

## Bazı Sertifikalı Armut (*Pyrus communis* L.) Genotiplerinin Morfolojik ve RAPD Yöntemleriyle Tanımlanması

Kemal GENCER<sup>1\*</sup> Mehmet Atilla AŞKIN<sup>1</sup> Yaşar KARAKURT<sup>2</sup>

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta  
Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta  
Sorumlu yazar:chemal21@hotmail.com

Geliş tarihi:15.07.2016, Yayına kabul tarihi:30.07.2018

**Özet:** Bu çalışmada ülkemizde yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan 6 armut genotipinde RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) tekniği kullanılarak akrabalık ilişkileri belirlenmiştir. Yapılan moleküler analizler sonucunda 8 adet RAPD primeri, 48 adet polimorfik bant üretmiştir. En fazla sayıda polimorfik bant (11 adet), OPA-08 primerinden elde edilirken, en az sayıda polimorfik bant (2 adet) OPE-07 primerinden elde edilmiştir. Primer başına düşen ortalama polimorfik bant sayısı 6 adet olmuştur. Tüm çeşitler arasında, en yüksek benzerlik indeksi Klasik Akça ve Kokulu Akça arasında (0,922) görülürken, en düşük indeks Kokulu Akça ile Santa Maria çeşidi arasında (0,431) tespit edilmiştir. Dendrogramda tüm genotipler 2 ana gruba ve bu ana gruplar da kendi içerisinde 2 alt gruba ayrılmıştır. Klasik Akça ve Kokulu Akça genotipleri birinci alt grupta yer alırken; Deveci armudu ikinci ve Saman Akçası ile Dikenli Akça ise üçüncü alt grupta yer almıştır. Santa Maria çeşidi de dördüncü alt grupta bulunmaktadır. Ayrıca UPOV kriterlerine göre pomolojik analizler de yapılmış olup bu analizler sonucunda genotiplerde meyve ağırlığı (30,19-305,0), meyve eni (3,76-8,15), meyve boyu (5,89-10,6), meyve şekil indeksi (0,94-1,57), meyve eti sertliği (42,03-66,1), meyve kabuk rengi (L 64,11-75,81, a 14,55-6,86, b 27,05-50,3), meyve suyu pH'ı (2,51-5,16), ŞÇKM (8,95-10,4), meyve sapı uzunluğu (4,95-2,32), meyve sapı kalınlığı (2,8-4,67), sap çukuru eni (3,65-13,09), sap çukuru derinliği (1,03-4,65), çiçek çukuru eni (7,93-13,94), çiçek çukuru derinliği (3,65-10,74), çekirdek evi boyu (23,86-34,73), çekirdek evi eni (11,59-26,98), çekirdek boyu (8,34-9,19), çekirdek eni (2,8-4,68) ve çekirdek kalınlığı (1,1-3,18) bakımından genotipler arasında önemli farklılıklar bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Armut (*Pyrus communis* L.), Pomolojik özellikler, Moleküler teknikler, RAPD, Genetik akrabalık tespiti

### Characterization of Some Certified Pear (*Pyrus communis* L.) Genotypes With Morphological and RAPD Methods

**Abstract:** In this study, the genetic relationships among six pear varieties and genotypes intensively cultivated in our country were determined using RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) molecular marker technique. Molecular analysis with eight RAPD primers produced 48 polymorphic bands. The highest number of polymorphic bands (11) were obtained from primer OPA-08 while the least number of polymorphic bands (two) were obtained from primer OPE-07. The average number of polymorphic bands per primer was six. Among all varieties, the highest similarity index was determined between Klasik Akça and Kokulu Akça (0,922) but the lowest similarity index was identified between Kokulu Akça and Santa Maria (0,431). The clustering analysis showed that all genotypes were separated into two main groups and each main group was divided into two subgroups. While Klasik Akça and Kokulu Akça genotypes were clustered into the first subgroup; Deveci pear formed the second and Saman Akça and Dikenli Akça formed the third subgroups. The fourth subgroup contained Santa Maria variety. Moreover, the genotypes were also compared pomologically based on the UPOV criteria. The results showed significant differences among varieties in terms of fruit weight (30,19-305,0), fruit width (3,76-8,15), fruit length (5,89-10,6), fruit shape index (0,94-1,57), fruit firmness (42,03-66,1), fruit peel color (L 64,11-75,81, a 14,55-6,86, b 27,05-50,3), fruit

\* Bu çalışma yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir.

juice pH (2,51-5,16), total soluble solids (8,95-10,4), pedicel length (4,95-2,32), pedicel thickness (2,8-4,67), pedicel bowl width (3,65-13,09), pedicel bowl depth (1,03-4,65), flower bowl width (7,93-13,94), flower bowl depth (3,65-10,74), seed bowl depth (23,86-34,73), seed bowl width (11,59-26,98), core length (8,34-9,19), core width (2,8-4,68) and core thickness (1,1-3,18).

**Keywords:** Pear (*Pyrus communis* L.), Pomological properties, Molecular techniques, RAPD, Determination, Genetic relationships.

## Giriş

Ülkemizin coğrafik konumu ve ekolojik özellikleri sahip olduğu bitki gen kaynaklarını zengin kılmıştır. Dünyada elmadan sonra en fazla kültürü yapılan ılıman iklim meyve türü olan armut, Anadolu'da geniş bir yetiştirme alanına sahiptir. Bu geniş yayılma alanı ve var olan çeşitlilik, ülkemizde armuda ait gen kaynakları olduğunun bir göstergesidir (Özbek, 1947). Yumuşak çekirdekli bir meyve türü olan armut, Rosaceae familyasında Pomoideae alt familyasının *Pyrus* cinsi içerisinde yer almaktadır.

Ülkemizin Asya ve Avrupa kıtaları arasında ve armudun yetişebileceği en iyi enlem derecelerinde ( $\leq 55^\circ$ ) yer alması, aynı zamanda armudun, ayva, ahlat ve alıç gibi toprak istekleri bakımından birbirinden çok farklı anaçlar üzerinde yetişebilme ve ilkbahar aylarında don olaylarından diğer meyve türlerine (badem, kayısı, erik, şeftali) göre daha az etkilenme gibi özellikleri, armudun, ülkemizde geniş bir alana yayılmasını sağlamıştır (Özbek, 1947).

Tüm kıtalarda tanınan ve aranan meyve türleri arasında yer alan armudun dünyada toplam üretimi 2013 yılı verilerine göre 25,2 milyon tondur. Bunun %1,8'ini karşılayan Türkiye, 461 bin tonluk üretim değeri ile Çin (17,3 milyon ton), ABD (795 bin ton), İtalya (743 bin ton) ve Arjantin (722 bin ton)'den sonra 5. sırada yer almaktadır. Dünya armut üretiminde söz sahibi diğer önemli ülkeler ise İspanya, Güney Afrika, Hindistan, Hollanda ve Belçika'dır (Anonim, 2016).

Günümüzde, verim artışı sağlamak için klasik bitki ıslah programlarını tamamlayan ve destekleyen yeni biyoteknolojik yöntemler bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Gen kaynaklarının korunmasında ve ıslah çalışmalarında ilk basamak olan

genetik çeşitliliğin belirlenmesinde genetik markörler önemli bir araçtır (Velioglu ve ark., 2002).

DNA markör yöntemlerinden, tek bir kısa ve rastgele oligonükleotid primer kullanılarak, bilinmeyen DNA dizilerinin amplifikasyonu prensibine dayalı olan RAPD tekniği, tek bir baz değişikliği dahil olmak üzere farklı seviyelerdeki DNA çeşitliliklerini tespit ederek tür içinde ve arasında varyasyonların belirlenmesinde son yıllarda kullanılan ekonomik ve hızlı bir teknik olmuştur (Welsh and McClelland, 1990; Williams et al., 1990; Carlson et al., 1991; Roy et al., 1992; Bardakçı, 2001).

Bu çalışma ile de doğal bitki gen kaynakları bakımından oldukça zengin olan ülkemizde, önemli bir meyve türü olan armutta bazı genotiplerin UPOV kriterlerine göre pomolojik analizlerinin yapılması ve moleküler yöntemlerle genetik yapılarının belirlenerek akrabalık ilişkilerinin moleküler düzeyde saptanması amaçlanmıştır. İncelenen armut genotipleri arasındaki akrabalık ilişkileri, uygulama kolaylığı ve diğer metotlar içerisinde ekonomik oluşu sebebiyle RAPD moleküler tekniği kullanılarak araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

Bazı armut (*Pyrus communis* L.) genotiplerinde genetik akrabalık derecelerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan bu çalışma, 2014-2016 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Pomoloji Laboratuvarı ile Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak Klasik Akça, Saman Akçası, Dikenli Akça, Kokulu Akça, Deveci ve Santa Maria armudu olmak üzere 6 farklı armut genotipi kullanılmıştır. Pomolojik

özelliklerinin belirlenmesinde her bir özellik için, aynı genotipi temsil eden her 5 ağaçtan alınan 30'ar adet tam olgunlaşmış meyve kullanılmıştır.

Meyve ağırlığı değerleri 0,001 g hassasiyetindeki terazi (AXIS AGN200C, Varşova, Polonya) yardımı ile ölçülürken; meyve uzunluğu, meyve çapı, meyve sap uzunluğu, meyve sap kalınlığı, sap çukuru eni, sap çukuru derinliği, çiçek çukuru eni, çiçek çukuru derinliği, çekirdek evi eni, çekirdek evi derinliği, çekirdek uzunluğu, çekirdek kalınlığı ve çekirdek genişliğine ait değerler kumpas (Astor 300, Ankara, Türkiye) yardımı ile mm cinsinden ölçülmüştür. Meyve şekil indeksi, ortalama meyve uzunluğunun (mm) ortalama meyve çapına (mm) oranı tespit edilerek kaydedilmiştir. Meyve eti sertliği, dijital el penetrometresi (PCE-PTR 200, Meschede, Almanya) kullanılarak ölçülmüş, bulunan değerlerin ortalaması N cinsinden kaydedilmiştir. Meyve kabuk rengi, 30 adet meyvede renk ölçer (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japonya) ile ölçülmüş ve meyve kabuk rengine ait veriler L\*, a\* ve b\* cinsinden kaydedilmiştir. Asitlik derecesi (pH), meyvelerin suyu çıkarılarak pH metre (Mettler Toledo Ph/Ion S220, Greifensee, İsviçre) yardımı ile belirlenirken; suda çözünebilir kuru madde miktarı (SÇKM) refraktometre (HANNA, HI 96801, Vöhringen, Almanya) yardımı ile % Brix cinsinden kaydedilmiştir. Elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur (SAS, 1997). Ortalamalar arasındaki farklılık LSD testi ile  $P < 0.05$  seviyesinde belirlenmiştir.

Genetik tanımlamalar ile genotipler arasındaki akrabalık dereceleri moleküler teknikler kullanılarak araştırılmıştır. Her bir genotipin DNA yapılarındaki farklılıklar, RAPD tekniği kullanılarak belirlenmiştir (Williamas ve ark. 1990). Bu amaçla her bir genotipten DNA'lar 100 mg yaprak örnekleri kullanılarak CTAB metodu kullanılarak elde edilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990). DNA kalite ve konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla elde edilen DNA örnekleri % 1'lik agaroz jel elektroforezine tabii tutulmuş ve 260 ile 280 nm dalga boylarında spektrofotometre kullanılarak (BioRad, Kaliforniya, ABD) absorbans

değerleri belirlenmiştir (Olgun ve Topal, 1999).

PCR reaksiyonlarında kullanılan RAPD primerleri ve primer sekansları Tablo 1'de yer almaktadır.

Tablo 1. RAPD-PCR analizlerinde kullanılan primerlerin adı ve primer sekansları

Table 1. The names and sequences of primers used in RAPD-PCR analyses

Primer Adı <i>Primer name</i>	Primer Sekansı (5'→3') <i>Primer Sequence(5'→3')</i>
OPA-04	AATCGGGCTG
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-09	GGGTAACGCC
OPA-18	AGGTGACCGT
OPA-20	GTTGCGATCC
OPC-02	GTGAGGCGTC
OPC-11	AAAGCTGCGG
OPE-07	AGATGCAGCC

DNA'lar, 1,25 µl 10x Buffer, 2 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,25 µl 2 mM dNTP, 0,5 µl 10µM Primer, 0,125 µl 5U/µl *Taq* DNA polimeraz, 50 ng DNA ve ddH<sub>2</sub>O içeren 12,5 µl toplam hacimli karışım içerisinde çoğaltılmıştır. Başlangıç DNA sarmallarının ayrılması için 94°C'de 3 dk 1 döngü, daha sonra 40 döngü olacak şekilde, sarmalların ayrılması, primer bağlanması ve polimerizasyon için sırasıyla 94°C'de 30 sn, 38°C'de 1 dk, 72°C'de 2 dk ve son çoğaltma evresi 72°C'de 10 dk 1 döngü olacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirilmiştir.

PCR işleminden sonra örnekler % 2'lik agaroz jel elektroforezinde 75 Voltta 90-120 dakika süre ile yürütülmüş ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Jelin ilk ve son kuyucuğuna elektroforez işlemi sonucunda oluşacak bantların doğru şekilde yorumlanmasını sağlayacak olan DNA markörü (Ladder, 0,1-3,0 kb, Biorad) yüklenmiştir. Elektroforez tankından çıkarılan jel, görüntüleme cihazında UV ışık altında incelenerek fotoğrafı çekilmiştir.

Çalışmada kullanılan RAPD primerlerinin polimorfizm oranı, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması sonucu elde edilmiştir.

Benzerlik indeksleri ve dendogramlarının oluşturulması amacıyla genotiplerin oluşturduğu parmak izleri, bant varlığı 1 veya yokluğu 0 şeklinde kaydedilmiştir. Genotipler arasındaki genetik uzaklıklar, Jaccard benzerlik indeksi katsayısı yardımıyla tespit edilmiştir. Çok boyutlu derecelendirme ve dendogramlar, UPGMA (Ağırlıklı Olmayan Aritmetik Ortalama Eş Grup Metodu) ve NTSYS (Sürüm 2.2, Newyork, ABD) hazır paket programı ile oluşturulmuştur.

### Bulgular

Değerlendirmeye tabi tutulan her genotipi temsil eden Klasik Akça (Şekil 1), Saman Akçası (Şekil 2), Dikenli Akça (Şekil 3), Kokulu Akça (Şekil 4), Deveci (Şekil 5) ve Santa Maria (Şekil 6) genotiplerine ait meyve görünümleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 1. Klasik Akça armuduna ait meyve görünümü

Figure 1. The fruit of Klasik Akça pear



Şekil 2. Saman Akçası armuduna ait meyve görünümü

Figure 2. The fruit of Saman Akça pear



Şekil 3. Dikenli Akça armuduna ait meyve görünümü

Figure 3. The fruit of Dikenli Akça pear



Şekil 4. Kokulu Akça armuduna ait meyve görünümü

Figure 4. The fruit of Kokulu Akça pear



Şekil 5. Deveci armuduna ait meyve görünümü

Figure 5. The fruit of Deveci pear



Şekil 6. Santa Maria armuduna ait meyve görünümü

Figure 6. The fruit of Santa Maria pear

Araştırmada kullanılan armut genotiplerine ait pomolojik ölçüm değerleri ve istatistiki değerlendirmeleri aşağıda listelenmiştir (Tablo 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8). İncelenen genotiplerde ortalama meyve ağırlığı 30.19 g ile 305.00 g arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 2).

Çalışmada yer alan genotiplerin meyve ağırlıkları istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da yerel armut genotiplerinin meyve ağırlıklarının benzer aralıklar içerisinde değişiklik gösterdikleri daha önce rapor edilmiştir (21.30 g-337.00 g) (Edizer ve Güneş, 1997; Acar, 2007; Bostan, 2007; Polat ve Bağbozan, 2016; Kalkışım ve ark., 2016).

Çalışmamızda ele alınan genotiplerin meyve eni 3.76 cm (Klasik Akça) ile 8.15 cm (Deveci) arasında, meyve boyu ise 5.89 cm (Klasik Akça) ile 10.60 cm (Santa Maria) arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 2). Ülkemizin değişik bölgelerinde armut genotipleriyle ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır (Acar, 2007; Kalkışım ve ark., 2016; Polat ve Bağbozan, 2016). Yapılan bu çalışmalar arasında meyve eni ve boyu ile ilgili çalışmalara örnek olarak Doğu Akdenizde (meyve eni 34.11-68.27 mm; meyve boyu 33.11-72.02 mm) (Bayazıt ve ark., 2016) ve Isparta'da (meyve eni 41.08-82.06 mm; meyve boyu 25.91-117.33 mm) (Polat ve Bağbozan, 2016) yapılan çalışmalar verilebilir. Çalışmamızda ele aldığımız genotipler meyve boyutları açısından geniş bir varyasyon göstermiş ve

genel olarak daha önce yapılmış olan diğer çalışmalarla da benzerlik göstermiştir.

Tablo 2. Armut genotiplerinde meyve ağırlığı, meyve eni ve meyve boyu değerleri

Table 2. The fruit weight, width and length values in the pear genotypes

Genotip Genotype	Meyve Ağırlığı (g) Fruit Weight (g)	Meyve Eni (cm) Fruit Width (cm)	Meyve Boyu (cm) Fruit Length (cm)
	Klasik Akça	30.19c	3.76b
Saman Akçası	36.68b	3.97b	5.92cd
Dikenli Akça	39.09b	3.85b	6.07c
Kokulu Akça	39.08b	4.03b	5.70d
Deveci	305.00a	8.15a	7.72b
Santa Maria	218.00a	6.89a	10.60a

P < 0,05

Genotiplerde meyve kabuk rengi değerleri arasında önemli istatistiki farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 3). L\*, a\* ve b\* renk değerleri, sırasıyla, 75.81 (Klasik Akça) ile 59.75 (Deveci), 6.86 (Saman Akçası) ile 14.96 (Dikenli Akça), ve 50.30 (Saman Akçası) ile 27.05 (Deveci) arasında değişiklik göstermiştir. Armut genotipleri ile yapılan gerek Türkiye'de gerekse de yurt dışında yapılan bir çok çalışmada da meyve kabuk renk değerlerinde benzer varyasyonlar tespit edilmiştir (Bayazıt ve ark., 2016; Kılıc ve Bostan, 2016).

Tablo 3. Armut genotiplerinde meyve kabuk rengi değerleri

Table 3. The fruit peel color values in the pear genotypes

Genotip Genotype	Meyve Kabuk Rengi Fruit Peel Color		
	L	a	b
Klasik Akça	75.81a	-8.61a	45.91a
Saman Akçası	74.54a	-6.86a	50.30a
Dikenli Akça	67.59b	-14.96b	42.00b
Kokulu Akça	60.19d	-14.93b	28.05c
Deveci	59.75d	-11.80a	27.05d
Santa Maria	64.11c	-14.55b	28.47c

P < 0,05

Meyve şekil indeksi bakımından genotipler arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 4). Meyve şekil indeksi genotipler arasında 0.94 (Deveci) ile 1.57 (Dikenli Akça) arasında değişiklik

göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen varyasyon literatür bulguları ile uyum göstermiştir (Yakut ve Özrenk, 2009; Bayazıt ve ark., 2016; Kılıc ve Bostan, 2016).

Tablo 4. Armut genotiplerinde meyve şekil indeksi, meyve eti sertliği, pH ve SÇKM değerleri

Table 4. Fruit shape index, fruit flesh firmness, pH and SSC values

Genotip <i>Genotype</i>	Meyve		pH <i>pH</i>	SÇKM Brix (%) SSC (%)
	Meyve Şekil İndeksi <i>Fruit Shape Index</i>	Eti Sertliği (N) <i>Fruit Flesh (N)</i>		
Klasik Akça	1.56a	59.25ab	4.72c	10.10b
Saman Akçası	1.49ab	54.09bc	4.99b	10.40b
Dikenli Akça	1.57a	54.00bc	5.16a	9.80b
Kokulu Akça	1.41b	66.10a	4.37d	8.95c
Deveci	0.94c	42.03d	4.01e	13.20a
Santa Maria	1.53a	47.01cd	2.51f	9.85b

*P* < 0,05

Benzer şekilde, genotiplerin meyve eti sertlikleri arasında da istatistiki olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 4). Genotipler arasında Kokulu Akça en yüksek meyve eti sertliğine sahip olurken (66.10), en düşük meyve eti sertliği (42.03) Deveci genotipinde belirlenmiştir. Elde edilen değerler literatürde bildirilen değerlerle uyumluluk göstermiştir. Örneğin yapılan bazı çalışmalarda meyve eti sertliğinin 4.91 ile 11.02 kg (Polat ve Bağbozan, 2106), ve 3.20 ile 11.48 kg (Öztürk ve Demirsoy, 2010) arasında değiştiği belirlenmiştir. Meyve eti sertliği genotiplerin doğrudan raf ömürlerini belirlediği gibi gerek yurtiçi gerekse yurtdışı pazarlama bakımından da önem arz etmektedir.

Araştırmamızda en yüksek pH değerini Dikenli Akça genotipi (5,16), en düşük pH değerini ise Santa Maria genotipi (2.51) göstermiştir (Tablo 4). Özellikle pH açısından genotipler arasında geniş varyasyonların olduğu görülmüştür. Benzer büyüklükteki varyasyonlar gerek yerli gerekse de yabancı armut genotipleri üzerinde yapılan çalışmalardan elde

edilmiştir. Örneğin, Ordu ilinde yapılan bir çalışmada incelenen çeşitlerin pH değerleri 3.25 ile 5.65 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Acar, 2007). Benzer şekilde Isparta'da yapılan çalışmada da armut genotiplerinin pH değerlerinin 3.21 ile 5.41 (Acar, 2007), Trabzon'da 3.17 ile 4.88 (Bostan, 2007), ve Van'da 3.18 ile 4.99 (Orman, 2005) aralığında olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen genotiplerde SÇKM miktarı %8.95 (Kokulu Akça) ile %13.20 (Deveci) arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 4). Ege bölgesinde armut üzerine yapılan bir çalışmada SÇKM miktarının %6,0-17,0 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Ünal ve ark., 1997). İspir ilçesinde yapılan çalışmada çeşitlerin SÇKM değerinin %9.10 ile %13.80 arasında değiştiği belirlenmiştir (Karlıdağ ve Eşitken, 2006). Isparta'da yapılan çalışmada incelenen çeşitlerin SÇKM miktarı %11,00-16,33 arasında tespit edilmiştir (Polat ve Bağbozan, 2016). Araştırmamızda incelenen genotiplerin SÇKM miktarları literatürde bildirilen değerlerle uyumluluk göstermiştir.

Tablo 5. Armut genotiplerinde sap uzunluğu, sap kalınlığı ve sap çukuru eni değerleri

Table 5. Stem length, thickness and stem pit width values in the pear genotypes

Genotip <i>Genotype</i>	Sap Uzunluğu (mm) <i>Stem Length (mm)</i>	Sap Kalınlığı (mm) <i>Stem Thickness (mm)</i>	Sap Çukuru Eni (mm) <i>Stem Pit Width (mm)</i>
	Klasik Akça	4.95a	2.95d
Saman Akçası	3.92b	2.80d	3.65d
Dikenli Akça	3.77b	3.53b	6.52c
Kokulu Akça	4.23b	3.19c	6.10c
Deveci	2.46c	3.77b	8.81b
Santa Maria	2.32c	4.67a	13.09a

*P* < 0,05

Çalışmamızda incelenen genotipler arasında sap uzunluğu, sap kalınlığı ve sap çukuru eni açısından önemli farklılıklar elde edilmiştir (Tablo 5). Genotipler arasında sap uzunluğu değerleri 2.46 mm (Deveci) ile 4.95 mm (Klasik Akça) arasında, sap kalınlığı 2.80 mm (Saman Akçası) ile 4.67

mm (Santa Maria) ve sap çukuru eni de 3.65 mm (Saman Akçası) ile 13.09 mm (Santa Maria) arasında değişiklik göstermiştir. Gözlenen bu geniş varyasyon daha önce literatürde incelenen diğer armut genotipleri arasında da gözlemlenmiştir (Bayazıt ve ark., 2016).

Çalışmamızda ele alınan genotiplerde sap çukuru derinliği, çiçek çukuru eni ve çiçek çukuru derinliği açısından da istatistiksel olarak önemli varyasyonlar tespit edilmiştir (Tablo 6). En yüksek sap çukuru derinliği (4.65 mm), çiçek çukuru eni (13.94) ve çiçek çukuru derinliği (10.74 mm) değerleri Deveci genotipinde en düşük değerler (sırasıyla 1.03, 7.93 mm ve 2.90 mm) ise Saman Akçası genotipinde gözlemlenmiştir. Her üç kriter açısından da armut genotiplerinden elde edilen varyasyonlar daha önce yapılan diğer çalışmalarla da benzerlikler göstermiştir (Bayazıt ve ark., 2016; Polat ve Bağbozan, 2016).

Tablo 6. Armut genotiplerinde sap çukuru derinliği, çiçek çukuru eni ve çiçek çukuru derinliği değerleri

Table 6. Stem pit depth, flower pit width and depth values in the pear genotypes

Genotip <i>Genotype</i>	Sap Çukuru Derinliği (mm) <i>Stem Pit Depth (mm)</i>	Çiçek Çukuru Eni (mm) <i>Flower Pit Width (mm)</i>	Çiçek Çukuru Derinliği (mm) <i>Flower Pit Depth (mm)</i>
Klasik Akça	3.50b	10.49b	4.04bc
Saman Akçası	1.03d	7.93c	2.90d
Dikenli Akça	1.95c	10.25b	3.47cd
Kokulu Akça	1.96c	10.81b	4.41bc
Deveci	4.65a	13.94a	10.74a
Santa Maria	3.45b	8.35c	4.31b

$P < 0,05$

Genotiplerde çekirdek evi boyu 23.86 mm (Dikenli Akça) ile 34.73 mm (Santa Maria); çekirdek evi eni 11.59 mm (Saman Akçası) ile 26.98 mm (Deveci) değerleri arasında değişmiştir (Tablo 7). Hem çekirdek evi boyu hem de çekirdek evi eni değerleri genotipler arasında önemli farklılıklar göstermiştir. Her iki parametre açısından elde edilen varyasyonlar

literatürdeki bulgularla özdeşleşmektedir (Bayazıt ve ark., 2016).

Tablo 7. Armut genotiplerinde çekirdek evi boyu ve çekirdek evi eni değerleri

Table 7. Seed core length and width values in the pear genotypes

Genotip <i>Genotype</i>	Çekirdek Evi Boyu (mm) <i>Seed Core Length (mm)</i>	Çekirdek Evi Eni (mm) <i>Seed Core Width (mm)</i>
Klasik Akça	27.52b	12.18d
Saman Akçası	25.96bc	11.59d
Dikenli Akça	23.86d	12.89d
Kokulu Akça	25.05cd	18.41c
Deveci	25.31bc	26.98a
Santa Maria	34.73a	22.02b

$P < 0,05$

İncelenen armut genotipleri arasında çekirdek boyu, çekirdek eni ve çekirdek kalınlığı bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Genotiplerde çekirdek boyu 8.34 mm (Saman Akçası ve Santa Maria) ile 9.19 mm (Klasik Akça); çekirdek eni 2.80 mm (Santa Maria) ile 4.68 mm (Klasik Akça); çekirdek kalınlığı ise 1.10 mm (Santa Maria) ile 3.18 mm (Klasik Akça) arasında değişmiştir (Tablo 8). Elde edilen bulgular değişik ülkelerde armut genotipleri ile yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular ile uyumluluk göstermiştir (Elsishy et al., 2004; Sisko et al., 2009; Bayazıt ve ark., 2016).

Tablo 8. Armut genotiplerinde çekirdek boyu, çekirdek eni ve çekirdek kalınlığı değerleri

Table 8. Kernel length, width and thickness values in the pear genotypes

Genotip <i>Genotype</i>	Çekirdek Boyu (mm) <i>Kernel Length (mm)</i>	Çekirdek Eni (mm) <i>Kernel Width (mm)</i>	Çekirdek Kalınlığı (mm) <i>Kernel Thickness (mm)</i>
Klasik Akça	9.19a	4.68a	3.18a
Saman Akçası	8.34b	3.78b	2.24b
Dikenli Akça	-	-	-
Kokulu Akça	8.59b	4.24a	2.53ab
Deveci	-	-	-
Santa Maria	8.34b	2.80c	1.10c

$P < 0,05$

Genotiplerde belirlenen bu karakterler genelde çevre koşullarına bağlı olarak önemli değişiklikler gösterdiğinden dolayı genotiplerin moleküler seviyede karakterizasyonları da gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla RAPD metodu kullanılarak her bir genotipten izole edilen DNA'lar RAPD primerleri ile PCR'a tabii tutulmuştur. Çalışmada kullanılan 8 primerden net okunabilir toplam 76 bant elde edilmiştir.

Oluşan bantlardan 28 adedi monomorfik bulunurken (%36,8), 48 adedi de polimorfik bulunmuştur (%63,2) (Tablo 9).

Bant sayıları karşılaştırıldığında en yüksek sayıda bant OPA-08 (14 adet) primerlerinden elde edilirken, en düşük sayıda bant OPE-07 (5 adet), OPA-18 (6 adet) ve OPC-11 (6 adet) primerlerinden elde edilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışmada toplam 76 adet bant veren 8 primer ve bant sayıları

Table 9. The 8 primers producing 76 bands in the study and their band numbers

Primer <i>Primer</i>	Toplam Bant Sayısı (Adet) <i>Total Band Number</i>	Monomorfik Bant Sayısı (Adet) <i>Monomorphic Band Number</i>	Polimorfik Bant Sayısı (Adet) <i>Polymorphic Band Number</i>	Bant Aralıkları (pb) <i>Band Size Ranges (pb)</i>	Polimorfizm Oranları (%) <i>Polymorphism ratios (%)</i>
OPA-04	11	6	5	200-2400	45,4
OPA-08	14	3	11	250-3000	78,5
OPA-09	10	4	6	400-2100	60,0
OPA-18	6	3	3	400-2000	50,0
OPA-20	12	3	9	120-2400	75,0
OPC-02	12	3	9	130-2250	75,0
OPC-11	6	3	3	400-2700	50,0
OPE-07	5	3	2	400-2600	40,0
Toplam/Total	76	28	48	120-3000	63,2

Moleküler akrabalık derecesinin belirlenmesinde Jaccard katsayısı kullanılarak elde edilmiş matris Tablo 10'da, Jaccard matrisi kullanılarak UPGMA ile elde edilmiş dendrogram Şekil 9'da verilmiştir.

Genotipler arasındaki en yakın benzerlik 0,922 Jaccard katsayısı ile Klasik Akça ve Kokulu Akça arasında belirlenirken, bunu sırasıyla Dikenli Akça ile Saman Akçası (0,806) ve Klasik Akça ile Deveci armudu (0,737) arasındaki benzerlikler takip etmiştir (Tablo 10).

Genotipler arasındaki en az benzerlik 0,431 Jaccard katsayısına sahip Kokulu Akça ile Santa Maria arasında belirlenirken, bunu 0,443 Jaccard katsayısına sahip Klasik Akça ile Santa Maria ve 0,529 Jaccard katsayısına sahip Santa Maria ile Deveci armudu arasındaki benzerlikler izlemiştir (Tablo 10).

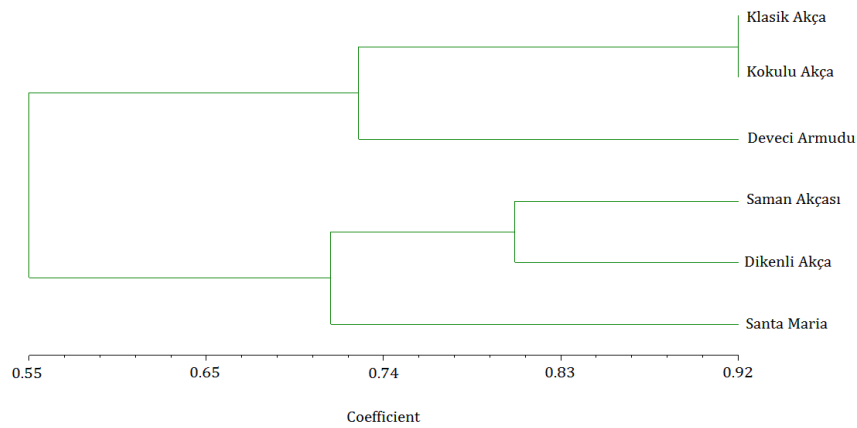
Genotipler içerisinde diğer genotiplere benzerliği ortalama olarak en yüksek genotip 0,721 Jaccard katsayı değeriyle Saman Akçası olarak tespit edilmiştir. Bu genotipi

0,714 Jaccard katsayısı ile Klasik Akça ve Dikenli Akça takip etmiştir (Tablo 10).

Genotipler içerisinde diğer genotiplere benzerliği ortalama olarak en düşük olan genotip 0,637 Jaccard katsayısı değeriyle Santa Maria olarak belirlenirken, bunu 0,702 Jaccard katsayısıyla Kokulu Akça ve 0,704 Jaccard katsayısıyla Deveci armudu takip etmiştir.

Araştırmada kullanılan 6 armut genotipinin benzerlik dendrogramı incelendiğinde (Şekil 7) genotiplerin 2 ana grup oluşturduğu gözlemlenmiştir. Birinci ana grup 2 alt gruba ayrılmıştır. Bu alt grupların birinde Klasik Akça ve Kokulu Akça armutları birlikte bulunurken; diğerinde Deveci armudunun tek başına bulunduğu gözlemlenmektedir. Diğer ana grup incelendiğinde ise yine 2 alt grubun bulunduğu ve bu alt grupların birinde Saman Akçası ve Dikenli Akça armutları birlikte bulunurken; diğer alt grupta Santa Maria armudunun tek başına bulunduğu gözlemlenmektedir.





Şekil 7. Armut genotiplerine ait UPGMA'dan elde edilen benzerlik dendrogramı  
Figure 7. Clustering of pear genotypes with UPGMA method

Araştırmada yer alan tüm armut genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları Tablo 10'da verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, armut genotipleri arasındaki genetik benzerlik indekslerinin 0,431 ile 0,922 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerlik (0,922) Kokulu Akça ile Klasik Akça arasında en az benzerlik ise Santa Maria ile Kokulu Akça arasında gözlenmiştir. Bu yüzden bu genotipler ıslah çalışmaları için önemli genetik kaynak olarak muhafaza edilebilir.

Daha önce RAPD (Erdogan ve ark., 2007; Kalkışım ve ark., 2016; Saba et al., 2017), SSR (Wolko, 2010; Erfani et al., 2012; Song et al., 2014; Queiroz et al., 2015; Rana et al., 2015) ve AFLP (Bao et al., 2008; Sisko et al., 2009) kullanılarak yapılan çalışmalar farklı armut genotipleri arasında büyük genetik varyasyonların bulunduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar da armut genotipleri arasında önemli varyasyonların mevcut olduğunu ispatlamıştır. İncelenen genotipler arasında morfolojik karakterler açısından da önemli varyasyonlar tespit edilmiştir. Fakat genetik olarak birbirlerine benzerliği çok yüksek olan Kokulu Akça ile Klasik Akça genotipleri meyve ağırlığı, SÇKM, pH, meyve şekil indeksi, sap çukuru derinliği, sap uzunluğu, sap kalınlığı, çekirdek boyu, çekirdek evi eni ve çekirdek evi boyu gibi karakterler açısından önemli farklılıklar göstermişlerdir. Bu gibi karakterler de çevre şartlarından önemli ölçüde etkilenmektedir

(Bayazıt ve ark., 2016). Bu açıdan armut genotiplerinin hem moleküler yöntemlerle hem de morfolojik yöntemlerle karakterizasyonu önemlidir. Bunun yanı sıra bazı karakterler açısından aralarında farklılık gözlenmeyen Klasik Akça, Kokulu Akça ve Saman Akça genotipleri arasında önemli genetik farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu yüzden armut genotiplerinin moleküler karakterizasyonu için RAPD metodunun faydalı olabileceği söylenebilir. Yapılan daha önceki çalışmalarda da, RAPD tekniğinin tür ve çeşitlerin tanımlanmasında etkili sonuçlar verdiği saptanmıştır (Erdogan ve ark., 2007; Kalkışım ve ark., 2016; Saba et al., 2017).

Tablo 10. Araştırmada kullanılan 6 armut genotipinden elde edilen benzerlik matrisi. 1. Klasik Akça, 2. Saman Akça, 3. Deveci, 4. Dikenli, Akça, 5. Kokulu Akça, 6. Santa Maria

Table 10. Similarity matrix obtained from 6 pear genotypes used in the study. 1. Classical Akca 2. Chaff Akca 3. Deveci 4. Dikenli Akca 5. Kokulu Akca 6. Santa Maria

Genotip Genotype	1	2	3	4	5	6
1	1,000					
2	0,600	1,000				
3	0,737	0,643	1,000			
4	0,583	0,806	0,603	1,000		
5	0,922	0,583	0,712	0,568	1,000	
6	0,443	0,696	0,529	0,725	0,431	1,000
Ort	0,714	0,721	0,704	0,714	0,702	0,637

## Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada ülkemizin önemli armut genotiplerinden olan Klasik Akça, Saman Akçası, Deveci, Dikenli Akça, Kokulu Akça ve Santa Maria armut genotiplerinin karakterizasyonu hem uluslararası UPOV kriterleri ile morfolojik olarak, hem de RAPD markörleri ile DNA boyutunda yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar RAPD tekniğinin armut genotiplerini birbirinden ayırma ve mevcut genetik çeşitliliğinin saptanmasında kullanılabileceğini göstermektedir. Morfolojik olarak benzer özellikler gösteren armut genotipleri için oluşturulan dendogram ve benzerlik indeksleri sonucunda, karakterizasyonu yapılan genotipler arasında önemli derecede genetik varyasyon olduğu ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçların bundan sonra yapılacak olan ıslah ve genetik haritalama çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

4013-YL1-14 No'lu Proje ile çalışmamı maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Acar, S., 2007. Ünye ve Çevresinde Yetiştirilen Mahalli Elma ve Armut Çeşitlerinin Morfolojik ve Pomolojik Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 117s.
- Bao, L., Chen, K., Zhang, D., Li, X., Teng, Y., 2008. An Assessment of Genetic Variability And Relationships Within Asian Pears Based On AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Markers. *Scientia Horticulturae*, 116, 374-380.
- Bardakçı, F., 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turkish Journal of Biology*, 25, 185-196s.

- Bayazıt, S., Caliskan, O., Sümbül, A., 2016. Morpho-pomological Diversity of Turkish Pear (*Pyrus communis* L.) Accessions in Eastern Mediteranean Region of Turkey. *Acta Scientia Polonium Hortorum Cultus*, 15(5), 157-171.
- Bostan. S. Z., 2007. Pomological Traits of Local Apple and Pear Cultivars and Types Grown in Trabzon Province (Eastern Black Sea Region of Turkey). *Proceedings of the First Balkan Symposium on Fruit Growing*. 2007. Bulgaria. 293-298 s.
- Carlson, J.E., Tulsieram, L.K., Glaubitz, J.C., Luk V.W.K., Kauffeldt, C., Rutledge, R., 1991. Segregation of Random Amplified DNA Markers in F1 Progeny of Conifers. *Theoretical and Applied Genetics*, 83, 194-200p.
- Doyle, JJ, Doyle JL., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Edizer. Y., ve Güneş. M., 1997. Tokat yöresinde yetiştirilen yerel elma ve armut çeşitlerinin bazı pomolojik özellikleri üzerinde bir araştırma. *Yumuşak çekirdekli meyveler sempozyumu*. s:53-60.
- Elsishy, O.M., Sharaf, A.N., Muzher, B.M., 2004. Morphological, anatomical and biochemical characterization of Syrian pear (*Pyrus syriaca* Boiss) genotypes. *Arabian Journal of Biotechnology*, 7(2), 209-218.
- Erdogan, V., Aygün, A., San, B., Koltarla, A., Günes, N., Dumanoglu, H., 2007. Ankara armudu (*Pyrus communis* L.) klonlarının RAPD tekniği ile moleküler analizi. *V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Cilt 1: Meyvecilik, Türkiye, 04-07 Eylül 2007.*, pp 56-59.
- Erfani, J., Ebadi, A., Abdollahi, H., Fatahi, R., 2012. Genetic diversity of some pear cultivars and genotypes using simple sequence repeat (SSR) markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30, 1065-1072.
- FAO statistics database on the World Wide Web. <http://faostat3.fao.org>. Erişim tarihi: 24.04.2016.

- Kalkışım, O., Okcu, M., Okcu, Z., Karabulut, B., Yildirim, N., Agar, G., 2016. Relationships Among some Pears Genotypes (*Pyrus Communis* L.) Based on ISSR and RAPD Analysis. *Erwerbs-Obstbau*, 58, 259–264.
- Karlıdağ, H., Eşitken, A., 2006. Yukarı Çoruh Vadisinde Yetiştirilen Elma ve Armut Çeşitlerinin Bazı Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 16(2), 93-96.
- Kılıç, D., Bostan, S.Z., 2016. Gürgentepe (Ordu, Türkiye) İlçesinde Yetiştirilen Yerel Armut Çeşitlerinin Meyve ve Ağaç Özellikleri. *Electronic Journal of Vocational Colleges*, December/Aralık 2016, 21-32.
- Olgun, A., Topal, A., 1999. DNA'nın Analizi. "Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler". Temizkan, G., Arda, N., (Ed.). İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEEM), 1(3), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Orman, E., 2005. Bahçesaray Yöresi Yerel Armutlarının Pomolojik Ve Morfolojik İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Van, 83 S.
- Özbek, S. A. 1947. Türkiye'de armut yetiştiriciliği ve önemli armut çeşitlerimiz. *Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi*, s. 95, Ankara, Türkiye.
- Öztürk, A., Demirsoy, L., 2010. Sinop İlindeki Armut Genotiplerinin Morfolojik, Pomolojik Ve Moleküler Karakterizasyonu Üzerine Bir Çalışma. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi*. Samsun. 200s.
- Polat, M., Bağbozan, R., 2016. Eğirdir (Isparta) ekolojisinde yetiştirilen erkenci yerli armut (*Pyrus communis* L.) tiplerinin bazı meyve özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* DOI: 10.19113/sdufbed.36032
- Queiroz, A., Assunção, A., Ramadas, I., Viegas, W., Veloso, M.M., 2015. Molecular characterization of Portuguese pear landraces (*Pyrus communis* L.) using SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 183, 72–76.
- Rana, J.C., Chahota, R.K., Sharma, V., Rana, M., Verma, N., Verma, B., Sharma, T.R., 2015. Genetic diversity and structure of *Pyrus accessions* of Indian Himalayan region based on morphological and SSR markers. *Tree Genetics and Genome*, 11(821), 2–14.
- Roy, A., Frascaria, N., MacKay, J., Bousquet, J., 1992. Segregating Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPD) in *Betula alleghaniensis*. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, 173-180p.
- Saba, M.K., Arzani, K., Rasouli, M., 2017. Genetic Relationship of Iranian Pear Genotypes with European and Asian Pears as Revealed by Random Amplified Polymorphic DNA Markers. *International Journal of Fruit Science*, 17(1), 82-92.
- SAS (1997). *SAS/STAT Guide for Personal Computers*, Version 6. SAS Institute, Cary, NC.
- Sisko, M., Javornik, B., Siftar, A., Ivancic, A., 2009. Genetic relationships among Slovenian pears assessed by molecular markers. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 134(1), 97–108.
- Song, Y., Fan, L., Chen, H., Zhang, M., Ma, Q., Zhang, S., Wu, J., 2014. Identifying genetic diversity and a preliminary core collection of *Pyrus pyrifolia* cultivars by a genome-wide set of SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(5), 959–971.
- Ünal, A., Saygılı, H., Hepaksoy, S., Can, H.Z., Türküsay, H., 1997. Ege Bölgesinde Armut Yetiştiriciliği Ve Seçilen Bazı Armut Çeşitlerinin Pomolojik Özellikleri. *Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyumu (Yalova)*: 29-35.
- Velioglu, E., İçgen, Y., Çengel, B., Öztürk, H., Kaya, Z., 2002. Moleküler Belirteçler Yardımıyla Kızılcam

- (*Pinus brutia* Ten.) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması, Ankara.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531-6535.
- Wolko, L., Wolko, L., Wolko, L., 2010. Genetic diversity of European pear cultivars (*Pyrus communis* L.) and wild pear (*Pyrus pyraster* L. Burgsd.) inferred from microsatellite markers analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57, 801–806.
- Yakut, G., Özrenk, K., 2009. Erzincan Yöresinde Yetiştirilen Çermil Mahalli Armut Çeşidinin Seleksiyonu. *YYÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 14 (2),145-153.