



## **AVOKADO (*Persea americana* Mill.) GENOTİPLERİNİN SSR MARKÖRLERİ İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Müge Özeren<sup>1</sup>, Yaşar Karakurt<sup>1\*</sup>, Damla Güvercin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta, Türkiye

\*sorumlu yazar: [yasarkarakurt@sdu.edu.tr](mailto:yasarkarakurt@sdu.edu.tr)

### **Yayın Bilgisi**

Geliş Tarihi: 05/02/2019

Revizyon Tarihi: 08/05/2019

Kabul Tarihi: 08/05/2019

### **Anahtar Kelimeler**

Avokado, genotipler, moleküler karakterizasyon, SSR

### **Keywords**

Avocado, genotypes, molecular characterization, SSR.

### **Özet**

Bu çalışmada moleküler markörlerden SSR tekniği kullanılarak avokado genotipleri arasındaki farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır. Avokadonun *Lauraceae* familyasına ait *Persea* cinsi içerisinde yer aldığı bilinmektedir. Çalışma kapsamında Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen Antalya ilinin dahil olduğu Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden 5 ve Japonya'dan getirtilen 7 çeşit avokado moleküler analizler için kullanılmıştır. Bu amaçla 13 SSR markörleri ile yapılan analizler sonucunda avokado çeşitleri arasında iki ana grup ortaya çıkmış ve % 60 oranında benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan çeşitlerden JP4 ile JP6 ve JP5 ile JP7 arasında yakın korelasyon olduğu gözlemlenmiştir. Zutano ve Hass çeşitlerini birbirlerinden ayırt edecek polimorfizmler üretilmemiş ve bu iki çeşit bir arada gruplanmıştır. JP1, JP2, JP3 ve Bacon çeşitleri tek başına bir alt grup oluşturmuştur. Toplam allel sayısının 152, spesifik allel sayısının 53 adet olduğu ve bant büyüklüğünün ise 179 ile 283 bp arasında değiştiği belirlenmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PBI) 0,03 ile 0,85 arasında değişim göstermiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular, yapılacak ıslah çalışmalarında ebeveyn seçiminde bir basamak oluşturabileceği gibi, avokado genotiplerinin yayılma alanlarının belirlenmesinde, genetik koleksiyonların karşılaştırılmasında ve avokado genotiplerinin karakterizasyonunda kullanılabilir.

### **Molecular Characterization of Avocado (*Persea americana* Mill.) Genotypes Using SSR Markers**

#### **Abstract**

The aim of the study was to determine the differences among avocado cultivars using SSR markers. Avocado is classified within the *Persea* genus in the *Lauraceae* family. In this study, five avocado cultivars grown in the Mediterranean Region obtained from the Western Mediterranean Agricultural Research Institute, in Antalya, Turkey and seven cultivars obtained from Japan have been used for the molecular analysis. As a result of molecular analyses with 13 SSR markers, two main groups were obtained among avocado cultivars and both groups demonstrated 60 % similarity. In the study, a close correlation was observed both between JP4 and JP6, and JP5 and JP7. Polymorphisms that could separate Zutano and Hass varieties were not obtained and these two cultivars were grouped together. JP1, JP2, JP3, and Bacon varieties formed a single sub-group. The total number of alleles and specific allele numbers were determined as 152 and 53 respectively. The band sizes ranged from 179 to 283 bp. Polymorphic Information Content (PIC) changed between 0.03 and 0.85. The results will be useful in the characterization of the avocado genotypes and comparison of the genetic collections, in the determination of the distribution areas of avocado genotypes and in the avocado breeding programs for choosing parents.

## 1. GİRİŞ

Avokado (*Persea americana* Mill.), Orta Amerika'ya ve Meksika'ya özgü, 24 kromozumlu (n = 12) daima yeşil bir subtropik meyve ağacıdır. Avokado (*Persea americana* Mill.)'nın anavatanı Orta Amerika ülkeleri, Güney Amerika'nın kuzey sahilleri ve Batı Hint Adalarıdır ve günümüzde birçok ülkede yetiştirilmektedir (Bower ve Cutting, 1988). Dünya'da 2017 yılı toplam avokado üretim alanı 587.278 hektar ve toplam üretim miktarı ise 5.924.398 ton olarak kaydedilmiştir. Üretimde ilk sırayı; Meksika, Endonezya, Dominik Cumhuriyeti, A.B.D., Kolombiya, Peru, Brezilya, Şili, Kenya ve Çin gibi ülkeler almaktadır (FAOSTAT, 2017). Türkiye'nin avokado üretimi 2005 yılında 475 ton iken, 2017 yılında 2765 ton olup, en fazla üretimin Antalya ve Mersin illerinde gerçekleştirildiği belirlenmiştir (TÜİK, 2017). Ülkemiz avokado üretim değerleri incelendiğinde üretim miktarında 2000 yılından günümüze kadar yaklaşık 10 katlık bir artış görülmüştür (TÜİK, 2017).

Ülkemizde avokadonun ticari yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması amacıyla; 1970'li yılların başında FAO aracılığıyla Kaliforniya'dan 4 çeşit ('Fuerte', 'Hass', 'Bacon' ve 'Zutano') getirilerek Antalya, Dalaman, Alata, Adana ve İskenderun ekolojik koşullarında denemeye alınmıştır. Antalya ve Alanya koşullarında 1969–1983 yılları arasında yapılan bir çalışmada; 'Fuerte', 'Hass', 'Bacon', ve 'Zutano' çeşitlerinin bölgeye adapte olabildikleri ve çeşide özgü karakterleri gösterdikleri belirtilerek, bu çeşitlerin ticari yetiştiriciliklerinin yapılabileceği sonucuna varılmıştır (Doğrular et al., 1983). Demirkol (1998), Akdeniz sahil kuşağındaki bazı alanların avokado yetiştiriciliği için oldukça uygun olduğunu bildirmiştir. Günümüzde de bu yerlerde önemli miktarda avokado üretimi gerçekleştirilmektedir.

Avokado meyvesi, antioksidan vitaminler olarak bilinen A, C ve E vitaminlerince oldukça zengindir. Bu vitaminler kandaki düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engellemek suretiyle kalp hastalıklarını azaltmada olumlu rol oynamaktadır. Ayrıca, meyve yüksek çözülebilir lif içeriğine sahiptir. Avokadonun gıda endüstrisinde tüketilmesinin yanında yağ içeriklerinden dolayı, kozmetik endüstrisinde de kullanılmaktadır (Bower ve Cutting, 1988; Acheampong ve ark., 2008).

Günümüzde moleküler markörler gerek meyve ve gerekse diğer türlerde genotipik tanımlama, sistematik ve karakterizasyon, genetik ve QTL (Quantitative Trait Loci) haritalaması, markör yardımıyla seleksiyon ve genetik kaynaklarının belirlenmesi ve korunması gibi konularda kullanılmaktadır (Andersen ve Lübberstedt, 2003; Vardar Kanlıtepe ve ark., 2010). Markör destekli seleksiyon (MAS) ile ıslah çalışmaları özel bir fenotipik karaktere indirilebilmekte, ıslah çalışmaları daha kısa sürede ve daha az işgücü ile tamamlanabilmekte ve

bunların yanı sıra gereksinim duyulan populasyon büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır (Gupta ve Rustgi, 2004).

Bu çalışmada 12 avokado genotipinin, 13 SSR (Simple Sequence Repeats) primeri ile genetik tanımlamaları yapılmıştır. Elde edilen genetik bulgular ile populasyon içi genetik benzerlikler, akrabalık dereceleri, populasyona ait DNA kimlik bilgileri (allel verileri) tespit edilmiştir.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma 2018 yılında Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın materyalini Akdeniz bölgesindeki Antalya ilinden seçilen 5 çeşit (Hass, Bacon, Fuerte, Zutano ve Ettinger) ve Japonya'dan getirilen 7 çeşit (JP1, JP2, JP3, JP4, JP5, JP6 ve JP7) oluşturmuştur. DNA izolasyonu için genç avokado yaprakları laboratuara getirildikten sonra DNA izolasyonuna kadar -80°C de muhafaza edilmiştir.

Avokado DNA'sı 50-60 mg yaprak materyalinden, CTAB ekstraksiyon protokolü kullanılarak izole edilmiştir (Weising ve ark., 1991). Bu amaçla, sıvı azot içinde parçalanmış yaprak örneklerinin üzerine 500 µl DNA izolasyon tampon çözeltisi (1M Tris-HCl pH 8.0, 0.5 M EDTA, 5 M NaCl, 20 g CTAB), 0.8 g PVP, ve 100 µl β-mercaptoethanol ilave edilerek bir müddet daha tampon çözeltisi içinde ezildikten sonra eppendorf tüplerine alınmıştır. Homojenize örnekler 55 °C su banyosu içerisinde 1 saat inkübe edildikten sonra, 500 µl kloroform eklenip tüpler karıştırıldıktan sonra 16000 rcf 'de 7 dakika santrifüj edilerek, süpernatant yeni eppendorf tüplerine aktarılmıştır.

Süpernatant üzerine 0.08 hacminde soğuk 7.5 M amonyum asetat ve 0.54 hacminde soğuk izopropanol ilave edilerek karıştırılmış ve 30-40 dakikalık süreyle buz üstünde bekletilmiştir. Çözelti 16000 rcf 'de 3 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, pellet üzerine 700 µl % 70'lik soğuk etanol ilave edilerek karıştırılmış ve 16000 rcf 'de 1 dakika santrifüj edilerek sıvı kısmı uzaklaştırılmıştır. Pellet 15 dakika kurutulduktan sonra üzerine 50 µl TE tampon çözeltisi (1 M Tris-HCl pH 8.0, 0.5 M EDTA) eklenerek DNA oda sıcaklığında çözülmüştür. DNA kalitesi ve konsantrasyonu her örneğin %1,2'lik agaroz jel elektroforezinde koşturulan standart λ-DNA'larla mukayese edilmesi suretiyle ve de spektrofotometre de 260 ile 280 nm dalga boylarında okunmayla kontrol edilmiştir. Çalışmada daha önceden gerçekleştirilen birçok araştırma kapsamında kullanılan ve başarılı sonuçlar alınan SSR primerlerinden 13 primer çifti moleküler karakterizasyon için kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Avokado genotipleri için kullanılan primer çiftleri

SSR	Forward (İleri)	Reverse (Geri)
UDO99-008	AAA AAC ACA ACC CGT GCA AT	AAA TTC CTC CAA GCC GAT CT
DCA4	TTAACTTTGTGCTTCTCCA	CC AGTGACAAAAGCAAAG
GAPU59	CCCTGCTTTGGTCTTGCTAA	CAAAGGTGCACTTTCTCTCG
GAPU103	TGAATTTAACTTTAAACCCACACA	GCATCGCTCGATTTTATCC
GAPU47	GATCAGCTTAGTCTCATATTCTCTCTC	CCTCGACTGATTACACACCA
Ch05e03	CGAATATTTTCACTCTGACTGGG	CAAGTTGTTGACTGCTCCGAC
GD147	TCCCGCCATTTCTCTGC	AAACCGCTGCTGCTGAAC
GD15	CGAAAGTGAGCAACGAACCTCC	ACTCCATCATCGGGTGGTG
RİM019	ATTC AAGAGCTTAACTGTGGGC	CAATATGCCATCCACAGAGAAA
RİM036	AGCAACCACCTCAACTAAT	CTAGCAGAATCACCTGAGGCTT
AVD 001	GTTTCCAAGCGACTCACGAG	GATTCCATGCTGAATTGCCG
AVD 006	GGGAGAGATGTATTGAGCA	ACTTGGTCGTAGATTGTAAT
AVD 013	TTGCCAGTGAACCTCAAAA	ACCCAACCAAAGATTTCAAT

#### UDO99-008, DCA4 Primer Çiftleri İçin PCR Reaksiyonu:

PCR reaksiyonu toplam hacim 50 µl olacak şekilde aşağıdaki bileşenlerden meydana gelmiştir. Reaksiyon koşulu 3 µl DNA, 1 µl dNTPs, 4 µl MgCl<sub>2</sub>, 1 µl Taq DNA polimeraz, 2 µl her bir primer, 5 µl 1X PCR tampon çözeltisi (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH: 8.3, 1.1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% gelatin) ve son konsantrasyon ddH<sub>2</sub>O ile tamamlanarak oluşturulmuştur. PCR protokolü, 95°C'de 3dk, ardından 35 döngü olacak şekilde, 95°C'de 60 sn, 52°C'de 60 sn, 72°C'de 60 sn ve son olarak 72°C'de 10 dk şeklinde yapılmıştır. PCR işleminden sonra PCR ürünleri % 2,2'lik agaroz jel içerisinde 90 volt elektrik akımı altında 1 saat 15 dakika süreyle yürütülmüştür (Dirlewanger ve ark., 2002; Fathi ve ark., 2008).

#### GAPU59, GAPU103, GAPU47, Ch05e03, GD147, GD15, RİM019, RİM036, AVD 001, AVD 006, AVD 013 Primer Çiftleri İçin PCR Reaksiyonu:

PCR reaksiyonu toplam hacim 20 µl olacak şekilde aşağıdaki bileşenlerden meydana gelmiştir. Reaksiyon koşulu 1,2 µl DNA, 1 µl dNTPs, 1,2 µl MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µl Taq DNA polimeraz, 0,8 µl her bir primer, 2 µl 1X PCR tampon çözeltisi (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH: 8.3, 1.1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% gelatin) ve son konsantrasyon ddH<sub>2</sub>O ile tamamlanarak oluşturulmuştur. PCR protokolü, 95°C'de 3dk, ardından 35 döngü olacak şekilde, 95 °C'de 60 sn, 52 °C'de 60 sn, 72 °C'de 60 sn ve son olarak 72 °C'de 10 dk şeklinde yapılmıştır. PCR işleminden sonra PCR ürünleri % 2,2'lik agaroz jel içerisinde 90 volt elektrik akımı altında 1 saat 15 dakika süreyle yürütülmüştür (Dirlewanger ve ark., 2002; Fathi ve ark., 2008).

#### Moleküler Verilere Ait Analizler

Araştırmada kullanılan genotiplere ait genetik analizler kapsamında, genetik parametrelerden her lokusa ait allel sayısı (n), allel frekansı, beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho) oranı, sessiz (null) allel frekansı (r) ve tespit olasılığı (PI) IDENTITY 1.0 (Wagner ve Sefc, 1999) yazılım programı ile, benzerlik oranı indeksi ise Microsat (Minch ve ark., 1995) programı kullanılarak tespit edilmiştir. Genotiplere ait dendrogram NTSYS (versiyon

2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) yazılım programıyla UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılarak oluşturulmuş ve görüntülenmiştir.

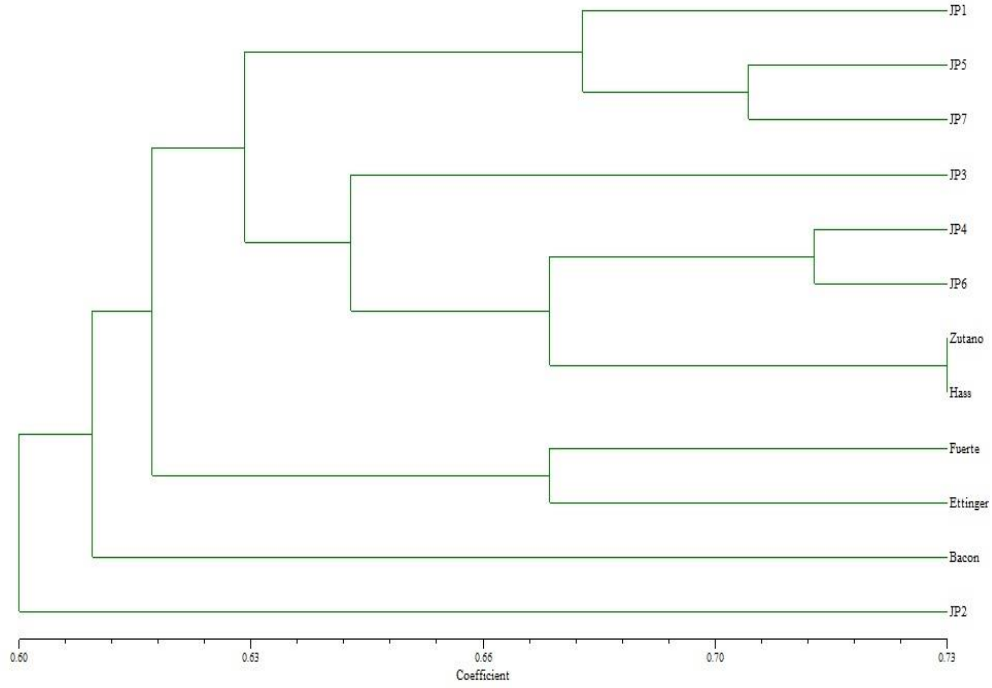
### 3. BULGULAR

Avokadoda 13 SSR primer çifti kullanılarak genotipler arasındaki genetik farklılıklar belirlenmiştir. SSR analizi sonucunda toplam allel sayısının 152 ve spesifik allel sayısının 53 olduğu ve bant büyüklüğünün ise ortalama 179-283 bp arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 2). Locus başına allel sayısı 3-16 arasında değişirken, ortalama 11 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, çoğu primer çifti için beklenen heterozigotluk (He) gözlenen heterozigotluk (Ho) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En fazla allel sayısı GD147 (16 adet), RİM036 (16 adet) ve AVD 006 (16 adet) primerleri ile elde edilirken, en yüksek gözlenen (0,862) ve beklenen heterozigotluk değeri (0,864) sırasıyla GD147 ve RİM019 primerlerinde gözlenmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PBI) 0,03 ve 0,85 arasında değişim göstermiştir. En düşük PBI değeri (0,03) GD15 primer çiftinde, en yüksek (0,85) ise UDO99-008 primer çiftinden elde edilmiştir. En düşük tespit olasılığı (0,07) AVD 001 primer çiftinden elde edilirken, en yüksek tespit olasılığı (0,948) GD15 primer çiftinde belirlenmiştir.

Dice benzerlik değeri kullanılarak çeşit ve genotiplerin birbirleri ile olan ilişkilerini açığa çıkarmak için gruplandırma analizi UPGMA metodu kullanılarak NTSYS-pc programı ile yapılmıştır (Şekil 1). Elde edilen gruplandırmanın coefficient değerleri 0.519-0.731 arasında değişmiştir. Avokado genotipleri arasında yapılan gruplandırma analizinde iki ana grup ortaya çıkmıştır. İlk ana grup kendi içinde 2 alt gruptan meydana gelmiştir. İlk grupta JP1, JP5 ve JP7 bulunurken, ikinci grupta JP3, JP4, JP6, Zutano ve Hass çeşitleri yer almıştır. İkinci ana grup 3 alt gruba ayrılmıştır. İlk alt grupta Fuerte ve Ettinger, ikinci alt grupta Bacon, üçüncü alt grupta da JP2 yer almıştır. Zutano ve Hass çeşitlerini birbirlerinden ayırt edecek polimorfizimler üretilememiş ve bu iki çeşit bir arada gruplanmıştır. JP1, JP2, JP3 ve Bacon çeşitleri tek başına bir alt grup oluşturmuştur.

**Çizelge 2.** Avokadoda SSR primer kombinasyonlarından elde edilen allel sayısı (AS), spesifik allel sayısı (SAS), bant büyüklüğü (BB), gözlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk durumu, tespit olasılığı (TO) ve polimorfik bilgi içeriği (PBi) değerleri

Primer	AS	SAS	BB (bp)	Ho	He	TO	PBi
UDO99-008	12	5	224-421	0,666	0,712	0,09	0,85
DCA4	10	3	151-392	0,73	0,82	0,34	0,611
GAPU59	7	2	211-303	0,65	0,77	0,814	0,72
GAPU103	11	4	146-315	0,714	0,802	0,271	0,652
GAPU47	9	3	136-244	0,58	0,61	0,33	0,562
Ch05e03	13	5	150-203	0,736	0,712	0,08	0,81
GD147	16	4	116-161	0,862	0,832	0,071	0,80
GD15	3	1	139-153	0,018	0,022	0,948	0,03
RİM019	15	4	159-226	0,530	0,864	0,221	0,448
RİM036	16	6	211-352	0,630	0,851	0,159	0,418
AVD 001	16	7	203-280	0,65	0,85	0,07	0,79
AVD 006	14	6	295-362	0,67	0,84	0,08	0,84
AVD 013	10	3	186-264	0,64	0,66	0,31	0,513
Toplam	152	53					
Ortalama	11,6	4,07	179-283	0,62	0,71	0,29	0,61



**Şekil 1.** SSR primer çiftleri ile avokado çeşitlerinin UPGMA metodu ile gruplandırılması

Ayrıca, çalışmada JP4 ile JP6 ve JP5 ile JP7 çeşitleri arasında yüksek derecede benzerlik olduğu gözlemlenmiştir.

Avokadoda genotipler için benzerlik matrisi Dice coefficient metodu kullanılarak NTSYS-pc programı yardımıyla hesaplanmıştır. Tüm genotipler kullanılarak hesaplanan Dice coefficient değerleri Çizelge 3’de verilmiştir. Bulunan benzerlik katsayıları 0.519-0.731 arasında değişim göstermiştir. Elde edilen en düşük değerler Hass ile Fuerte arasında 0.519 ve Bacon ile JP6

arasında 0.538 olarak belirlenmiştir. Hass ve Zutano arasındaki benzerlik katsayısı (0.731) en yüksek benzerlik değeri olarak tespit edilmiştir. Zutano ile JP4 arasındaki benzerlik katsayısı 0.721 ve JP6 ile JP4 arasında 0.712 olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 3.** Avokado genotipleri arasında Dice coefficient metoduna göre hesaplanan benzerlik değerleri

	JP1	JP2	JP3	JP4	JP5	JP6	JP7	Zutano	Fuerte	Hass	Ettinger	Bacon
JP1	1.000											
JP2	0.654	1.000										
JP3	0.615	0.558	1.000									
JP4	0.548	0.606	0.683	1.000								
JP5	0.692	0.596	0.654	0.625	1.000							
JP6	0.606	0.606	0.625	0.712	0.548	1.000						
JP7	0.663	0.606	0.644	0.692	0.702	0.615	1.000					
Zutano	0.596	0.596	0.673	0.721	0.654	0.644	0.702	1.000				
Fuerte	0.635	0.558	0.615	0.587	0.577	0.663	0.606	0.596	1.000			
Hass	0.615	0.635	0.596	0.663	0.615	0.663	0.702	0.731	0.519	1.000		
Ettinger	0.577	0.577	0.615	0.683	0.615	0.606	0.683	0.692	0.673	0.577	1.000	
Bacon	0.567	0.567	0.625	0.635	0.587	0.538	0.615	0.663	0.587	0.644	0.606	1.000

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Genetik kaynaklar, canlıların gelişimini yönlendiren genleri içerir. Bu genlerin farklı kombinasyonları şimdiye kadar yapılmış ve gelecekte yapılacak bitki ve meyve ıslahı çalışmaları için son derece önemli olan genetik çeşitliliğinin kaynağını oluşturmaktadır. Sistematikçiler bitkilerde daha doğru bir sistematik oluşturmak amacıyla moleküler belirteçleri kullanmaktadırlar. Bu yolla gerçek türler, cinsler ve familyalar arası genetik farklılıkların düzeyi daha etkin olarak belirlenmektedir (Çalışkan, 2005). Son yıllarda PCR'a dayalı yeni markör sistemlerinin geliştirilmesi pek çok bitki türünde olduğu gibi avokado meyvesinde de yapılan moleküler ıslah çalışmalarında stratejik rol oynamaktadır.

Farklı meyve türleri üzerinde daha önce yapılan moleküler çalışmalarda RAPD, AFLP, SRAP, ISSR ve SSR (mikrosatellitler) markörlerinin türlere ait çeşit ve genotipleri birbirlerinden ayırmada ve genetik çeşitliliği belirlemede yüksek tekrarlanabilirlik ve multipleks oranı nedeniyle başarılı bir şekilde kullanıldığı tespit edilmiştir (Ercişli, 2007; Kafkas, 2008; Yılmaz, 2010; Gulen, 2010; Pınar, 2013). Meyve türlerinde genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde mikrosatellitler (SSR markörleri) özel bir yere ve öneme sahiptir. Her tür için geliştirilen mikrosatellitler tür içi genetik çeşitlilik ve akrabalığı daha objektif bir şekilde tespit edebilmektedir. Ayrıca bir tür için geliştirilen mikrosatellitler yakın akraba türler için de transfer edilebilir veya kullanılabilir özelliktedir (Mnejja, 2005). Yapılan bu çalışmada da daha önce değişik çeşitlerde başarılı sonuçlar veren 13 adet SSR primeri kullanılarak avokado genotiplerinin moleküler karakterizasyonu yapılmış ve 12 avokado genotipleri arasındaki genetik ilişki ortaya konulmuştur. Moleküler incelemeye alınan 12 avokado genotiplerinin birbirleri içerisinde benzerlikleri olmasıyla birlikte farklılıkları da ortaya çıkmıştır. Çalışmada toplam allel sayısı 152, spesifik allel sayısı 53 adet ve bant büyüklüğü ise ortalama 179-283 bp arasında değiştiği belirlenmiştir. Lokus başına allel sayısı 3-16 arasında değişiklik göstermiş ve ortalama 11 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, çoğu primer çifti için beklenen heterozigotluğun (He) gözlenen heterozigotluktan (Ho) daha yüksek olduğu tespit

edilmiştir. Benzerlik dendrogramı incelendiğinde çalışmada kullanılan çeşitlerin en az % 60 oranında

benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Avokado çeşitleri arasında yapılan analizde iki ana grup ortaya çıkmıştır. İlk ana grup kendi içinde 2 alt gruptan meydana gelmiştir. Zutano ve Hass çeşitlerini birbirlerinden ayırt edecek polimorfizmler üretilememiş ve bu iki çeşit bir arada gruplanmıştır.

Yapılan diğer çalışmalarda da değişik sonuçlar elde edilmiştir. Alcaraz ve Hormaza (2007), SSR markörleri ile İspanya'da yetişen 75 avokado genotipi üzerinde yaptıkları çalışmada; çalışılan genotipler dendrogramda 3 ana gruba ayrılmıştır. Acheampong ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada 12 SSR primerinin polimorfik olduğunu ve 172 Ganalı popülasyonunda 53 allel ürettiğini belirlemişlerdir. Araştırmacıların kullandıkları popülasyon Batı Indian grubuna yakın bulunurken, Meksika ve Guatemala gruplarına uzak bulunmuştur. Popülasyon içindeki genetik çeşitlilik düşük bulunmuştur. Gross-German ve Viruel (2013)'in yapmış oldukları çalışmada kullanılan 40 SSR markörü ile (25 SSR ve 15 EST-SSR), 5'ten (LMAV.27, LMAV.34 ve ESTAVGA.01) 18'e (LMAV.07, LMAV.31) kadar değişen toplam 455 allel tespit edilmiştir. Gözlemlenen allellerin yüksek bir oranı, farklı alt popülasyonlar arasında tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre avokado genotiplerinin tanımlama ve sınıflandırmalarının yapılabilmesi için SSR markörlerinin kullanışlı olduğu sonucuna varılabilir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, avokado genotiplerinin yayılma alanlarının belirlenmesinde, genetik koleksiyonların karşılaştırılmasında, avokado genotiplerinin karakterizasyonunda ve gelecekte yapılacak ıslah programlarında ebeveyn seçiminde kullanılma potansiyeline sahip oldukları söylenebilir.

#### KAYNAKLAR

- Acheampong, A.K., Akromah, R., and Ofori, F.A., 2008. Genetic Characterization of Ghanaian Avocados Using Microsatellite Markers. *Journal of American Society for Horticultural Science* 133(6): 801-809.
- Andersen, J. R., and Lübberstedt, T., 2003. Functional markers in plants. *Trends in plant science* 8(11): 554-560.
- 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.
- Anonim, 2005. *Tarımsal Yapı-Üretim, Fiyat, Değer*. TÜİK.
- Anonim, 2007. *Agricultural Statistical Database*. Erişim Tarihi: 19.10.2017. <http://www.fao.org>.
- Anonymous, 2007. *FAO Production Yearbook*. <http://faostat.fao.org/site/408/DesktopDefault.aspx?PageID=408>.
- Bower, J. P., and J. G. Cutting. 1988. *Avocado Fruit Development and Ripening Physiology*. In: J. Janick (Editör) *Horticultural Reviews* 10: 229–271.
- Çalışkan, M., 2005. *RAPD Analizi İle Güllerde Genetik Tanımlama*. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 81s, Ankara.
- Demirkol, A., 1998. *Avocado Growing in Turkey*. *World Avocado Congress III*, 22–27 October 1995, Tel-Aviv, Israel, pp. 451–456.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M.J., Poizat, C., Zanetto, A., Arus, P., Laigret, F., 2002. *Development of Microsatellite Markers in Peach [Prunus persica (L.) Batsch] and Their Use In Genetic Diversity Analysis In Peach and Sweet Cherry (Prunus avium L.)*. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 127-138.
- Doğrular, H.A., Tuncay, M., ve Şengüler, A., 1983. *Antalya ve Alanya Koşullarında Avokado Çeşitlerinin Adaptasyonu. (Ara sonuç raporu)*, Yayınlanmamış, Turunçgiller Araştırma Enstitüsü, Antalya.
- Ercisli, S., Agar, G., Orhan, E., Yıldırım, N., Hizarci, Y., 2007. *Interspecific Variability of RAPD and Fatty Acid Composition of Some Pomegranate Cultivars (Punica granatum L.) Growing in Southern Anatolia Region in Turkey*. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(11): 764-769.
- FAOSTAT, 2017. *Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Erişim Tarihi: 21.10.2018. <http://faostat.fao.org/>.
- Fathi, A., Ghareyazi, B., Haghazari, A., Ghaffari, M. R., Pirseyedi, S. M., Kadkhodaei, S., Mardi, M., 2008. *Assessment of the genetic diversity of almond (Prunus dulcis) using microsatellite markers and morphological traits*. *Iranian Journal of Biotechnology* 6(2): 98-106.
- Gross-German, E., Viruel, M.A., 2013. *Molecular Characterization of Avocado Germplasm with a New set of SSR and EST-SSR Markers: Genetic Diversity, Population Structure, and Identification of Race-Specific Markers in a Group of Cultivated Genotypes*. *Spain* 9: 539-555.
- Gulen, H., Ipek, A., Ergin, S., Akcay, M.A., 2010. *Assessment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 85 (5): 427–431.
- Kafkas, S., Ozgen M., Dogan, Y., Ozcan, B., Ercisli, S., and Serce, S., 2008. *Molecular Characterization of Mulberry Accessions in Turkey by AFLP Markers*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 593–597.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D., Feldman, M., and Cavalli-Sforza, L. L. 1995. *Microsat (version 1.4 d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data*. WWW: <http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat/>.
- Mnejia, M., Garcia-Mas, J., Howard, W., and Arus, P., 2005. *Development and Transportability Across Prunus Species of 42 Polymorphic Almond Microsatellites*. *Molecular Ecology Notes*. Spain: 531–535.
- Pınar, H., Unlu M., Ercisli, S., Uzun, A., Bircan, M., Yılmaz, K.U., Agar, G., 2013. *Determination of genetic diversity among wild grown apricots from Sakit valley in Turkey using SRAP markers*. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86: 55-58.
- TÜİK, 2017. *Bitkisel Üretim İstatistikleri*. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. Erişim Tarihi: 18.10.2017
- Vardar-Kanlıtepe, Ç., Aras, S., Cansaran-Duman, D., 2010. *Bitki Islahında Moleküler Belirteçlerin Kullanımı ve Gen Aktarımı*. *Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 67:(1) 33-43.
- Wagner, H. W., & Sefc, K. M., 1999. *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna, 500.
- Weising, K., Beyermann, B., Ramser, J., and Kahl, G., 1991. *Plant DNA fingerprinting with radioactive and digoxigenated oligonucleotide probes complementary to simple repetitive DNA sequences*. *Electrophoresis* 12(2-3): 159-169.
- Yılmaz, K.U., Yanar, M., Ercisli, S., Sahiner, H., Taskin, T., and Zengin, Y., 2010. *Genetic Relationships Among Some Hawthorn (Crataegus spp.) Species and Genotypes*. *Biochemical Genetics* 48 (9-10): 873-878.