



Araştırma Makalesi (Research Article)

Cilt 1 - Sayı 4: 110-116 / Ekim 2018

(Volume 1 - Issue 4: 110-116 / October 2018)

ANASON POPULASYONLARINDA VERİM, UÇUCU YAĞ ORANI VE GENETİK İLİŞKİLERİN ARAŞTIRILMASI

Özgür DOĞAN¹, Nimet KARA^{1*}, Muhammet TONGUÇ²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 32000, Isparta, Türkiye

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 32000, Isparta, Türkiye

Gönderi: 19 Mart 2018; **Kabul:** 17 Temmuz 2018; **Yayınlanma:** 01 Ekim 2018

(Received: March 19, 2018; **Accepted:** July 17, 2018; **Published:** October 01, 2018)

Özet

Araştırma; Türkiye’de en fazla anason tarımı yapılan Afyonkarahisar, Burdur, Eskişehir, Antalya, Denizli, İzmir, Kütahya ve Muğla illerinden toplanan anason populasyonlarının meyve verimi, uçucu yağ oranı ve kimyasal kompozisyonu ile genetik yakınlıklarının incelenmesi amacıyla yürütülmüştür. Deneme, Isparta ekolojik koşullarında tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak 2015 ve 2016 yıllarında kurulmuştur. Anason populasyonlarının meyve verimi, uçucu yağ oranı ve kimyasal kompozisyonu arasındaki farklar her iki yılda da istatistiksel olarak önemli olmuştur. Meyve verimi, uçucu yağ oranı ve uçucu yağ verimi birinci yıl sırasıyla, 25.46-39.13 kg da⁻¹, %1.21-3.88 ve 0.46-1.15 L da⁻¹ ve ikinci yıl ise sırasıyla, 23.43-39.64 kg da⁻¹, %1.30-3.47 ve 0.45-1.22 L da⁻¹ arasında değişmiştir. Anason uçucu yağında tans-anetol ana bileşen olarak belirlenmiş ve oranı %85.62 (Afyonkarahisar) ve %94.99 (Burdur) arasında değişmiştir. Anason populasyonları arasındaki genetik mesafeler 0.25-0.81 arasında değişim göstermiştir. Genetik benzerliği en az olan populasyonlar Muğla ve Denizli, en yüksek ise İzmir ve Afyonkarahisar olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Anason, Genetik ilişkiler, Meyve verimi, Populasyon, Tans-anethole, Uçucu yağ

Investigation of Genetic Relationship with Yield and Essential Oil Content of Anise Populations

Abstract: The research was conducted with aim to examining of genetic relationship with fruit yield, essential oil content and chemical composition of anise populations collected from Afyonkarahisar, Burdur, Eskişehir, Antalya, Denizli, İzmir, Kütahya and Muğla provinces where intensive anise cultivation of Turkey. The experiment was set up as three replicates of according to a randomized complete block design in during 2015and 2016 years in Isparta, Turkey. In the research, differences between fruit yield, essential oil content and chemical composition of anise populations were statistically significant in both years. Fruit yield, essential oil content and essential oil yield of anise populations varied between 25.46-39.13 kg da⁻¹, 1.21-3.88% and 0.46-1.15 Lda⁻¹, respectively, in the first year, and varied between23.43-39.64 kg da⁻¹, 1.30-3.47% and 0.45-1.22 Lda⁻¹, respectively, in the second year. Tans-anethole was determined as the main components in the essential oil of anise and its ratio varied between 85.62%

(Afyonkarahisar) and 94.99% (Burdur). Genetic distances among anise populations varied between 0.25-0.81. While the lowest genetic similarity were Muğla and Denizli populations, the highest genetic similarity were Izmir and Afyonkarahisar populations.

Keywords: Anise, Essential oil, Fruit yield, Genetic relations, Population, Tans-anethole

*Corresponding author: Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 32000, Isparta, Türkiye
E mail: nimetkara@sdu.edu.tr (N. KARA)

1. Giriş

Türkiye Umbelliferae (*Apiaceae*) familyasına ait türler bakımından çok zengin bir biyoçeşitliliğe sahiptir. Bu familyanın önemli bir üyesi olan anason ülkemizde uzun yıllardır kültürü yapılan tek yıllık değerli bir sanayi ve baharat bitkisidir. Dünya'da 150 türü olan *Pimpinella*'nın ülkemizde 6'sı endemik, 19 tür ve 8 alttür olmak üzere 27 taksonu bulunmaktadır (Aydın ve ark., 2014).

Dünyada İran, Hindistan, Türkiye ve birçok sıcak iklim bölgelerinde doğal olarak yetişen anasonun en tanınmış tipleri İtalyan, İspanyol, Alman ve Rus anasonları, ülkemizde ise Çeşme ve Burdur anasonlarıdır (Ceylan, 1987). Ülkemizde başta Burdur olmak üzere, Göller Yöresi ve Batı Anadolu Bölümü'nde yer alan 9 ilde (Burdur, Denizli, Antalya, Muğla, Bursa, Balıkesir, İzmir, Afyonkarahisar, Uşak) anason üretimi yapılmaktadır. Yeşilova, Karamanlı, Tefenni ve Gölhisara kadar kuzey-güney yönünde uzanan tarım alanlarında yoğun tarımı yapılan Burdur ili yılda yaklaşık beş bin tonluk anason üretimi ile Türkiye anason üretiminin yarısına yakınına karşılıkta (Baydar, 2013). Anason üretiminin bu alanlarda yoğunluk kazanmasında iklimle beraber anason tarım kültürünün benimsenmesinin etkisi büyüktür (Çetin, 2007). Anasonda dal sayısı, şemsiye sayısı ve şemsiyede meyve sayısı, verimi etkileyen özelliklerdir. Bu özelliklerin bilinmesi bir populasyonun verim karakterlerini (tane iriliği, homojen olgunlaşma ve hasat vb.) ortaya koymasından önem taşımaktadır.

Ülkemizde anason tarımında üreticiler genelde üretim materyali olarak önceki yıl ürün hasadından ayrılan tohumu kullanmaktadırlar ve dolayısıyla üzerinde ıslah çalışması olmayan çeşitlerin verimi de genellikle düşük olmaktadır. Bu nedenle mevcut populasyonların genetik yakınlıklarının belirlenmesi çeşit ıslahında önem taşımaktadır. Populasyonların sahip olduğu genetik parametrelerin ölçülmesi ile mevcut ekotiplerin çalışılan türün genetik çeşitliliğinin ne kadarını temsil ettiği bulunabilmektedir. Genetik parametreler morfolojik karakterler, teknolojik özellikler ve türün moleküler biyolojisine ait bilgiler kullanılarak hesaplanabilmektedir (Tanksley ve McCouch, 1997). Her yöntemin kendine ait özellikleri ve üstünlükleri olmasına karşın genetik çeşitliliği karakterize etmenin en iyi yolu her üç yöntemin birlikte kullanılmasıdır. İlk kullanılan moleküler yöntemlerden olan izo enzimler yeterli miktarda polimorfizm üretmemekte daha sonra kullanılmaya başlayan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) yöntemi ise pahalı olmakta ve PCR

kullanan yöntemlere göre yeterli polimorfizm üretmek zaman almaktadır (Ragot ve Hoisington, 1993). Daha sonra geliştirilen RAPD (Randomly Amplified Polymorphic-DNA) yöntemi herhangi bir organizmadan alınan DNA'yı 10-bazlık tesadüfi DNA bazları kullanarak çoğaltmakta ve bitki ıslah, ekoloji ve genetik alanında kullanılabilecek polimorfizmler üretmektedir (Welsh ve McClelland, 1990). RAPD yöntemi bitkiler aleminde, markır geliştirmek, genetik haritalar yapmak ve genetik çeşitliliği analiz etmek için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Buna karşın *Apiaceae* familyasına ait bitkilerde kullanımı sınırlı olmuştur.

Bu araştırma; Türkiye'de en fazla anason tarımı yapılan illerden toplanan populasyonların Isparta koşullarında verim ve bazı kalite özellikleri ile genetik yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

2. Materyal ve Metot

Araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama alanında 2015 ve 2016 yıllarında yürütülmüştür. Araştırmada Türkiye'de en fazla anason tarımı yapılan Afyonkarahisar-Sultandağı, Burdur-Yeşilova, Eskisehir-Seyitgazi, Antalya, Denizli, İzmir, Kütahya ve Muğla'dan toplanan anason populasyonları kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Anason populasyonlarının toplandığı iller

2.1. Araştırma Yerinin İklim ve Toprak Özellikleri

Denemenin yürütüldüğü 2015 ve 2016 yıllarının Mart-Temmuz aylarına ilişkin toplam yağış miktarları sırasıyla 306.4 ve 233.5 mm arasında, uzun yıllar ortalaması ise 208.3 mm olarak gerçekleşmiştir. Mart-Temmuz ayları içerisinde ortalama sıcaklık 2015 ve 2016 yıllarında, sırasıyla 16.5 ve 19.4 °C olup, denemenin ikinci yılının sıcaklık ortalaması uzun yıllar sıcaklık ortalamasından (16.3 °C) yüksek olmuştur. Aynı dönemde nispi nem oranı ise yıllara göre %56.3 ve %50.8 arasında, uzun yıllar ortalaması ise %51.2 olmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. Deneme alanı ve yıllarına ait iklim verileri*

İklim faktörleri	Yıllar	Aylar					Toplam
		Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	
Yağış (mm)	2015	117.6	26.1	67.5	92.2	3.0	306.4
	2016	59.9	47.8	87.6	12.4	25.7	233.5
	Uzun yıllar	54.2	56.6	50.8	28.4	18.4	208.3
Ortalama sıcaklık (°C)	2015	6.7	9.0	15.3	22.2	23.8	16.5
	2016	7.7	14.5	20.1	24.0	25.4	19.4
	Uzun yıllar	6.2	10.8	15.6	20.1	22.3	16.3
Nispi nem (%)	2015	63.3	61.1	63.5	43.9	51.0	56.3
	2016	62.1	48.5	61.7	43.8	40.8	50.8
	Uzun yıllar	65.4	50.3	53.0	45.8	44.5	51.2

*İklim verileri Isparta meteoroloji istasyonundan alınmıştır

Deneme alanı toprağı kumlu-tınlı, tuz oranı düşük (0.20 dS/m), bazık (pH=8.3), kireç oranı yüksek (%31.3) ve organik madde oranı (%1.36) düşük yapıdadır.

2.2. Denemenin Kurulması ve Yürütülmesi

Deneme, Türkiye’de en fazla anason yetiştirilen bölgelerinden toplanan populasyonlar ile Tesadüf Blokları Deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak her iki yılda da (2015 ve 2016) Mart ayının ilk haftasında kurulmuştur. Her bir populasyona ait parseller 4 m uzunluğunda 6 sıra olarak 20 cm sıra arası mesafede ekilmiş ve her parsel 4.8 m² (4m x 1.2 m)’den oluşmuştur. Deneme alanında saf olarak 6 kg da⁻¹ azot ve 7 kg da⁻¹ triple süper fosfat uygulanmış, azotun yarısı ve fosforun tamamı ekimle birlikte, azotun diğer yarısı ise çiçeklenme öncesinde amonyum sülfat formunda verilmiştir. Deneme alanında sulama yapılmamış, çıkış sonrasında seyreltme ve yabancı ot kontrolü elle yapılmıştır.

Meyve verimi (kg da⁻¹): Populasyonların olgunlaşma zamanlarına göre 12-19 Ağustos tarihleri arasında parsellerin başlarından 50’şer cm ve kenarlardan birer sıra atıldıktan sonra kalan sıralar hasat edilmiş ve bu bitkilerin harmanlanmasından sonra meyveler eleklerle ayrılarak tartılmış ve dekara çevrilerek verim değerleri bulunmuştur.

Uçucu yağ oranı (%): Hasat sonrasında anason meyvelerinin uçucu yağ oranı Clevenger tipi hidro-distilasyon cihazında su distilasyonu yöntemiyle belirlenmiştir. 100 gr numune üzerine 0.5 lt su eklenerek 3 saat süre ile distilasyon yapılmıştır. Distilasyon sonrasında ölçülü bölümde toplanan yağ miktarı ölçülerek uçucu yağ oranı hesaplanmıştır.

Uçucu yağ verimi (L da⁻¹): Her bir populasyonda belirlenen uçucu yağ oranı ile tane verimlerinin çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

Uçucu yağ bileşenleri: Elde edilen anason uçucu yağların temel koku bileşenleri GC/MS (QP5050 gaschromatography/massspectrometry) cihazında yapılmıştır. Kolon olarak CP-Wax 52 CB (50 m x 0.32 mm; film thickness = 0.25 µm) kullanılmıştır.

Genetik ilişkilerin belirlenmesi: Populasyonlararasındaki genetik ilişkiler RAPD markırları kullanarak

incelenmiştir. Anason populasyonlarına ait DNA’lar Doyle ve Doyle (1990) yöntemi kullanılarak izole edilmiştir. Her populasyonu temsil eden 10 adet bitkiden birer yaprak örneğı alınmış ve populasyona ait örnekler DNA izole edilinceye kadar derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir. DNA miktarları ve kalitesi spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır (260 ve 280 nm). PCR’da kullanılan DNA miktarları steril su ile 50 ngµl⁻¹’ye ayarlanmıştır. PCR reaksiyonları 15 µl toplam hacimde hazırlanmıştır. Her bir reaksiyon 5.5 µl dH₂O, 2 µl primer (20 mM), 1.2 µl DNA, 1.5 µl 10X PCR buffer, 1.2 µl MgCl₂ (25 mM), 1.2 µl BSA (0.8 µgµl⁻¹), 1.5 µl dNTP karışımı (20mM) ve 0.2 µl Taq DNA polimeraz enzimi içermiştir.

DNA amplifikasyonu aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

İlk denatürasyon 94 °C’de 4dk ve daha sonra; toplamda 35 döngü olacak şekilde her bir döngüde 94°C’de 1 dkdenatürasyon, 35°C’de 1dk hibridizasyon ve 72°C’de 2 dkamplifikasyon yapılmıştır. PCR işlemi 72°C’de 5dk’lık final amplifikasyonu ile bitirilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerine bromophenol blue eklenmiş, 100 bp moleküler ağırlık markırı ile %1.8’lik agaroz jellere yüklenerek 1X TBE (tris-borat-EDTA) tamponu içinde 1 saat boyunca 90 V sabit akımda ayrıştırılmışlardır. Jeller etidyum bromit (5 mgµl⁻¹) ile boyanmış ve Kodak 2000 jel görüntüleme sistemi ile fotoğrafları alınmıştır. Kullanılacak tüm solüsyonlar SambrockveRussel (2001)’de belirtildiğı şekliyle hazırlanmıştır.

Moleküler analiz için bantların var olup olmamasına göre 1/0 matrisi oluşturulmuştur. Ekotipler arasındaki genetik çeşitlilik için pairwise genetik benzerlik Jaccard coefficient metoduna göre yapılmıştır. Populasyonların arasındaki genetik benzerlik hesaplanmış ve dendogram unweighted pair group method average (UPGMA) gruplandırma metoduna göre NTSYS-pc (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır (Rohlf, 1991).

Tesadüf Blokları Deneme Deseni’ne göre kurulan çalışmada elde edilen verilerin varyans analizleri SAS istatistik paket programından faydalanılarak yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD (Least Significant Difference) testine göre karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Meyve Verim ve Uçucu Yağ Oranı ve Verimi

Anason popülasyonlarının meyve verimi, uçucu yağ oranı ve uçucu yağ verimi Tablo 2’de verilmiştir. Meyve verimi bakımından yıllar arasında (2015 ve 2016) istatistiksel olarak fark olmamış ve birbirine yakın (sırasıyla, 33.2 ve 33.0 kgda-1) olmuştur. İkinci yılda vejetasyon döneminde daha yüksek yağmur yağmasına rağmen, tane hasat

olgunluğuna doğru Haziran - Temmuz aylarında sıcaklıkların mevsim ortalamalarının üstünde seyretmesi ana şemsiyede fazla meyve olan bitkilerin tam dolmadan olgunlaşmasına neden olmuştur. Bu durum çok dallanan popülasyonlarda daha fazla kendini göstermiştir. Uçucu yağ oranı ve verimi ise birinci yılda (sırasıyla, %2.78 ve 0.90 L da-1) ikinci yıldan (%2.35 ve 0.77 L da-1) daha yüksek olmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Anason popülasyonlarına ait meyve verimi, uçucu yağ oranı ve verimi

Popülasyonlar	Meyve verimi (kgda ⁻¹)		Uçucu yağ oranı (%)		Uçucu yağ verimi (Lda ⁻¹)	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Eskişehir	39.1 ^a	39.6 ^a	2.64 ^b	2.08 ^c	1.03 ^{abc}	0.76 ^{cd}
Kütahya	31.8 ^{bcd}	30.6 ^b	2.50 ^b	2.05 ^{cd}	0.78 ^c	0.62 ^{de}
Afyonkarahisar	34.7 ^{ab}	32.7 ^{ab}	3.16 ^{ab}	3.19 ^{ab}	1.15 ^a	1.04 ^{ab}
Burdur	27.5 ^{cd}	35.3 ^{ab}	3.88 ^a	3.47 ^a	1.06 ^{ab}	1.22 ^a
Antalya	25.4 ^d	23.4 ^c	3.13 ^{ab}	2.10 ^c	0.79 ^{bc}	0.49 ^{de}
Muğla	38.2 ^{ab}	34.3 ^{ab}	1.21 ^c	1.30 ^d	0.46 ^d	0.45 ^e
Denizli	33.3 ^{abc}	31.0 ^b	2.93 ^b	2.18 ^c	0.97 ^{abc}	0.67 ^{cde}
İzmir	35.9 ^{ab}	37.4 ^a	2.83 ^b	2.45 ^{bc}	1.01 ^{abc}	0.91 ^{bc}
Yıl ortalama	33.2	33.0	2.78 ^A	2.35 ^B	0.90 ^A	0.77 ^B
LSD	6.89	4.96	0.82	0.77	0.26	0.27
C.V	8.52	6.24	12.02	10.50	11.96	9.59

^{a,b,c,d,e} Aynı sütun veya satır içerisinde aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (p<0.01).

Popülasyonlar karşılaştırıldığında; birinci yıl 25.4 kgda⁻¹ (Antalya pop.), 39.1 kg da⁻¹ (Eskişehir pop.) arasında, ikinci yıl 23.4 kg da⁻¹ (Antalya pop.), 39.6 kgda⁻¹ (Eskişehir pop.) arasında değişmiştir (Tablo 2). Bu farklılıklar, popülasyonların dallanma, bitki boyları, ana şemsiye sayısı ve ana şemsiyede meyve sayısı gibi bitkisel özelliklerinin yanı sıra, iklim faktörlerine (Figueiredo ve ark., 2008; Kara, 2015) göre de değişmektedir. Değişik ekolojilerde yapılan çalışmalarda anason meyve veriminin 13.3-89.2 kgda⁻¹ (Meena, 2012), 95.8-147.0 kgda⁻¹ (Özel, 2014), 48.5-81.8 kgda⁻¹ (İpek ve ark., 2004) ve 47.01 kgda⁻¹ (Keskin ve Baydar, 2016) olarak farklı sonuçlar elde etmişlerdir.

Popülasyonların uçucu yağ oranları birinci yıl %1.21 (Muğla pop.), %3.88 (Burdur pop.) arasında, ikinci yıl %1.30 (Muğla pop.), %3.47 (Burdur pop.) arasında değişmiştir (Tablo 2). Elde ettiğimiz sonuçlar, Hassan ve Elhassan (2017) %3.3, Acimovic ve ark. (2015) %3.7, Zheljazkov ve ark. (2013) %2.0 ve Şahin (2013)’in %2.4-4.1 bulgularıyla uyumluluk gösterdiği söylenebilir. Popülasyonların uçucu yağ verimleri birinci yıl 0.46 L da-1 (Muğla pop.) 1.15 Lda⁻¹ (Afyonkarahisar pop.) arasında, ikinci yıl 0.45L da⁻¹ (Muğla pop.) 1.22 Lda⁻¹ (Burdur pop.) arasında değişmiştir. Anasonda uçucu yağ içeriği genotiplerin yanı sıra ekim zamanı, hasat zamanı, sıcaklık, güneşlenme süresi, yağış ve toprak verimliliği gibi faktörlerden önemli derecede etkilenmektedir (Figueiredo ve ark., 2008).

3.2. Uçucu yağ bileşenleri

Isparta koşullarında yetiştirilen anason popülasyonlarının uçucu yağlarının ana bileşenleri tans-

anetol, metil kavikol, humulen, cis(-)-2,4a,5,6,9a-Heksahidro-3,5,5,9-tetrametil (1H) benzosiklo ve 2-(1-E-propenil)-4-methoksifenil 2-metilbutanoat olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Uçucu yağ bileşenlerinin çok büyük bir miktarını oluşturan anetolve p-Allilanisol oranı sırasıyla %85.62 (Afyonkarahisar), %94.99 (Burdur) ve %1.52 (Burdur), %2.57 (Kütahya) arasında değişmiştir (Tablo 3). Yapılan çalışmalarda anasonun ana bileşeninin tans-anetol olduğunu ve oranının %96.95-97.57 (Kara, 2015), %92.36-96.80 (Acimovic ve ark., 2014) ve %92.3-93.3 (Ullah ve Honermeier, 2013) arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu farklılıklar ve genotip, iklim özellikleri ve agronomik uygulamalardan kaynaklanabilir (Zheljazkov ve ark., 2008).

3.3. Genetik ilişkilerin incelenmesi

Çalışmada toplam 10 nükleotitden oluşan 10 RAPD primeri popülasyonlara ait genomik DNA’yı çoğaltmak için kullanılmıştır. Primer başına üretilen bant sayısı 3-13 arasında değişim göstermiştir. En yüksek bant sayısı OPA1 primerinden elde edilirken en düşük bant sayısı OPA8 primerinden elde edilmiştir. RAPD primerlerinin ürettikleri polimorfik bant sayısı da 1 (OPA8) ile 8 (OPA9) arasında olmuştur. Üretilen polimorfik bant sayısı ile toplam bant sayısının bölünmesi ile elde edilen polimorfizm oranı 8.3-72.7 arasında değişim göstermiştir. Primerlere ait sekanslar ve bant sayıları Tablo 4’de verilmiştir. Toplamda çalışmada kullanılan RAPD primerleri anason popülasyonları arasında 95 bant üretmişler ve bunlardan 35 tanesi polimorfik olarak bulunmuştur. Ortalama polimorfizm oranı da %36.8 olarak tespit edilmiştir. RAPD markırları kullanılarak

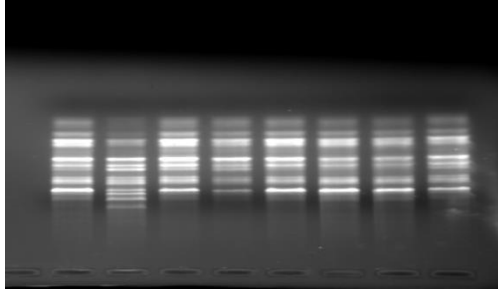
populasyonlar arasında üretilen DNA polimorfizmlerine ait örnek fotoğraflar Şekil 2'de verilmiştir.

Tablo 3. Anason populasyonlarının uçucu yağ bileşenleri*

Kimyasal bileşenler	Populasyonlar							
	Eskişehir		Kütahya		Afyonkarahisar		Burdur	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
Metil kavikol	20.19	2.46	20.23	2.57	20.34	1.54	20.18	1.52
Trans anetol	26.52	92.53	26.35	94.69	26.41	85.62	26.30	94.99
Humulen	38.05	1.12	38.14	1.47	38.29	1.96	38.10	1.19
Cis-(-)-2,4a,5,6,9a-Heksahidro-3,5,5,9-tetrametil (1H) benzosiklo	38.11	1.68	-	-	-	-	-	-
2-(1-E-propenil)-4-metoksifenil 2-metilbutanoat	58.63	1.68	58.62	0.32	-	-	58.62	1.19

Kimyasal bileşenler	Antalya		Muğla		Denizli		İzmir	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
	Metil kavikol	20.20	2.34	20.19	2.16	20.23	2.37	20.23
Tans-anetol	26.75	92.17	26.48	92.11	26.52	92.81	23.75	94.96
Humulen	38.14	1.15	38.10	1.32	38.14	1.68	38.13	1.24
Cis-(-)-2,4a,5,6,9a-Hksahidro-3,5,5,9-tetrametil (1H) benzociklo	38.11	1.50	38.12	2.05	-	-	-	-
2-(1-E-propenil)-4-metoksifenil 2-metilbutanoat	58.65	2.07	58.65	1.86	58.79	1.24	58.64	0.41

*Uçucu yağ kompozisyonları denemenin birinci yılına (2015 yılı) aittir. RT= Retention time



Şekil 2. OPax primeri kullanılarak elde edilen RAPD profili.

RAPD markırları kullanılarak 8 anason populasyonu arasındaki genetik mesafeler NTSYS-pc programı kullanılarak hesaplanmıştır. Populasyonlar arasındaki genetik mesafeler 0.25-0.81 arasında değişim göstermiştir. Genetik benzerliği en az olan populasyonlar Muğla ve Denizli (0.25) iken genetik benzerliği en yüksek populasyonlar İzmir ve Afyonkarahisar populasyonları (0.81) olarak bulunmuştur (Tablo 5). Ayrıca Eskişehir ve Muğla populasyonları arasındaki genetik benzerlikte düşük çıkmıştır (0.26).

Tablo 4. Kullanılan RAPD primer sekansları ve ürettikleri bantlara ait bilgiler

Primer adı	Primer sekansı (5'-3')	Toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı	Polimorfizm oranı (%)
OPA01	CAGGCCCTTC	13	6	46.2
OPA02	TGCCGAGCTG	12	1	8.3
OPA03	AGTCAGCCAC	9	4	44.4
OPA04	AATCGGGCTG	9	4	44.4
OPA05	AGGGGTCTTG	9	2	22.2
OPA06	GGTCCCTGAC	9	3	33.3
OPA07	GAAACGGGTG	12	5	41.6
OPA08	GTGACGTAGG	3	1	33.3
OPA09	GGGTAACGCC	11	8	72.7
OPA10	GTGATCGCAG	8	1	12.5

Populasyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren dendrogram hesaplanan genetik mesafeler kullanılarak çizilmiştir (Şekil 2). Kullanılan RAPD primerleri ile İzmir ve Afyon populasyonları arasında genetik açıdan fark bulunmamış ve iki populasyonda aynı grupta yer almıştır. Burdur ve Kütahya populasyonları arasındaki genetik mesafe de yüksek çıkmış ve bu iki populasyon birbiri ile bağlantılı olmuştur. Bunların haricinde Denizli, Eskişehir ve Antalya populasyonları önceki populasyonlarla

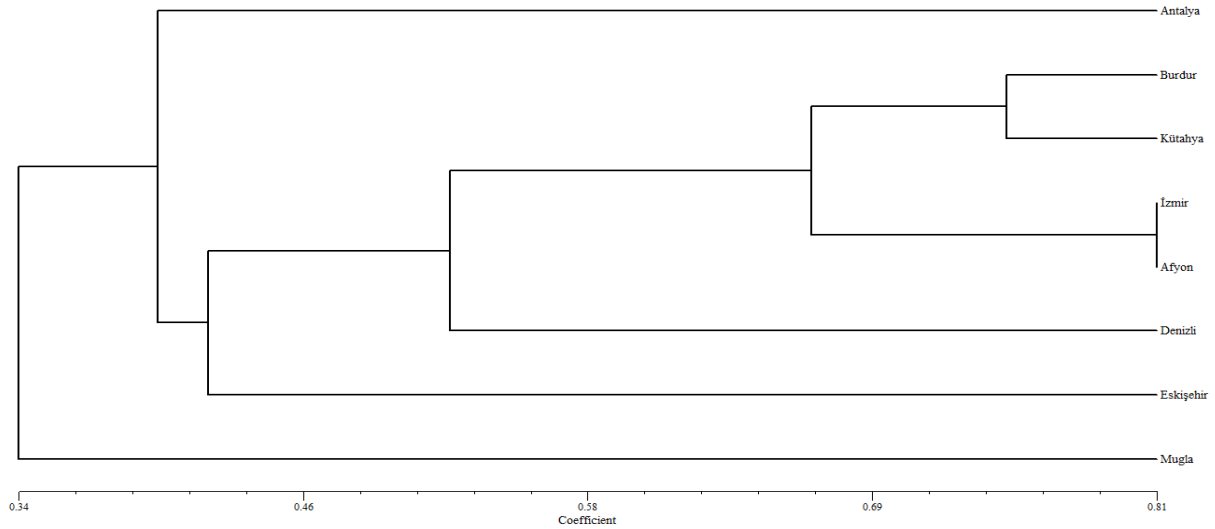
bağlantılı oldukları bulunmuştur. Çalışmada kullanılan Muğla populasyonuna ait bitkiler ise diğer tüm populasyonlardan farklı olarak bulunmuştur (Şekil 2). Elde edilen dendrogramın RAPD markırları ile üretilen polimorfizmlere olan uyumunu test etmek için Mantel's z testi uygulanmıştır. Test sonuçlarına göre üretilen polimorfizmler ile üretilen dendrogram arasında yüksek uyum sağlandığı bulunmuştur ($r = 0.89$).

Tablo 5. RAPD profilleri kullanılarak hesaplanan populasyonlar arasındaki genetik mesafeler

	Antalya	Burdur	Denizli	Kütahya	Muğla	İzmir	Eskişehir
Antalya	1.00						
Burdur	0.35	1.00					
Denizli	0.33	0.50	1.00				
Kütahya	0.50	0.75	0.63	1.00			
Muğla	0.29	0.32	0.25	0.44	1.00		
İzmir	0.40	0.52	0.43	0.70	0.43	1.00	
Eskişehir	0.29	0.37	0.36	0.50	0.26	0.42	1.00
A. Karahisar	0.50	0.66	0.50	0.77	0.36	0.81	0.42

Anasonun tarımının yapıldığı illerdeki yerel populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliği inceleyen araştırma mevcut değildir. RAPD yöntemi bitkiler aleminde, markır geliştirmek, genetik haritalar yapmak ve genetik çeşitliliği analiz etmek için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Mevcut çalışmada 8 farklı ilden elde edilen anason populasyonlarına ait genomik DNA RAPD primerleri ile çoğaltılmıştır. RAPD primerlerinin ürettiği polimorfizimler agaroz jeller vasıtasıyla ayrıştırılmış ve üretilen polimorfizimler populasyonlar arasındaki genetik mesafeleri hesaplamak için kullanılmıştır. RAPD

markırları ile üretilen ortalama polimorfizm oranı % 36.8 olarak tespit edilmiştir. Daha önce Apiaceae familyasından olan havuç (*Daucus carota*) türüne ait genotiplerin RAPD markırları kullanılarak yapılan çalışmada seçilen RAPD markırları 2-11 arasında polimorfik bant üretmiştir. (Grzebelus ve ark., 2002). Benzer şekilde kimyon (*Carum carvi*) bitkisi ile RAPD markırları kullanılarak yapılan çalışmada da (Seidler-Lozykowska ve ark., 2014) seçilen 8 RAPD primeri 24 ekotipte toplamda 62 bant üretmiş ve üretilen 62 banttan 23'ü polimorfik (%37.1) olarak bulunmuştur.



Şekil 3. Anason populasyonları arasındaki ilişkileri gösteren dendrogram

4. Sonuç

Araştırmada, meyve verimi bakımından Eskişehir ve İzmir populasyonları ön plana çıkarken, uçucu yağ oranı açısından Burdur, Afyonkarahisar ve Antalya populasyonları yüksek değerlere sahip olmuştur. Populasyonlar arasında genetik benzerliği en az olan Muğla ve Denizli populasyonları yeni çeşit geliştirme amacıyla ıslah çalışmalarında materyal olarak kullanılabilir.

Sonuç olarak; Isparta koşullarında anason üretiminde Eskişehir ve İzmir populasyonlarının tarımının yapılması önerilebilir.

Teşekkür

Bu araştırmanın birinci yılı Süleyman Demirel

Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde sunulan Yüksek Lisans Tezine aittir. Araştırma, SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından 4885 YL1-17 no'lu proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi BAP birimine ve anason populasyonlarının temin edilmesinde yardımcı olana Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Acimovic M, Dolijanovic Z, Oljaca S, Kovacevic D, Oljaca M. 2014. Effect of fertilization on *Pimpinella Anisum* L. in different locations in Serbia. Fifth International Scientific Agricultural Symposium, 23-26 October, Jahorina, Serbia, 629-634.

- Acimovic MG, Tesevic VV, Todosijevic MM, Oljaca SI, Dolijanovic ZK. 2015. Essential oil content and composition of aniseed. *Matica Srpska J Natural Sci*, 128: 67-75.
- Aydın E, Yurum Ç, Kevseroğlu K, Seyis F. 2014. Doğadan yoğun olarak toplanan pazar payı yüksek olan önemli tıbbi ve aromatik bitkilerin risk durumları. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, 23-25 Eylül, Yalova, 281-286.
- Ceylan A. 1987. Tıbbi Bitkiler II. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 481s, İzmir.
- Çetin B. 2007. Burdur ilinde anason tarımının coğrafi esasları. *Doğu Coğrafya Der*, 20: 195-214.
- Choudhary S, Meena RS, Singh R, Vishal MK, Jethra G, Saini M, Panwar A. 2015. Analysis of diversity among cumini (*Cuminumcyminum*) cultivars using RAPD markers. *Indian J of Agric Sci*, 85: 117-121.
- Doyle J, Doyle J. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance J*, 23: 213-226.
- Grzebelus D, Baranski R, Kotlinska T, Michalik B. 2002. Assessment of genetic diversity in a carrot (*Daucuscarota* L.) germplasm collection. *Plant Genetic Res Newsletter*, 130: 51-53.
- Hassan OM, Elhassan IA. 2017. Characterization of essential oils from fruits of Umbelliferous crop cultivated in Sudan I. *Pimpinella anisum* L (Anise) and *Anethum graveolens* L. (Dill). *J Pharma Phytochem*, 6: 109-112.
- Kara N. 2015. Yield, quality, and growing degree days of anise (*Pimpinella anisum* L.) under different agronomic practices. *Turkish J of Agric and For*, 39: 1014-1022.
- Keskin S, Baydar H. 2016. Umbelliferae familyasından bazı önemli kültür türlerinin Isparta ekolojik koşullarında tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. *SDÜ Fen Bilim Enst Der*, 20: 133-141.
- Meena SS, Mehta RS, Lal G, Anwer MM. 2012. Effect of agronomic practices on productivity and profitability of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Spices Arom Crops*, 21: 102-105.
- Ragot M, Hoisington DA. 1993. Molecular markers for plant breeding: comparison of RFLP and RAPD genotyping costs. *Theoretical Applied Genet*, 86: 975-984.
- Rohlf FJ. 1991. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, Setauket, NY, USA.
- Seidler-Lozykowska K, Kuczynska A, Mikolajczyk K. 2014. estimation of genetic distance among genotypes of caraway (*Carumcarvi* L.) using Rapd-PCR. *Acta Scientiarum-Agron*, 36: 183-188.
- Sambrock J, Russel DW. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Springs Harbor Laboratory Pres, NY, USA.
- Şahin B. 2013. Farklı ekim zamanlarında yetiştirilen bazı tıbbi bitkilerin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 143s, Konya.
- Tanksley SD, McCouch SR. 1997. Seed banks and molecular maps, unlocking genetic potential from the wild. *Sci*, 277: 1063-1066.
- Ullah H, Honermeier B. 2013. Fruit yield, essential oil concentration and composition of three anise cultivars (*Pimpinella anisum* L.) in relation to sowing date, sowing rate and locations. *Indust Crops Prod*, 42: 489-499.
- Welsh J, McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, 18: 7213-7218.
- Zheljzkov VD, Callahan A, Cantrell CL. 2008. Yield and oil composition of 38 basil (*Ocimum basilicum* L.). *J Agric Food Chemistry*, 56: 241-245.
- Zheljzkov VD, Astatkie T, O'Brocki B, Jeliakova E. 2013. Essential oil composition and yield of anise from different distillation times. *Hortsci*, 48: 1393-1396.