak ekstraksiyon bufferı içerisinde öğütülür.
- Hücre membranı parçalanır; bitki materyali CTAB adı verilen ekstraksiyon bufferı ile muamele edilir. CTAB çözeltisi içinde

bulunan SDS protein yapılarını bozar, NaCl polisakkaritleri ortadan kaldırır, PVP polifenollerini ortadan kaldırır, EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit) DNA'yı ribonükleaz aktivitesinden korur, β -mercaptaethanol proteinleri denatüre eder, böylece hücre zarı parçalanmış olur.

- Ayrıca buffer/doku karışımına kloroform ve/veya fenol karışımı eklenerek DNA'dan proteinlerin ayrılması sağlanır, temiz DNA elde etmek için kloroformla yıkama aşaması iki kez tekrarlanabilir.
- Son olarak yıkaması gerçekleştirilen DNA'yı çöktürmek için izopropanol kullanılır.

Dondurulmuş dokunun öğütülmesi ile ekstraksiyon bufferı ile muamelesi arasındaki süre DNA'nın nükleotik degregasyonunu engellemek amacıyla en aza indirilmelidir (**Aka Kaçar, 2001**).

2.1.2. DNA'nın analizi

Nükleik asitlerin nanogram veya mikrogram düzeyindeki miktarının belirlenmesi, moleküler biyoloji alanında çalışan araştırmacılar için temel noktalardan biridir. Genellikle izole edilen DNA'ların miktar tayininde absorpsiyon temeline dayanan spektrofotometrik yöntemler kullanılır (**Temizkan ve Arda, 2004**).

2.1.2.1. Spektral Yöntemler

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği gösterir. Bu nedenle 260 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri (A₂₆₀) oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin mikrogram düzeyinde miktarının belirlenmesinde kullanılır.

Çift zincirli DNA molekülleri için, 1 optik dansitenin (OD) 50 µg/ml'ye karşılık geldiği bilinmektedir. Buna göre çift zincirli DNA için miktar belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılır:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{sulandırma oranı} \times 50$$

A260'daki değerler DNA ve RNA'yı birbirinden tam olarak ayırt etmeye yetmez. Bununla beraber 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. Saflaştırılmış DNA'da A260/A280 oranı yaklaşık 1.75-1.82 arasında olmalıdır. 325 nm'de ölçülen değer DNA çözeltisinde partikül bulunduğunu veya ölçümde kullanılan küvetin kirli olduğunu; 230 nm'deki değer ise nükleik asit çözeltisinde peptitlerin veya fenolün bulunduğunu gösterir (**Temizkan ve Arda, 2004**).

2.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar Agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarittir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür.

Agaroz konsantrasyonu % 0.5-1.5 arasında değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Böylece küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürümesi sağlanır.

DNA'nın jelde görünür hale gelmesi için ethidium bromidin DNA bağları arasına bağlanarak 300-360 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesi sonucu floresan etki göstermesi ile olur. İzole edilen DNA genomik DNA ise keskin bir bant ve yukarı doğru biraz yayılan bir görüntü verir (**Temizkan ve Arda, 2004**).

2.1.4. PCR (Polymerase Chain Reaction=Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PCR'da genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması esastır. DNA'nın istenilen bir parçasının *in vitro* koşullarda 15-20 nükleotit uzunluktaki oligonükleotit dizileri kullanılarak, sıcaklığa dayanıklı *Taq* DNA polimeraz enzimi yardımıyla çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir.

PCR'ın Temel Birleşenleri

Kalıp DNA: PCR'da genomik DNA'lar faj, plazmid, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir (**Aka-Kaçar, 2008**).

Polimerazlar: DNA polimeraz enzimleri kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere orijinal kalıp iplikteki baz bilgisi kullanılarak dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfattan uzun polinükleozid zincirinin sentezini kataliz eder. Bu enzimler sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primerlere) gerek duyarlar.

Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin etkisi ile fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerasyonu sağlanır.

Thermus aquaticus'dan elde edilen *Taq* DNA polimeraz enzimi en yoğun olarak kullanılan polimerazdır. Bu enzimin kullanılmasının temel nedeni yüksek sıcaklıklara dayanabilmesidir. PCR işleminin denatürasyon aşamasında DNA çift zincirini tek zincire dönüştürebilmek için gerekli olan 90-92 °C'de ki sıcaklıklara dayanabilmektedir. *Taq* DNA polimerazın bazı özellikleri arasında optimum sıcaklıkta (70-80 °C) saniyede 35-100 nükleotidin polimerizasyonunu yapması ve 5'-3' endonükleaz aktivitesine sahip olması gelmektedir (**Aka-Kaçar, 2008**).

Primerler: Oligonükleotid primerler, primer sentezi yapan laboratuvarlardan ya da ticari olarak elde edilebilirler. Bir çift PCR primerinin her biri yaklaşık 18-30 nükleotit uzunluğa ve benzer G+S içeriğine sahip olması gereklidir. Böylece primerler benzer sıcaklıklarda tamamlayıcı sekanslara tutunabilir. Kısa oligonükleotitler (<25 nt) için annealing sıcaklığı (°C), $T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$ formülü kullanılarak hesaplanır. Primerler hedef sekansın zıt zincirlere tutunması amacıyla tasarlanır; dolayısıyla 3' uçlarına nükleotitlerin eklenmesiyle uzatılırlar (**Aka-Kaçar, 2008**).

dNTP: Deoksiribonükleozid trifosfatlar yüksek saflıkta ya tek tek yada dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanır. *Taq* DNA polimeraz düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıba uygun doğru bazları seçmede daha başarılı olmakla

birlikte normal koşullarda 100 µM dNTP konsantrasyonu kullanılır (**Aka-Kaçar, 2008**).

Tamponlar ve MgCl₂: PCR için çeşitli tamponlar kullanılmakla beraber en çok kullanılan *Taq* enzimine uygun tampondur ve 10× konsantrasyonunda hazırlanır. MgCl₂ iyonları dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluşturur, polimeraz aktivitesini stimüle eder ve primer kalıp etkileşimini sağlarlar (**Aka-Kaçar, 2008**).

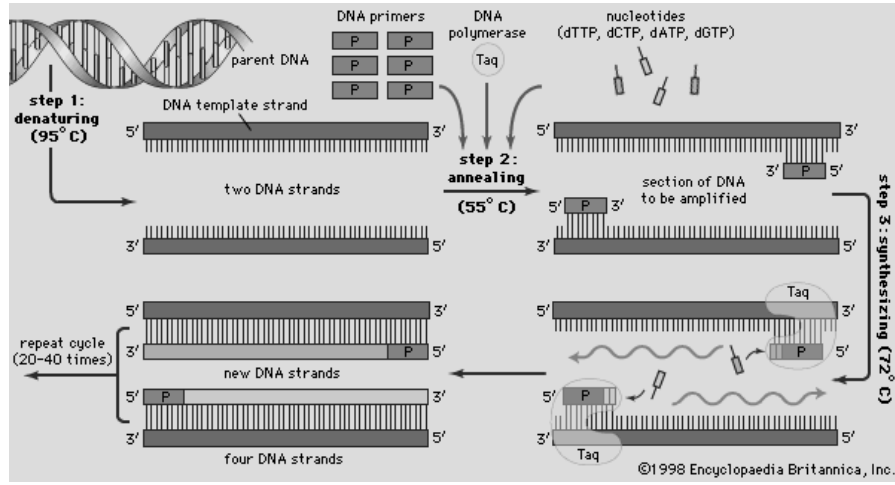
PCR küçük hacimler halinde hazırlanır;

- Hedef DNA sekansları (50-500 ng),
- Tek veya iki tür spesifik oligonükleotid primerleri (0.1-0.5 mµ),
- Termotabil DNA polimeraz (*Taq* polimeraz veya diğerleri)(0.5-2.5 ünite),
- Dört tür dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) bulunur (100-500 ml).

Reaksiyon,

- Hedef DNA'nın denatürasyonu (95 °C)
- Primer DNA'larının bağlanması (37-50 °C)
- Polimerizasyon (70-72 °C) işlemlerini içermektedir.

Tüp içinde bulunan karışım birinci döngüde, 95 °C'de yaklaşık 60 saniye yüksek sıcaklık uygulaması ile hedef DNA iki ipliğe ayrılır. Primerlerin kalıp DNA'ya tutunması için sıcaklık 50 °C (yaklaşık 30 saniye için) civarına düşürülür. Gerçek sıcaklık primer uzunluklarına ve sekanslarına bağlıdır. Primerin yapışmasından sonra, Mg⁺²'a gereksinim duyan ve reaksiyon karışımındaki dNTP'leri kullanan optimal polimerizasyon için sıcaklık 72 °C'ye (60-90 sn için) çıkarılır. İlk polimerizasyon basamağında, her bir hedef molekül primer bölgelerinden farklı uzunluklarda kopyalanır. Bu işlem, reaksiyon sıcaklığının tekrar 95 °C'ye çıkarılıp, yeni sentezlenmiş molekülleri denatüre eden ikinci döngü başına kadar devam eder. İkinci annealing basamağında, diğer bir primer yeni sentezlenmiş zincire bağlanır ve polimerizasyon süresince ilk primerin ucunun ulaştığı yere kadar kopyalanabilir. Takip eden döngülerde, kısa sürede değişik uzunluktaki moleküller sayılamayacak hale gelir ve her bir döngüde iki kat artar (**Konuk, 2004**) (**Şekil 2.2**).



Şekil 2.2. PCR Reaksiyonu ve Aşamaları (Anonim, 2008)

2.1.5 Markır Tipleri

2.1.5.1. Morfolojik Markırlar

Morfolojik özellikler tek genle kontrol edilebilen kantitatif özellik göstermelerinden ötürü görsel olarak değerlendirilebilen markırlardır. Morfolojik testlerin, genellikle karmaşık ekipmanlar ile hazırlayıcı prosedürlere gereksinimi bulunmaktadır. Başlıca avantajları, basit olmalarından ve masraflarının düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Bu yaklaşımın en büyük dezavantajı, sahip olunan normal fenotipin garantisinin olmamasıdır. Ayrıca bu değişimlerden çoğunun resesif olması nedeniyle heterozigot formlardaki bitkiler kendilenmeden ve melez bireyler incelenmeden gözükmemektedir (Khang ve Spor, 2001).

2.1.5.2 Biyokimyasal Markırlar

Biyokimyasal markırlar genlerin ürettikleri proteinlerdir. İzoenzimler farklı olarak yüklenmiş proteinlerdir. Elektroforez tekniği kullanılarak kolayca ayrılabilirler. Enzimler spesifik biyokimyasal reaksiyonları katalizler. Belirli enzimlerin substrat ve kofaktörleri eklenerek jel üzerinde görülmesi sağlanır ve

enzimatik reaksiyonların ürünleri renkli olarak üretilir. Renkli ürünler jel üzerinde görülür bantlar oluşturur. Bu bantlar genetik temellere sahiptir ve kodominant markır olarak genetik bilgi sağlar. Bununla birlikte morfolojik karakterlere göre çok daha yaygın kullanılmakla birlikte izoenzim lokuslarının azlığı ve bazı enzim sistemlerinin çevre koşullarından etkileniyor olması kullanımlarını sınırlar (Aka-Kaçar, 2001)

2.1.5.3. DNA Markırları

Moleküler markırların yararlılığı, morfolojik markırlardan kendilerini ayrı kılan beş özellikten kaynaklanmaktadır (Khang ve Spor, 2001):

1. Pek çok morfolojik markırın fenotipi, yalnızca tüm bitki seviyesinde teşhis edilebilir. Oysa, moleküler lokuslar, tüm bitki, doku ve hücre seviyesinde denenebilirler.
2. Allel frekansı, morfolojik markırlarla karşılaştırıldığında moleküler lokuslarda daha yüksek olma eğilimindedir.
3. Morfolojik mutantlar, istenilmeyen fenolojik etkilerle bir arada olmaya meyillidirler.
4. Morfolojik lokustaki alleller, heterozigot genotiplerin tanımlanmasını sınırlayan bir dominant –resesif tarzında birbirini etkiler.
5. Moleküler lokuslar, bir açılım popülasyonundaki bireylerin genotiplerinin belirlenmesine izin veren bir ko-dominant tarz sergilerler.

Tek bir moleküler markır, bütün bu ihtiyaçları karşılayamamaktadır. Çeşitli moleküler markırlar DNA seviyesinde polimorfizmi ortaya çıkartmaya elverişlidirler.

DNA Markırında Bulunması İstenen Özellikler

1. Güvenilirlir olması,
2. Ko-dominant olması,
3. Yüksek polimorfizim göstermesi,
4. Birçok bilgi içermesi,
5. Sonuçların tekrarlanabilir olması,
6. Analizinin kolay ve basit olması,
7. Otomasyona uygun olmasıdır.

Polimorfizm (Farklılık Gösterme): Kullanılan bir markırın farklı genotipleri ayırt edebilme yeteneğidir. Markırların farklılık gösterme oranları markır tipine ve bitki türüne göre büyük ölçüde değişmektedir (**Yıldırım ve ark., 2001**). Polimorfizm, 300 ile 500 nükleotitte bir oluşan varyasyonlardır. Ekzon bölgelerinde gözlenen varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenebilirken (Tohum rengi, bitki boyu vb.), intron bölgelerindeki varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenmemektedir.

Güvenilirlik: Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markır analizinin her zaman ve her koşulda aynı sonuçları vermesidir. Güvenilirlik, markır tipine göre değişmektedir (**Yıldırım ve ark, 2001**).

Eşbaskınlık (ko-dominantlık): Markırların eşbaskın olması, yani her iki allelinde ayırt edilebilmesidir. Bu durum bize ebeveynler hakkında sağlıklı bilgiler vermektedir.

Moleküler Markırların Uygulama Alanları;

- Genotipik tanımlama,
- Çeşit tescili,
- Islah hatlarının tanımlanması ve tohum saflık testleri,
- Hibrit çeşit saflık testleri,
- Cinsiyet belirleme, genetik çeşitliliğin belirlenmesi,
- Gen kaynaklarının genetik kökeninin belirlenmesidir.

Gen Kaynaklarının Genetik Kökeninin Belirlenmesi,

- Genetik kaynağın yapısını anlamak,
- Duplike olan genotipleri belirlenmek,
- Orjini bilinmeyen genetik materyalleri belirlenmek,
- Islah programında kullanılacak ebeveynleri belirlemek amacıyla kullanılır.

Moleküler markırlardan en önemlilerini hibridizasyona dayalı olan restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) belirleyicileri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) dayalı olan rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), basit dizilim DNA tekrarları (SSR), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) gibi belirleyiciler oluşturmaktadır (**Kaçar-Aka, 2001**).

RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism)

RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism markırları) (**Bostein ve ark., 1980**), dokulardan izole edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince spesifik olarak kesilmesi ve oluşan DNA parçalarının elektroforezde ayrıldıktan sonra naylon veya nitroselüloz membrana transfer edilerek DNA proplarıyla etiketlenmesi esasına dayanır.

RFLP markırları ile türler arasındaki ve içindeki farklılık kolayca belirlenir. Güvenilir, eşbaskın (co-dominant) özellikte olup polimorfizm oranı orta düzeydedir (**Özcan ve ark., 2001**). En önemli dezavantajı ise analizlerinin pahalı olması, fazla zaman, işgücü gerektirmesi ile fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya gereksinim duyulmasıdır (**Walton, 1993**).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Williams ve ark. (1990) tarafından geliştirilen RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği basit ve kısa oligonükleotid primerler kullanılarak genomik DNA'nın rastgele bölgelerinin çoğaltılmasıdır (**Kaçar, 2001**). RAPD markırları RFLP'nin tersine düşük kalitede ve miktarda DNA'ya gereksinim duyulması, zaman ve maliyet yönünden olumlu olmasına rağmen dominant markır (**Corazza-Nunes ve ark., 2002**) olmaları nedeni ile yorumlanmasının zorluğu, güvenilirliğinin çok sınırlı olması, tekrarlanamaması olumsuz yönleridir (**Lavi ve ark., 1994**). Tekniğin diğer dezavantajlarının arasında dominant özellikte markır verilmesi ve bu yolla elde edilen markırların diğer haritalara transfer edilememesi gelmektedir (**Walton, 1993**).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlarını gidermek üzere geliştirilmiştir (**Özcan ve ark., 2001**). Bu teknikte ilk olarak genomik DNA önce birisi 6, diğeri 4 taban tanıyan 2 kesim enzimi

tarafından kesildikten sonra (EcoRI/MseI), bunlara ait adaptörler eklenmekte ve bu adaptörlere uygun primerler kullanılarak seçici bir şekilde çoğaltılmaktadır. Seçici şekilde çoğaltılan parçalar arasındaki polimorfizm PAGE ile belirlenir (**Ergül, 2000**). Polimorfizm oranı çok yüksektir. Uygulanabilirliği, RAPD tekniğine göre kolay olmasa da RFLP tekniğine göre çok kolaydır. Kuruluş aşamasında maliyet gerektirir. Masraf, iş gücü gereksinimi ve güvenilirliği RAPD ve RFLP arasında yer alır (**Maughan ve ark., 1995**).

ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats)

RAPD ile maliyeti hemen aynı olan ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) (**Zietjiewicz ve ark., 1994**) tekniği RAPD'e göre oldukça güvenilir, tekrarlanabilirlik oranı yüksek ve PCR koşullarından çok etkilenmeyen bir tekniktir. Bu teknik genetik çeşitlilik, sınıflandırma, moleküler markır bulma çalışmaları, evrim ve genom haritası oluşturma çalışmalarında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (**Fang ve Roose, 1997**).

SSR (Simple Sequence Repeat)

SSR (Simple Sequence Repeat) markırları ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır (**Hamada ve ark., 1982; Weber, 1990**). Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler nedeni ile oldukça polimorfiktir (**Gupta ve ark., 1994**).

Mikrosatellitler kodominant kalıtım özelliği göstermeleri, lokusa özgü olmaları, yüksek bilgi içeriğine sahip olmaları ve PCR ile kolayca tespit edilebilmeleri gibi birçok özellikleri ile tercih edilen bir moleküler belirleyici grubudur. Mikrosatellitler ile ilgili en belirgin dezavantaj ise bir türe ait yeni mikrosatellitlerin elde edilmesidir. Bu işlem çoğunlukla zaman alıcı olup fazla miktarda emek gerektirir (**Büyükcinal Bal, 2003**).

SRAP (Sequence Related Amplified Polimorphism)

SRAP, Li ve Quiros tarafından 2001 yılında ORFs denilen çekirdek sekansları baz alınarak uygulanan bir tekniktir. Teknik genomun kodlanan bölgelerinin seçilmesi esasına dayanır. SRAP, RAPD benzeri bir yöntemdir. Polimorfik, otomasyona uygun, uygulanması kolay, güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği yüksektir. RAPD'e göre daha spesifik bölgeleri taramaktadır. Elde edilen fragmentlerin jellerden izolasyonu kolaydır. Dezavantajları RAPD'in aksine özel primer dizilimi istemesidir.

SRAP PCR tekniği, DNA'daki açık okuma bölgeleri dediğimiz (ORFs) bölgelerinin çoğaltılması esasına dayanır. SRAP primerleri geliştirirken ilk önce çekirdekte CCGG bazlarını kullanarak (ORF) bölgelerindeki eksonlar hedef alınır. Forward primeri 17 nükleotit, Reverse primeri 18 nükleotit uzunluğundadır. Reverse primerleri DNA'nın intron ve promoter bölgelerini, Forward primeri ise DNA'nın ekson bölgelerini amplifiye eder. Forward primerlerinde 5' ucundaki 14, Reverse primerlerinde 15 nükleotit aynıdır, 3' ucuna yakın olan üç nükleotit tesadüfi seçim sonucu oluşturulmuştur. Primerin başındaki 10 veya 11 nükleotitten sonra gelen dört nükleotit dizini Forward primerinde CCGG dizinine; Reverse primerinde AATT primer dizinine sahiptir.

Forward primeri

me1, 5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3'

me2, 5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3'

Reverse primeri

em1, 5'GACTGCGTACGAATTAAT-3'

em2, 5'GACTGCGTACGAATTTGC-3'

SRAP markırlarının % 20'si co-dominant markır özelliği taşımaktadır. Bu teknik *Brassica oleracea*'ya ait rekombinant hatlar ile di-haploid hatlar üzerinde çalışılmıştır. Jelden izole edilen bantların % 45'i dizilim analizinden sonra Gen bankasında bulunan bilinen genler ile eşleşmiş olduğu bildirilmiştir. Dizilim analizinden sonra SRAP markırlarının % 20'sinin co-dominant olduğunu ve

SRAP ile *Brassica*'da bulunan *glucosinolate desaturation* genini (BoGLS-ALK) işaretlediklerini belirtmişlerdir.

PCR Döngü Koşulları

94 °C	→ 5 dk	
94 °C	→ 1 dk	} 5döngü
35 °C	→ 1 dk	
72 °C	→ 2 dk	
50 °C	→ annealing	→ 35 döngü
72 °C	→ 2 dk	

SRAP'ın PCR döngü programında ilk önce primerlerin yapışma sıcaklığı olan 35°C'de 40 döngü gerçekleştirilmiş ama istenilen oranda keskin bantlar elde edilememiştir. Araştırmacılar daha sonraki denemelerinde 35 °C'de 5 döngü sonucunda primerin DNA'ya yapıştığına emin olduktan sonra sıcaklığı 50 °C'ye çıkartarak bu şekilde 35 döngü gerçekleştirmişlerdir. Bu PCR protokolü sonucunda istenilen oranda keskin bantlar elde edilmiştir. PCR ürünleri Poliakrilamid jel veya konsantrasyonu yüksek agaroz jelde görüntülenebilmektedir (**Li ve Quiros 2001**).

DNA markırları kullanılarak genetik çeşitlilik araştırılabilir. Örneğin birbirine çok yakın olan kültür çeşitleri ayrılabilir ve tanımlanabilir. Türlerin taksonomik tanımlanması yapılabilir ve filogenetik akrabalıkları bulunabilir (**Lowe ve ark., 1996**).

DNA teknolojilerinde moleküler markırların kullanımı dünyada olduğu gibi ülkemizde de hızla gelişme göstermektedir. Moleküler markırların kullanım alanlarının başında bitki ıslahı, gen kaynakların karakterizasyonu, bitki tür, çeşit ve tiplerinin genetik olarak ismine uygunluğunun araştırılması çalışmaları gelmektedir.

Avokado orijinlerine göre Meksika, Guetemala, Antil olmak üzere 3 ırka ayrılmıştır. Bu ırklar morfolojik, fizyolojik ve bitki özelliklerine göre, ayrıca farklı ekolojik koşullara ve farklı iklimlere adapte olmasına göre ayrılmaktadırlar. Bu taksonomik sınıflandırma üzerine son 10-15 yıldır izoenzim, RFLP ve diğer DNA markır sistemleri ile araştırmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir.

2.2 Avokado Çeşitlerinde Yapılan Morfolojik Çalışmalar

Kopp (1966) morfolojik parametreler kullanarak, **Ben-Ya'acov (1992)** ise DNA markırları kullanarak Guatemala ve Antil ırklarının bir botaniksel varyete içine almış ve Meksika ırkını diğerlerinden ayırmıştır.

Rhodes (1971) avokadoları sınıflandırmak amacıyla morfolojik özelliklerle ilgili detaylı çalışmalar yapmıştır. Çalışılan genotipler hemen hemen 3 ırkı temsil edecek şekilde 3 gruba ayrılmıştır.

Torres ve Bergh (1980) ile **Goldring ve ark. (1985)** alloenzim varyasyonları çalışmışlar fakat taksonomik problemleri çözümleyememişlerdir.

Duceller ve Rey (1989) 1974-1985 yılları arasında Batı Kamerun'da yaptıkları çalışmada 10 avokado çeşidini karşılaştırmışlardır. Büyüme, çiçeklenme ve olgunlaşma dönemleri ile *Cercospora* hastalığına duyarlılıkları üzerine çalışmışlardır. Hickson çeşidi diğer tüm çeşitlerden üstün bulunmuştur. Kümülatif verim bakımından Hickson çeşidinden en yüksek verim (1000 kg/ağaç'tan fazla) alınmıştır. Bu çeşidi ise Booth 8 izlemiştir. Itzanna çeşidi ise en düşük verime (200 kg./ağaç'tan az) sahip çeşit olarak belirlenmiştir. Hickson iyi kaliteli meyvelere, düzenli verime ve *Cercospora*'ya dayanıklılık göstermiştir. En iri meyveler Hickson ve Nabal çeşitlerinde elde edilmiştir.

Ramishvili (1991) avokadoların Batı Gürcistan'ın bazı bölgelerinde başarılı bir şekilde yetiştirildiğini bildirmektedir. Çok soğuk kış koşullarından sonra ağaçların büyük zararlar görmediklerini, 3-4 yıl sonra ürün alınabildiğini belirtmektedir. Gürcistan koşullarında avokadolar dikimden dört yıl sonra meyve vermeye başlamakta ve meyvelerini Ekim sonu Kasım başı arasında olgunlaştırmaktadırlar. Mexicola çeşidinin erkenci olduğunu belirten araştırmacı Gürcistan'da avokadonun ticari başarısının soğuklara aşırı duyarlılığı nedeniyle sınırlı olduğunu bildirmektedir.

Rouse ve ark. (1991) yaptıkları çalışmada, Teksas'ın Lower Grande Vadisi'nde Teksas, Kaliforniya ve Florida'dan getirdikleri 36 avokado çeşidini incelemişlerdir. 1989'daki şiddetli donlardan önce bu çeşitlerden 25 tanesinin meyve karakterlerini ve kalitelerini değerlendirmişlerdir. İlk ürün yılında düşük verimli

olarak bulunmalarına rağmen Ettinger ve eylül başında olgunlaşan WA-2-3-27 çeşitleri potansiyel çeşit olarak bulunmuştur. WB-3-14-14, Nesbitt, Taylor ve Reed çeşitleri daha ilerdeki değerlendirmeler için garantili olmuşlardır. Tüm seleksiyonlar düşük lifli, fındık ve tereyağı tadına sahip ve antraknoza (*Colletotrichum gloeosporioides*) yakalanma olasılıkları düşük olarak bulunmuştur. Meyve ağırlığının 255-400 g. arasında değiştiğini, yağ içeriğinin ortalama %14 olduğunu ve WA-2-3-27 çeşidi haricinde verimliliğin orta ile yüksek değerler arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar antraknoza dayanım ile kabuk kalınlığı arasında bir ilişkinin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu çeşitlerin -3 °C ya da -4 °C'de yaşayabildiklerini ve Güney Teksas'ta uzun yıllar meyve verebileceklerini belirlemişlerdir.

Kremer ve ark. (1992) Duke 7 ya da G 6 üzerine aşılı Füerte; Duke 7, G 6 ve G 755 C üzerine aşılı Hass çeşitlerinin verim ve meyve kalitelerini 4 yıl boyunca incelemişlerdir. Hass çeşidinin Fuerte'den daha erkenci olduğunu ve meyve içi kalitesinin Füerte'den daha iyi olduğunu bulmuşlardır.

Demirkol (2001) 1988-1997 yılları arasında Serik (Antalya) ekolojik koşullarında 27 avokado çeşidinin ağaçlarının 3. yaşından itibaren ağaç özellikleri, dikimden itibaren de çeşitlerin iklim koşullarından etkilenme durumları belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; Ettinger, Bacon ve Zutano'nun dikine büyüme eğilimi gösterdikleri, Fuerte, Duke, Clifton, Teague, Nowels, Hass ve Regina çeşitlerinin yayvan bir taç oluşturdukları, Pincerton, Rincon, Corona ve Reed çeşitlerinin nispeten küçük bir taç oluşturduğu, diğer çeşitlerin dağınık bir gelişme eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

Bayram ve ark. (2006) 1989-2004 yılları arasında BATEM'de toplam 42 çeşit üzerinde çalışmışlardır. 'Ettinger' çeşidi meyve özellikleri (yüksek yağ ve kuru ağırlık içeriği) ve soğuğa karşı toleransının iyi olmasından dolayı, ilk giren 'Bacon', 'Fuerte', 'Hass' ve 'Zutano' çeşitleri ile birlikte ticari yetiştiricilik için tavsiye edilmiştir.

2.3. Avokado Çeşitlerinde Yapılan Moleküler Çalışmalar

Clegg ve ark. (1989) avokado çeşitlerini tanımlamak amacıyla yaptıkları çalışmada moleküler markır geliştirmişlerdir. Önceki çalışmalarda avokado (*Persea americana*) için geliştirilen moleküler markır uygulamalarının kök çürüklüğü 67555 ve *Persea americana* var. *guatemalensis*'in orijinal hibrit olabilecekleri belirtilmiştir. Kırk altı genotipin bazılarının üç botaniksel ırk *P. americana* (*guatemalensis*, *americana* ve *drymifolia*) içerisinde bulunduğunu görmüşlerdir. Genotipleri tanımlamada RFLP yöntemini kullanmışlardır. DNA fragmentlerini genom haritalama ve örnek tanımlama amacıyla plazmit vektörleriyle kopyalamışlardır. On beş klonu karakterize etmiş, tek kopya sekanslı 11 genotipi polimorfik bulurken, 3 ırk içindeki genotiplerin yüksek polimorfizme sahip çoklu kopya sekanslı olduklarını belirtmişlerdir.

Furnier ve ark. (1990) avokadoda filogenetik çalışmalar yapmak amacıyla kloroplast DNA ve ribozomal DNA'nın RFLP markırlarını kullanmışlardır. Araştırmacıların sonuçları, Berg ve ark. (1973)'nin avokadolarda yapmış oldukları sınıflandırma ile uyumlu bulunmuştur.

Lavi ve ark. (1991) avokado genetik kaynaklarını minisatellit markırları kullanarak tanımlamışlardır. Bu çalışmada; ırklar arasındaki farklılığı ortaya koymuşlar, 26 avokado genotipine ait DNA parmakizlerini belirlemişlerdir.

Lewis ve ark. (1992) Hass, Fuerte ve Edranol çeşitlerinin aralarındaki ilişkiye RAPD DNA markırları ile bakmışlardır. Avokado DNA'sının benzer sekans bölgelerinden DNA primerini tasarlamışlardır. PCR ürünlerini elektroforez ile ayırmış ve bantların varlığına ve yokluğuna bakarak analiz etmişlerdir. Yaptıkları analiz sonucunda Fuerte ve Edranol çeşitlerinin birbirleri ile yakın ilişkili olduklarını saptamışlardır. RAPD markırlarının linkage genetik harita oluşturmada büyük avantaj sağlayacağını belirtmişlerdir.

Lavi ve ark. (1994) SSR markırlarını avokado genomik DNA kütüphanesini baz alarak tasarlamış ve kütüphane de bulunan 4 dinükleotit probunu (AG), (AT), (GC) ve (CA) taramışlardır. PCR primerlerini tasarlarken SSR sekans bölgelerinin yanındaki sekans bölgelerini baz almışlardır. Başlangıçta taradıkları SSR primerleri

içerisinden 26 primer çiftini kullanmışlardır. SSR A3F8 primerinde 8 allel bulunurken, SSR A1E11 primerinde 11 allel bulunmuştur. SSR markırları ile mendelyen tarzı açılımı gözlemişlerdir.

Mhameed ve ark. (1996)'nın yaptıkları bir çalışmada VNTR (variable number of tandem repeat) markırları kendilenmiş ve melez bireylerde kullanılmıştır. SSR markırları ile 5 avokado çeşidinde 59 lokus elde edilmiştir. Ortalama heterozigoti 0.50 ile 0.66 arasında değişirken, gen çeşitliliği 0.42 ile 0.66 olarak belirlenmiştir.

Mhameed ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada minisatellit DNA markırlarını kullanarak 24 avokado genotipi arasındaki ilişkileri saptamışlardır. Kullanılan DNA parmak izi yöntemi ve SSR allelleriyle 3 *Persea americana* ırkları ve çeşitler arasındaki ilişkiyi karşılaştırmışlardır. *Persea americana* ırkları ve avokado çeşitleri arasındaki varyasyon değerinin yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Orjinleri bilinmeyen sekiz çeşidin özellikleri filogenetik analiz yapılmıştır. Genotiplerin orjinlerini belirlemede üç ırkı birbirinden ayırmamıza yardımcı olan altı morfolojik özellik karşılaştırılmıştır. On bir genotipin *Persea* genotipleri ve ırkları arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla SSR markırını kullanmışlardır. Filogenetik ağaçların bulunduğu görülmüştür. Genotipler ve ırklar arasındaki ilişkiyi belirleme ve genotipleri tanımlamada, uygulanan yöntemin geçerliliğinin yüksek olduğunu saptamışlardır.

Sharon ve ark. (1997) avokado da genetik haritaların oluşturulmasında kullanılmak üzere mikrosatellit primerleri geliştirmişlerdir. 50 polimorfik SSR, 17 RAPD, 3 minisatellit DNA Fingerprint (DFP) markırları genetik harita oluşturmada kullanılmıştır. Avokado gen kütüphanesinden mikrosatellit tekrarları araştırmış ve (A/T)_n ve (TC/AG)_n sekanslarının sık tekrarlandığını görmüşlerdir. SSR içindeki 172 pozitif klonun 113'nü başarılı bir şekilde sekanslanmıştır. PCR primerlerini 62 klonunu SSR bölgelerinin yanında yer alan sekansları baz alarak dizayn etmişlerdir. Avokado DNA sekanslarını gen bankasını araştırarak (CT) 10 tekrarlı sekanslarından birini göstermişlerdir. 92 spesifik avokado SSR markırını Pincerton ve Ettinger çeşitleri arasındaki melez 50 genotipin polimorfizm değerlerini bulmada kullanmışlardır. Sonuçlar için heterozigoti progenlerine uygun olan çeşit haritalama

programlarını kullanmışlardır. On iki linkage grubunu 352,6 cM'lık alanı kapsayan 34 markır (25 SSR, 3 RAPD ve 6 DFP) ile analiz etmişlerdir.

Sharon ve ark. (1998) RAPD, DNA parmak izi (DFP) ve SSR markırlarını kullanarak sekiz avokado çeşidinin meyve özelliğini (QTLs) tanımlanmışlardır. Bu markırlarla 7 avokado meyve özelliğini QTLs ile tanımlamada kullanmışlardır. Varyans ve interval haritalama olmak üzere iki istatistiksel yöntem kullanmışlardır. Altı meyve özelliğinin 90 DNA markırının en az biri ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. İki istatistiksel yaklaşımı baz alarak QTL bantlarının varlığı ile ilişkilendirmiş ve ırkların üç linkage grup içerisinde yer aldığını bulmuşlardır. QTL'in ($P:4,4 \times 10^{-8}$) değere sahip olan SSR AVA04 markır ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Üç Linkage grubunun haplotip analizlerinin lokuslarının allelleri arasındaki dominant ilişkileri gösterdiğini belirtmişlerdir.

Fiedler ve ark. (1998), avokado da 3 ırkı temsil eden 16 genotipi RAPD markırları ile tanımlamışlardır. Başlangıçta toplam 71 RAPD primeri kullanılmış, bu primerlerden 22 primer istenilen amplifikasyonu ve polimorfik bant desenlerini vermiştir. Yirmi iki primer ile 16 genotipin amplifikasyonu sonucunda 113 DNA bandı skorlanmıştır. Bu bantlardan 111 tanesi polimorfik (% 83) ve 22 tanesi ise monomorfik bulunmuştur. Avokado genotipleri arasındaki genetik benzerlik % 46 ile % 85 arasında değişmiştir. En düşük benzerlik oranı *P. schiedeana* ile *P. americana* arasında tespit edilmiştir (% 22 ve % 29). Meksika ırkında ortalama benzerlik oranı (% 75), Antil genotipleri arasında % 71 ve Guatemala genotipleri arasında % 73 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ırklara özgü RAPD primerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ırklar arasındaki genetik benzerliklerin % 53 ile % 58 arasında değiştiği bildirilmiştir. RAPD markırlarının avokado genetik kaynaklarının karakterizasyonunda kullanılabilir bir markır olduğu vurgulanmıştır.

Davis ve ark. (1998), Kalifornia Üniversite'sinden 36 avokado çeşidinde yapmış oldukları moleküler karakterizasyon çalışmasında RFLP markırlarını kullanmışlardır. Avokado genotiplerinin genomlarında bulunan benzer DNA fragmentlerini plazmit vektörleri ile klonlamışlar ve 36 genotipin tümünü taramışlardır. On dört lokusu baz alarak genotiplerin polimorfizm değerlerini bulmuşlardır. Elde ettikleri dendogramda üç ırka ait olan örneklerin kümeler

oluşturduklarını görmüşlerdir. Genotiplerin hibridizasyon sonucu ortaya çıktığını ve dendogramda melez genotiplerin ırklar arasında küme oluşturduklarını görmüşlerdir.

Kobayashi ve ark. (2000) yaptıkları bir çalışmada: Hass çeşidi bulunan bahçelerde out cross oranını belirlemek amacıyla RAPD markır sistemlerini çalışmışlardır. Çalışmada, polen kaynağı olan Bacon, Fuerte ve Zutano çeşitlerine özgü spesifik RAPD primerleri araştırılmıştır.

Schenell ve ark. (2003) Florida'da bulunan Ulusal Genetik Kaynaklar koleksiyonundaki 224 genotip ile Kalifornia'da bulunan Güney Sahilleri Araştırma İstasyonu'ndan edindikleri 34 klonu mikrosatellit markırları kullanarak karakterize etmişlerdir. Kullanılan 14 mikrosatellit markırı ile lokus başına düşen allel sayısı 18.8 olarak belirlenmiştir. Koleksiyondaki yanlış etiketleme veya aşılama gibi çoğaltma hataları, yaklaşık % 7 olarak belirlenmiştir.

Taah ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada; Gana'da bulunan avokado çeşitlerinin morfolojik ve moleküler tanımlanmasını gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar, bu bölgede tüm avokado ırklarının bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada moleküler yöntem olarak AFLP markırları kullanılmış ve moleküler çalışmaların halen devam etmekte olduğu bildirilmiştir.

Ramirez ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada Küba'da yetişen avokado genotiplerini, agro-morfolojik özellikler, AFLP ve SSR markırları ile tanımlamışlardır. Avokado ırklarını sınıflandırmak amacıyla 22 agro-morfolojik özelliği Principal Compenant ve Classification Anaysis programları ile analiz etmişlerdir. Genotiplerin arasındaki farklılığı belirlemede 12 AFLP ve 16 SSR markırı kullanmışlardır. Genotiplerin arasındaki benzerliği belirlemede UPGMA genetik benzerlik indeksini kullanmışlardır. AFLP ve SSR markırlarının genotipler arasındaki benzerlikleri saptamada ve polimorfizmi belirlemede iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. SSR markırlarının yüksek heterozigoti seviyesine sahip olduğunu bulmuşlardır. Antil, Guetamala ırkları ve onlara ait hibritlerin beklediklerinden farklı yerlerde kümelendiğini görmüşlerdir. AFLP, SSR markırlarının ve fenotipik özelliklerin korelasyonuna bakarak, genotiplerin benzerlik derecesini belirlemeye çalışmışlardır. Avokado genotiplerinin benzerlik derecelerini saptamada AFLP ve SSR markırlarının yararının tartışılması gerektiğini ileri sürmektedirler.

Borrone ve ark (2006) *Persea americana* Miller'a ait genotipleri tanımlamada kullanılabilecek SSR markırları geliştirmişlerdir. Avokadoların hedef sekanslarını taramış ve 6183 sekans bilgisinin içerisinde büyüklükleri baz alınarak 100'ünü kullanmışlardır. Avokadonun genetik haritasını oluşturmak amacıyla 100 SSR markırı kullanmışlardır.

Borrone ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada avokadoda kullanılabılır mikrosatellit sayısını arttırmak amacıyla 27 avokado genotipinden 70 SSR markırı karakterize etmişlerdir. Elde edilen allel sayıları 2 ile 17 arasında değişirken, lokus başına düşen allel sayısı 17.1 olarak belirlenmiştir. İzole edilen primerlerin genetik karakterizasyon, haritalama, markırlar yardımı ile seleksiyon çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişleridir.

Alcaraz ve Horiza (2007) İspanya'nın Malaga bölgesinin E.E.la Mayara bölümünde bulunan 75 avokado genotipini, 16 SSR markırı ile karakterize etmişlerdir. Elde ettikleri 156 fragmentin allel ortalamasını 9.75 ve her bir lokusun 4 ile 16 arasında olduğunu bulmuşlardır. SSR markırlarının 0.36'dan daha aşağıda olduğu belirtilen heterozigoti seviyesinin 0,5'den daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. SSRs'in 0.18 heterozigoti ortalamasını pozitif Wright's tespit indeksi (F) ile 16 lokusun 15'inde görmüşlerdir. Nei ve Li benzerlik indesini baz alarak UPGMA programını kullanarak dendogram oluşturmuşlardır. Dendogramda avokado genotiplerinin içerisinde hibrit çeşitlerin fazla olması nedeniyle bootstrap değerinin düşük olduğunu ve genotiplerin ırklarından farklı gruplarda bulunarak sınıflandırıldığını belirtmişlerdir. Çalışılan genotiplerin tümünü 'Hass' ve eklenen iki çeşidin mutasyonları hariç kullanılan SSRs kombinasyonları ile ayırmışlardır. SSRs kombinasyonlarının avokado genotiplerini karakterize etmede bilgi verici olduğunu belirtmişlerdir.

Acheampong ve ark. (2008) Gana 'da yetiştirilen avokadolarda orjin ve genetik ilişkileri araştırmak amacıyla 172 avokado populasyonu ve 24 avokado genotipi 12 SSR markırını kullanarak moleküler karakterizasyon yapmışlardır. Araştırmacıların kullanmış oldukları populasyon Batı Indian ırkına yakın bulunur iken Meksika ve Guetemala ırklarına uzak bulunmuştur. Populasyon içindeki genetik çeşitlilik düşük bulunmuştur.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM**3.1. Bitkisel Materyal**

Araştırma Ç.Ü Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği arazisinde avokado parseli 1'e 1980 yılında 8×8 m aralıklarla dikilmiş 13 çeşit; Blake (7), Füerte (5), Bacon (5), Nowels (5), Mexicola (5), Teague (5), Clifton (5), Regina (4), Mesa (4), Rincon (3), Hass (3), Anahaim (3), Zutano (3) ve 1981 yılında parsel 2'ye 7×7 m aralıklarla dikilmiş 4 çeşit ;Würtz (5), Ettinger (5), Corona (2),WW5 (1) ve 1987-89 yılında parsel 3'e 6×6 m aralıklarla dikilmiş 3 çeşit; Topa Topa (7), Stewart (5), Reed 3432 (4), olmak üzere toplam 20 çeşit üzerinde yürütülmüştür. Tez çalışması kapsamında kullanılan avokado çeşitleri, çeşit özellikleri aşağıda verilmiştir.

FUERTE: Meksika x Guatemala melezidir. 1911 yılında Meksika'da bulunmuştur. 1913 yılında Kaliforniya'daki aşırı soğuklara dayandığı için kuvvetli anlamına gelen 'Füerte' ismi verilmiştir. Ağaçları kuvvetli, iri ve dağınık büyümektedir. Soğuklara oldukça dayanıklıdır (**Şekil 3.1.**). Yapraklarında anason kokusu bulunmaktadır. Meyveleri armut şekilli fakat değişik uzunlukta boyunlu, orta-iri (170-500 g) meyveli, meyve kabuğu hafif pürüzlü, yeşil, sert, ince ve soyulması kolaydır. Olgunluk zamanı Kasım-Haziran ayları arasındadır. Çiçek grubu olarak B grubundadır. Ticari değeri yüksek ve taşımaya uygunluğu iyidir (**Tuzcu, 1996**).



Şekil 3.1. Fuerte Çeşidi (Anonim, 2008)

ZUTANO: Meksika x Guatemala melezidir. 1926 yılında Kaliforniya'da bulunmuştur. Meyveleri armut şekilli, orta-küçük (200-400 g) irilikte, meyve kabuğu açık yeşil renkli ve incedir (**Şekil 3.2.**). Meyve kalitesi çok iyi değildir. Olgunlaşma zamanı Aralık-Ocak aylarıdır. Hem sahil bölgelerde hem de iç bölgelerde yüksek

verimlidir. Soğuklara dayanıklı büyük ağaçlar meydana getirir. Çiçek grubu olarak B grubudur. En önemli özelliklerinden biri dik büyüyen bir taç yapısına sahip olmasıdır (Tuzcu, 1996).



Şekil 3.2. Zutano Çeşidi (Anonim, 2008)

BACON: Meksika x Guatemala melezidir. Meyve ağırlığı yaklaşık 300 g dır. Çekirdeği küçük, meyve oval-armut şekillidir. Meyve kabuğu yeşil ve orta ince kalınlıkta ancak hafif derimsi ve dayanıklıdır (Şekil 3.3). Olgunlaşma dönemi Ekim-Şubat ayları arasındadır. Özellikle sahil kesimlerinde yetiştirilmeye daha uygundur. Çiçek grubu olarak B grubundadır. Avokadolar içerisinde soğuklara dayanıklı bir çeşittir. Ağaç büyüklüğü orta, dik büyüme eğiliminde olan bir çeşittir (Tuzcu, 1996).



Şekil 3. 3. Bacon Çeşidi (Anonim, 2008).

HASS: Guatemala ırkındadır. Bununla birlikte bazı Meksika ırkı genlerini taşımaktadır. Meyve ağırlığı 300 g dolayındadır. Çekirdek evi küçük, meyve eti randımanı yüksektir. Meyve kesik armut şekillidir. Meyve kabuğu yeşil, olgunluk ilerledikçe mor rengini alır. Meyve kabuğu hafif pürüzlü ve parlaktır (Şekil 3.4.). Olgunlaşma Haziran-Kasım ayları arasındadır. Çiçek grubu olarak A grubundadır. Hem iç hem de sahil bölgelerinde verimi yüksek, tacı orta büyüklükte ve soğuklara dayanıklıdır (Tuzcu, 1996).



Şekil 3.4. Hass Çeşidi (Anonim, 2008).

ETTİNGER: Ağırlıklı olarak **Meksika** ırkındandır. Füerte çöğürlerinin seleksiyonu ile elde edilmiştir. Meyve ağırlığı yaklaşık 300 g'dır. Meyve armut şekilli ve çekirdek evi küçüktür. Meyve kabuğu orta inceliktedir (**Şekil 3.5.**). Olgunlaşma zamanı Eylül-Aralık ayları arasındadır. Çiçek grubu olarak B grubundandır. Hem iç hem sahil bölgelerinde verimli fakat periyodisiteye eğilimli bir çeşittir. Soğuklara dayanıklıdır (**Tuzcu, 1996**).



Şekil 3.5. Ettinger Çeşidi (Anonim, 2008).

WÜRTZ: **Meksika** × **Guatemala** melezidir. Çiçek grubu olarak A grubundandır. Ağaç şekli yayvan, şekil verilmesi zor ve yavaş büyüme eğilimi gösteren bir çeşittir. Meyve kabuğu koyu yeşildir (**Şekil 3.6.**). Meyveler orta büyüklükte ve yaklaşık 280 g ağırlığındadır. Olgunlaşma dönemi Temmuz ayıdır (**Tuzcu, 1996**).



Şekil 3.6. Würtz çeşidi (Anonim, 2008).

RİNCON: **Meksika** × **Guatemala** melezidir. Çiçek grubu olarak A grubundandır. Meyveler yaklaşık olarak 280 g ağırlığındadır. Meyve kabuk rengi yeşil, meyve eti

kaliteli sahil bölgeleri için uygun bir çeşittir. Olgunlaşma dönemi Ocak ayıdır (Tuzcu, 1996).

NOWELS: Meksika × Guatemala melezidir. Meyve ağırlığı yaklaşık 280 g'dır. Çekirdek evi küçük, meyve etinin randımanı yüksek ve tadı iyidir. Meyve armut şeklinde, kabuğu yeşil renkli ve orta kalınlıktadır. Ekim-Aralık ayında olgunlaşır. Çiçek grubu olarak A grubundandır. İç bölgelerde verimliliği yüksektir. Soğuklara dayanıklılığı orta derecedir. Küçük ağaçlar oluşturur (Tuzcu, 1996).

REGİNA: Guatemala ırkındandır. Meyve ağırlığı ortalama 120-250 g'dır. Meyve armut şeklinde ve meyve kabuk rengi yeşildir. Çiçek grubu olarak B grubundandır. Meyvesi kalitelidir, %15-20 yağ içerir. Şiddetli periyodisite gösterir. Soğuklara nispeten dayanıklıdır. Ağacı yayvan gelişir (Tuzcu, 1996).

TEAGUE: Meksika ırkındandır. Meyve ağırlığı yaklaşık 400 g'dır. Meyve kalitesi iyidir. Meyve şekli oval olup kabuğu yeşil renkli, orta kalınlıkta, parlak ve pürüzsüzdür. Çekirdek evi orta büyüklüktedir. Kasım-Aralık aylarında olgunlaşır. Çiçek grubu olarak B grubundandır. İç ve sahil bölgelerinde verimliliği iyidir. Soğuklara çok dayanıklıdır. Orta büyüklükte ağaçlar oluşturur ve dağınık taç yapar (Tuzcu, 1996).

MESA: Guatemala ırkındandır. Meyve ağırlığı yaklaşık 280 g'dır. Meyve kalitesi iyi, çekirdek evi geniştir. Meyve oval şekilli, kabuğu orta kalınlıkta ve yeşildir. Mayıs-Temmuz aylarında olgunlaşır. Çiçek grubu olarak A grubundandır. İç ve sahil bölgelerinde iyi gelişme gösterir. Büyük ve dik ağaçlar oluşturmaktadır (Tuzcu, 1996).

CORONA: Guatemala ırkındandır. Meyve ağırlığı yaklaşık 200 g'dır. Meyve kalitesi iyi, çekirdek evi orta büyüklüktedir. Çiçek grubu olarak A grubundandır. Meyve şekli oval olup yeşil renklidir (Tuzcu, 1996).

ANAHEİM: Kaliforniya orjinlidir. **Guatemala** ırkındandır. Soğuklara duyarlı, ince uzun dik ağaçlara sahiptir. Çiçek grubu A dır. Meyve şekli oval, meyve kalitesi iyidir. Meyve etindeki yağ oranı % 12'dir (Anonim, 2008a).

TOPA TOPA: Meksika ırkındandır. E.S. Thatcher, Ojai, 1912 orijinlidir. Kuvvetli, sütun şeklinde ağaçlara sahiptir. Çiçek grubu A dır. Meyve şekilleri oval, orta

büyükölüktedir. Meyve kalitesi düşük, meyve içindeki yağ oranı % 15'tir (**Anonim, 2008a**).

MEXİCOLA: Meksika ırkındandır. Coolidge, Pasadena orijinlidir. Ağaçları uzun, kuvvetli; taçları yayvandır. Çiçek grubu A'dır. Meyve kalitesi yüksek, çekirdek evi büyüktür. Meyve şekli oval ve küçüktür. Daha çok anaç olarak kullanılır (**Anonim, 2008a**).

STEWART: Meksika ırkındandır. Soğuklara dayanıklıdır. Ağaçları küçük ve yayvandır. Meyveleri armut şeklindedir. A çiçek grubundandır. Meyve kalitesi yüksektir (**Anonim, 2008a**).

CLİFTON: Meksika ırkındandır. Kaliforniya orjinlidir. Meyveleri büyük, yüzeyleri pürüzlüdür. Çiçek grubu A dır. Meyve şekli oval, rengi yeşildir (**Anonim, 2008b**).

REED 3432: Guatemala ırkındandır. A tipi çiçeklenme gösterir. Meyve şekli küremsidir. Meyve kabuğu orta kalınlıkta, hafif pürüzlü ve esnektir. Anaheim x Nabal çeşitlerinin melezi. Oldukça verimlidir ve periyodisite göstermez. Soğuga karşı olan dayanıklılığı 'Hass' çeşidine benzer özellik gösterir (**Anonim, 2008a**).

WW5: Meksika × Guatemala melezi olduğu sanılmaktadır. Ağaçları 10-11 metreye kadar uzayan daire şeklinde ve yaygın görünümüdür. Çiçek grubu A'dır. Meyve şekli oval olup, küçük çekirdeklidir (**Tuzcu, 1996**).

BLAKE: Meksika ırkındandır. A tipi çiçeklenme gösterir. Meyveleri oval, orta büyüklükte ince kabuklu, koyu yeşil renklidir. Yağ içeriği düşüktür (% 4-9). Soğuklara tolerans gösterir (**Newett, 2002**).

Tez kapsamında kullanılan avokado çeşitlerinin kökenleri **Çizelge 3.1**'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez Kapsamında Kullanılan Avokado Çeşitleri

Genotip	İrk	Çiçek Tipi	Referans
Füerte	G X M	B	Ashworth and Clegg 2003
Bacon	G X M/M	B	Ashworth and Clegg 2003/Schnell et al.2003
Zutano	G X M	B	Schnell et al.2003.
Mexicola	M	A	Schnell et al.2003.
Teague	G X M/M	B	Schnell et al.2003./Newett et al. 2002.
Anahaim	G	A	Schnell et al.2003.
Blake	M	A	Newett et al. 2002
Reed 3432	G	A	Schnell et al.2003.
Regina	G X M/G	B	Tuzcu 1996/Newett et al 2002
Mesa	G	A	Tuzcu 1996/Newett et al 2002
Stewart	M	A	Tuzcu, 1996
Nowels	G X M	A	Tuzcu, 1996
Ettinger	G X M/M	B	Ashworth and Clegg 2003/Newett et al. 2002.
Clifton	M	A	Tuzcu, 1996
Würtz	G X M	A	Newett et al. 2002.
Rincon	G X M	A	Tuzcu, 1996
Hass	G X M/G	A	Schnell et al.2003./Ashnell et al.2003
Topa Topa	M	A	Ashworth and Clegg 2003/Schnell et al.2003
Corona	G	A	Tuzcu, 1996
WW5	G X M	A	Tuzcu, 1996

3.2. Metot

Tez çalışması kapsamında bazı avokado çeşitlerinde morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar ayrı başlıklar altında aşağıda belirtilmiştir.

3.2.1. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları**3.2.1.1. DNA İzolasyonu**

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümüne ait Avokado Parseli'nden alınan yaprak örneklerinden DNA izolasyonu, Ç.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonlarını gerçekleştirmek amacıyla polifenollerin ve DNA'yı kontamine eden diğer bileşiklerin nispeten az bulunduğu taze yapraklar alınmıştır.

DNA izolasyonu için alınan örnekler alüminyum folyoya sarılarak sıvı azotta -196 °C'de dondurmuş ve -85 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonunda CTAB DNA izolasyon protokolü kullanılmıştır. İzole edilen DNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiş, DNA'ların miktar ve kaliteleri Nanodrop ND-1000 Spektrofotometre cihazında ölçülmüştür.

Kullanılan Malzemeler

- Havan
- Su banyosu
- Santrifüj
- UV-1601 spektrometre (ND-1000)
- sıvı azot
- Ekstraksiyon buffer: 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.5 mM NaCl, 50 mM EDTA (pH 8.0),
% 0.5 mercaptoethanol, %1.5 (w/v) CTAB
- Chloroform-isoamyl alcohol (24%:1)
- Phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1)

- TE buffer (pH 8.0): 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA
- 10 mg/mL RNase A (free of DNase)
- Ethanol
- 5 M NaCl
- 70% ethanol

DNA İzolasyon Protokolü

- 1- 0.1 gr alınan yaprak örnekleri sıvı azotla havan içerisinde öğütülür (**Şekil 3. 7. A**),
- 2- Öğütülen yaprak örnekleri 1.5 ml'lik ependof tüplere aktarılır,
- 3- Her bir tüpün içerisine 400µl CTAB ekstraksiyon bufferı eklenir (400µl CTAB ekstraksiyon bufferın içerisinde 396 ml CTAB, 4µl β-mercaptoetanol bulunmaktadır).
- 4- Tüpler homojenizasyon sağlanana kadar karıştırılır,
- 5- Karıştırılma işlemi bittikten sonra 65 °C'de 20 dk. inkübe edilir. Bu işlem sırasında tüpler ara ara karıştırılmaya devam edilir (**Şekil 3. 7. B**),
- 6- İnkübasyon sonunda her bir tüpün içerisine 400µl kloroform:izoamilalkol (24:1) çözeltisi eklenir, 15 dk karıştırıcıda çalkalanır ve 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir (**Şekil 3.7. C**),
- 7- Yeni temiz ependof tüplere 400'er µl soğuk (-20 °C) izopropanol eklenir ve santrifüjden sonra tüplerin içindeki süpernatant kısım bir pipet yardımıyla dikkatle çekilir ve içinde izopropanol bulunan tüplere konur,
- 8- Örnekler 1 saat süreyle -20 °C'de bekletilir,
- 9- Bir saat sonra -20 °C'den çıkartılan tüpler 13000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilir
- 10- Santrifüj sonucunda süpernatant kısmı dikkatli bir şekilde dökülür, tüplerin dibinde kalan pelletin kuruması için tüpler ters çevrilir,
- 11- Tüplerin içerisine 100 µl TE buffer konularak pellet çözdürülür, bu işlemin hemen ardından her tüpe 4 µl RNase eklenir,
- 12- Tüpler hafifçe karıştırılır, 15 dk oda sıcaklığında bekletilir,
- 13- Her tüpe 500 µl (-20 °C) soğuk % 100 ethanol eklenir,

- 14- Tüpler hafifçe karıştırılarak 1 saat -20 °C’de bekletilir,
- 15- Bir saat sonra -20 °C’den çıkartılan tüpler 13000 rpm’de 5dk santrifüj edilir, tüplerin içindeki sıvı kısım döküler, pelletin kuruması için tüpler ters çevrilir (Şekil 3.7. D),
- 16- Tüplerin içerisine 100 µl TE buffer konularak pellet çözündürülür.
- 17- Örnekler PCR’da kullanılmak üzere -20 °C’de saklanır.



Şekil 3.7. DNA İzolasyon Aşamaları

3.2.1.2. RAPD Analizleri

RAPD PCR koşulları Fiedler ve ark. (1998)' na göre yapılmıştır. Avokado çeşitlerinde polimorfik olduğu bulunan ve her 3 ırkı tanımlayan toplam 22 RAPD primerleri kullanılmıştır (**Çizelge 3.2**). RAPD PCR koşulları, PCR protokolü ve primerlerin özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

RAPD PCR Protokolü

<u>Kullanılan Kimyasallar</u>	<u>Her örnek için kullanılan miktar (ul)</u>
ddH ₂ O	1.00
PCR Master Mix 2X	6.25
MgCl ₂	0.50
Taq DNA Polimeraz	0.05
Primer (30 ng)	1.25
<u>DNA (5 ng)</u>	<u>3.00</u>
Toplam Hacim	12 ul

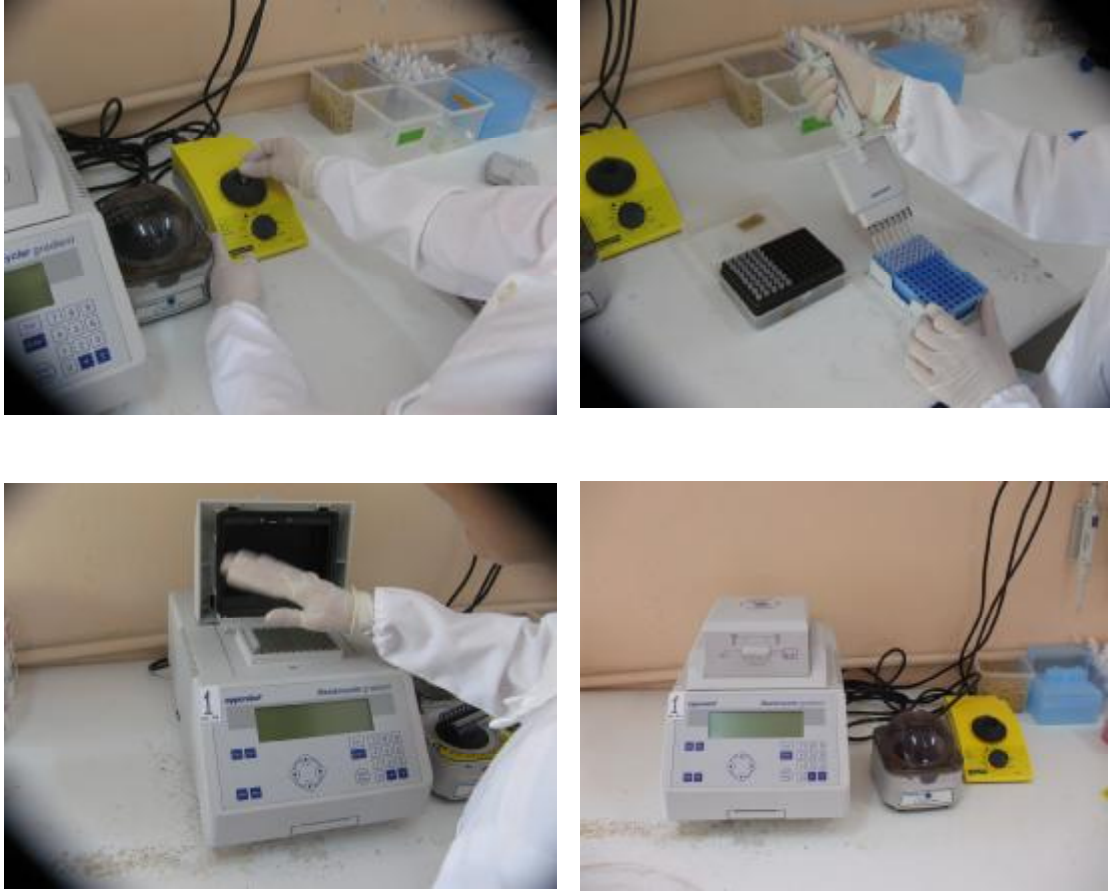
PCR Koşulları

94 °C 2 dk	ön denatürasyon	
94 °C 2 dk	denatürasyon	} 55 döngü
37 °C 1 dk	annealing	
72 °C 2 dk	polimerizasyon	
72 °C 10 dk	son yazılım	
4 °C ∞		

PCR hazırlığı ve aşamaları **Şekil 3.8**'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Tez Kapsamına Kullanılan RAPD Primer Dizinleri

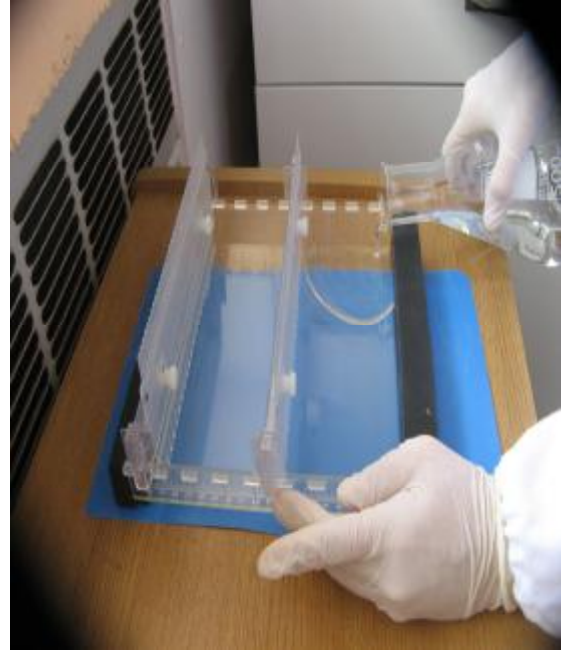
Primer Adı	Baz Dizilimi	Baz Uzunluğu
UBC 3	CCTGGGCTTA	10
UBC 8	CCTGGCGGTA	10
UBC 9	CCTGCGCTTA	10
UBC 15	CCTGGGTTTG	10
UBC 16	GGTGGCGGGA	10
UBC 20	TCCGGGTTTG	10
UBC 24	ACAGGGGTGA	10
UBC 29	CCGGCCTTAC	10
UBC 39	TTAACCGGGC	10
UBC 40	TTACCTGGGC	10
UBC 41	TTAACCGGGG	10
UBC 42	TTAACCCGGC	10
UBC 44	TTACCCCGGC	10
UBC 47	TTCCCCAAGC	10
UBC 48	TTAACGGGGA	10
UBC 52	TTCCCGGAGC	10
UBC 54	GTCCCAGAGC	10
UBC 59	TTCCGGGTGC	10
S 270	CAACCACGA	9
S 271	ATCCGCGTG	9
S 272	TGGTCACTGT	10
S 274	ATTGCGTCCA	10



Şekil 3.8. PCR Aşamaları

RAPD Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen PCR ürünlerinden 12 µl çekilerek üzerine 3 µl yükleme bufferı eklenmiş ve % 1.5'luk agaroz jel içerisinde 1XTAE (Trizma Base, Glacial Asetik Asid, EDTA (Na₂.EDTA.H₂O) buffer eklenerek 70 volt elektrik akımı altında 4 saat süreyle koşturulmuştur. Elektroforez işleminden sonra % 0.1'lik ethidium bromide ile jel boyaması yapılmıştır. RAPD analizlerinde agaroz gel elektroforez sonucunda her bir primer için bantların değerlendirilmesinde 1 kb DNA markır kullanılmıştır. Elde edilen bantların büyüklüğü 100, 250, 500, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000, 2250, 2500 bp uzunluklarındaki bantlara bakılarak değerlendirilmiştir (**Şekil 3.9.**).



Şekil 3.9. Agaroza Jel Aşamaları

3.2.1.3. SRAP Analizleri

SRAP Analizleri, Li and Quiros (2001)'e göre yapılmıştır. Çalışmada, 5 adet forward ve 6 adet reverse primerinin farklı kombinasyonları kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan primerlere ait bilgiler **Çizelge 3.3** ve **3.4'**de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. SRAP Analiz Aşamasında Kullanılan Forward Primerleri

Primer Adı	Forward Primer	Baz uzunluğu
em1	TGAGTCCAAACCGGATA	17
em2	TGAGTCCAAACCGGAGC	17
em3	TGAGTCCAAACCGGAAT	17
em4	TGAGTCCAAACCGGACC	17
em5	TGAGTCCAAACCGGAAG	17

Çizelge 3.4. SRAP Analiz Aşamasında Kullanılan Reverse Primerleri

Primer Adı	Reverse Primer	Baz uzunluğu
me1	GACTGCGTACGAATTAAT	18
me2	GACTGCGTACGAATTTGC	18
me3	GACTGCGTACGAATTGAC	18
me4	GACTGCGTACGAATTTGA	18
me5	GACTGCGTACGAATTAAC	18
me6	GACTGCGTACGAATTGCA	18

Bu çalışmada yukarıda belirtilen Forward ve Reverse primerlerinin me1/em2, me1/em3, me1/em4, me1/em5, me1/em6, me2/em1, me2/em2, me2/em3, me2/em4, me2/em5, me2/em6, me3/em1, me3/em2, me3/em3, me3/em4, me3/em5, me3/em6, me4/em1, me4/em2, me4/em3, me4/em4, me4/em5, me4/em6, me5/em1, me5/em2, me5/em3, me5/em4, me5/em5, me5/em6 olmak üzere 30 SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır.

SRAP PCR protokolü

SRAP PCR protokolü modifiye edilerek aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

<u>Kullanılan Kimyasallar</u>	<u>Her Örnek İçin Kullanılan Miktar (ul)</u>
ddH ₂ O	3.00
PCR Master Mix 2X	15.625
MgCl ₂ (1.5 µM)	1.25
Taq DNA Polimeraz (1 ünite)	0.125
Primer (0.3 µM)	1.25
<u>DNA (50 ng)</u>	<u>2.50</u>
Toplam Hacim	22 ul

PCR döngü koşulları ise aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir (Li and Quiros, 2001).

94 °C	→ 5 dk	
94 °C	→ 1 dk	} 5döngü
35 °C	→ 1 dk	
72 °C	→ 2 dk	
50 °C	→ annealing	→ 35 döngü
72 °C	→ 2 dk	

SRAP Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen PCR ürünlerinden 22 µl çekilerek üzerine 6 µl yükleme bufferı eklenmiş ve % 2.5'luk agaroz jel içerisinde 1XTAE (Trizma Base, Glacial Asetik Asit, EDTA (Na₂.EDTA.H₂O) buffer eklenerek 110 voltuk elektrik akımı altında 3.5 saat süreyle koşulmuştur. Elektroforez işleminden sonra % 0.1'lik ethidium bromide ile boyanmış UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir.

Elde edilen DNA bantlarının büyüklüklerini belirlemede 100 bp'lik markır kullanılmıştır. Bu DNA'lar da bant büyüklükleri sırasıyla 100, 150, 200, 250, 300,

350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 bp olarak şekillenmektedir.

3.2.2. Morfolojik Karakterizasyon

Çalışmada morfolojik karakterizasyon IPGRI standartları baz alınarak yapılmıştır.

3.2.2.1. Ağaç Özellikleri

Ağaç Gelişimi

- 1-Zayıf
- 2-Orta
- 3-Kuvvetli olarak değerlendirilmiştir.

Ağaç Taç Çapı (cm)

Ağacın Kuzey-Güney ve Doğu-Batı yönleri şerit metre ile ölçülmüş ve ağaç tacının uzunluğunu bulmak için bu iki değer ortalama alınmıştır.

Ağaç Yüksekliği (m)

Ağacın yüksekliği topraktan başlayarak ağacın en yüksek noktasına kadar jalon ile ölçülmüştür.

Ağaç Şekli

- 1-Sütun şeklinde
- 2-Pramit şeklinde
- 3-Ters yumurtamsı
- 4-Dikdörtgen
- 5-Daire
- 6-Yarı daire
- 7-Yarı ekliptikt
- 8-Düzensiz

9-Diğerleri (Tanımlayıcıların kesinlikle belirttikleri 7.5 işaretleri) olarak değerlendirilmiştir.

Gövde Yüzeyi

- 1-Pürüzsüz
- 2-Pürüzlü
- 3-Çok pürüzlü olarak değerlendirilmiştir.

Gövde Çevresi (cm)

Gövde çevresi topraktan 30 cm yukarısı alınarak aşı noktasından 10 cm yukarı gelecek şekilde şerit metre ile ölçülmüştür.

3.2.2.2.Yaprak Özellikleri**Genç Sürgünlerin Rengi** (Sürgün ucundaki genç yaprakları kapsar)

- 1-Sarı
- 2-Yeşil
- 3-Kırmızı
- 4-Diğer (Tanımlayıcıların kesinlikle belirttikleri 7.5 işaretleri) olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Şekli

İlkbahar ortasında oluşan sürgünlerin yapraklarındaki gözlemler

- 1-Yumurta şeklinde
- 2-Daralan ters yumurtamsı
- 3-Ters yumurta şeklinde
- 4-Oval
- 5-Yuvarlakça
- 6-Yürek
- 7-Mızrak
- 8-Dikdörtgen
- 9-Mızraksı- dikdörtgen
- 10- Diğer (Tanımlayıcıların kesinlikle belirttikleri 7.5 işaretleri) olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Alt Kısımının Şekli

- 1-keskin
- 2-Geniş
- 3-Tepesi kesik olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Uzunluğu (cm)

On adet olgun yaprağın boyu cetvel ile ölçülerek ortalaması alınmıştır.

Olgun Yaprakların Renkleri

- 1-Açık yeşil
- 2-Yeşil
- 3-Koyu yeşil olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Kenarı

- 1-Düz
- 2-Dalgalı olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Uç Kısımının Şekli

- 1-Çok keskin
- 2-Keskin
- 3-Orta
- 4-Geniş
- 5-Çok geniş olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak Dokusu

- 1-Yumuşak
- 2-Yarı sert
- 3-Sert
- 4-Çok sert olarak değerlendirilmiştir.

Anoson Kokusu

- 1-Zayıf
- 2-Orta
- 3-Güçlü olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.3 Çiçek Özellikleri**Çiçeklenme Sezonu ve Süresi**

1-Çiçek tomurcuklarının ilk görüldüğü zaman

2-Çiçeklerin ilk açtığı zaman

3-Çiçeklenmenin bitişi

Her çiçek salkımındaki çiçek sayısı**Çiçek salkımındaki dal sayısı**

Adana ikliminin 2007-2008 döneminde kış koşulları sert geçmiş ve sıcaklık uzun süre 0 altında kalmıştır. Bunun sonucunda avokado ağaçlarında soğuk zararlanması görülmüştür. Bu nedenle ağaçlarda çiçek oluşumu gözlenememiş ve yukarıda belirtilen çiçek özelliklerine bakılamamıştır.

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi**3.3.1. DNA Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi.**

DNA izolasyonu sonucu elde edilen DNA'lar TE çözeltisi içerisinde 1:50 oranında sulandırılarak DNA'ların konsantrasyonu ve saflık derecesi spektrofotometre (Nanodrop) adı verilen alet yardımıyla 260 ve 280 nm'deki dalga boyları okunarak belirlenmiştir.

3.3.2. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan SRAP ve RAPD primerlerinin polimorfizm oranı, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması sonucu aşağıda belirtilen formül ile bulunmuştur.

$$\text{Polimorfizm Oranı (\%)} = (\text{Polimorfik bant sayısı} / \text{Toplam bant sayısı}) \times 100$$

3.3.3. Benzerlik İndeksleri ve Dendogramların Oluşturulması

RAPD ve SRAP analizleri sonucunda elde edilen jel görüntülerinde bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek elde edilen değerler **Rohlf (1992)** tarafından geliştirilen **NTSYS** (Numerical Taksonomy and Multivariarte Analysis System, Version 2.0) adlı bilgisayar paket programı kullanılarak analiz edilmiş ve dendogramlar oluşturulmuştur.

3.3.4. Morfolojik Verilerin Analizi

Morfolojik verilere ait kantitatif karakterlerin analizleri SAS program (**SAS, 2005**) kullanılarak yapılmıştır. Deneme kapsamında değerlendirilen karakterlerin her biri için varyans analiz tabloları GLM prosedürü kullanılarak oluşturulmuştur. Çeşitlere ait ortalamalar % 5 önem düzeyinde Duncan metodu ile karşılaştırılmıştır.

3.3.5. Principle Coordinate Analizi

Moleküler analiz sonuçlarının değerlendirilmesi için jel fotoğraflarından elde edilen RAPD ve SRAP verileri bantların olduğu (1) ve olmadığı (0) ikili (binary) matriks dosyasına dönüştürülmüştür. Bantlardan sadece tekrarlanabilir olanlar kullanılmıştır. Veri dosyası kümüleme (*cluster*) ve temel koordinat (*principle coordinate*) analizlerine tabi tutulmuştur. Bu analizlerde NTSYS programı (**Rohlf, 1997**) kullanılmıştır. Analiz sırasında öncelikle moleküler veri dosyaları için uygun Jaccard yöntemi kullanılarak bir benzerlik matriksi oluşturulmuştur. Bu matriks kümeleme analizi kullanılarak UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average*) metodu ile bir dendrogram elde edilmiştir. Bu dendrogramın benzerlik matriksini ne ölçüde temsil ettiği Mantel'in Matriks Benzeşme testi (*Mantel's matrix correspondence test*) ile test edilmiştir (**Mantel, 1967**). Bu test sonucunda korelasyon katsayısı (*cophenetic correlation coefficient*) *r*, değeri elde

edilmiştir. Temel koordinat analizi için de aynı benzerlik matriksi kullanılmış, elde edilen temel koordinatlar üzerinde genotiplerin dağılımları SAS programının (**SAS, 2006**) G3D prosedürü kullanılarak ilk üç temel koordiant üzerinde, Meksika, Guetamala ve melez çeşitler değişik renklerde gruplanarak sunulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Subtropik bir meyve olan avokado ırkları ve çeşitlerinin arasındaki genetik ve morfolojik ilişkileri saptamak amacıyla Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümüne ait ‘Avokado Koleksiyonu’ içerisinde yer alan avokado çeşitleri içinden belirlenmiş 20 genotip, 22 RAPD primeri, 30 SRAP primeri kullanılarak moleküler düzeyde araştırılmıştır. Bu genotipler IPGRI standartlarına göre ağaç ve yaprak özelliklerine bakılarak morfolojik olarak incelenmiştir.

4.1. Araştırma Bulguları

Araştırma bulguları morfolojik çalışmalar ve moleküler çalışmalar olmak üzere ayrı başlıklar altında aşağıda belirtilmiştir.

4.1.1. Moleküler Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1.1. RAPD Analizi Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan 22 RAPD primerinden on sekizinde istenilen amplifikasyon gerçekleşmiştir. İstenilen oranda amplifikasyon gözlenmeyen UBC-20, UBC-39, UBC-40 ve UBC-42 primerleri değerlendirmeye alınmamıştır. PCR sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri bantların varlığı (1) ve yokluğu (0) olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda elde edilen toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı **Çizelge 4.1**’de belirtilmiştir.

On sekiz primerle yapılan çalışmada; toplam 116 bant elde edilmiş bu bantlardan 4 adedi monomorfik, 112 adedi polimorfik bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda polimorfizm oranı % 96.55 olarak saptanmıştır. Elde edilen bant aralığının 200-2000 bp arasında olduğu bulunmuştur. Elde edilen bant sayısına bakıldığında; S-272 ve S-274 no’lu primerlerin en düşük (3 bant/primer), UBC-44 no’lu primerin ise en fazla (11 bant/primer) bant oluşturduğu belirtilmiştir. S-274 no’lu primerin 2 adet polimorfik, 1 adet monomorfik bant varlığında % 66.66

polimorfizm oranıyla en düşük polimorfizm değerine sahip primer olduğu saptanmıştır. Bu primeri % 80 polimorfizm oranıyla UBC-59 no'lu primer, % 85.71 polimorfizm oranıyla UBC-16 ve UBC-29 no'lu primerler izlemektedir. Bunların dışında kalan on primerin polimorfizm oranının % 100 olduğu gözlenmiştir (**Çizelge 4.1**).

Tez kapsamında kullanılan RAPD primerlerine ait detaylı bilgi aşağıda verilmiştir.

UBC-3 primeri: (CCTGGGCTTA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-3 no'lu RAPD primerinde 200, 250, 350, 500, 700, 800, 950, 1150 bp olmak üzere toplam 8 polimorfik bant gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de izleneceği gibi primerin polimorfizm oranı %100 dür. Her genotip için en az iki en çok yedi bant elde edilmiştir. Bacon çeşidinde 200, 700 bp, Topa Topa çeşidinde 200, 250 bp uzunluğunda iki bant, Blake çeşidinde 200, 250, 350, 500, 700, 800, 1150 bp, Regina çeşidinde 200, 250, 350, 500, 800, 950, 1150 bp uzunluğunda yedi bant elde edilmiştir.

UBC-8 primeri: (CCTGGCGGTA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-8 no'lu RAPD primerinde 250, 300, 500, 550, 700, 800, 1000 bp olmak üzere 7 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 250-1000 bp arasındadır. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100 dür. Her genotipte en az iki en çok yedi bant elde edilmiştir. Reed 3432 çeşidinde 300, 550 bp olmak üzere iki bant; Blake, Rincon çeşitlerinde yedi bant; Mesa, Nowels çeşitlerinde 250, 500, 550, 700, 800, 1000 bp de altı bant; Stewart, Ettinger, Clifton, Würtz çeşitlerinde 250, 300, 500, 550, 800, 1000 bp de altı bant elde edilmiştir.

UBC-9 primeri: (CCTGCGCTTA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-9 no'lu RAPD primerinde 250, 300, 350, 450, 550, 700, 800, 1000, 1500 bp olmak üzere 9 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen bant aralığı 250-1500 bp arasındadır. Monomorfik bant gözlenmemiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi polimorfizm yüzdesi % 100 dür. Her genotipte en az dört en fazla sekiz bant elde edilmiştir. Regina çeşidinde 300, 350, 450, 550, 700, 800, 1000, 1500 bp, Nowels çeşidinde 250, 350, 450, 550, 700, 800, 1000 bp uzunluğunda sekiz bant; Zutano

çeşidinde 300, 450, 700, 1500 bp, WW5 çeşidinde 450, 550, 700, 800 bp, Reed 3432 çeşidi 250, 350, 450, 700 bp uzunluğunda dört bant elde edilmiştir.

UBC-15 primeri: (CCTGGGTTTG) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-15 no'lu RAPD primerinde 200, 300, 400, 600, 700, 800 bp olmak üzere 6 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen bant aralığı 200-800 bp arasındadır. WW5 genotipinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotipte en az iki en çok altı bant elde edilmiştir. Corona çeşidinde 300, 800 bp de iki bant; Blake, Regina, Topa Topa çeşitlerinde altı bant; Füerte, Nowels çeşitlerinde 200, 400, 600, 800 bp de dört bant; Zutano, Mexicola, Anaheim çeşitlerinde 200, 400, 600, 700, 800 bp, Ettinger, Clifton çeşitlerinde 200, 300, 400, 600, 800 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.1**'de verilmiştir.

UBC-16 primeri: (GGTGGCGGGA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-16 no'lu RAPD primerinde 250, 350, 550, 750, 1000, 1250, 1600 bp olmak üzere 7 adet bant elde edilmiştir. Elde edilen bant aralığı 250-1600 bp arasındadır. 250, 550, 750, 1000, 1250, 1600 bp olmak üzere 6 bant polimorfik, 350 bp uzunluğunda olan bir bant monomorfiktir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 85.7'dir. Her genotipte en az üç en çok altı bant bulunmaktadır. Nowels, WW5 çeşitlerinde 350, 750, 1250 bp de, Hass çeşidinde 250, 350, 550 bp uzunluğunda üç bant; Füerte çeşidinde 350, 550, 750, 1000, 1250, 1600 bp uzunluğunda altı bant; Clifton, Würtz, Rincon çeşitlerinde 350, 550, 750, 1000, 1250 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir.

UBC-24 primeri: (ACAGGGGTGA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-24 no'lu RAPD primerinde 200, 300, 450, 550, 750, 950, 1150 bp olmak üzere 7 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen bant aralığı 200-1150 bp arasında olduğu gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de izleneceği gibi polimorfizm yüzdesi % 100'dür. Her genotip için en az üç, en fazla yedi banda rastlanmıştır. Mexicola çeşidinde yedi bant; Bacon çeşidinde 200, 300, 950 bp; Hass çeşidinde 300, 450, 550 bp; Topa Topa çeşidinde 200, 450, 750 bp uzunluğunda üç bant; Füerte ve Teague çeşitlerinde 300, 450, 550, 750, 1150 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir.

UBC-29 primeri: (CCGGCCTTAC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-29 no'lu RAPD primerinde 250, 300, 400, 600, 800, 1000, 1250 bp de 7 bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 250, 300, 600, 800, 1000, 1250 bp olan 6 bandı polimorfik, 400 bp uzunluğunda olan bir bandı monomorfik yani tüm genotiplerde mevcuttur. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi bu primerin polimorfizm oranı % 85.7'dir. Her genotip için en az iki en çok yedi bant elde edilmiştir. Nowels çeşidinde 400, 600 bp; WW5, Bacon ve Stewart çeşitlerinde 250, 400 bp; uzunluğunda iki bant; Corona çeşidinde yedi bant; Reed 3432, Hass ve Topa Topa çeşitlerinde 250, 300, 400, 600, 800 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir.

UBC-41 primeri: (TTAACCGGGG) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-41 no'lu RAPD primerinde 300, 450, 550, 750, 1350, 1500 bp olmak üzere 6 polimorfik bant elde edilmiştir. Ettinger çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az bir, en çok beş bant elde edilmiştir. Stewart ve Rincon çeşitlerinde 300 bp uzunluğunda bir; Hass, Topa Topa ve WW5 çeşitlerinde 300, 550 bp uzunluğunda iki; Mexicola, Teague ve Anaheim çeşitlerinde 450, 1350, 1500 bp uzunluğunda üç; Blake çeşidinde 450, 550, 750, 1350, 1500 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.2**'de verilmiştir

UBC-44 primeri: (TTACCCCGGC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-44 no'lu RAPD primerinde 300, 350, 450, 500, 550, 700, 800, 1000, 1450, 1500, 2000 bp olmak üzere 11 polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen bant aralığı 300-2000 bp arasındadır. Monomorfik bantlar gözlenmemiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her bir genotip için en az iki, en çok dokuz bant elde edilmiştir. WW5 çeşidinde 300, 800 bp; Topa Topa çeşidinde 500, 700 bp uzunluğunda iki bant; Nowels çeşidinde 300, 450, 500, 550, 700, 1000, 1450, 1500, 2000 bp uzunluğunda dokuz bant elde edilmiştir.

UBC-47 primeri: (TTCCCCAAGC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-47 no'lu RAPD primerinde 250, 400, 500, 750, 1000 bp olmak üzere 5 polimorfik bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi polimorfizm yüzdesi % 100'dür. Her bir genotipte en az iki, en çok beş bant elde edilmiştir. Reed 3432 ve Würtz çeşitlerinde 250, 750 bp uzunluğunda

iki bant; Füerte, Zutano, Teague, Anaheim çeşitlerinde 250, 400, 500, 1000 bp uzunluğunda dört bant; Topa Topa ve Nowels çeşitlerinde 250, 400, 500, 750, 1000 bp olmak üzere beş bant elde edilmiştir.

UBC-48 primeri: (TTAACGGGGA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-48 no'lu RAPD primerinde 300, 400, 600, 800, 1000, 1350 bp olmak üzere 6 polimorfik bant elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizmi % 100'dür. Her bir genotipte en az bir, en çok altı bant elde edilmiştir. Mexicola çeşidinde 600 bp uzunluğunda bir bant; Würtz ve Mesa çeşitlerinde 800, 1350 bp uzunluğunda iki bant; Topa Topa, Corona, WW5 ve Rincon çeşitlerinde 400, 800, 1350 bp uzunluğunda üç bant; Teague çeşidinde altı bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.3**'te verilmiştir

UBC-52 primeri: (TTCCCGGAGC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-52 no'lu RAPD primerinde 200, 250, 450, 500, 750, 1000, 1550 bp olmak üzere 7 polimorfik bant elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizmi % 100'dür. Her genotip için en az bir, en çok dört bant elde edilmiştir. Zutano ve WW5 çeşitlerinde 450 bp; Würtz çeşidinde 1000 bp uzunluğunda bir bant; Mesa çeşidinde 250, 500, 750, 1000 bp uzunluğunda dört bant elde edilmiştir.

UBC-54 primeri: (GTCCCAGAGC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-54 no'lu RAPD primerinde 250, 300, 450, 500, 550, 750, 1000, 1550 bp olmak üzere 7 polimorfik bant elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizmi % 100'dür. Her genotip için en az üç en çok yedi bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 250, 300, 1000 bp; WW5 ve Bacon çeşitlerinde 250, 500, 750 bp; Füerte çeşidinde 450, 550, 1000 bp uzunluğunda üç bant; Topa Topa çeşidinde yedi bant elde edilmiştir.

UBC-59 primeri: (TTCCGGGTGC) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki UBC-59 no'lu RAPD primerinde 375, 550, 750, 1000, 1500 bp olmak üzere 5 bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 550, 750, 1000, 1500 bp olan 4 bant polimorfik, 375 bp olan 1 bant monomorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı % 80 olarak saptanmıştır. Her bir genotipte en az iki, en çok beş bant elde edilmiştir. Bacon, WW5, Ettinger, Clifton, Würtz, Rincon, Teague, Mesa, Stewart ve Reed 3432 çeşitlerinde 375, 1000

bp uzunluğunda iki bant; Topa Topa ve Corona çeşitlerinde 375, 1000, 1500 bp uzunluğunda üç bant; Nowels çeşidinde beş bant elde edilmiştir.

S-270 primeri: (CAACCACGA) baz dizinli 9 bp uzunluğundaki S-270 no'lu RAPD primerinde 300, 450, 550, 750, 1000 bp olan 5 polimorfik bant elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizmi % 100'dür. Her genotip için en az iki, en çok beş bant elde edilmiştir. WW5 ve Teague çeşitlerinde 300, 750 bp uzunluğunda iki; Meksikola, Anaheim, Blake, Rincon ve Corona çeşitlerinde 300, 450, 750, 1000 bp uzunluğunda dört bant; Nowels çeşidinde beş bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.4**'te verilmiştir

S-271 primeri: (ATCCGCGTG) baz dizinli 9 bp uzunluğundaki S-271 no'lu RAPD primerinde 250, 450, 500, 650, 750, 1000 1250 bp olan 7 polimorfik bant elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Würtz çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Bu nedenle primerin polimorfizm oranı % 100 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.1**). Her bir genotipte en az iki en çok beş bant elde edilmiştir. Hass ve Mesa çeşitlerinde 450, 500 bp uzunluğunda iki bant; Meksikola, Teague, Anaheim ve Regina çeşitlerinde 500, 750, 1000 ve 1250 bp uzunluğunda dört bant; Zutano çeşidinde 450, 500, 650, 750, 1250 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir.

S-272 primeri: (TGGTCACTGT) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki S-272 no'lu RAPD primerinde 500, 600, 750 bp olan 3 polimorfik bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Her genotip için en az bir, en çok üç bant elde edilmiştir. Bacon, Reed 3432, Mesa, Stewart, Ettinger, Rincon, Topa Topa, Corona ve WW5 çeşitlerinde 500 bp uzunluğunda bir; Füerte, Zutano, Meksikola, Teague, Anaheim, Reed 3432 ve Clifton çeşitlerinde 500, 600, 700 bp uzunluğunda üç bant elde edilmiştir.

S-274 primeri: (ATTGCGTCCA) baz dizinli 10 bp uzunluğundaki S-274 no'lu RAPD primerinde 250, 400, 550 bp olan 3 bant elde edilmiştir. 400 ve 550 bp olan 2 bant polimorfik, 250 bp olan 1 bant monomorfik bulunmuştur. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm yüzdesi % 66.6'dır. Her bir genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. Reed 3432 çeşidinde 250 bp uzunluğunda bir;

Füerte, Zutano, Mexicola, Teague, Anaheim, Blake, Regina, Mesa, Nowels, Ettinger, Rincon ve Corona çeşitlerinde 250, 400, 550 bp uzunluğunda üç bant elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Avokado Çeşitlerinde Kullanılan 18 RAPD Primerinin İstatistiksel Verileri

Primer adı	TBS	BA (bp)	MBS	PBS	PY (%)
UBC-3	8	200-1150	0	8	100
UBC-8	7	250-1000	0	7	100
UBC-9	9	250-500	0	9	100
UBC-15	6	200- 800	0	6	100
UBC-16	7	250-1600	1	6	85.71
UBC-24	7	200-1150	0	7	100
UBC-29	7	250-1250	1	6	85.71
UBC-41	6	300-1500	0	6	100
UBC-44	11	300-2000	0	11	100
UBC-47	5	250-1000	0	5	100
UBC-48	6	300-1350	0	6	100
UBC-52	7	200-1550	0	7	100
UBC-54	7	250-1000	0	7	100
UBC-59	5	375-1500	1	4	80
S-270	5	300-1000	0	5	100
S-271	7	250-1250	0	7	100
S-272	3	500-750	0	3	100
S-274	3	250-550	1	2	66.66
Toplam	116	200-2000	4	112	96.55

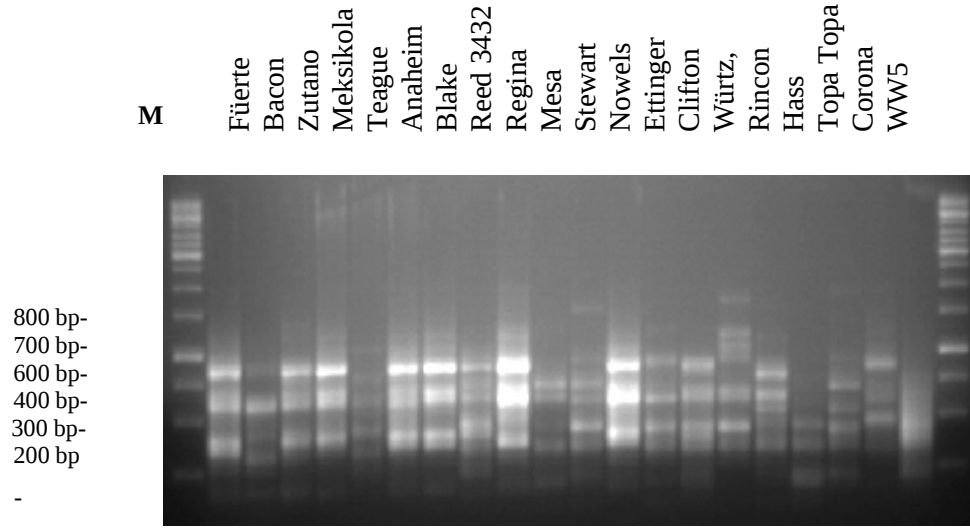
TBS: Toplam Bant Sayısı

BA (bp): Bant Aralığı

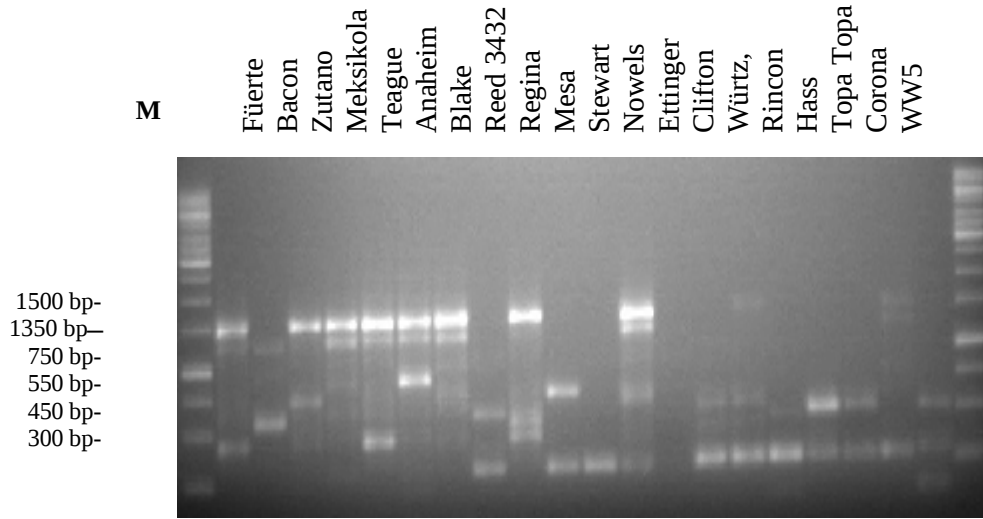
MBS: Monomorfik Bant Sayısı

PBS: Polimorfik Bant Sayısı

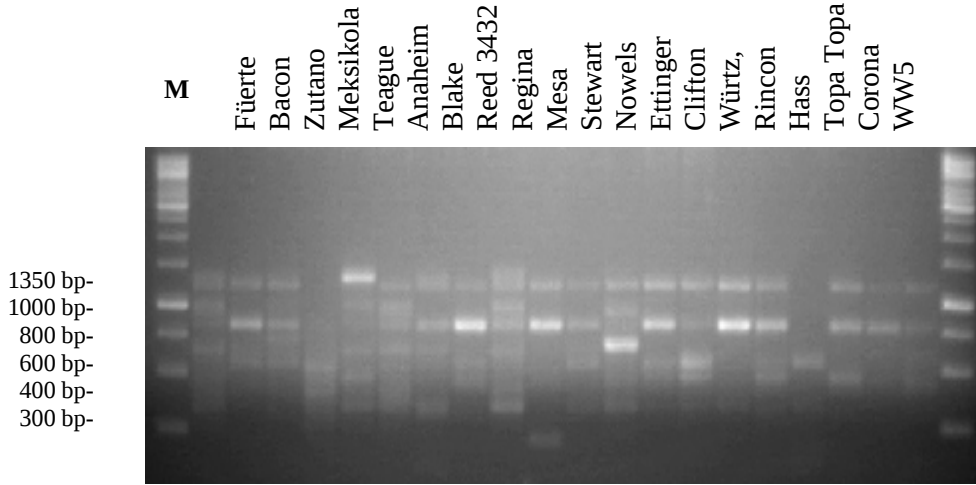
PY (%): Polimorfizm Yüzdesi



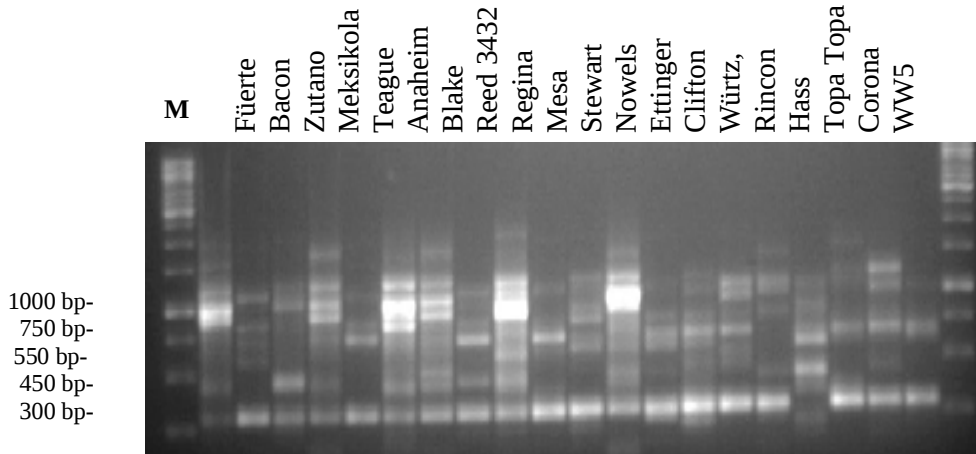
Şekil 4.1. UBC-15 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4.2. UBC-41 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4. 3. UBC-48 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4.4. S-270 no'lu RAPD Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri

4.1.1.1.(1). RAPD Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendogramın Değerlendirilmesi

Avokado çeşitlerinin 22 RAPD primeri ile amplifikasyonu sonucunda elde edilen bantlar sayısal değerlere dönüştürülerek NTSYS adlı programda benzerlik indeksleri oluşturulmuş ve bu benzerlik indekslerine dayalı oluşturulan dendogram **Şekil 4.5**'te sunulmuştur.

Dendogramdaki 2 no'lu ana grup iki gruba ayrılmıştır. Bu iki grup kendi içerisinde dallara ayrılmıştır. 2.1 ile adlandırılan kolda Corona, Reed 3432, WW5, Topa Topa, Clifton, Rincon Würtz, Ettinger, Stewart, Mesa ve Bacon genotipleri bulunmaktadır. Bu daldan A çiçek grubundan Guatemala ırkından olan Corona 0.65; Reed 3432 0.67 benzerlik oranları ile 2.1 grubunda bulunan 9 genotipten ayrılmışlardır.

2.1 no'lu grup kendi içerisinde dallara ayrılmıştır. Corona ve Reed 3432 genotiplerinin ayrılması sonucu geri kalan 9 genotipin kendi içerisinde tekrar iki dala ayrıldığı görülmüştür. Oluşan bu iki dal 0.67 oranında benzerdir. Ayrılan dallardan Meksika Guatemala melezi olan Bacon ve Guatemala ırkından olan Mesa genotiplerinin 0.71 oranında benzer oldukları bulunmuştur.

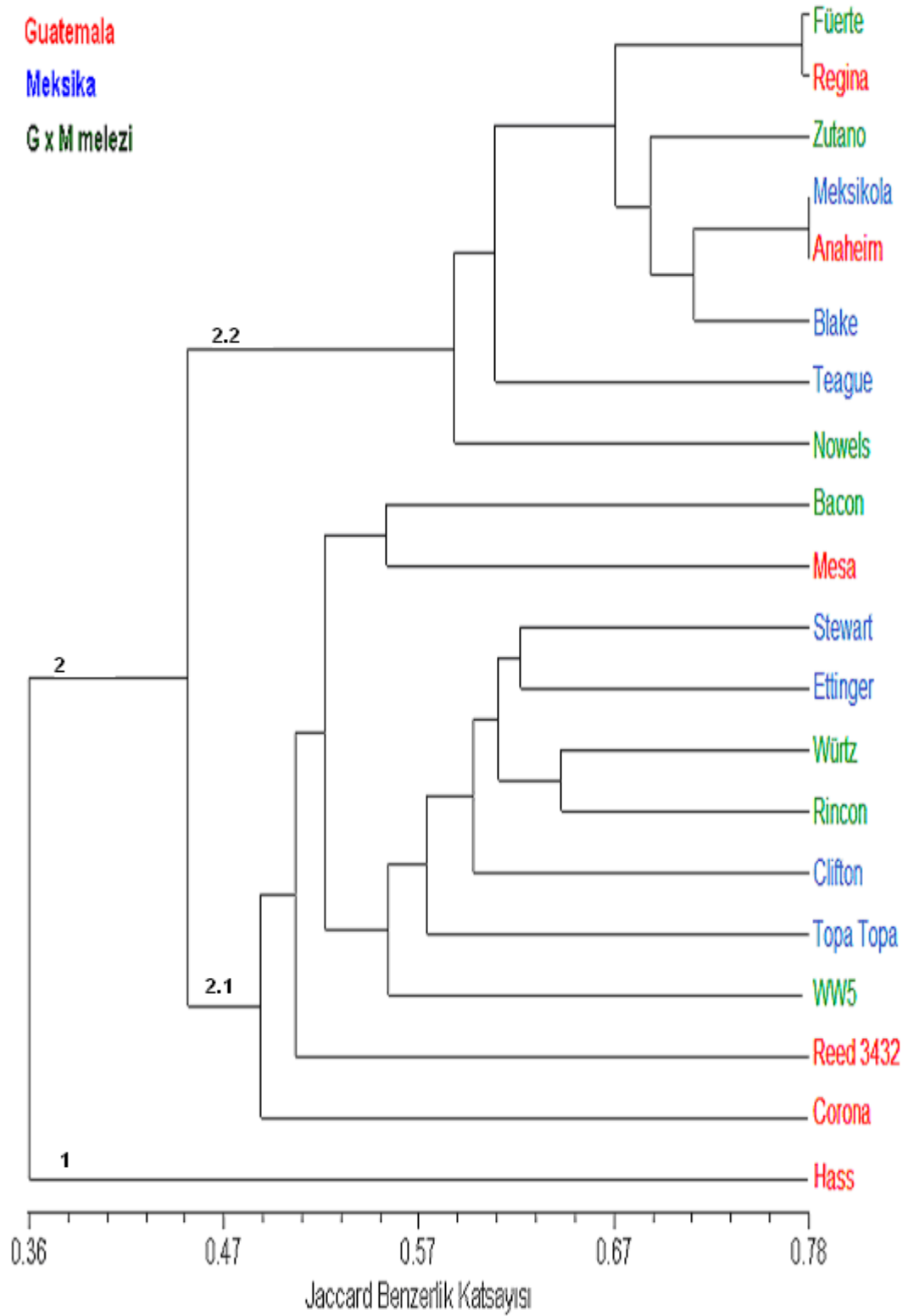
Oluşan bu dallarlardan Meksika ırkından oldukları bilinen Stewart ve Ettinger genotiplerinin 0.76 oranında benzer olduğu bulunmuştur. Meksika Guatemala melezi olan Würtz ve Rincon genotiplerinin 0.78 oranında benzer oldukları bulunmuştur. Bu iki dal birbirine 0.75 oranında benzerdir. Bu dallardan ayrılan A çiçek grubundan Meksika Guatemala melezi WW5 0.70, Meksika ırkından olan Topa Topa 0.73, Clifton 0.75 benzerlik oranlarıyla ayrılmıştır.

2.2 no'lu grup ta Nowels, Teague, Meksikola, Anaheim, Zutano, Regina ve Füerte genotipleri bulunmaktadır. Bu grup içerisinde Meksika ırkından olan Meksikola ve Guatemala ırkından olan Anaheim genotiplerinde ayrılma gözlenmemiş, 0.87 oranında benzer bulunmuşlardır. Bu iki genotipten 0.80 benzerlik oranı ile Meksika ırkından olan Blake çeşidinin ayrıldığı görülmüştür. Belirtilen üç genotipten Meksika Guatemala melezi olan Zutano 0.82 benzerlik oranıyla ayrılmaktadır.

Meksika Guatemala melezi olan Füerte ve Meksika ırkından olan Regina genotiplerinin 0.86 gibi yüksek bir oranda benzer oldukları bulunmuştur.

Yirmi genotipin NTSYS programı ile elde edilen matriks sonucunda; avokado genotipleri arasındaki benzerlik indeksinin 0.46-0.87 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır.

Genotiplerin birbirleriyle olan benzerlik oranlarına bakıldığında, birbirlerine en yakın genotipler sırayla; Füerte ile Regina, Anaheim ile Meksikola (0.87); Füerte ile Anaheim ve Blake ile Anaheim (0.85) oldukları bulunmuştur. En uzak genotipler ise sırasıyla Füerte ile Bacon, Füerte ile WW5 (0.46 oldukları belirtilmiştir.



Şekil 4.5. 20 Avokado Genotipine RAPD Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Dendogram

	Fuerte	Bacon	Zutano	Mexicola	Teague	Anaheim	Blake	Reed 3432	Regina	Mesa	Stewart	Nowels	Ettinger	Clifton	Wurtz	Rincon	Hass	Topa Topa	Corona	WWS
Fuerte	1.00																			
Bacon	0.46	1.00																		
Zutano	0.77	0.59	1.00																	
Mexicola	0.78	0.56	0.80	1.00																
Teague	0.74	0.54	0.71	0.75	1.00															
Anaheim	0.85	0.51	0.82	0.87	0.81	1.00														
Blake	0.76	0.59	0.82	0.81	0.70	0.85	1.00													
Reed 3432	0.51	0.61	0.61	0.58	0.54	0.52	0.60	1.00												
Regina	0.87	0.53	0.78	0.79	0.80	0.85	0.82	0.56	1.00											
Mesa	0.51	0.71	0.60	0.59	0.59	0.55	0.62	0.64	0.60	1.00										
Stewart	0.57	0.68	0.71	0.64	0.62	0.66	0.68	0.65	0.64	0.70	1.00									
Nowels	0.74	0.61	0.75	0.71	0.72	0.71	0.75	0.57	0.77	0.72	0.76	1.00								
Ettinger	0.57	0.73	0.68	0.64	0.62	0.62	0.67	0.72	0.63	0.70	0.75	0.65	1.00							
Clifton	0.57	0.71	0.69	0.61	0.63	0.64	0.70	0.66	0.67	0.70	0.75	0.70	0.75	1.00						
Wurtz	0.61	0.60	0.64	0.62	0.62	0.60	0.66	0.72	0.62	0.73	0.75	0.70	0.75	0.76	1.00					
Rincon	0.60	0.66	0.63	0.61	0.58	0.60	0.56	0.72	0.66	0.69	0.77	0.70	0.75	0.55	0.54	1.00				
Hass	0.52	0.50	0.50	0.50	0.48	0.52	0.54	0.56	0.57	0.56	0.59	0.52	0.60	0.55	0.54	0.51	1.00			
Topa Topa	0.56	0.63	0.63	0.64	0.66	0.68	0.68	0.65	0.67	0.69	0.71	0.66	0.75	0.72	0.74	0.71	0.53	1.00		
Corona	0.59	0.60	0.63	0.64	0.63	0.64	0.68	0.60	0.63	0.62	0.59	0.67	0.57	0.66	0.66	0.69	0.46	0.70	1.00	
WWS	0.46	0.61	0.53	0.53	0.55	0.50	0.56	0.68	0.51	0.67	0.68	0.61	0.73	0.67	0.71	0.73	0.50	0.72	0.70	1.00

Şekil 4.6. RAPD Analizi Sonucu Elde Edilen Matris

4.1.1.2 SRAP Analizi Sonuçları

Tez çalışması kapsamında 30 adet SRAP primer kombinasyonu denenmiş bunların 21 tanesi istenilen amplifikasyonu göstermiştir. Amplifikasyon gözlenmeyen SRAP primer kombinasyonları (me1/em6, me2/em3, me2/em5, me3/em3, me4/em1, me4/em2, me4/em3, me4/em5, me5/em3) değerlendirmeye alınmamıştır. PCR sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri bantların varlığı (1) ve yokluğu (0) olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda elde edilen toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı **Çizelge 4.2**'de sunulmuştur.

Yirmi bir adet SRAP primer kombinasyonu ile yapılan çalışmada; toplam 122 bant elde edilmiş bu bantlardan 27 adedi monomorfik, 95 adedi polimorfik bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda polimorfizm oranının % 77.86 ve elde edilen bant aralığının 95-1500 bp olduğu saptanmıştır. Elde edilen bant sayısına bakıldığında Me1/Em5 ve Me5/Em5 primer kombinasyonları en düşük sayıda (3 bant/primer) bant meydana getirmiş olup, Me1/Em4, Me2/Em6, Me4/Em4 ve Me5/Em1 primer kombinasyonlarında en yüksek (8 bant/primer) bant elde edildiği saptanmıştır. Me2/Em4 primer kombinasyonunda 1 adet polimorfik, 4 adet monomorfik bant varlığında % 20 polimorfizm oranıyla en düşük polimorfizm değerine sahip primer olduğu saptanmıştır. Bu primeri % 25 polimorfizm oranıyla Me2/Em4 primer kombinasyonu izlemektedir. En yüksek polimorfizm Me2/Em6, Me3/Em4, Me4/Em6, Me5/Em1 ve Me5/Em4 primer kombinasyonlarında gözlenmiştir (% 100).

Yirmi genotipin NTSYS programı (**Rolf, 1998**) ile elde edilen matriks sonucunda; avokado genotipleri arasındaki benzerlik indeksinin 0.44-0.96 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır.

Genotiplerin birbirleriyle olan benzerlik oranlarına bakıldığında, birbirlerine en yakın genotipler sırayla; Anaheim ile Regina, Nowels ile Regina (0.96); Topa Topa ile Ricon (0.95) Anaheim ile Nowels, Mesa ile Ettinger, Mesa ile Stewart, Ettinger ile Stewart, Würtz ile Rincon (0.94) oldukları bulunmuştur. En uzak

genotipler ise sırasıyla Füerte ile Blake ve Hass ile Regina (0.44), Meksikola ile Hass (0.45); Hass ile Anaheim (0.46) oldukları belirlenmiştir.

F1 R1 primeri: em1 Forward ve me1 Reverse primerleri kullanılan F1 R1 no' lu SRAP primerinde 100, 180, 195, 400 bp olmak üzere toplam 4 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-400 bp arasındadır. 100, 180, 195 bp uzunluğunda üç adet monomorfik, 400 bp uzunluğunda bir adet polimorfik banda rastlanmıştır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 25 dir. Her genotip için en az üç en çok dört bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 100, 180, 195 bp uzunluğunda üç bant, diğer 19 çeşitte 100, 180, 195, 400 bp uzunluğunda dört bant elde edilmiştir.

F1 R2 primeri: em1 Forward ve me2 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F1 R2 no'lu SRAP primerinde 150, 200, 210, 250, 310, 500, 600 bp olmak üzere toplam 7 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 150-600 bp arasındadır. Yüz elli bp uzunluğunda bir adet monomorfik banta rastlanmıştır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 85,7'dir. Her genotip için en az bir en çok yedi bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 150 bp uzunluğunda bir bant, Füerte, Mexicola, Anaheim, Blake, Regina çeşitlerinde 150, 200, 210, 250, 310, 500, 600 bp uzunluğunda yedi bant elde edilmiştir.

F1 R3 primeri: em1 Forward ve me3 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F1 R3 no' lu SRAP primerinde 110, 250, 280, 310, 550, 600 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 110-600 bp arasındadır. 110, 250 bp uzunluğunda iki adet monomorfik bant tespit edilmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,6'dir. Her genotip için en az iki, en çok beş bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 150 bp uzunluğunda bir bant, Bacon, Anaheim, Stewart, Corona çeşitlerinde 110, 250, 280, 310, 600 bp uzunluğunda beş bant elde edilmiştir.

F1 R4 primeri: em1 Forward ve me4 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F1 R4 no'lu SRAP primerinde 310, 350, 490, 500, 600, 795, 900, 1500 bp olmak üzere toplam 8 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Gözlenen bant aralığı 310-1500 bp arasındadır. 600, 750, 1500 bp

uzunluğunda üç adet monomorfik banda rastlanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 62,5’tir. Her genotip için en az dört en çok sekiz bant elde edilmiştir. Reed 3432 çeşidinde 490, 600, 795, 1500 bp uzunluğunda dört bant, Mexicola, Teague, Blake, Anaheim çeşitlerinde 310, 350, 490, 500, 600, 795, 900, 1500 bp uzunluğunda yedi bant elde edilmiştir.

F1 R5 primeri: em1 Forward ve me5 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F1 R5 no’ lu SRAP primerinde 100, 195, 250 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-250 bp arasındadır. 100 bp uzunluğunda bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,6’dır. Her genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 100 bp uzunluğunda bir bant, Füerte çeşidinde 100, 195 bp uzunluğunda iki bant elde edilmiştir.

F2 R1 primeri: em2 Forward ve me1 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F2 R1 no’ lu SRAP primerinde 100, 195, 250, 495, 500, 800, 1000 bp olmak üzere toplam 7 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-1000 bp arasındadır. 100 bp uzunluğunda bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 85,7’dir. Her genotip için en az bir en çok yedi bant elde edilmiştir. Hass çeşidinde 100 bp uzunluğunda bir bant, Bacon, Teague, Reed 3432, Mesa, Stewart, Ettinger, Corona çeşitlerinde 100, 195, 250 bp uzunluğunda üç bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.7’**de verilmiştir.

F2 R2 primeri: em2 Forward ve me2 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F2 R2 no’lu SRAP primerinde 120, 210, 300, 410, 550 bp olmak üzere toplam 5 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 120-550 bp arasındadır. 120 ve 210 bp uzunluğunda iki adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 60’tır. Her genotip için en az üç en fazla beş bant elde edilmiştir. Füerte, Meksikola, Teague, Anaheim, Blake, Regina, Nowels çeşitlerinde yedi bant; Hass çeşidinde 120 ve 210 bp uzunluğunda olmak üzere iki adet bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.8’**de verilmiştir.

F2 R4 primeri: em2 Forward ve me4 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F2 R4 no'lu SRAP primerinde 100, 150, 180, 200, 210 bp olmak üzere toplam 5 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Gözlenen bant aralığı 100–210 bp arasındadır. 100, 150, 180, 200 bp uzunluğunda dört adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Füerte, Nowels, Meksikola, Regina çeşitlerinde yedi bant elde edilmiştir. Çizelge 4.2'den de izleneceği gibi primerin polimorfizm oranı % 20'dir. Her genotip için en az dört en çok beş bant elde edilmiştir.

F2 R6 primeri: em2 Forward ve me6 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F2 R6 no'lu SRAP primerinde 180, 190, 390, 395, 400, 405, 510, 610 bp olmak üzere toplam 8 bant gözlenmiştir. Monomorfik bant elde edilmemiştir. Gözlenen bant aralığı 180–610 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de belirtildiği gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az iki, en çok altı bant elde edilmiştir. Mesa, Würtz, Rincon, Topa Topa, Corona çeşitlerinde 180, 190, 390, 400, 510 bp uzunluğunda beş adet bant; Bacon çeşidinde 190 ve 400 bp uzunluğunda iki adet bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.9'**da verilmiştir.

F3 R1 primeri: em3 Forward ve me1 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F3 R1 no'lu SRAP primerinde 205, 250, 500, 580, 610, 900, 1000 bp olmak üzere toplam 7 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. 205, 580, 900 bp uzunluğunda üç monomorfik bant elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 205-1000 bp arasındadır. Füerte, Meksikola, Anaheim, Regina, Nowels çeşitlerinde yedi, adet bant, Bacon, Teague, Reed 3432, Clifton ve Würtz çeşitlerinde 205,580 ve 900 bp uzunluğunda üç adet bant elde edilmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 57.1'dir. Her genotip için en az üç, en çok yedi bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.10.'**da verilmiştir.

F3 R2 primeri: em3 Forward ve me2 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F3 R2 no'lu SRAP primerinde 95, 180, 220 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. 95 ve 220 bp uzunluğunda iki adet monomorfik bant elde edilmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 33.3'tür.

Her genotip için en az iki en çok üç bant elde edilmiştir. Füerte, Meksikola, Anaheim, Blake, Regina ve Nowels çeşitlerinde üç adet bant gözlenmiştir.

F3 R4 primeri: em3 Forward ve me4 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F3 R4 no'lu SRAP primerinde 250, 300, 310, 480, 700, 750 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı 250-750 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az bir, en çok altı bant elde edilmiştir. Teague ve Anaheim çeşitlerinde altı adet, Reed 3432, Stewart, Ettinger, Clifton, Würtz, Hass, Topa Topa ve WW5 çeşitlerinde 300 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F3 R5 primeri: em3 Forward ve me5 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F3 R5 no'lu SRAP primerinde 95, 180, 190, 210, 270, 410, 430 bp olmak üzere toplam 7 bant gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı 95-430 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az bir, en çok altı bant elde edilmiştir. Zutano, Teague, Anaheim, Reed 3432, Regina, Mesa, Stewart, Nowels, Ettinger, Topa Topa ve Corona çeşitlerinde 95, 180, 190, 210, 270 ve 410 bp uzunluğunda altı adet bant, Hass çeşidinde 95 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F3 R6 primeri: em3 Forward ve me6 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F3 R6 no'lu SRAP primerinde 100, 110, 290, 310, 395, 490 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. 110 bp uzunluğunda bir adet monomorfik bant elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-490 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 83.3'tür. Her genotip için en az bir, en çok altı bant elde edilmiştir. Füerte, Meksikola, Anaheim, Regina ve Nowels çeşitlerinde altı adet bant, Hass çeşidinde 110 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F4 R4 primeri: em4 Forward ve me4 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F4 R4 no'lu SRAP primerinde 95, 200, 250, 300, 320, 420, 620, 795 bp olmak üzere toplam 8 bant gözlenmiştir. 95 bp uzunluğunda bir adet monomorfik bant elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 95-795 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de

görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 87.5'tir. Her genotip için en az bir, en çok sekiz bant elde edilmiştir. Fürtte, Meksikola, Anaheim, Blake, Regina ve Nowels çeşitlerinde sekiz adet bant, Hass çeşidinde 95 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir. Bu primere ait jel görüntüleri **Şekil 4.11**'de verilmiştir.

F4 R6 primeri: em4 Forward ve me6 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F4 R6 no'lu SRAP primerinde 195, 280, 295, 300, 380, 395 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı 195-395 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az iki, en çok dört bant elde edilmiştir. Topa Topa çeşidinde 280, 300, 380 ve 395 bp uzunluğunda dört adet bant, Clifton, Rincon, WW5 çeşitlerinde 300 ve 395 bp uzunluğunda iki adet bant elde edilmiştir.

F5 R1 primeri: em5 Forward ve me1 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F5 R1 no'lu SRAP primerinde 150, 300, 310, 410, 695, 700, 780, 810 bp olmak üzere toplam 8 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon elde edilmemiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı 150-810 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. Her genotip için en az bir en çok sekiz bant elde edilmiştir. Anaheim, Regina ve Nowels çeşitlerinde sekiz adet bant, Mesa çeşidinde 300 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F5 R2 primeri: em5 Forward ve me2 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F5 R2 no'lu SRAP primerinde 380, 400, 450, 690, 710, 820 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. Bu primerle Hass çeşidinde amplifikasyon elde edilmemiştir. Dört yüz elli bp uzunluğunda bir adet monomorfik banda rastlanmıştır. Gözlenen bant aralığı 380-820 bp arasındadır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 83.3'tür. Her genotip için en az iki en çok beş bant elde edilmiştir. Zutano, Meksikola, Regina ve Nowels çeşitlerinde beş adet bant, Bacon çeşidinde 450 ve 710 bp uzunluğunda iki adet bant elde edilmiştir.

F5 R4 primeri: em5 Forward ve me4 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F5 R4 no'lu SRAP primerinde 180, 190, 600, 800 bp olmak üzere toplam 4 bant gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı

180-800 bp arasındadır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100’dür. Her genotip için en az bir en çok dört bant elde edilmiştir. Anaheim, Blake, Regina, Nowels ve Corona çeşitlerinde dört adet bant, Reed 3432 ve WW5 çeşitlerinde 180 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F5 R5 primeri: em5 Forward ve me5 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F5 R5 no’lu SRAP primerinde 610, 780, 1000 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Hass çeşidinde amplifikasyon gözlenmemiştir. 780 bp uzunluğunda bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Gözlenen bant aralığı 610-1000 bp arasındadır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66.6’dır. Her genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. Anaheim, Blake, Regina, Nowels, Füerte ve Meksikola çeşitlerinde üç adet bant, diğer on dört çeşitte 780 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir.

F5 R6 primeri: em5 Forward ve me6 Reverse primerler kombinasyonları kullanılan F5 R6 no’lu SRAP primerinde 110, 310, 320, 400, 490, 610 bp olmak üzere toplam 6 bant gözlenmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Gözlenen bant aralığı 110-610 bp arasındadır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100’dür. Her genotip için en az bir en çok altı bant elde edilmiştir. Zutano, Blake ve Nowels çeşitlerinde altı adet bant, Bacon çeşidinde 490 ve 610 bp uzunluğunda iki adet bant, Hass çeşidinde 110 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir (**Şekil 4.12**).

Çizelge 4.2. Avokado Çeşitlerinde Kullanılan 21 SRAP Primer Kombinasyonun İstatistiksel Verileri

Primer adı	TBS	BA (bp)	MBS	PBS	PY(%)
Me1/Em1	4	100-400	3	1	25
Me1/Em2	7	150-600	1	6	85.71
Me1/Em3	6	110-600	2	4	66.60
Me1/Em4	8	310-1500	3	5	62.50
Me1/Em5	3	100-250	1	2	66.66
Me2/Em1	7	100-1000	1	6	85.71
Me2/Em2	5	120-550	2	3	60
Me2/Em4	5	100-210	4	1	20
Me2/Em6	8	180-610	0	8	100
Me3/Em1	7	205-1000	3	4	57.14
Me3/Em2	3	95-220	2	1	33.33
Me3/Em4	6	250-750	0	6	100
Me3/Em5	6	95-430	0	6	100
Me3/Em6	6	100-490	1	5	83.33
Me4/Em4	8	95-795	1	7	87.50
Me4/Em6	6	195-395	0	6	100
Me5/Em1	8	150-810	0	8	100
Me5/Em2	6	380-820	1	5	83.33
Me5/Em4	4	180-800	0	4	100
Me5/Em5	3	610-1000	1	2	66.66
Me5/Em6	6	110-610	1	5	83.33
Toplam	122	95-1500	27	95	77.86

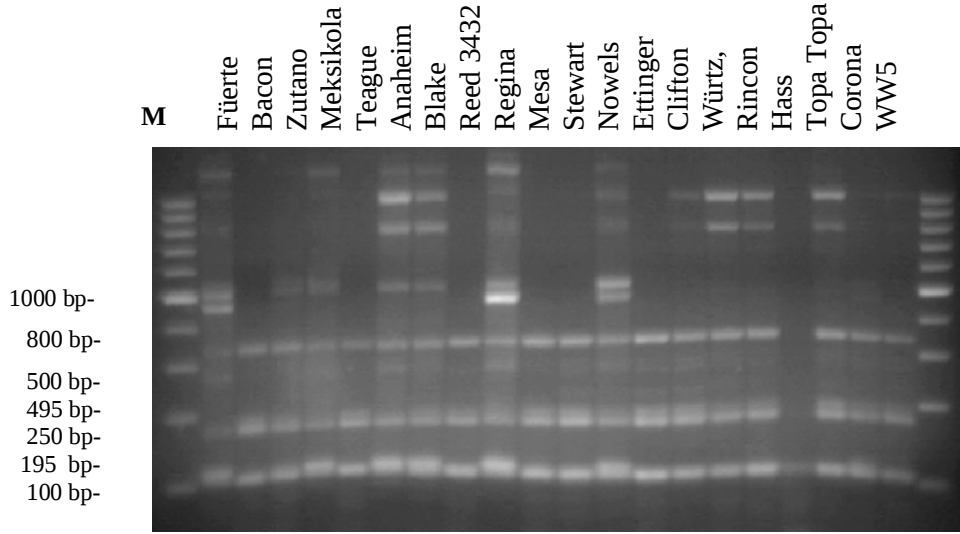
TBS: Toplam Bant Sayısı

BA (bp): Bant Aralığı

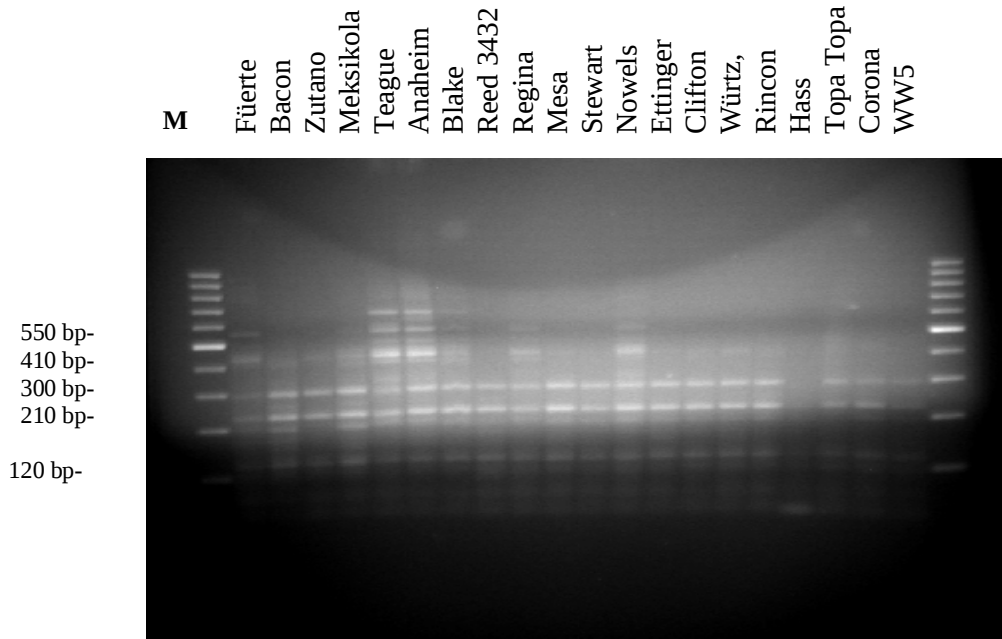
MBS: Monomorfik Bant Sayısı

PBS: Polimorfik Bant Sayısı

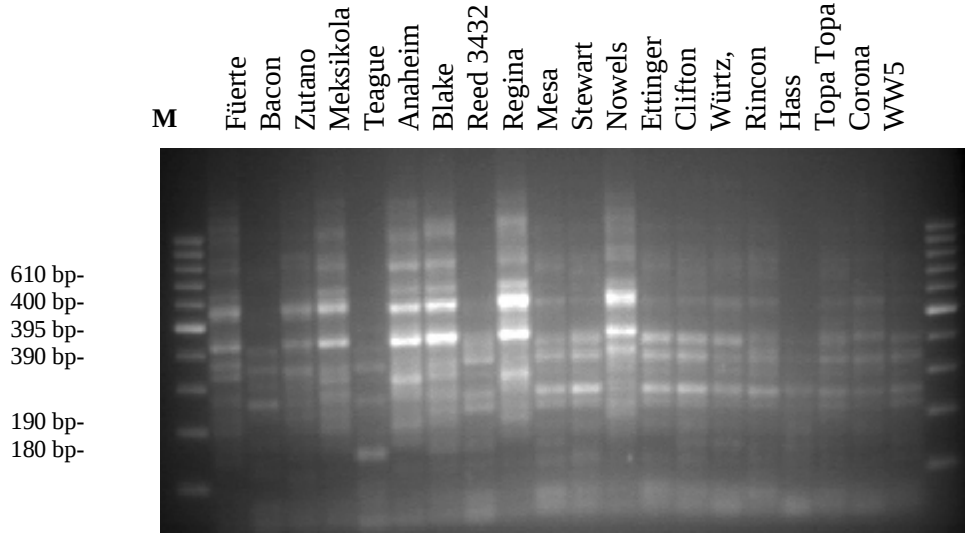
PY (%): Polimorfizm Yüzdesi



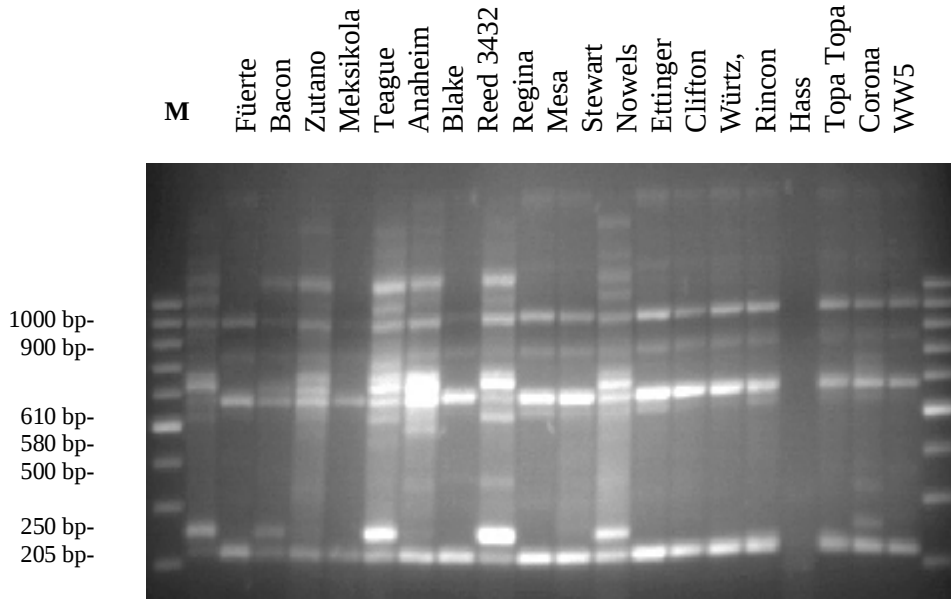
Şekil 4.7. 21 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



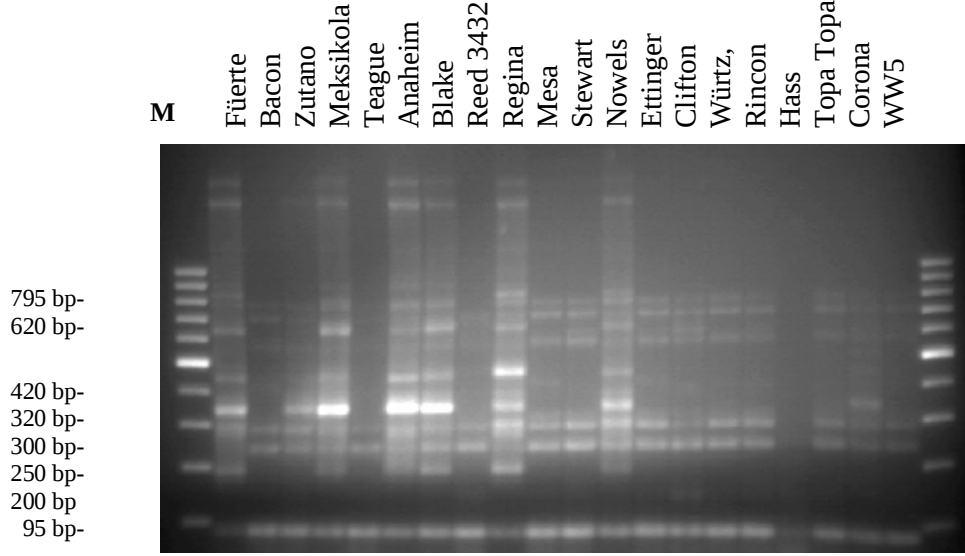
Şekil 4.8. 22 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



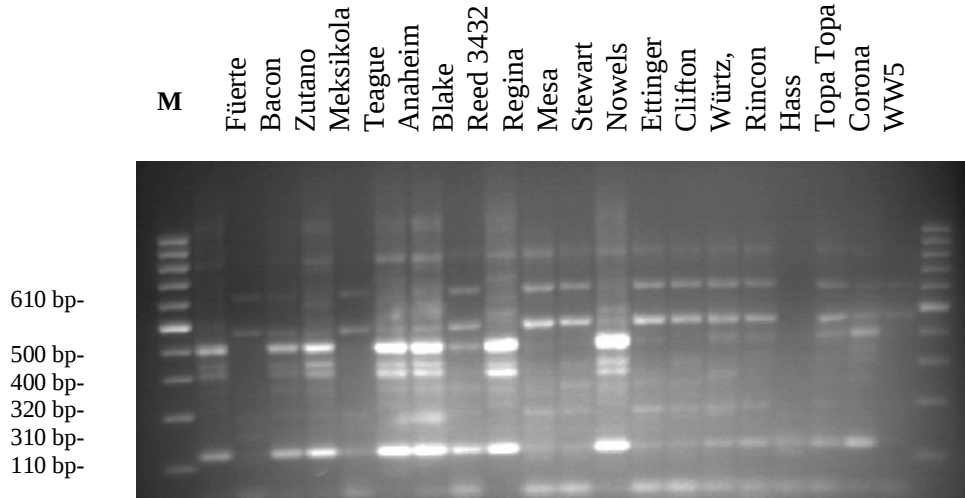
Şekil 4.9. 26 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4.10. 31 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4.11. 44 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri



Şekil 4.12. 56 no'lu SRAP Primeri ile Amplifikasyon Sonucu Elde Edilen Bant Profilleri

4.1.1.2.(1). SRAP Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendogramın Değerlendirilmesi

SRAP analizi sonucunda elde edilen dendogram iki ana dala ayrılmıştır. Hass çeşidi on dokuz genotipten ayrılmış ve diğer genotiplere 0.57 oranında benzer bulunmuştur.

‘B’ grubu olarak adlandırılan on dokuz genotip içeren ana dal 0.74 oranında benzerlik gösteren iki yan dala ayrılmıştır.

Bu iki yan dal kendi içerisinde alt dallar oluşturmuştur. B.1 no’lu grupta Guatemala, Meksika ve bu iki ırkın melezi olan Corona, Topa Topa, Rincon, Würtz, Clifton, Ettinger, Stewart, Mesa, WW5, Reed3432, Teague, Bacon olmak üzere on iki genotip; B.2 no’lu grup ta ise aynı ırklara ait olan Zutano, Blake, Nowels, Regina, Anaheim, Mexicola, Füerte olmak üzere yedi genotip bulunmaktadır.

Bu gruplar kendi aralarında alt gruplar oluşturmuştur. ‘B’ grubundan ayrılan ve B.1 olarak adlandırılan yan dal kendi içerisinde 0.85 oranında benzerlik gösteren iki alt gruba ayrılmıştır. Bu alt gruplardan birinde bulunan sırayla Meksika ve Meksika x Guatemala melezi oldukları bilinen Teague ve Bacon çeşitleri 0.87 oranında benzer bulunmuştur.

Dendogramdaki B.1 no’lu ana gruptan ayrılan Guatemala ırkından olan Corona’nın diğer dokuz genotipe 0.88 oranında benzer olduğu bulunmuştur.

B.2 no’lu alt gruptan ayrılan B.2.1 no’lu grup kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmıştır. B.2.1 no’lu grup kendi arasında ‘a’ ve ‘b’ olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Bu iki alt grubun benzerlik oranı 0.90 olarak bulunmuştur. Bu alt gruplardan birinde bulunan WW5 ve Reed 3432 çeşitlerinin benzerlik oranının 0.92 olduğu görülmüştür.

‘b’ olarak adlandırılan grup tekrar kendi içerisinde ‘b.1’ ve ‘b.2’ olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. ‘b.2’ alt grubunda bulunan Clifton çeşidinin ‘b.2’ grubunda bulunan üç çeşitle olan benzerlik oranının 0.93 olduğu saptanmıştır.

‘b.1’ olarak adlandırılan alt grup kendi içerisinde tekrar dallanma göstermiştir. Bu grup içerisinde bulunan Meksika ırkından olan Topa Topa ve Meksika x Guatemalan melezi olan Rincon’un benzerlik oranı 0.95 bulunmuştur.

Bu iki çeşitten ayrılan Meksika x Guatemala melezi olan Würtz'un iki çeşitle olan benzerlik oranı 0.94'tür.

A.2 no'lu grup kendi içerisinde iki gruba ayrılmıştır. Meksika x Guatemala melezi olan Zutano çeşidinin diğer altı çeşitle olan benzerlik oranı 0.80 olarak bulunmuş ve bu çeşidin diğer çeşitlerden ayrıldığı saptanmıştır.

A.2 no'lu gruptan ayrılan ve altı genotipin C.1' ve 'C.2' olmak üzere iki alt gruba ayrıldığı görülmüştür. Bu grupta bulunan 'C.1' olarak adlandırılan Meksika x Guatemala melezi olan Füerte çeşidinin diğer alt grupta bulunan beş çeşitle olan benzerlik oranı 0.87 olarak bulunmuştur.

'C.2' grubu kendi içerisinde 'C.2.1' ve 'C2.2.' olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. 'C.2.1.' alt grubunda bulunan Blake çeşidinin diğer grupta bulunan dört çeşit ile benzerlik oranının 0.91 olduğu bulunmuştur. 'C2.1' no'lu grup kendi içerisinde tekrar 'C.2.1.1' ve 'C2.1.2' olarak dallanma göstermiştir. 'C2.1.2' olarak adlandırılan alt grupta bulunan Regina ve Anaheim çeşitlerinin 0.96 oranında benzer olduğu ve Nowel çeşidinin bu iki çeşitten 0.95 benzerlik oranı ile ayrıldığı görülmüştür. 'C.2.1.1' olarak adlandırılan grupta bulunan Meksikola çeşidinin diğer gruptan 0.92 oranında benzerlik yüzdesiyle ayrıldığı görülmüştür.



	Fuente	Bacon	Zutano	Mexicola	Teague	Anaheim	Blake	Reed 3432	Regina	Mesa	Stewart	Nowels	Eitinger	Clifton	Wurtz	Rincon	Hass	Tupa Tupa	Corona	WWS
Fuente	1.00																			
Bacon	0.58	1.00																		
Zutano	0.77	0.76	1.00																	
Mexicola	0.88	0.68	0.82	1.00																
Teague	0.65	0.87	0.76	0.75	1.00															
Anaheim	0.87	0.67	0.82	0.92	0.75	1.00														
Blake	0.84	0.65	0.80	0.90	0.73	0.92	1.00													
Reed 3432	0.57	0.89	0.78	0.65	0.84	0.63	0.66	1.00												
Regina	0.90	0.64	0.83	0.92	0.72	0.96	0.91	0.63	1.00											
Mesa	0.59	0.89	0.78	0.68	0.85	0.68	0.70	0.91	0.67	1.00										
Stewart	0.60	0.90	0.79	0.67	0.83	0.69	0.69	0.90	0.68	0.94	1.00									
Nowels	0.88	0.67	0.84	0.90	0.73	0.94	0.90	0.66	0.96	0.70	0.71	1.00								
Eitinger	0.59	0.87	0.77	0.68	0.82	0.69	0.69	0.88	0.68	0.94	0.94	0.70	1.00							
Clifton	0.62	0.85	0.78	0.71	0.81	0.71	0.74	0.88	0.71	0.90	0.90	0.74	0.90	1.00						
Wurtz	0.63	0.84	0.79	0.69	0.81	0.71	0.75	0.91	0.71	0.92	0.90	0.74	0.89	0.92	1.00					
Rincon	0.58	0.86	0.77	0.69	0.81	0.70	0.73	0.90	0.70	0.94	0.92	0.73	0.93	0.93	0.94	1.00				
Hass	0.44	0.58	0.51	0.45	0.62	0.46	0.50	0.68	0.44	0.54	0.60	0.47	0.64	0.63	0.62	0.58	1.00			
Tupa Tupa	0.62	0.86	0.78	0.71	0.81	0.72	0.74	0.89	0.72	0.92	0.93	0.75	0.90	0.91	0.93	0.95	0.60	1.00		
Corona	0.65	0.84	0.82	0.72	0.81	0.75	0.75	0.87	0.74	0.87	0.88	0.77	0.88	0.87	0.87	0.89	0.62	0.90	1.00	
WWS	0.57	0.88	0.74	0.67	0.83	0.66	0.69	0.92	0.66	0.90	0.89	0.69	0.91	0.91	0.89	0.92	0.69	0.91	0.87	1.00

Şekil 4.14. 20 Avokado Genotipine SRAP Tekniğinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksi

4.1.1.3. SRAP ve RAPD Analizleri Sonucu Oluşturulan Dendogramın Değerlendirilmesi

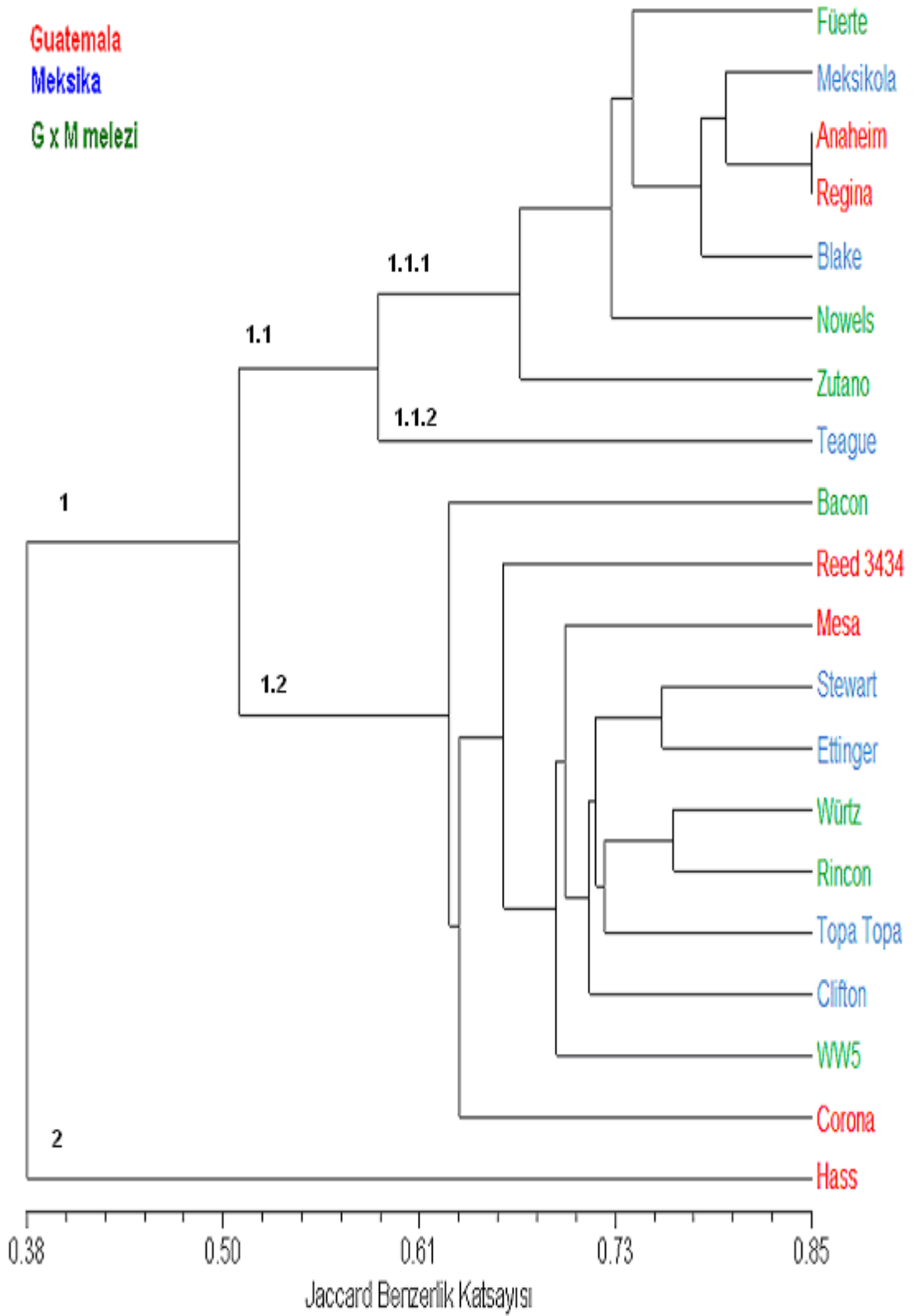
Avokado genotiplerinin yirmi bir SRAP ve on sekiz RAPD primerinden elde edilen bantların varlığı (1), yokluğu (0) olma durumuna göre değerlendirilen veriler sonucunda elde edilen dendogram **Şekil 4.15**'de verilmiştir.

Dendogram da Hass genotipi diğer on dokuz genotipten 0.45 oranında uzak bulunmuştur. Hass'tan ayrılan on dokuz genotip kendi arasında 0.67 oranında iki gruba ayrılmıştır. 1 ile adlandırılan küme tekrar 0.74 oranında iki alt gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar içerisinde Meksika ırkından olan Teague diğer grupta bulunan altı genotipten ayrılmıştır.

1 ile adlandırılan grubun 1.2. nolu dalında bulunan yedi genotip 0.82 ile 0.92 oranında benzerlik göstermektedir. Bu grup içerisinde bulunan Guatemala x Meksika melezi olan Zutano, Nowels ve Meksika ırkından olan Blake genotiplerinin grup içerisinde dallanma göstererek ayrıldıkları görülmüştür. Guatemala ırkından olan Anaheim ve Meksika ırkından olan Regina genotiplerinin 0.92 oranında benzer oldukları görülmüştür. Bu iki genotip Meksika ırkından olan Meksika melezinden 0.90 oranında ayrılmıştır.

1.1. nolu dal kendi arasında 0.77 oranında benzerlik oranı ile ayrılmıştır. 1.1.2 no'lu dalda bulunan Guatemala x Meksika melezi olan Bacon genotipinin 1.1.1 nolu dalda bulunan on genotipten ayrıldığı görülmüştür.

1.1.1 nolu grupta bulunan on genotipin 78 ile 87 oranında benzer oldukları görülmüştür. Bu grup içerisinde bulunan Guatemala x Meksika melezleri olan Würtz ve Rincon genotipleri 0.87 oranında benzer bulunmuştur. Meksika ırkından olan Stewart ile Ettinger 0.86 oranında benzer bulunmuştur.



Şekil 4.15. 20 Avokado Genotipine SRAP ve RAPD Tekniklerinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Dendrogram

	Fuerte Bacon	Zutano	Mexicola	Teague	Anaheim	Blake Reed 3432	Regina Mesa	Stewart	Nowels	Ettlinger	Clifton Wurtz	Rincon	Hass	Topa Topa	Corona WW5
Fuerte	1.00														
Bacon	0.52	1.00													
Zutano	0.77	0.68	1.00												
Mexicola	0.83	0.63	0.81	1.00											
Teague	0.69	0.72	0.74	0.75	1.00										
Anaheim	0.86	0.60	0.82	0.90	0.78	1.00									
Blake	0.81	0.62	0.81	0.86	0.72	0.89	1.00								
Reed 3432	0.54	0.76	0.70	0.62	0.70	0.58	0.63	1.00							
Regina	0.88	0.59	0.80	0.86	0.76	0.91	0.87	0.60	1.00						
Mesa	0.55	0.80	0.70	0.64	0.72	0.62	0.67	0.78	0.64	1.00					
Stewart	0.58	0.80	0.75	0.66	0.73	0.68	0.68	0.78	0.66	0.83	1.00				
Nowels	0.81	0.64	0.79	0.82	0.73	0.84	0.84	0.62	0.88	0.71	0.70	1.00			
Ettlinger	0.58	0.81	0.72	0.66	0.73	0.66	0.68	0.81	0.66	0.83	0.86	0.69	1.00		
Clifton	0.60	0.78	0.74	0.66	0.73	0.68	0.72	0.77	0.69	0.80	0.83	0.70	0.83	1.00	
Wurtz	0.62	0.73	0.72	0.66	0.72	0.66	0.73	0.80	0.69	0.81	0.84	0.72	0.82	0.83	1.00
Rincon	0.59	0.76	0.70	0.65	0.69	0.66	0.70	0.81	0.66	0.84	0.84	0.72	0.84	0.86	1.00
Hass	0.49	0.53	0.50	0.48	0.54	0.49	0.52	0.61	0.51	0.59	0.59	0.49	0.62	0.58	0.54
Topa Topa	0.60	0.75	0.71	0.68	0.74	0.70	0.71	0.78	0.70	0.81	0.82	0.71	0.83	0.82	0.84
Corona	0.63	0.73	0.73	0.68	0.72	0.70	0.72	0.75	0.69	0.75	0.74	0.72	0.78	0.77	0.79
WW5	0.53	0.76	0.64	0.61	0.70	0.59	0.63	0.81	0.59	0.80	0.80	0.66	0.83	0.80	0.83

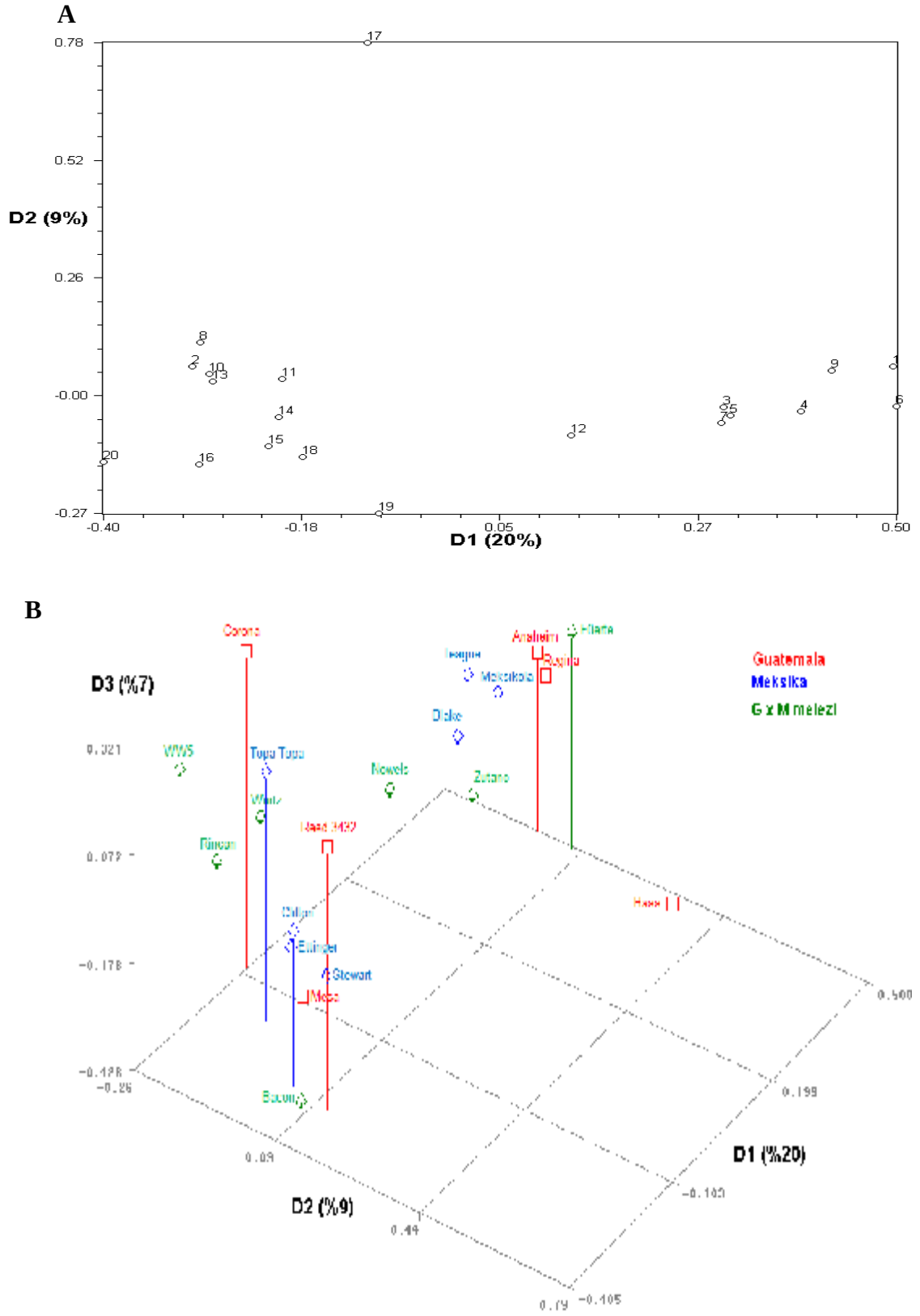
Şekil 4.16. 20 Avokado Genotipine RAPD ve SRAP Tekniklerinin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksi

4.1.1.4. Principle Coordinate Analizi

Yirmi adet avokado genotipinin RAPD ve SRAP analizleri sonucunda; UPGMA analiz programı uygulanmış, elde edilen dendogram ve matrisler Principle Coordinate Analiz programıyla koordinat sisteminde gösterilmiştir.

RAPD analizi sonucunda moleküler varyansın 1. boyutunda % 20, 2. boyutta % 9, 3. boyutta % 7'si ile toplam varyansın % 36'sı açıklamıştır. RAPD analizi sonucu oluşturulan koordinat düzleminde üç grup görülmektedir. Bu gruplar; Guatemala x Meksika melezi olan WW5, Rincon, Würtz ve Bacon; Meksika ırkından olan Ettinger, Stewart, Clifton ve Topa Topa; Guatemala ırkından olan Mesa ve Reed 3432 genotiplerinin bir grup oluşturdukları görülmüştür. Guatemala x Meksika melezi olan Füerte ve Zutano; Meksika ırkından olan Blake, Teague ve Meksika; Guatemala ırkından olan Regina ve Anaheim genotiplerinin bir grup oluşturdukları, Guatemala x Meksika melezi olan Nowels ile Guatemala ırkından olan Corona'nın belirtilen iki grubun arasında koşullandığı ve Guatemala ırkından olan Hass'ın 19 genotiplerden uzak olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçların NTSY programı ile oluşturulan dendogram ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Sonuçlarda ırkların kendi aralarında grup oluşturamadıkları görülmüştür (**Şekil 4.17 A, B**).

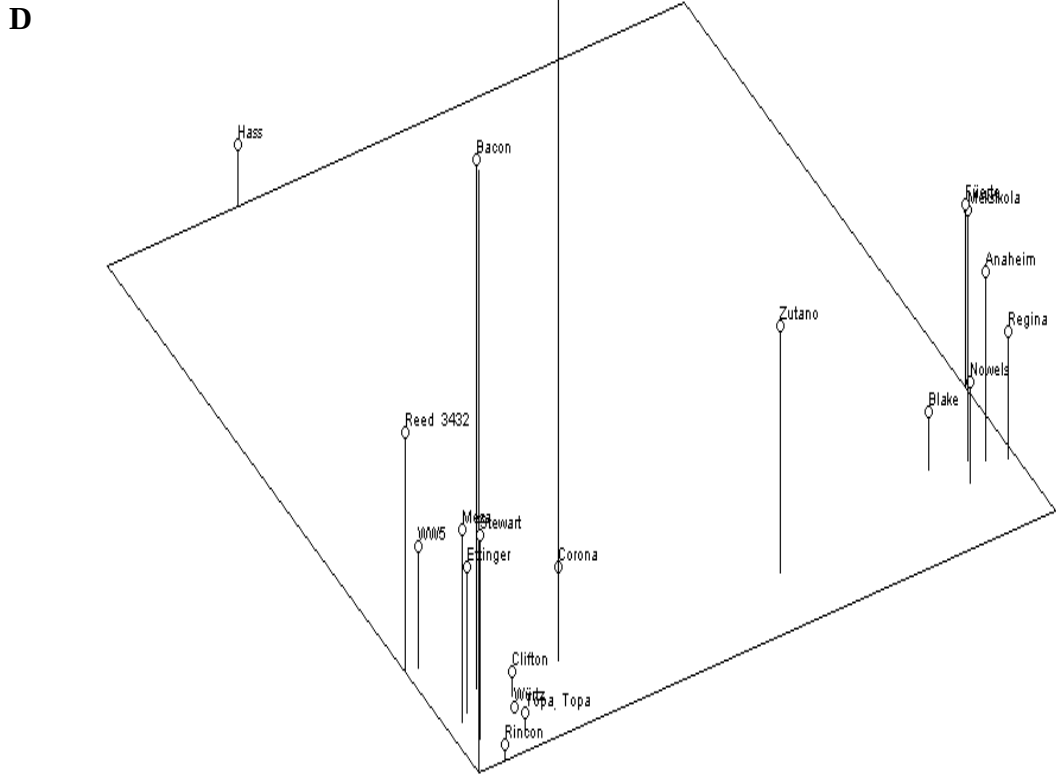
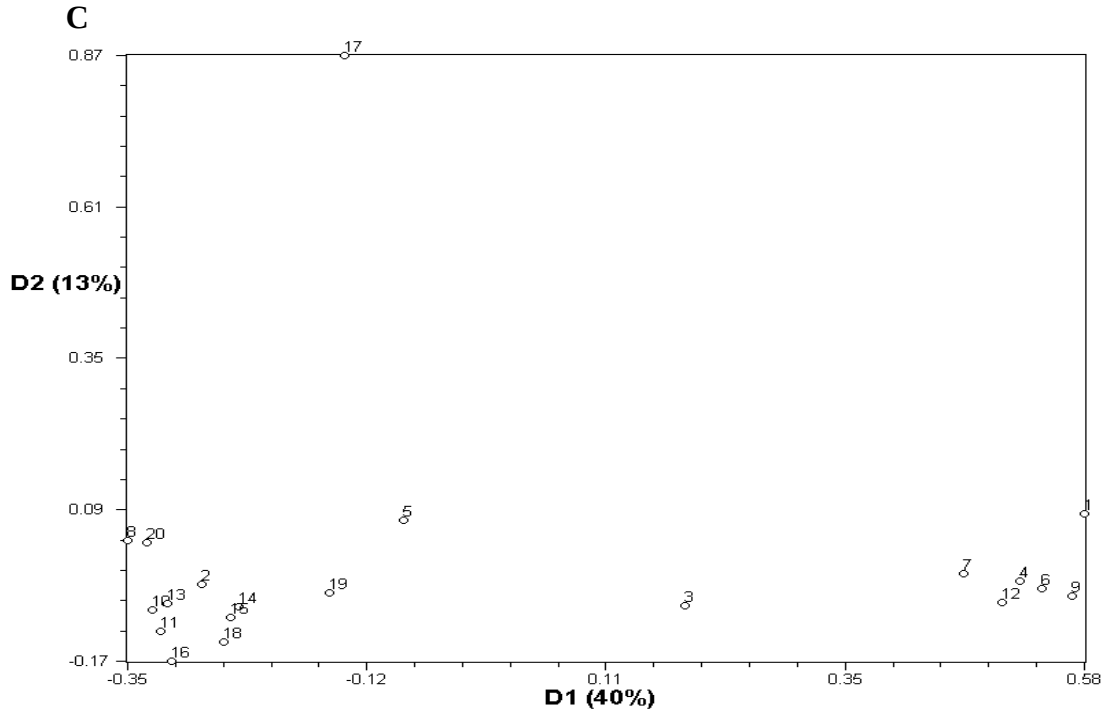
RAPD analizi sonucu elde edilen matris ve dendogramın uyumuna baktığımız mantel test değeri r : 0.87 ile yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.17.A, B. RAPD Principle Coordinate Analizi

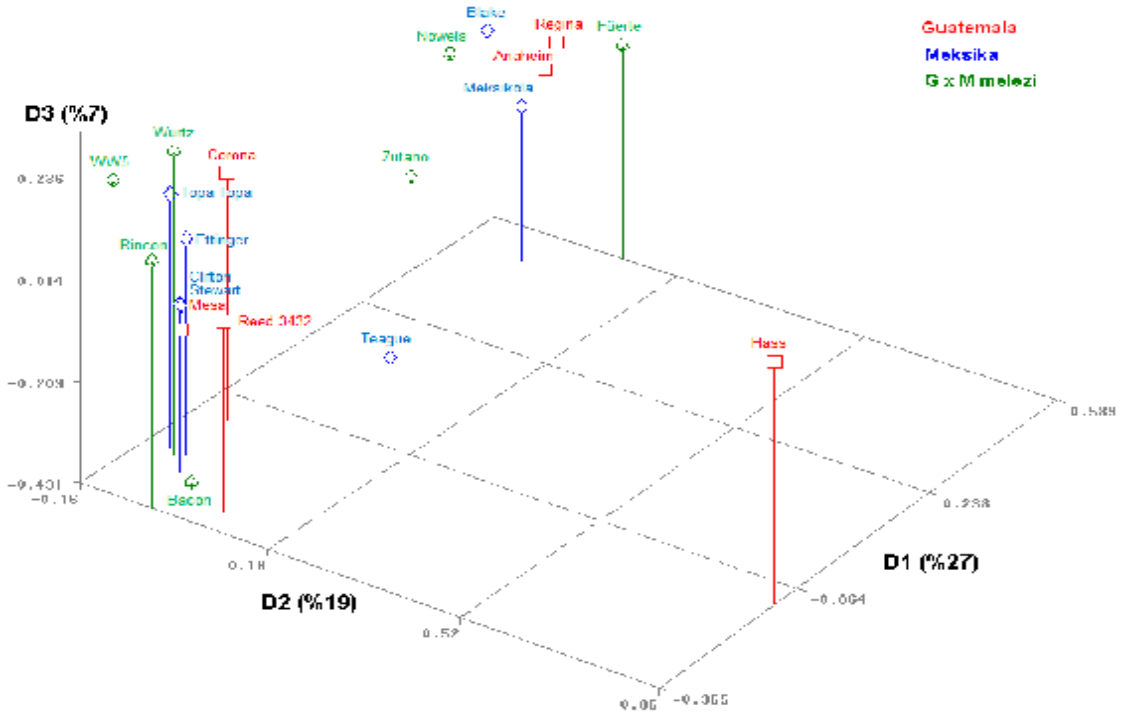
SRAP'ın Principle Coordinate analizinde; moleküler varyansın 1. boyutta % 40'ı, 2. boyutta % 13'ü, 3. boyutta % 7'si ile toplam varyansın % 60'ı açıklanmıştır.

SRAP analizi sonucu elde edilen koordinat düzleminde; Guatemala x Meksika melezi olan WW5, Bacon, Rincon ve Würtz; Meksika ırkından olan Stewart, Clifton, Ettinger ve Topa Topa; Guatemala ırkından olan Reed 3432 ve Mesa genotiplerinin bir grup oluşturdukları, Guatemala ırkından olan Corona ve Meksika ırkından olan Teague genotiplerinin bu gruba yakın bir yerde konumlandığı görülmüştür. Meksika ırkından olan Blake ve Meksikola; Guatemala ırkından olan Anaheim ve Regina; Guatemala x Meksika melezi olan Nowels genotiplerinin bir grup oluşturmuş oldukları Guatemala x Meksika melezi olan Zutano'nun bu gruba yakın bir bölgede olduğu görülmüştür. Guatemala ırkından olan Hass genotipinin RAPD analizlerinde de görüldüğü gibi diğer 19 genotipten uzak bir bölgede olduğu görülmüştür. SRAP analizi sonucu elde edilen dendogramın benzerlik matrisi ile uyumuna bakılan Mantel'in Matris Benzeşme testi sonucunda 0.94 (çok iyi) oranı bulunmuştur. (**Şekil 4.18 C, D**).



Şekil 4.18.C, D. SRAP Principle Coordinate Analizi

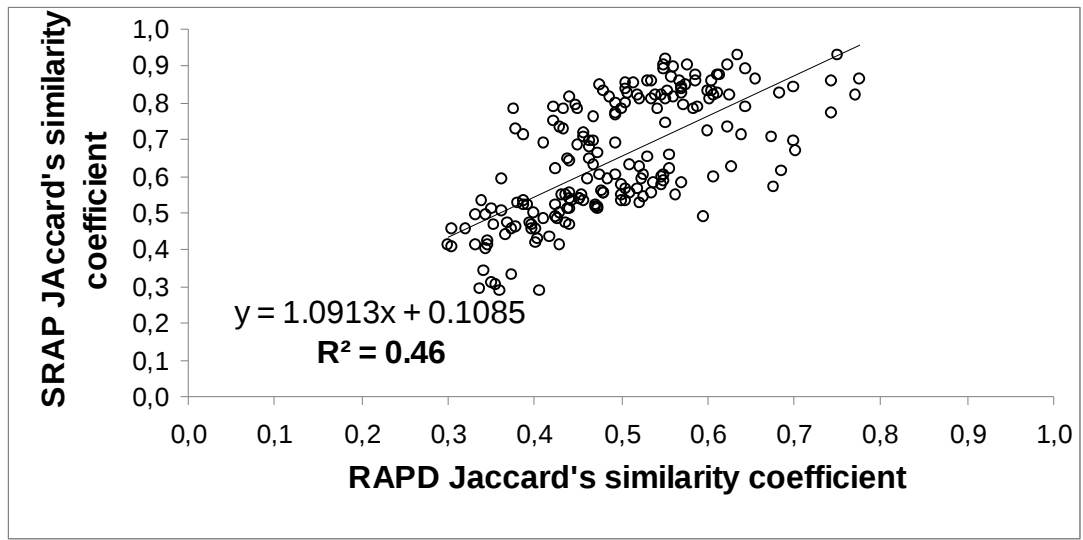
SRAP ve RAPD analizleri sonucu elde edilen temel koordinat düzleminde; moleküler varyansın 1. boyutta % 27'si, 2. boyutta % 19'u, 3. boyutta % 7'lik değerleri ile toplam varyansın % 53'u açıklanmıştır. Koordinat düzleminde üç grup görülmektedir. Birinci grupta Guatemala x Meksika melezi olan Würtz, WW5 ve Rincon; Meksika ırkından olan Topa Topa, Ettinger, Clifton ve Stewart; Guatemala ırkından olan Mesa, Corona ve Reed 3432 bulunmaktadır. İkinci grupta Guatemala x Meksika melezi olan Zutano, Nowels ve Fúerte; Meksika ırkından olan Blake ve Meksikola ile Guatemala ırkından olan Regina ve Anaheim bulunmaktadır. İkinci gruba biraz uzak bir yerde koşullanan Meksika ırkından olan Teague dendogramda bu grup içerisinde yer almaktadır. Guatemala ırkından olan Hass diğer genotiplerden uzakta bulunması nedeniyle üçüncü grup olarak değerlendirilmiştir. Uygulanan mantel test sonucunda r değeri 0.93 gibi yüksek bir değerde bulunmuş, bu durum bize dendogram ve matriks korelasyonunun yüksek olduğunu göstermiştir (Şekil 4.19).



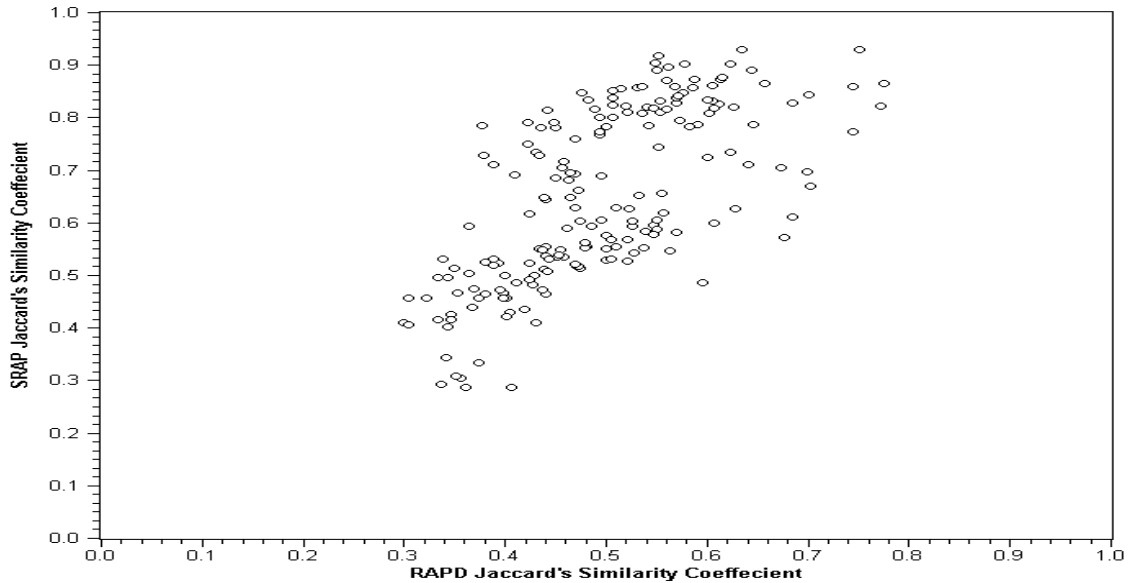
Şekil 4.19. SRAP ve RAPD Principle Coordinate Analizi

RAPD ve SRAP analizleri sonucu elde edilen verilerin NTSYS programında analizleri sonucu oluşturulan Mantel Matris Korelasyon katsayısı $r:0.67$ ($R^2=0.46$) olarak bulunmuştur. **Rolhf (1998)**, elde edilen Matris Korelasyon katsayı değerlerini açıklarken; $r \geq 0.9$ çok iyi; $0.8 \leq r < 0.9$ iyi; $0.7 \leq r < 0.8$ kötü; $r < 0.7$ çok kötü olarak değerlendirmiştir. Bu veriler kapsamında RAPD ve SRAP analiz sonuçları arasındaki uyum çok yüksek değildir (**Şekil 4.20 E, F**).

E



F



Şekil 4.20.E, F. SRAP ve RAPD'in Jaccard Benzerlik Korelasyonu

4.1.2 Morfolojik Çalışmalar

Yirmi adet avokado genotipinde metot kısmında belirtilen IPGRI standartları baz alınarak yapılan gözlem ve ölçümler ağaç ve yaprak alt başlıkları şeklinde aşağıda verilmiştir. Metot kısmında belirtilen çiçek özellikleri Adana'da aşırı soğuk geçen kış koşullarından genotiplerin etkilenmesinden dolayı değerlendirilememiştir.

4.1.2.1. Ağaçlar Üzerinde Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler

Yirmi adet avokado genotipinin ağaç özelliklerini belirlemek amacıyla ağaç boyları, taç yüksekliği, gövde çapı ölçülmüş; ağaç şekli, ağacın gelişimi, gövde yüzeyine bakılmıştır. Elde edilen veriler **Çizelge 4.3'**de verilmiştir.

Yirmi genotipin ağaç boylarının ölçümü sonucunda en yüksek taca sahip genotipler Würtz'de 11 m, Clifton'da 7.7 m, Hass'ta 7.5 m en küçük taç yüksekliğine sahip genotipler Corona'da 3.5 m, Ettinger'de 4.3 m, WW5'te 5 m olarak sıralanmıştır. Yirmi genotipin boy ortalaması 6.1 m olarak belirlenmiştir.

Ağaçların taç genişliği kuzey-güney ve doğu-batı doğrultusunda ölçülmüş, ve ortalaması alınmıştır. En geniş taca sahip olan genotipler Blake (9.2 m), Clifton (9.1 m), Teague (8.9 m), Würtz (8.5 m), Füerte (8.3 m), Topa Topa (8 m); en küçük taca sahip olan genotipler Mesa (3.1 m), Ettinger (3.2 m), Corona (3.3 m), Nowels (4.3 m), Zutano (4.8 m) olarak sıralanmıştır. Yirmi genotipin ağaç taç ortalaması 6.1 m olarak bulunmuştur.

Ağaç gövdesinin çevresi ile ilgili elde edilen verilere göre en geniş gövde çaplı genotipler Stewart (127.5 cm), Topa Topa (113.5 cm), Teague (103 cm), Regina (98.5 cm) en küçük çaplı genotipler Ettinger (45.3 cm), Bacon (54.4 cm), Reed 3432 (60.5 cm) olarak bulunmuştur. Genotiplerin tümünün ağaç çap ortalaması 78.9 cm olarak belirlenmiştir.

Çeşitlerin taç gelişimi incelendiğinde Mesa, Nowels, Corona, Ettinger çeşitlerinin zayıf, Zutano, Rincon, Hass, Meksikola, Anaheim, Würtz, Topa Topa, Stewart çeşitlerinin orta derecede güçlü, Füerte, Bacon, Regina, Blake, Clifton, Teague, WW5, Reed 3432 çeşitlerinin güçlü taçlara sahip oldukları görülmüştür.

Ağaç şekillerine bakılarak elde edilen gözlemler sonucunda Bacon, Mesa, Hass, Anaheim, Würtz, Ettinger, Stewart çeşitlerinin sütun, Zutano, Nowels, Clifton, Corona, Reed 3432 çeşitlerinin yarı daire, Füerte çeşidinin ters yumurta, Rincon çeşidinin yarı ekliptik şeklinde olduğu gözlenmiştir.

Ağaç gövdelerinin pürüzlülük derecelerinin Füerte, Regina, Mesa, Rincon, Teague ve Ettinger çeşitlerinde çok pürüzlü, diğer 14 çeşitte pürüzlü olduğu gözlenmiştir (**Şekil 4.21**).

Çizelge 4.3. Yirmi Avokado Çeşidine ait Ağaç Özellikleri

İrk	Genotipler	AY (m)	AT (m)	GÇ (cm)	AG	AB	GY
Meksika	Meksikola	6.2	5.8	66	2	5	3
	Stewart	5.4	6.8	127.5	2	1	3
	Clifton	7.7	9.1	89.8	3	6	3
	Topa Topa	6.1	8	113.3	2	5	3
	Ettinger	4.3	3.2	45.3	1	1	4
	Blake	6.7	9.2	75.2	3	5	3
	Teague	6.0	8.9	103	3	5	4
Guatemala	Corona	3.5	3.3	76	1	6	3
	Anaheim	5.7	5.2	71.3	2	1	3
	Regina	5.6	6.3	98.5	3	7	4
	Hass	7.5	5.6	65	2	1	3
	Mesa	5.5	3.1	88.5	1	1	4
	Reed 3432	6.0	5.5	60.5	3	6	3
MxG Melezleri	WW5	5.0	6.9	68	3	5	3
	Füerte	6.3	8.3	80.8	3	3	4
	Bacon	6.0	5.5	60.5	3	6	3
	Nowels	5.7	4.3	80.6	1	6	3
	Rincon	5.3	5.8	65.3	2	7	4
	Zutano	6.8	4.8	64	2	6	3
	Würtz	11	8.5	85	2	1	3
	Toplam	6.1	6.1	78.9			

Ağacın Gücü (AG): zayıf (1), orta (2), güçlü (3)

Ağacın Yüksekliği (m) (AY)

Ağacın Tacı (cm) (AT)

Gövde Çevresi (cm)

Ağaç Biçimi (AB): sütun (1), piramit (2), ters yumurtamsı (3), dikdörtgen (4), daire (5),

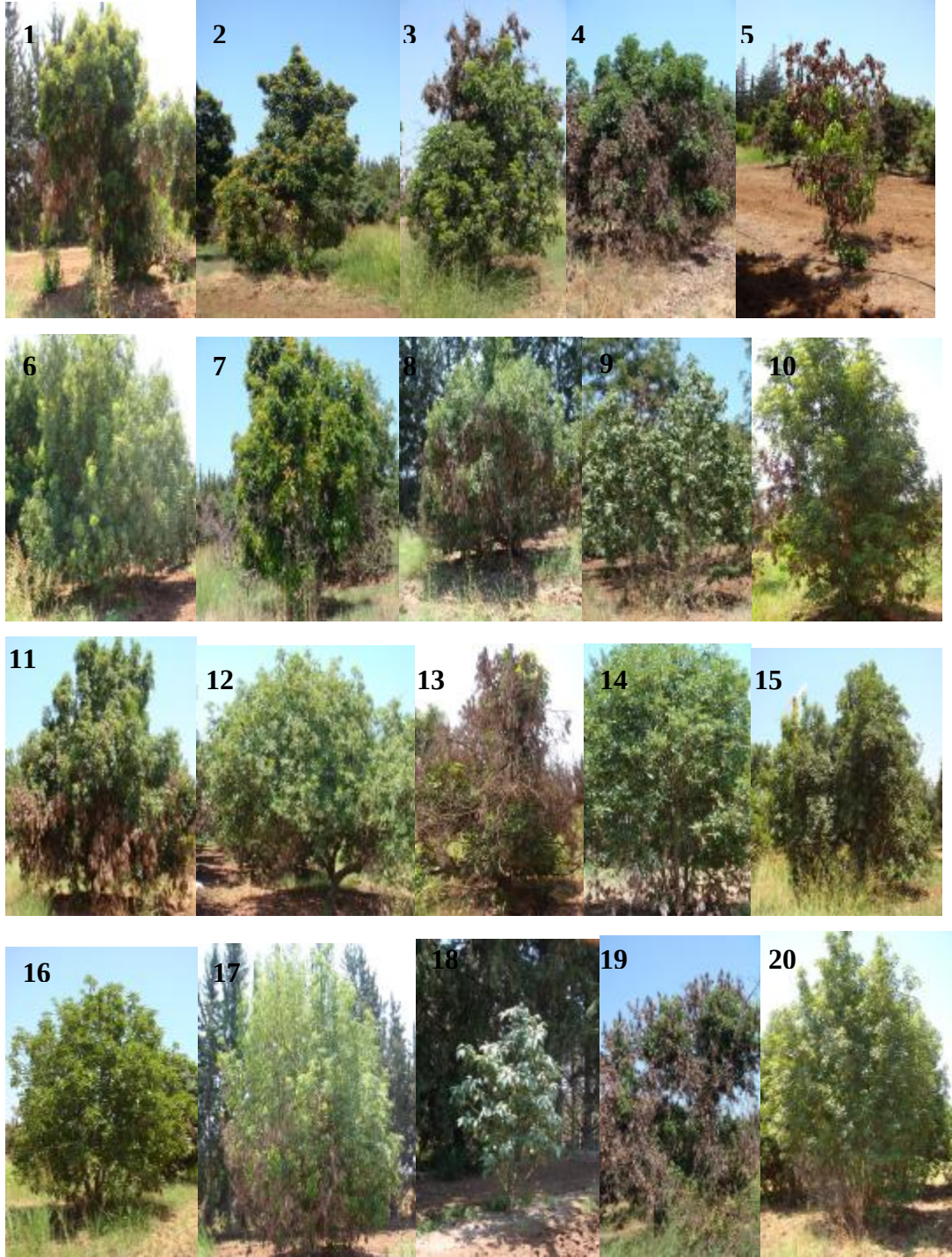
Yarı daire (6), yarı ekliptikt (7), düzensiz (8)

Gövde Yüzeyi (GY): düz (1), pürüzsüz (2) pürüzlü (3) çok pürüzlü (4)

M: Meksika

G: Guatemala

MXG: Meksika x Guatemala Melezleri



Şekil 4.21. Yirmi Avokado Çeşidine ait Ağaç Resimleri

[Anaheim (1), Bacon (2), Blake (3), Clifton (4), Corona (5), Ettinger (5), Füerte (6), Hass (8), Meksikola (9), Mesa (10), Nowels (11), Regina (12), Rincon (13), Stewart (14), Teague (15), Topa Topa (16), Würtz (17), WW5 (18), Zutano (19), Reed 3432 (20)]

4.1.2.2. Yapraklarda Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler

Yirmi adet avokado genotipine ait olan yaprak örneklerinin boyuna, genç sürgünlerin rengine, yaprak şekillerine, yaprak alt kısmının şekline, olgun yaprakların rengine, yaprak kenarının şekline, yaprak uç kısmının şekline, yaprak dokusuna, anason kokusuna bakılmıştır. Bu parametreler ışında elde edilen veriler **Çizelge 4.4**'de verilmiştir.

Yirmi genotipin on adet olgun yaprağının ölçülmesi ile elde edilen boy ortalamaları sonucunda en uzun yaprak boyuna sahip genotipler Mesa (20.3 cm), Regina (19.7 cm), Bacon (19 cm), Würtz (18.1 cm), Zutano (18 cm), en kısa boya sahip genotipler Reed 3432 (13.6 cm), Anaheim (14.5 cm), Teague (14.8 cm), Blake (15.4 cm) olarak ölçülmüştür. Yirmi genotipin yaprak boy ortalaması 16.9 cm olarak hesaplanmıştır. Guatemala ırkından olan Reed 3432, Anaheim, Mesa, Corona, Hass ve Regina çeşitlerinin yaprak boyları sırasıyla 13.6 cm, 14.5 cm, 20.3 cm, 17.8 cm, 15.6 ve 19.7 olan altı çeşidin boy ortalamaları 16.92 cm olarak bulunmuştur. Meksika ırkından olan Meksikola, Clifton, Topa Topa, Stewart, Ettinger, Blake ve Teague çeşitlerinin yaprak boyları sırasıyla 15.9, 16.4, 15.9, 16, 17.7, 15.4 ve 14.8 cm olan yedi çeşidin yaprak boy ortalaması 16.01 cm olarak bulunmuştur.

Meksika ve Guatemala ırklarını ayırt etmede kullanılan morfolojik bir markır olan sürgün rengine bakılmıştır. Literatürlerde belirtildiği üzere Meksika ırkından olan çeşitlerin genç sürgün renginin yeşil, Guatemala ırkından olanların kırmızı olduğu belirtilmiştir. Yirmi avokado çeşidi üzerinde yapılan gözlemler sonucunda Meksikola, Clifton, Füerte, Zutano, Blake, Bacon, WW5, Rincon, Teague, Würtz, Nowels, Topa Topa, Hass çeşitlerinin yeşil, Anaheim, Regina, Stewart, Reed 3432, Corona, Ettinger çeşitlerinin kırmızı sürgün rengine sahip oldukları gözlenmiştir.

Yaprak şekilleri üzerinde yapılan değerlendirmeler sonucunda Anaheim, Mesa çeşitlerinin mızrak, Füerte, Zutano, Blake, Stewart, Rincon, Reed 3432, Clifton, Ettinger, Hass çeşitlerinin oval, Regina, Bacon, WW5, Meksikola, Teague, Würtz, Corona, Topa Topa çeşitlerinin mızraksı dikdörtgen, Nowels çeşidinin daralan ters yumurta şeklinde olduğu gözlenmiştir. Yaprak kenar şekillerine bakıldığı zaman bütün çeşitlerde yaprak kenarının dalgalı olduğu gözlenmiştir.

Olgun yaprak rengi üzerinde yapılan gözlemler sonucunda Anaheim, Stewart, Teague, Topa Topa, Hass çeşitlerinde olgun yaprak rengi yeşil, diğer 15 çeşitte koyu yeşil olarak saptanmıştır.

Yaprak uçlarının şekline bakarak yapılan değerlendirme sonucunda Anaheim, Stewart, Bacon, Rincon, Reed 3432, Würtz, Hass çeşitlerinde keskin uçlu, diğer 13 çeşidin yaprak uçlarının orta keskinlikte olduğu görülmüştür.

Yaprak dokusuna bakılarak elde edilen gözlem sonucunda Teague çeşidinin yaprak dokusunun sert, diğer 19 çeşidin yaprak dokusunun yumuşak olduğu saptanmıştır.

Literatürlerde yapraklarda gözlenen anason kokusunun Meksika ırkına ait olan çeşitlerde gözlemlendiği belirtilmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda anason kokusu seviyeleri Meksika ırkından olan Füerte, Meksikola, Reed 3432, Topa Topa çeşitleri ve Guatemala ırkından olan Hass çeşidinde güçlü; Meksika ırkından olan Blake ve Meksika x Guatemala melezleri Bacon ve WW5 çeşitlerinde orta; Meksika ırkından olduğu belirtilen Stewart, Teague ve Ettinger çeşitleri ile diğer 9 çeşitte zayıf olarak değerlendirilmiştir (**Şekil 4. 22**).

Yapmış olduğumuz moleküler ve morfolojik çalışmalar sonucunda, Hass çeşidi olarak bildiğimiz çeşidin Hass'ın özelliklerini göstermediği görülmüştür. Bu yüzden bu çeşidin çöğür olma olasılığı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.4. Yirmi Avokado Çeşidine Ait Yapraklarda Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler

İrk	Genotipler	YB(cm)	GSR	YŞ	YKŞ	OYR	YKŞ	YUŞ	YD	AK
Meksika	Mexicola	15.9	2	9	1	3	1	2	1	3
	Stewart	16	3	4	1	2	1	3	1	1
	Clifton	16.4	2	4	1	3	1	2	1	3
	Topa Topa	15.9	2	9	1	2	1	2	1	3
	Teague	14.8	2	9	1	2	1	2	2	1
	Blake	15.4	2	4	1	3	1	2	1	2
	Ettinger	17.7	3	4	1	3	1	2	1	1
Guatemala	Regina	19.7	3	9	1	3	1	2	1	1
	Hass	15.6	2	4	1	2	1	3	1	3
	Anaheim	14.5	3	7	1	2	1	3	1	1
	Reed3432	13.6	3	4	1	3	1	3	1	1
	Mesa	20.3	3	7	1	3	1	2	1	1
	Corona	17.8	3	9	1	3	1	2	1	1
MxG Melezleri	Nowels	16.8	2	2	1	3	1	2	1	1
	Rincon	17.9	2	4	1	3	1	3	1	1
	Bacon	19	2	9	1	3	1	3	1	2
	Füerte	17.9	2	4	1	3	1	2	1	3
	Zutano	18	2	4	1	3	1	2	1	1
	Würtz	18.1	2	9	1	3	1	3	1	1
	WW5	16.4	2	9	1	3	1	2	1	2
	Ortalama	16.9								

Yaprak Boyu (YB)

Genç Sürgünlerin Rengi (GSR): sarı (1), yeşil (2), kırmızı (3)

Yaprak Şekli (YŞ): yumurta (1), daralan ters yumurtamsı (2), ters yumurta (3), oval (4), yuvarlakça (5), Yürek (6), mızrak biçiminde (7), dikdörtgen (8), Mızraksı- dikdörtgen (9)

Yaprak Kaidesinin Şekli (YKŞ): keskin (1), geniş (2), tepesi kesik (3)

Olgun Yaprakların Renkleri (OYR): açık yeşil (1), yeşil (2), koyu yeşil (3)

Yaprak Kenarı (YK): düz (1), dalgalı (2)

Yaprak Ucunun Şekli (YUŞ): çok keskin (1), keskin (2), orta (3), geniş (4), çok geniş (5)

Yaprak Dokusu (YD): yumuşak (1), yarı sert (2), sert (3), çok sert (4)

Anoson Kokusu (AK): zayıf (1), orta (2), güçlü (3)

M: Meksika

G: Guatemalan

MXG: Meksika x Guatemala Melezleri



Şekil 4.22. Avokado Çeşitlerine ait Yaprak Resimler

4.2. Tartışma

Bu güne kadar yapılan çalışmalarda avokadonun taksonomik sınıflandırmasında farklı görüşler ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. **Berg (1995)**'in yapmış olduğu sınıflandırma kullanılmakta, fenotipik, morfolojik ve moleküler veriler bu sınıflandırma ile her zaman uyumlu olmamaktadır. Melez genotiplerin bazı literatürlerde Meksika veya Guatemala ırklarında belirtilmeleri karışıklıklara neden olmaktadır (**Ashworth, 2003**). Farklı literatürlerde çeşitlerin kökenleri farklı verilmekte, elde edilen sonuçları değerlendirmek zorlaşmaktadır.

Yirmi adet avokado genotipi üzerinde yaptığımız çalışmada RAPD primerlerinin polimorfizm oranının (% 96.55), SRAP primer kombinasyonlarının polimorfizm oranından (% 77.86) daha yüksek olduğunu görülmüştür. Bununla beraber SRAP markırının dendogram matriks korelasyon değeri ($r:0.94$) çok yüksek çıkmıştır.

Fiedler ve ark (1998)'nın 16 adet avokado genotipi için kullandıkları 22 RAPD primeri, yirmi adet avokado genotipinde kullanılmıştır. Kullanılan 22 primerden 18'inde amplifikasyon gözlenmiştir. **Fiedler ve ark (1998)**'nin çalışmış oldukları UBC-20, UBC-39, UBC-40, UBC-42 primerlerin de bazı genotiplerde bant gözlenmemiş; bu yüzden değerlendirmeye alınmamışlardır. On sekiz primerden 116 bant elde edilmiş, bu bantların 112 polimorfik bulunmuştur. Bu sonucun Fiedler ve ark. (1998) elde ettikleri sonuçtan farklı olduğu görülmüştür. Araştırmacıların primer polimorfizm oranı (% 83) iken, bu çalışmada elde edilen polimorfizm oranı (% 96.55)'tir. Bu sonuç bizim tez çalışması kapsamında kullanıldığımız genotiplerin genetik çeşitliliğinin daha yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilmektedir.

SRAP ve RAPD markır sistemlerini kullanarak yapılan çalışma sonucu oluşturulan dendogramda ırkların kendi aralarında küme oluşturamadıkları görülmüştür. **Clegg ve Ashworth (2003)** RLFP ve mikrosatellit markırları ile yaptıkları çalışma sonucu oluşturdukları dendogramda ırkların küme oluşturduklarını ama çeşitlerin hepsinde gerçek bir ayrılmanın gözlenmediğini görmüşlerdir. **Alcaraz ve Hormaza (2007)** SSR markırları ile İspanya'da yetişen 75 avokado genotipi üzerinde yaptıkları çalışmada; ırkların gruplar oluşturmadıklarını görmüşlerdir.

SRAP ve RAPD markırlarının benzerlik indeksleri arasındaki korelasyonun mantel kofenetik korelasyon değeri r : 0.67 (R^2 : 0.46) olarak bulunmuştur. Bu değer **Rolf (1998)**'in açıklamalarına göre düşüktür. **Budak ve ark (2004)**'te bir çimen türü olan (*Buchloe dactyloides (Nutt.) Englen*)'in 20 genotipinin filolojik yakınlığını saptamak için yaptıkları çalışmada SSR, ISSR, RAPD ve SRAP markırlarını kullanmış ve markır sistemleri arasındaki benzerlik indeks korelasyonlarını hesaplamışlardır. Yaptıkları mantel test sonucunda RAPD ve SRAP markırlarının r değerini 0.73 olarak bulmuş ve bu değer diğer markır sistemleri arasındaki mantel test değerine göre (RAPD ve SSR r : 0.24; ISSR ile SSR r : 0.66) yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu durum bizim elde ettiğimiz r değerinin onların sonuçlarına yakın olduğunu göstermiştir. Böylece SRAP ve RAPD markırlarının arasında uyumun çok yüksek olmasa da kabul edilebilir bir düzeyde olduğunu söyleyebiliriz.

SRAP ve RAPD analizlerinin principle coordinate analizi ile oluşturulan koordinat düzleminde oluşan kümelerde (clustur) bulunan genotiplerin ırklara ayrılmadığı, ırkların ve melezlerin bir arada kümелendiği görülmüştür. Her iki koordinat düzleminde Hass genotipinin diğer genotiplere uzak olduğu görülmüştür.

SRAP analizlerinin mantel testine göre dendogram ve matriks arasındaki korelasyon (r : 0.94) oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum nedeni; SRAP markırının DNA'nın ekzon denilen genleri kodlayan bölgeleri kopyalaması ve bu bölgelerin morfolojik özellikleri içermesinden kaynaklanmaktadır. Mantel değeri RAPD'te (r : 0.87) SRAP analizine göre düşük ama **Rolf (1998)**'un açıklamalarına göre yüksek bir değer çıkmıştır. SRAP ve RAPD'ın kombinasyonu ile oluşturulan dendogram ve matriks'te mantel değerinin 0.92 gibi çok yüksek değerler ifade ettiği görülmüştür. Bu durum yapılan çalışmada dendogram ve matriks değerlerinin uyum oranının yüksek olduğunu göstermektedir.

SRAP ve RAPD markırlarının dendogramları ve benzerlik değerleri farklı çıkmakla beraber değerler birbirine yakın bulunmuştur. RAPD primeri ile oluşturulan matriks'te benzerlik değer aralığı 0.46-0.86 gözlenmiş SRAP markır sisteminde 0.44-0.96 olduğu görülmüştür. SRAP ve RAPD verilerinin birleştirilmesi sonucu elde edilen matriks'te benzerlik değer aralığının 0.49-0.90 olduğu görülmüştür. SRAP ve RAPD sonucu elde edilen dendogramda, Teague genotipi

hariç aynı dalda bulunan genotiplerin değişmediği ama birbirleri olan benzerlik derecelerinin değiştiği görülmüştür.

Schnell ve ark (2003) yaptıkları çalışmada Meksika ve Guatemala ırklarının heterozigoti seviyelerinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Bizim sonuçlarımız bu durumu destekler niteliktedir. Çünkü aynı ırktan olmayan çeşitlerin benzerlik oranlarının yüksek olması genlerinde diğer çeşide ait özellikleri taşımalarından kaynaklanmaktadır.

Clegg ve Ashworth (2003) Zutano ve Bacon genotiplerinin benzerlik derecesinin yüksek olduğunu, bunun nedeninin soğuklara toleransları olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim sonuçlarımız Zutano ve Bacon genotiplerinin birbirlerine uzak olduklarını göstermiştir. Oluşturulan dendogramlarda iki genotip farklı dallarda yer almışlardır.

RAPD analizi sonucu Guatemala ırkından olan Anaheim ve Meksika ırkından olan Meksikola çeşitlerinde genetik olarak ayrılma görülmemiştir. Morfolojik veriler iki çeşidin ağaç boylarının, taç genişliklerinin ve gövde çaplarının birbirlerine yakın değerler içerdiğini göstermektedir. Aynı şekilde Meksika x Guatemala melezi olan Füerte ile Guatemala ırkından olan Regina 0.85 oranında benzer bulunmuştur. Bu durum bu çeşitlerin bir şekilde diğer ırklardan gen almış olabileceklerini düşündürmektedir. Meksika ırkından olan Ettinger ve Stewart genotiplerinin RAPD markırında genetik olarak birbirlerine çok yakın bulunması, morfolojik verilerle desteklenmiştir.

SRAP analizi sonucu oluşturulan dendogramda Meksika ırkından olan Topa Topa, Meksika x Guatemala melezi olan Rincon 0.95 oranında benzer bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu sonuç doğrultusunda Rincon MxG melezi olmakla beraber yüksek oranda Meksika ırkından gen almış olduğu söylenebilir. Rincon'un yeşil sürgün rengi, küçük yaprak boyu gibi morfolojik özellikleri, Meksika ırkına daha yakın olduğunu göstermektedir. Guatemala ırkından olan Anaheim ve Regina genotiplerinde ayrılma görülmemiştir; genç sürgün renklerinin kırmızı olması, yaprak şekillerinin benzerliği ile bu yakınlığın morfolojik özelliklerinden kaynaklandığı söylenebilir.

Genotiplerde literatürlerde belirtilen ağaç özellikleri genelde gözlenmiştir. Literatürlerde avokado ağaçlarının 6-20 metreye ulaşabildikleri belirtilmiştir. Avokado parsellerinde bulunan 28 yıllık ağaçların boyları ölçülmüş, ağaç boylarının 3.5 ile 11 metre arasında değiştiği ve yirmi çeşidin ağaç boy ortalamasının 6.1 m olduğu görülmüştür.

Meksika ırkından olduğu bilinen çeşitlerin yaprak boy ortalaması (16.01 cm) Guatemala çeşitlerinin yaprak boy ortalamasından (16.92 cm) daha küçük olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu bulgu literatürlerde belirtilen Meksika ırkının yaprak boyunun Guatemala ırkından küçük olduğu bilgisiyle örtüşmektedir.

Meksika ırkına ait bir özellik olan genç sürgünlerin renginin yeşil olması durumu, Meksika ırkından olduğu belirtilen Meksikola, Clifton, Topa Topa, Blake, Teague çeşitlerinde gözlenmiş ama Stewart ve Ettinger çeşitlerinde gözlenmemiştir. Bu çeşitlerde sürgün renginin Guatemala ırk markırı olan kırmızı olduğu görülmüştür. Bu sonuç bize bu iki çeşidin genetik özelliklerinin Guatemala ırkına yakın olduğunu göstermektedir. RAPD analiz sonucunda bu iki genotipin birbirlerine 0.76; SRAP analizi sonucu 0.94 gibi yüksek benzerlik oranlarına sahip oldukları bulunmuştur. Guatemala ırk özelliği olan genç sürgün renginin kırmızı olması Hass çeşidi hariç Guatemala ırkından olan bütün çeşitlerde görülmüştür. Bu özelliğin Hass çeşidinde görülmesi gerektiği literatürlerde belirtilmiştir. Bizim bulgularımız literatüre ters düşmektedir. Hass çeşidi olarak belirtilen çeşidin literatürde belirtilen özellikleri göstermemesi ve dendogramlarda diğer çeşitlerden çok ayrı bir yerde koşullanması dolayısıyla çöğür olabileceği düşünülmektedir. Meksika x Guatemala melezlerinde sürgün renginin yeşil olduğu gözlenmiştir. Meksika ırkından olan çeşitlerden Blake, Stewart, Teague ve Ettinger çeşitleri dışındakilerde anason kokusunun güçlü; Blake çeşidinde orta; Stewart, Teague ve Ettinger çeşitlerinde zayıf olduğu görülmüştür. Literatürde bu çeşitlerden Ettinger de anason kokusunun zayıf olduğu belirtilmiştir. Gözlemlerimiz bu bilgiyi doğrulamaktadır. Bu özellik Meksika x Guatemala melezi olan Füerte, WW5 ve Bacon çeşitlerinde de gözlenmiştir. Füerte ve Bacon çeşitleri Meksika ırkının özelliklerini göstermektedir. Guatemala ırkına ait olan çeşitlerden Hass çeşidi hariç literatürde belirtildiği gibi anason kokusuna rastlanmamıştır.

Tez kapsamında çalışılan çeşitlerin ağaç ve taç yapılarına bakıldığında; **Demirkolu (2001)** belirttiği gibi Corona (3.3 m) çeşidinin küçük bir taca sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmasında belirttiği diğer çeşitlerde Rincon (5.8 m) ve Reed 3432 (5.5 m) çeşitlerinde bu durum gözlenmemiştir Bizim çalışmamızda küçük taçlı çeşitler şu şekilde sıralanmıştır: Ettinger (3.2 m), Mesa (3.1 m), Bacon (3.5 m).

Yaptığımız moleküler ve morfolojik çalışmalar sonucunda yirmi avokado çeşidinin ağaç ve yaprak özellikleri araştırılmış, SRAP ve RAPD markırları ile moleküler düzeyde yakınlıkları saptanmıştır. Elde ettiğimiz veriler çalıştığımız avokado çeşitleri hakkında bilgi edinmemizi sağlamıştır. Bu bilgiler ışığında Hass çeşidi olarak adlandırılan çeşidin Hass özelliklerini göstermediği ve Hass çeşidi olmadığı saptanmıştır. Bunun nedeni avokado koleksiyon parselinde bulunan bu çeşidin soğuklara çok duyarlı olması ve kış donları nedeniyle aşılı kısmının kurumasıdır. Aşıdan süren kısmın kurumasından sonra çok büyük bir olasılıkla anaç kısmı sürmüştür. Zaten gerek yaprak rengi ve yaprak kokusu ve gerekse SRAP ve RAPD markırları ile yapılan karakterizasyon çalışmalarından Hass olmadığı açıkça anlaşılmaktadır. Bundan sonraki yapılacak çalışmalarda bu çeşide ait kontrol bitkilerinin farklı kaynaklardan sağlanarak karşılaştırılma yapılması önerilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma kapsamında yirmi avokado çeşidinin 30 SRAP, 22 RAPD primeri ile moleküler düzeyde karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Kullandığımız SRAP ve RAPD primerlerinden; SRAP primer kombinasyonundan 21 adedinde, RAPD primerlerinin 18 adedinde amplifikasyon gözlenmiştir. Avokadonun morfolojik karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla ağaç ve yaprak özellikleri değerlendirilmiştir.

Amplifikasyon gözlenmeyen UBC-20, UBC-39, UBC-40, UBC-42 olarak adlandırılan RAPD primerleri değerlendirilmeye alınmamıştır. RAPD primerleri ile genotiplerin amplifikasyonu sonucunda toplam 116 bant elde edilmiş, bu bantların 112'si polimorfik bulunmuş olup, polimorfizm oranı % 96,55 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bant aralığının 200-2000 bp olduğu belirlenmiştir. UBC-3, UBC-8, UBC-9, UBC-15, UBC-24, UBC-41, UBC-44, UBC-47, UBC-48, UBC52, UBC-54, S-270, S-271, S-272 olarak adlandırılan primerlerin polimorfizm oranını % 100 olarak hesaplanmıştır. RAPD primerleri içerisinde S-274 olarak adlandırılan primerinin en düşük polimorfizm oranına (% 66,66) sahip olduğu bulunmuştur.

SRAP markırları ile karakterizasyon çalışmasında toplam 30 adet SRAP primeri kullanılmış amplifikasyon gözlenmeyen 9 SRAP primer kombinasyonları değerlendirmeye alınmamıştır (Me1/Em4, Me1/Em6, Me2/Em3, Me2/Em5, Me3/Em3, Me4/Em1, Me4/Em2, Me4/Em5, Me5/Em3). Yirmi bir adet SRAP primer kombinasyonu ile yapılan çalışmada; toplam 122 bant elde edilmiş bu bantlardan 27 adedi monomorfik, 95 adedi polimorfik bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda polimorfizm oranı % 77.86 olarak saptanmıştır. Elde edilen bant aralığının 95-1500 bp arasında olduğu bulunmuştur. SRAP primerlerinin polimorfizm oranlarının düşük olduğu görülmüştür. Yirmi bir primer içerisinde 4 adedinin polimorfizm oranı % 100 bulunmuştur (Me2/Em6, Me4/Em6, Me5/Em1, Me5/Em4). SRAP primerleri içerisinde Me2/Em4 primeri en düşük polimorfizm oranına (% 20) sahip olduğu görülmüştür.

Yirmi adet avokado genotipinin ağaç özelliklerini belirlemek amacıyla ağaç boyları, taç yüksekliği, gövde çapı ölçülmüş; ağaç şekli, ağacın gelişimi, gövde yüzeyine bakılmıştır. Elde edilen verilerin literatür bilgileriyle uyduğu görülmüştür.

Yirmi adet avokado genotipine ait olan yaprak örneklerinin boyuna, genç sürgünlerin rengine, yaprak şekillerine, yaprak kaidesinin şekline, olgun yaprakların rengine, yaprak kenarının şekline, yaprak ucunun şekline, yaprak dokusuna, anason kokusuna bakılmıştır. Literatürde belirtilen Meksika ırkına özgü olan, anason kokusunun varlığı, yaprak boylarının küçüklüğü, sürgün renginin yeşil olması gibi özellikler denemeye alınan Meksika ırkından olan genotiplerde gözlenmiştir. Bu özelliklerin bazıları beklenen şekilde Meksika x Guatemala melezi oldukları belirtilen genotiplerde de görülmüştür.

Soğuk geçen 2007-2008 Adana kış koşullarından dolayı çiçek özelliklerine bakılamamıştır. Sıcaklıkların sıfırın altına düşmesi soğuk hava koşullarına hassasiyeti yüksek olan genotiplerde soğuk zararlanmasının ileri boyutlarda görülmesine neden olmuştur.

Yaptığımız çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular ışığında avokado genotiplerinin morfolojik olarak ırksal özellikleri gösterdiği, moleküler düzeyde ise bazı genotiplerde ayrılma olmadığı görülmüştür. Genotiplerin elde edilen dendogramlarda ırklara ait kümeler oluşturamaması ve farklı ırklara ait genotiplerde benzerlik oranlarının yüksek olması melez ırklarla çalışılan araştırmalarda da gözlenmiştir. Bu durumu açıklamada morfolojik veriler yardımcı olmuştur. Bu tür karakterizasyon çalışmalarında moleküler ve morfolojik verilerin birbirini tamamlayarak daha doğru sonuçlara ulaşılması sağlanmalıdır.

SRAP ve RAPD analiz sonuçlarına baktığımız zaman RAPD primerlerinin polimorfizm oranının çok yüksek (0.96) olduğu görülmektedir. Bu durumun nedeni avokado genotiplerinde daha önce çalışılmış ve polimorfizm oranının yüksek olduğunu bildiğimiz primerlerin tez kapsamında kullanılmasıdır.

SRAP primerlerinin polimorfizm oranı (0.77) RAPD primerlerinin polimorfizm oranından (0.96) daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum bize SRAP primerlerinin polimorfizmi saptamada RAPD primerlerine göre daha az ayırt edici olduğunu göstermekle beraber SRAP verilerinden elde edilen matriks korelasyon

katsayısının daha yüksek olması (0.94) bu primerlerin genlere yakın veya gen içeren bölgeleri amplifiye etmesinden kaynaklanmaktadır.

SRAP primerlerinden 3. paragrafta belirtilmiş em2/me6, em3/me4, em5/me5, em4/me6, em5/me1, em5/me4 gibi yüksek polimorfizm (% 100) değerine sahip primer kombinasyonlarının bundan sonra yapılacak başka avokado çalışmalarında da kullanılabileceği önerilmektedir.

Polimorfizm oranı yüksek bulunan on dört RAPD primeri ve altı SRAP primeri daha sonra yapılabilecek avokado haritalama veya tanımlama çalışmalarında kullanılabilir.

Morfolojik parametrelere bakılırken ırkları tanımlayan özelliklerin kullanılması önerilmektedir. Morfolojik özelliklerin yanı sıra pomolojik (meyve özellikleri) ve fenolojik (çiçeklenme ile ilgili) özelliklerin bu verilere eklenerek değerlendirilmesi daha yararlı olacaktır.

Elde ettiğimiz bulgular ışığında Hass olarak adlandırdığımız çeşidin Hass çeşidinin özelliklerini göstermediği görülmüş bundan dolayı çöğür olabileceği düşünülmüştür. İlerde yapılacak çalışmalarda Hass çeşidinin tekrar çalışılması önerilmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar moleküler markırlarla elde edilen bilgilerin karakterizasyonuna pomolojik ve fenolojik özelliklerle moleküler verilerin kombine edilmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca kullanılan primer sayısının artırılması ve farklı markır sistemlerinin kullanılması ile genomda daha fazla bölgenin taranması sağlanacaktır.

Sonuç olarak; bu çalışmada daha önce çalışılmamış bazı avokado genotipleri çalışılmış ve ilk kez avokado da SRAP markırları ile moleküler karakterizasyon gerçekleştirilerek karşılaştırma yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- ACHEAMPONG, A.K., AKROMAH, R., and OFORİ, F.A., 2008. Genetic Characterization of Ghanaian Avocados Using Microsatellite Markers. J. Amer. Soc. Hort. SCI. 133(6): 801-809.
- AKA-KAÇAR, Y., 2001. Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kod No: 640, Adana, TÜRKİYE.
- AKA-KAÇAR, Y., DEMIREL, A., TUZCU, O., YESİLOGLU, T., ULAS, M., YILDIRIM, B. 2005. Preliminary Results on Fingerprinting Lemon genotypes Tolerant to Mal Secco (*Phoma tracheiphila* Kanc. et Ghik) Disease by RAPD Markers, Biologia, Bratislava, 60: 295-300
- AKA-KAÇAR, Y., 2008. Bahçe Bitkileri Islahında Kullanılan Moleküler Teknikler, Yüksek Lisans Ders Notları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (yayınlanmamış).
- ALCARAZ, M. L., and HORMAZA, J. I., 2007. Molecular Characterization and Genetic Diversity in an Avocado Collection of Cultivars and Local Spanish Genotypes Using SSRs. Hereditas 144: 244-253.
- ANONİM, 2008. <http://www.batem.gov.tr/urunler/meyvelerimiz/avokado.htm>
- ANONİM, 2004. DİE, Tarımsal Yapı.
- ANONİM, 2005. <http://en.wikipedia.org/wiki/Avocado>
- ANONİM, 2006. [FAO Production Yearbook http://faostat.fao.org/faostat](http://faostat.fao.org/faostat)
- ANONİM, 2006a. Akdeniz İhracatçı Birlikleri.
- ANONİM, 2007 <http://www.roche.com/pages/facets/1/pcr1.jpg>
- ANONİM, 2008. <http://faculty.unlv.edu/wmojica/PCR LAB 2 image001.gif>
- ANONİM, 2008a. home.att.net/~oc_crfg/Selected.htm - 97k
- ANONİM, 2008b. www.avocadosource.com/AvocadoVarieties/VarietyList/Clifton.html - 6k

- ARUMUGANATHAN, K., and EARLE, E.D., 1991. Nuclear DNA Content of Some important Plant Species. *Plant Mol. Bio. Rep.* 9: 208 -218r
- AYRES, N.M., MCCLUNG, A.M., LARKIN, P.D., BLIGH, H.F.J., JONES, C.A., PARK, W.D., 1997. Microsatellite and a Single Nucleotide Polymorphism Differentiate Apparent Amylose Classes in an Extended Pedigree of US Rice Germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 94:773-781.
- BAYRAM, S., ARSLAN, M.A., TURGUTOĞLU, E., 2006. Türkiye avokado yetiştiriciliğinin gelişimi, önemi ve önerilen bazı çeşitler. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü dergisi*. 23 (2): 1-13.
- BERGH B.O, SCORA R.W, and STOREY W.B, 1973. A comparison of leaf terpenes in *Persea* subgenus *Persea*. *Bot Gaz* 134:130–134.
- BROWN, S.M., HOPKINS, M.S., MITCHELL, S.E., SENIOR, M.L., BECKMANN, J.S. and SOLLER, M., 1996. Restriction Fragment Length Polimorphism and Genetic Improvemet of Agricultural Species. *Euphyt.* 35:111-124.
- BOTSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNICK, M. and DAVIS, R.W., 1980. Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polimorphisms. *American Journal of Human Genet.* 32:314-331.
- BORRONE, J.W., VIOLI, H., PLOETZ, R., SCHNELL, R.J., 2006. The Development of Microsatellite Markers for *Persea americana* (avocado). *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 119: 38-40.
- BORRONE, J.W., SCHNELL, R.J., VIOLI, H., PLOETZ, C., 2007. Seventy microsatellite from *Persea americana* Miller (avocado) express sequence tags. *Molecular Ecology Notes*, 7: 439-444.
- BUDAK, H., SHEARMAN, R. C., PARMAKSIZ, I., DWEIKAT, I., 2004. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs. *Theor. Apply. Genet.* 109: 280-288

- BUYUKUNAL BAL, E.B., 2003. Arpa Mikrosatelitlerinin Ekmeklik Buğdaydaki Genetik Çalışmalar İçin Kullanım Olanaklarının Araştırılması. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi. 6(2).
- CLEGG, M. T.; DAVIS, J. W., 1989. Molecular genetics of avocado. California Avocado Society Yearbook, 73: 59-61
- CORAZZA-NUNES, M.C., MACHADO, M.A., NUNES, W.M.C., CRISTOFANI, M., TARGON, M.L.P.N., 2002. Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica*, 126: 169-176.
- DAVIS J, HENDERSON D, KOBAYASHI M, CLEGG MT, AND CLEGG M.T, 1998. Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. *J Hered* 89:319–323.
- DEMİRKOL, A., 2001. Bazı avokado çeşitlerinin Antalya koşullarında gösterdiği ağaç özellikleri ve iklim koşullarından etkilenme durumları. *Bahçe* 30 (1-2): 95-107.
- DENG, Z. N., GENTILE, A., NICOLASI, E., DOMINA, F., VARDI, A., and TRIBULATO, E., 1995. Identification of *in vivo* and Lemon Mutants by RAPD Markers. *Journal of Horticultural Science*. 70(1): 117-125.
- DOĞRULAR, H.A., TUNCAY, M., ve ŞENGÜLER, A., 1983. Antalya ve Alanya Koşullarında Avokado Çeşitlerinin Adaptasyonu. (Ara Sonuç Raporu), Yayınlanmamış, Turunçgiller Araştırma Enstitüsü, Antalya.
- DUNHAM, V.L., and BRYANT, J.A., 1983. In isolation of membrans and organelles from plant cell (ed. J. L. Hall and A. L. Moore), p.237. Academic Pres, London.
- DUCELIER, D., REY, J.Y., 1989. The performance of ten cultivars of avocado in West Cameroon. *Fruits* (Paris), 44 (2) : 81-90. IRFA/CIRAD, 97455 Saint Pierre, Reunion.
- ERGÜL, A., 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cvs) Genomik DNA Parmak izi Analizleri ile Moleküler Karakterizasyon. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.

- FANG, D.Q. ve ROOSE M.L., 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theor Appl Genet*, 95:408-417.
- FIEDLER, J., BUFLER, G., BANGERTH, F., 1998. Genetic relationships of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica* 101:249–255.
- FURNIER G.R, CUMMINGS M.P, and CLEGG M.T, 1990. Evolution of the avocados as revealed by DNA restriction fragment variation. *J Hered* 81:183–188.
- HAMADA, H., PETRINO, M.G., and KAKUNAGA, T.,1982. A Novel Repeated Element with Z-DNA Forming Potential is Widely Found in Evolutionarily Diverse Eukaryotic Genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79: 6465-6469
- HODGSON, R.W., 1947 . The California industry
- JACKSON, D., 1986. Temperate and subtropical fruit production. Butterworths Horticultural Books.
- GUPTA, M., CHYI Y.S., ROMERO- SEVERSON, J., OWEN, J.L., 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor . Appl. Genet* ., 89: 998 – 1006.
- GOKSEL, Ç., 1999. RAPD Markerleriyle Bazı Mandarin Çeşitlerinin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).
- KHAN, S.,W. SPOOR, 2001. Use of molecular and morfolojik markers as a quality control in plant tissue culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(4):479-482.
- KIJAS, J.M.H., FOWLER, J.C.S., THOMAS, M.R., 1995. An evaluation of sequence-tagged microsatellite-site markers for genetic analysis with Citrus and related species. *Genome*, 38:349- 355.
- KREMER-KÖHNE, S., KOHNE, J.S. 1992. Yield and Fruit Quality of Fuerte and Hass on Clonal Rootstocks. Yearbook, South African Avocado Growers Association, 15-69.

- KOBAYASHI M., LIN J.-Z., DAVIS J., FRANCIS L., CLEGG M.T., 2000. Quantitative analysis of avocado outcrossing and yield in California using RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 86:2, 135-149.
- KONUK, M., 2004. Moleküler Biyoloji. –Önemli Ders Notları, S. Cenkci, M. Yıldız, M. Konuk, A. Aktümsek (eds.) Nobel Basımevi, Ankara
- KOPP, L.E., 1996. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western Hemisphere (*Persea-Lauraceae*). *Mem. New York Bot Garden* 14: 1-117.
- KORAL, S., SULUDERE, Z., AYVALI, C., 2000. Biyoloji Terimleri Sözlüğü. Kılıçaslan Matbaacılık. ISBN: 975-16-1012-5.
- LAVI, U., HILLEL, J., VAINSTEIN, A., LAHAV, E., and SHARON, D., 1991. Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 1078-1081.
- LAVI, U., CREGAN, P., SCCHAP, T., MILLEL, J., 1994. Amplification and breeding of perennial fruit crops. In J. Janick (ed) *Plant Breeding Reviews*. John Wiley Sons, Inc: NY Vol:397-401.
- LEWIS, E., 1992. Identification of avocado cultivars with RAPD markers. *Inligtingsbulletin Instituut vir Tropiese en Subtropiese Gewasse*, No. 241: 7-9
- LI, G., and QUIROS, C.F., 2001. Sequence –related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in Brassica, *Theoretical and Applied Geneticis.*, No: 455- 461
- LISTON, A., RIESEBERG, L.H., ADAMS, R.P., and DO, N., 1990. *Ann. Missouri Bot. Garden* 77:859.
- LOWE, A.J, HANOTTE, O., GUARINO, L., 1996. Standardization of Molecular Genetic Techniques for the Characterization of Germplasm Collections: the Case of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*.107:50-54.
- LURO, F., LAIGRET, F., BOVE, J.M., and OLLITRAULT, P., 1992 Application of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) to Citrus Genetics and Taxonomy. *Proc. In.t Soc. Citriculture*, 1: 225-228

- MANTEL, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach, *Cancer Research*, 27: 175-178
- MAUGHAN, P.J., SAGHAI-MAROOF, M.A., BUSS, G.R., 1995. Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. *Genome*, 38:715-723.
- MHAMEED, S., SHARON, D., HILLEL, J., LAHAV, E., KAUFMAN, D., AND LAVI, U., 1996. Level of heterozygosity and mode of inheritance of variable number of tandem repeat loci in avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 778-782.
- MHAMEED, S., SHARON, D., KAUFMAN, D., LAHAV, E., HILLEL, J., DEGANI, C., and LAVI, U., 1997. Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) cultivars and between *Persea* species. *Theor Appl Genet* 94:279-286.
- NAKASONE, H.Y., & PAUL, R.E., 1998. Avocado. Pages 76-102 in *Tropical Fruits*. CAB International, Wallingford
- NEWETT, S.D.E., CRANE, J. H., and BALERDÌ, C. F., 2002. Cultivars and Rootstocks. In: A. W. Whiley, B. Schaffer and B. N. Wolstenholme (Editör), *The Avocado: Botany, Production and Uses*, Pp: 162-169. Cabi Publishing.
- OZCAN, S., GUREL, E., BABAOĞLU, M., 2001. *Bitki Biyoteknolojisi II Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, ISBN: 975-6652-05-5.
- PATERSON, A. H., 1996. Making genetic maps. In: Paterson AH (ed), *Genome Mapping in Plants*, p. 23- 37, Academic Pres, New York.
- PHAN, C.T., PANTASTICO, Er. B., OGATO, K and CHACHIN, K.1975. Respiration and Respiration Climacteric. In: Er. B. Pantastico (ed.) *Postharvest Physiology, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables*. The Avi Publishing Company, Inc. Wesport, Connecticut. Pp: 86-104.
- PLOETZ, R.C., 1994. Introduction . Page 1 *In: Compendium of tropical fruit diseases*. Ploetz, R.C., ZENTMYER, G.A., Nishijima W.T., Rohrbach, K. G & Ohr, H.D (Eds) APS Pres. St Paul, Minnesota

- PYLE, M.M., and ADAMS, R.P., 1989. *In situ* preservation of DNA in plant specimens. *Taxon*. 38:576-581
- RAMIREZ, I.M.; FUENTES, J.L.; RODRIGUEZ, N.N.; COTO, O., CUETO, J.; BECKER, D., ROHDE, W., 2005. Diversity Analysis of Cuban Avocado Varieties Based on Agro-morphological Traits and DNA Polymorphisms [*Persea americana* Mill.]. *Plant Genetics and Breeding; Mathematical and Statistical Methods; Crop Husbandry*.
- RAMISHVILI, G., 1991. Results of ecological studies in avocados. *Suptropicheskie Kul'tury*, No.5: 139-141.
- RODER, M.S., PLASCHKE, J., KÖNIG, S.U., BORNER, A., SORRELLS, M.E., TANKSLEY, S.D., GANAL, M.W., 1995. Abundance, Variability and Chromosomal Location of Microsatellites in Wheat. *Molecular General Genetics*, 246:327-332
- RHODES, A. M., MALO, S.E., CAMPBELL C.W., & GARNER, S.G., 1971. A numerical taxonomic study of the avocado (*Persea americana* Mill.). *J Amer Soc Hort Sci* 96: 391-395.
- ROHLF, F. J., 1998. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.00. Exeter software, Setauket, New York.
- ROLF, F. J., 1992. NTYS-pc taxonomy and multivariate analysis system, version 1.7. Applied Biostatistics, Setauket, N.Y.
- ROUSE, R.E., BURNS, E.E., STRONG, K., 1991. Fruit quality evaluations of avocado cultivars for subtropical Texas. *Subtropical Plant Science*. 44: 15-18.
- SAX, K., (1923) The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics*, 8: 552 -560
- SCHNELL, R. J., RONNIG, C.M., KNIGHT, R .J. Jr ., 1995. Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. RAPD markers. *Theor Appl Genet* 90: 269 – 274.
- SCHNELL, R.J., BROWN, J.S., OLANO, C.T., POWER, E.J. KROL, C.A., KUHN, D.N., MOTAMAYOR, J.C. 2003. Evaluation of Avocado Germplasm Using Microsatellite Markers, *J. Amer Soc. Hort. Sci.* 128(6):881–889.

- SHARON, D., CREGAN, P.B., MHAMEED, S., KUSHARSKA, K., HILLEL, J., LAHAV, E., LAVI, U., 1997. An integrated genetic linkage map of avocado. Theor. Appl. Genet. 95:911–921.
- SHARON, D., HILLEL, J., MHAMEED, S., CREGAN, P. B., LAHAV, E., LAVI, U., 1998. Association between DNA markers and loci controlling avocado traits. Journal of the American Society for Horticultural Science, 123(6): 1016-1022.
- SNOWDON, A.L., 1990. Miscellaneous tropical and subtropical fruits. A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables. Vol 1 General introduction and fruits. Wolfe Scientific. Pages: 92-93.
- TAAH, K.J., ALDERSON, P.G., POWER, J.B., 2003. Molecular approaches for the characterisation of Ghanaian avocado pear (*Persea americana* Mill.) germplasm. Proceedings V World Avocado Congress 69-72.
- TEMİZKAN, G., ARDA, N., 2004. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, ISBN: 975-420-347-4
- TUZCU, Ö., 1996. Subtropik Meyveler Ders Notları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları (Yayınlanmamış).
- VAN ZYL, J.A., FERREIRA, S.G., 1995. An overview of the avocado industry in South Africa. South African Avocado Grower's Association Yearbook 18: 23-30
- YEŞİLOGLU, T., 2006, Subtropik Meyveler, Lisans Ders Notları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (yayınlanmamış)
- YILDIRIM, A., KANDEMİR, N., 2001. Genetik markörler ve Analiz Metotları. Bitki Biyoteknolojisi II –Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoglu (eds.) Selcuk Üniversitesi Basımevi, Konya
- ZENTMYER, G. A., 1994. Part 4. Avocado Pages 71-84 In: Compendsum of tropical fruit diseases. PLOETZ , R. C., ZENTMYER, G. A ., Nishijima , W.T ., Rohrbach, K .G .& Ohr, H.D.(Eds.) APS Pres. St Paul, Minnesota
- ZIETJIEWICZ, E., RAFALSKI, A., and LABUDA, D., 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics, 20:176–183.

- WALTON, M., 1993. Molecular markers: which ones to use? *Seed World*, July 1993, p: 23-29.
- WEBER, J.L., 1990. The Informativeness of Human (DC-DA) N(DG-DT)N Polymorphism. *Genomics*, 7:524–539.
- WHILEY, A.W., 1991. *Persea americana* Miller. Pages 249-354 *In*: Plant resources of South East Asia 2: Edible fruits and nuts. Verheij, E. W. M & Coronel, R. E.(Eds.) Pudor, Wageningen.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFAELSKI, J.A., and TINGEY, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res.* 18(22): 6531-6535.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Mersin’de doğdum. İlkokul,ortaokul ve lise öğrenimimi Mersin’de tamamladıktan sonra 1999 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. 2003 yılında bu bölümü bitirdim. 2004-2005 öğretim yılında Çukurova Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği alanında tezsiz yüksek lisans yaptım. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim dalında tezli yüksek lisans öğrenimine başladım. Halen bu bölümde öğrenimime devam etmekteyim.