

**TÜRKİYE’DE YETİŞTİRİLEN BAZI MARUL (LACTUCA SATIVA)  
ÖRNEKLERİNİN BASİT DİZİ TEKRAR (SSR) YÖNTEMİ İLE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**Yazgım FUNDA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Moleküler Biyoloji Bilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Filiz SUSUZ ALANYALI**

**Eskişehir**

**Eskişehir Teknik Üniversitesi**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Ocak 2021**

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN BAZI MARUL (*LACTUCA SATIVA*) ÖRNEKLERİNİN BASİT DİZİ TEKRAR (SSR) YÖNTEMİ İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Yazgım FUNDA

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2021

Danışman: Doç. Dr. Filiz SUSUZ ALANYALI

Bu tez çalışmasında moleküler markörler kullanılarak Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen bazı *Lactuca sativa* (marul) genotipleri arasındaki farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada *Lactuca sativa* genotipleri üç farklı firmanın ürünlerinden elde edilerek moleküler analizleri gerçekleştirilmiştir. *Lactuca sativa* genotipleri arasındaki genetik farklılık analizi için 14 adet SSR primeri kullanılmıştır. SSR markörleriyle yapılan analizler sonucunda UPGMA metoduna göre farklılıklar istatistiki olarak %95 duyarlılığında anlamlı kabul edilmiş ve uzaklık matrisinde gösterilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda 23 genotip iki ana gruba ayrılmış ve bu gruplar arasında genetik farklılık %12 olarak tespit edilmiştir. *Lactuca sativa* genotipleri arasında beklenildiği üzere Yedikule ve Eskule varyeteleri genetik olarak daha uzak olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışması sonucunda elde edilen SSR bulguları, ileride yapılacak olan bilimsel çalışmalar için uygun SSR markörlerinin seçilmesine ve bu sayede çalışmalar için harcanacak zaman ve emek kaybını minimuma indirilebilmesine katkıda bulunabilecektir

**Anahtar Sözcükler:** *Lactuca sativa*, SSR, Genetik ilişki, Moleküler markörler, PZR

## ABSTRACT

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME LETTUCE SAMPLES (LACTUCA SATIVA) GROWN IN TURKEY USING SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)

Yazgım FUNDA

Department of Biology

Programme in Molecular Biology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Filiz SUSUZ ALANYALI

This study aims to determine the differences between genotypes of some *Lactuca sativa* (lettuce) commonly grown in Turkey. In the study, *Lactuca sativa* genotypes were obtained from the samples of three different companies and their molecular analyzes were carried out. 14 SSR primers were used for analysis of genetic differences between *Lactuca sativa* genotypes. As a result of the analysis with SSR markers, the differences according to the UPGMA method were considered statistically significant at 95% sensitivity and shown in the distance matrix. As a result of the study, 23 genotypes were divided into two main groups and the genetic difference between these groups was determined as 12%. Among the *Lactuca sativa* genotypes, lettuce species Yedikule and Eskule varieties were genetically determined to be more distant as expected. The SSR findings gathered as a result of this thesis will contribute to the selection of appropriate SSR markers for future scientific studies and thus to minimize the loss of time and effort for the studies.

**Keywords:** *Lactuca sativa*, SSR, Genetic relationship, Molecular markers, PCR

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışma sürecimde, değerli bilgi birikimini benimle paylaşan, zengin bakış açısıyla beni aydınlatan, çalışmam sürecince bana karşı sabrını ve güler yüzünü esirgemeyen, her konuda yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Filiz SUSUZ ALANYALI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışma sürecimde imkân ve olanakları ile desteklerini esirgemeyen, ticari bitkisel materyal temininde yardımlarından dolayı Dikmen Tarım Ürünleri Şirketi ve çalışanlarına, tez çalışmamda farklı bakış açısı ve deneyimleri ile beni yönlendiren üretim müdürü Serdar DİKMEN'e, laboratuvar çalışmalarımda yardım ve desteklerini esirgemeyen Zir. Müh. Çağın Deniz DİKMEN' e ve Yüksek Zir. Müh. Abdullah ERTEKİN'e teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans çalışma sürecim ve tez yazım sürecimde yanımda olan her konuda desteğini esirgemeyen canım dostum Uzm. Biyolog Melek TEKGÖZ'e teşekkür ediyorum.

Tez çalışmam boyunca göstermiş oldukları desteklerinden, özellikle de hoşgörülerinden dolayı Uzm. Ecz. Serhan Seha KOÇ, Phytognosis Biyoteknoloji Ltd. Şti. Genel Müdür'ü Hasan KOÇ ve Ecz. Serap KOÇ'a teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve bugünlere gelmemde sonsuz emeği olan annem Feyza FUNDA, babam Turan FUNDA ve kardeşim Tufan FUNDA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yazgım FUNDA

22/01/2021

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Yazgım FUNDA

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI .....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
GÖRSELLER DİZİNİ .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ .....	3
2.1. <i>Lactuca sativa</i> 'nın Genel Özellikleri .....	3
2.2. <i>Lactuca sativa</i> 'nın Sağlık Üzerine Etkileri.....	4
2.3. <i>Lactuca sativa</i> 'nın Ekonomideki Yeri .....	7
2.4. Marul Yetiştiriciliği.....	8
2.5. Moleküler Markörler .....	9
2.5.1. RFLP.....	10
2.5.2. RAPD .....	11
2.5.3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	12
2.5.4. Mikrosatellitler (Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm) .....	14
2.6. Filogenetik Analiz Yöntemleri .....	15
2.6.1. Mesafeye Dayalı Yöntemler.....	16
2.6.1.1. Neighbor- Joining yöntemi.....	16
2.6.1.2. UPGMA yöntemi.....	16
2.6.2. Karakter Tabanlı Yöntemler (Maximum Likelihood ve Parsimony Analizi) .....	16

2.6.2.1. Maksimum olabilirlik ( <i>Maximum likelihood</i> ) .....	16
2.6.2.2. Parsimony analizi .....	16
2.6.3. Doğrulama Yöntemleri (Bootstrap ve Jackknife) .....	17
2.7. Filogenetik Ağaç Oluşturken Kullanılan Araç ve Yazılımlar .....	17
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>18</b>
3.1. Bitki Materyalleri.....	18
3.2. Genotiplerin DNA İzolasyonu .....	21
3.3. DNA Miktarı ve Saflık Derecesinin Belirlenmesi.....	22
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	23
3.5. Agaroz Jel Elektroforezi.....	25
3.6. <i>Lactuca sativa</i> Verilerinin Değerlendirilmesi .....	26
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
4.1. DNA İzolasyonu ve Spektrofotometrik Ölçümler .....	27
4.2. SSR Analizleri .....	28
4.2.1. SSR markörleri kullanılarak polimorfizmlerin değerlendirilmesi.....	28
4.3. PZR Analizi Sonuçları .....	29
4.4. Veri analizleri .....	31
<b>5. SONUÇLAR.....</b>	<b>35</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>37</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>42</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> Ülkemizde yıllara göre bazı marul türlerinin üretim miktarları (ton).....	7
<b>Tablo 2.2.</b> AFLP yöntemi ile Lactuca türlerine ait üyelerle yapılan çalışmalar .....	13
<b>Tablo 3.1.</b> Analiz edilen Lactuca sativa katılım listesi .....	18
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan primer setleri .....	23
<b>Tablo 3.3.</b> Reaksiyon bileşenleri .....	23
<b>Tablo 3.4.</b> Programın reaksiyon koşulları .....	25
<b>Tablo 4.1.</b> Tez çalışmasında kullanılan Lactuca sativa genotiplerinden elde edilen DNA'ların saflık ve miktarları .....	27
<b>Tablo 4.2.</b> Kullanılan 14 SSR primeri ve özellikleri.....	29

## GÖRSELLER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Görsel 2.1.</b> TÜBİVES'e göre L. sativa'nın dağılımı .....	8
<b>Görsel 3.1.</b> Bu çalışmada kullanılan genotiplerin yetiştiği tarla .....	18
<b>Görsel 3.2.</b> Sürpriz .....	19
<b>Görsel 3.3.</b> Armoni.....	20
<b>Görsel 3.4.</b> Festival .....	20
<b>Görsel 3.5.</b> Eskule .....	20
<b>Görsel 3.6.</b> M46.....	21
<b>Görsel 3.7.</b> DNA izolasyonunda kullanılan tampon çeşitleri.....	22
<b>Görsel 3.8.</b> Kullanılan reaksiyon bileşenleri .....	24
<b>Görsel 3.9.</b> Kullanılan PZR cihazı .....	24
<b>Görsel 3.10.</b> Kullanılan elektroforez cihazı .....	25
<b>Görsel 4.1.</b> Ksl-173 elektroforez görüntüsü .....	30
<b>Görsel 4.2.</b> Ksl-271 elektroforez görüntüsü .....	30
<b>Görsel 4.3.</b> Ksl-322 elektroforez görüntüsü .....	30
<b>Görsel 4.4.</b> Sml-002 elektroforez görüntüsü .....	31
<b>Görsel 4.5.</b> Sml- 022 elektroforez görüntüsü .....	31
<b>Görsel 4.6.</b> SML-022 primerine ait PZR sonucunun GeneTools programında görüntülenmesi.....	32
<b>Görsel 4.7.</b> Toplam 23 adet Lactuca sativa genotipinin 14 SSR ile amplifikasyonu sonucu elde edilen UPGMA soyağacı .....	33
<b>Görsel 4.8.</b> UPGMA ile hesaplanan uzaklık matrisi sonuçları .....	34

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
µL	: Mikrolitre
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
bp	: Baz çifti
CI	: Confidence Intervals(Güven Aralığı Değeri)
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotidtrifosfat
H <sub>2</sub> O	: Su
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat (Basit Dizi Tekrarları Arası Polimorfizm)
LDL	: Lipoprotein
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
nm	: Nanometre
OR	: Odds Ratio(Göreceli Olasılıklar Oranı)
pH	: Power of Hydrogen
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
RAPD	: Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Kısıtlama Parça Uzunluğu Polimorfizmi
RNA	: Ribo Nükleik Asit
Rpm	: Dakikadaki devir
RR	: Relative Risk (Göreceli Risk)
s	: Saniye
β	: Beta
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)
Taq	: Termo stabil polimeraz enzimi
TBE	: Tris Borik Asit EDTA
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

TÜBİVES : Türkiye Bitkileri Veri Servisi  
UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic  
UV : Ultraviyole  
V : Volt  
YÖK : Yükseköğretim Kurulu



## 1. GİRİŞ

Marul (*Lactuca sativa*), Asteraceae familyasına ait *Lactuca* cinsindeki diploit bir türdür. "*Lactuca*" Latince'de laktik asidi ifade etmekte olup "sütlü" anlamına gelmektedir. Bu cinse ait bitkilerin kök, gövde ve yaprakları kesildiğinde beyaz renkli sütlü bir sıvı çıkmasından dolayı bu cinse, *Lactuca* ismi verilmiştir. "Sativa" ise "tohumdan yetiştirilen" anlamına gelmektedir (Eşiyok, 2012). Marul dünya genelinde çok tüketilen bir sebze olup ülkemizde de yılın her ayı üretilmektedir. Serin bir iklim bitkisidir ve nemli hava koşullarına ihtiyaç duyar. Vejetasyon süresinin kısa olması ile de ülkemizin tüm bölgelerinde yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Yıldırım vd., 2015).

Kuraklık, topraklardaki besin dengesizliği, iklim değişikliği gibi çevresel faktörler bitkisel ürün üretimini sınırlandıran temel sebeplerdir. Ayrıca dünyadaki hızlı nüfus artışı beslenme problemlerini de beraberinde getirmektedir. Çevresel sorunlar bitkilerin normal fizyolojik işlevini değiştirmekte ve ekonomik olarak yetiştiriciliğini de etkilemektedir. Tüm bu sorunlar maksimum düzeyde ürün üretimi yapılabilmesini ve dayanıklı bitki türlerinin yetiştiriciliğinin yapılmasını ön plana çıkarmaktadır (Çalı, 2007). Son yıllardaki çalışmalar, büyük ölçüde farklı stres koşullarına dayanıklı bitkilerin tolerans mekanizmalarının açıklanması ve bitki genetik kaynaklarının korunması üzerine yapılmıştır (Örs ve Ekinici 2015).

Günümüzde en fazla üretimi yapılan sebzelerden biri olan marul türlerinde çeşit safiyetinin kontrolü ve yeni çeşitlerin orijinalliği moleküler yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Tarla ve sera testleri de safiyet gibi konuların tespit edilmesinde kullanılabilir ancak moleküler yöntemler çok daha hızlı ve güvenlidir. Marul üzerinde yapılan moleküler çalışmaların çoğu, etkili marul genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin analizine odaklanmıştır.

Marulun sınırlı gen bilgisi nedeniyle genelde ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) ve SSR (Simple Sequence Repeat) işaretleyicileri marul çeşitliliğinin analizi için en uygun tekniklerdir. ISSR; Zietkiewicz ve arkadaşları tarafından geliştirilen PZR (Primer Zincir Reaksiyonu) tabanlı bir yöntemdir. SSR işaretleyicileri; tipik olarak eş baskın, tekrarlanabilir, çapraz türe transfer edilebilir ve aşırı polimorfik olmalarından dolayı en çok tercih edilen işaretleyici sistemlerden biri haline gelmiştir. Marul bitkisinde moleküler araçlar birçok yeşillik türlerine göre daha az olmasına rağmen son yıllarda önemli miktarlarda SSR markörleri geliştirilmiştir (Simko, 2009).

Bu tez çalışmasında SSR markörleri kullanılarak bazı marul türlerinden elde edilen Türkiye orijinli 23 marul genotipinin genetik çeşitliliği Dikmen Fide ve Tarım Şti. Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda araştırılmıştır. Bu çalışma için 14 SSR primeri kullanılmıştır. Serada yetiştirilen *Lactuca sativa* türlerinin genç yapraklarından DNA (Deoksiribo nükleik asit) izolasyonları yapılmıştır. PZR reaksiyonu gerçekleştirilerek elektroforez yürütmesinden sonra DNA bant görüntüleri kaydedilmiştir. Elde edilen veriler GeneTools, UPGMA ve MEGA 7 Programları kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Moleküler karakterizasyon için yapılan analizlerin en önemli sonuçlarından biri genotiplerin birbirine olan akrabalık derecelerinin belirlenmesidir.

Daha önceden, farklı türler için SSR markörleri kullanılarak yapılmış çeşitli araştırmalar olmasına karşın *Lactuca sativa* ile ilgili yapılmış karakterizasyon belirlemek amacıyla fazla çalışma ve araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, ıslah programlarında birbirine uzak akrabaların melezlenmesi ile genetik çeşitlilik artırılabilmesi ve uzak akraba melezi ile çok daha kaliteli, iyi verimli türler elde edilebilmesi amacıyla Türkiye'de yetiştirilen bazı *Lactuca sativa* genotiplerinin birbirine olan genetik uzaklıklarının SSR tekniği ile belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu bağlamda tezin yazımında Google Scholar, ScienceDirect, YÖK Ulusal Tez Merkezi, Dergipark başta olmak üzere birçok ulusal ve uluslararası veri tabanlarından, çeşitli tez ve kitaplardan yararlanılmıştır.

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. *Lactuca sativa*'nın Genel Özellikleri

*Lactuca sativa*, yeşil ve geniş yapraklara sahip olan yapraklı sebzeler grubundaki en önemli bitki türlerinden biridir. Günümüzde kabul edilmiş 32913 tür içeren (<http-1>) Asteraceae familyasına ait olan marul bitkisinin filogenetik sınıflandırması aşağıda verilmiştir.

Domain: Eukaryota  
Alem: Plantae  
Şube: Spermatophyta  
Alt şube: Angiospermae  
Sınıf: Dicotyledonae  
Takım: Asterales  
Aile: Asteraceae  
Cins: *Lactuca*  
Tür: *Lactuca sativa*

Eski Mısır, M.Ö. 2680 gibi erken bir zamanda ortaya çıkan kanıtlarla *L. sativa*'nın ilk yetiştirildiği yer olarak bilinmektedir. Yetiştirilen çeşidin yaklaşık 76 cm yüksekliğinde olduğu ve modern marulun versiyonuna benzediği görülmektedir. Mısırlılar tarafından geliştirilen bu marullar ilk olarak Yunanistan'da ve daha sonra Roma'da tanıtılmıştır. Bitki, 15. yüzyılın sonlarında Christopher Columbus tarafından Amerika'ya getirilmiştir (Subbarao ve Koike, 2007). Birçok orta çağ yazarı, *L. sativa*'nın şifalı bir bitki olarak kullanıldığını ifade etmiştir. Bunlar arasında baş marul, gevşek yapraklı marul ve cos marul gibi üç temel modern marul tanımlayan Hildegard von Bingen (1098 ve 1179) ve Joachim Camerarius (1586) yer almaktadır (Bennett ve Hollister, 2001). Mısır'da yetiştirilmeye başlanmış olan marul daha sonra Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika ülkelerini içeren geniş bir alana yayılmıştır (Vural vd., 2000). Çin ve ABD dünyanın ana üreticisiyken, Mısır ve Nijer ise en iyi Afrikalı üreticilerdir.

Yılın tüm aylarında satışı gerçekleştirilen marulun yetiştirilme süresi 60-90 gün olup, açıkta ve örtü altında farklı mevsimlere uygun olarak ıslah edilmiş çeşitlerle sürekli üretimi mümkün kılınmıştır. İnsanların tercihen tüketimleri dikkate alındığında yağlı baş salata ve kıvırcık baş salata tiplerinin çeşit zenginliği kazandığı ve üretimlerinin daha fazla yapıldığı görülmektedir. Ülkemizde yetiştiriciliği ılıman bölgelerde sonbahar, kış ya da erken ilkbahar döneminde gerçekleştirilmektedir (Eşiyok vd., 1996).

Günümüzde marul tüketimi, yüksek besin değeri ve tıbbi önemi nedeniyle dünya çapında yaygın hale gelmiştir. *L. sativa* türleri, polifiletik kökeninden ve karmaşık bir melezleme sürecinden sonra yüksek bir genetik çeşitlilik ile karakterize edilmektedir (Kesseli vd., 1991). Marul çeşitlerinin araştırılması ve türlerin sınıflandırılması ilk olarak Rodenburg (1960) tarafından yapılmıştır. Ardından, yapılan çalışmalarla da marul çeşitlerinin taksonomik ve fenotipik analizlerinin daha kapsamlı incelemeleri sunulmuştur (DeVries, 1997; Mou, 2008). Marul türleri, morfolojik olarak tanımlanan yedi ana kültür grubundan oluşmaktadır. Bunlar; baş oluşturan yağlı salatalar (Butterhead), baş oluşturmeyen yağlı salatalar, göbek oluşturan marullar (Yedikule), Göbek oluşturmeyen marullar (Karamarul), baş oluşturan kıvrıkcık yapraklı salatalar (Crisphead), baş oluşturmeyen kıvrıkcık yapraklı salatalar (Bunching) ve Latin morfotiplerini içermektedir (Lebeda vd., 2007).

Birçok çalışmada, melezlenmiş marul üzerine odaklanılmıştır (Wei vd., 2015). Marul; kalsiyum, fosfor, iyot, demir, bakır ve arsenik gibi elementleri ve birçok vitamini ve minerali içermektedir. Marul, yüksek C vitamini içeriği nedeniyle enfeksiyonlara karşı direnç vermesi ve anemiyle savaşıma özelliği ile bilinmektedir. *L. sativa* bitkisinin fitokimyasalları esas olarak bitkilerin normal büyümesi sırasında veya bir dizi çevresel koşullara yanıt olarak sentezlenen sekonder metabolitleri kapsamaktadır. Bitkiler; iltihaplanma, ağrı, hazımsızlık ve iştahsızlık dahil çeşitli mide problemleri, bronşit ve idrar yolu enfeksiyonları gibi birçok rahatsızlık için yıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Ismail ve Mirza, 2015).

## **2.2. *Lactuca sativa*'nın Sağlık Üzerine Etkileri**

Yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışmalar, taze meyve ve sebze tüketiminin, beslenme alışkanlıkları ile hastalık riski arasındaki ilişkiyi ve gıdanın sağlık üzerinde doğrudan bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Araştırmalar ayrıca artan sebze ve meyve tüketimi ile kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşa bağlı bazı fonksiyonlarda azalma gibi kronik hastalık risklerinin azalması arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Hung vd., 2004; Morris vd., 2006; Pavia vd., 2006). Bu sağlığa faydalı etkilerin, sebzelerde bulunan makro besinler, mikro besinler ve biyoaktif bileşiklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Kris-Etherton ve diğerleri, 2002; Soetan ve diğerleri, 2010). *Lactuca sativa*, besin değeri yüksek olması nedeniyle taze olarak tek başına veya salata karışımlarında tüketilen önemli bir yapraklı sebzedir ve sedatif-hipnotik,

antikönlzan, antiinflatuar, antinosiseptif, antikanser ve antioksidan özelliklere sahiptir (Dupont vd., 2000). Son zamanlarda bir dizi marul çeşidi araştırılmış ve antioksidan aktivitelere sahip fenolik bileşikler, çeşitli vitaminler ve lifler içerdiği bildirilmiştir (Llorach vd., 2008; RiceEvans vd., 1995).

Diyet, vücut ağırlığını azaltma ve sağlığı iyileştirme stratejilerinde kritik bir rol oynamaktadır ve obezite prevalansı dünya çapında giderek artmaktadır. Marul, toplam kalori miktarı ve yağ oranı düşük olduğu için kilo vermeye katkıda bulunabilen bir besin kaynağıdır. Yağ oranı düşük olmasına rağmen, marul sağlık için önemli olan Omega-6, omega-3, linoleik asit, a-linolenik asit gibi diyetle alınması gereken çoklu doymamış yağ asitlerini içermektedir. Marulun içerdiği bu bileşenler bağışıklığın düştüğü durumlarda ve dermatitin tedavisine destek olarak kullanılabilirken, nörolojik ve görsel şikayetler gibi sağlığı olumsuz yönde etkileyen sorunların da ortadan kaldırılmasına yardımcı olmaktadır. Marul ayrıca içerdiği diyet lifi ile düşük kalori içeriğine ek olarak kilo kaybına yardımcı olmakla birlikte düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolü ve kan basıncını düşürerek kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada, glikoz metabolizmasını iyileştirerek diyabet riskini azaltmada ve kolon kanseri riskini azaltmada etkilidir (USDA, 2015).

Marulda yaygın olarak folat ile C ve E vitaminleri bulunur. Yapılan çalışmalarda yetersiz folat alımının; DNA yapısı, stabilitesi ve transkripsiyonel regülasyondaki rolü nedeniyle bazı kanser türlerinin gelişmesine sebep olduğu belirtilmiştir (Bailey ve Gregory, 1999). C vitamininin normal metabolizma, bağışıklık ve antioksidan fonksiyonları için gerekli olduğu belirtilirken, E vitamininin ise koroner kalp hastalığı, kanser ve dejeneratif hastalık riskini azaltmak için gerekli olduğu bildirilmiştir (Carr ve Frei, 1999; Carr ve Vissers, 2013).

Marulun, diyetle en çok tüketilen sebzeler arasında yer almasına rağmen, bir bütün olarak sağlığa faydalarını araştıran sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. Bir *in vitro* çalışma, lipopolisakkarit ile uyarılan nitrik oksit üretimi azaltılmış farelerdeki makrofaj J774A hücrelerinin 25-250 µM *L. sativa* ekstresinin önemli bir inflamatuvar aracı olan nitrik oksit üretimini ve indüklenbilir nitrik oksit sentazı ve siklooksijenaz-2'yi arttırdığı bildirilmiştir. C57BL / 6J fareleri ile yapılan bir çalışmada yüksek yağlı, yüksek kolesterolü bir diyetle beslenen farelere, %8 kırmızı pigmentli marul verilmesi ile plazma

toplam kolesterolü 1804'ten 1657 mg/mL'ye ve LDL kolesterolü 311'den 139 mg/mL'ye düşürdüğü gözlemlenmiştir (Lee vd., 2009).

İtalya'da yürütülen bir vaka-kontrol çalışmasında, aile öyküsü olan deneklerde kolorektal kanser riskini araştırmışlardır (Fernandez vd., 1997). Çalışma, 1584 kolorektal kanserli hasta ve 2879 kişilik kontrol grubunu içermektedir. Haftalık gıda sıklığı tüketiminin değerlendirilmesi sonucunda, kolorektal kanser ile marul tüketimi arasında ters bir ilişki gösterilmiştir (RR 0.3, %95 CI 0.1–0.6, p <0.05). Azaltılmış kolorektal kanser ile önemli bir ilişki gösteren maruldaki potansiyel besinlerin,  $\beta$ -karoten ve askorbik asit olduğunu belirlemişlerdir.

Marulun akciğer kanserine karşı koruyucu etkisi, Avrupa'da yürütülen çok merkezli bir vaka-kontrol çalışmasında araştırılmıştır (Brennan vd., 2000). Denekler, 506 sigara içmeyen akciğer kanseri hastasından ve 1045 sigara içmeyen kontrolden oluşmaktadır. Sonuçlar, günlük olarak marul tüketen ve yaşam boyu sigara içmeyenler arasında (OR 0.6, %95 CI 0.3-1.2, p = 0.02) ve haftada dört ila beş kez marul tüketen deneklerde (OR 0.8, %95 CI 0.6-1.0, p = 0.02) değerlendirilmiştir. *In vitro*, prelinik ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, marulun potansiyel anti-inflamatuvar, kolesterol düşürücü, anti-diyabetik ve anti-kanser özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak marul, içerdiği lif, mineraller, çeşitli vitaminler ve biyoaktif bileşikler (örneğin, karotenoitler ve fenolik bileşikler) nedeniyle besleyici faydalara sahiptir. Marul, düşük miktarda Na içerir ve iyi miktarda Fe sağlar (Moo JungKim vd., 2016).

İnsanlarda yer alan marulun besin değerinin düşük olduğu algısına rağmen, çeşitli çalışmalardan elde edilen beslenme verileri marulun önemli miktarda sağlıklı besin, özellikle folat, karotenoitler ve fenolik bileşikler sağlayabileceğini desteklemektedir. Ayrıca marulun besin değeri, kültürel uygulamaların manipüle edilmesiyle artırılabilir. Bu nedenle marul, düzenli yetiştirme ortamı altında besin bileşimini değerlendirmek, marulun besin değerini artırmak için stratejiler geliştirmek ve biyoaktif bileşiklerin sağlık yararlarından sorumlu mekanizmaların aydınlatılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### 2.3. *Lactuca sativa*'nın Ekonomideki Yeri

Asteraceae familyasına ait yeşil yapraklı bir sebze olan *Lactuca sativa*, günümüzde dünya genelinde üretilmektedir. Dünyanın gen bankalarında tutulan, farklı bölgelerde çeşitli yerel ırklar ve yerel çeşitler yetiştirilmektedir. Geleneksel ve modern ıslah yöntemleri ile de üreticilerin ve tüketicilerin özel ihtiyaçları için tasarlanmış yeni ıslah türleri bulunmaktadır (Lebeda vd., 2007). Son yıllarda hibrit kıvırcık marul çeşitleri ve aysberg tipi marul üretimi oldukça artmıştır. Sebze olarak yetiştirilen salata ve marulun anavatanı; Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika ülkelerini içine alan geniş bir alanı kapsamaktadır. Dünyanın en büyük marul üreticisi Çin'dir ve dünyada marul üretiminin %57'sini tek başına karşılamaktadır. ABD ve Batı Avrupa, dünya genelinde toplam marul üretiminin yaklaşık %22'sini ve %13'ünü sağlamaktadır (Mou, 2008). Marul ABD'de, en çok tüketilen üçüncü sebze türüdür (USDA, 2015). 15 milyon 541 bin 717 ton marul üretimi yapan Çin'i, ABD 3 milyon 677 bin 323 ton ve Hindistan 1 milyon 222 bin 323 ton ile takip etmektedir. İspanya (934.670 ton), İtalya (768.055 ton), Japonya (578.829 ton), İran (525.483 ton), Türkiye (487.543 ton) ve Meksika (486.440 ton) diğer önde gelen marul üreticisi ülkeleri arasında yer almaktadır. Ülkemizde ise 2013 yılında üretilen fidelerin türlere göre paylarını incelediğimizde; domates %43,6 oranı ile ilk sırada yer almakta, bunu %12,3 ile marul, %10,4 ile biber, %8,8 ile lahanagilliler, %5,9 ile hıyar, %3,3 ile patlıcan, %2,5 ile karpuz, %1,7 ile kavun, %0,4 ile kabak ve %11,1 ile diğer fidelerin üretimi izlemektedir (Balkaya, Kandemir ve Sarıbaş, 2015). Ülkemizde öncelikli olarak kıvırcık ve göbek marul üretilmektedir. Ancak 2005 yılında Türkiye' de ekonomik anlamda Aysberg marul üretimine de başlanmıştır. Ülkemizde yıllara göre marul üretim miktarları **Tablo 2.1.**'de verilmektedir.

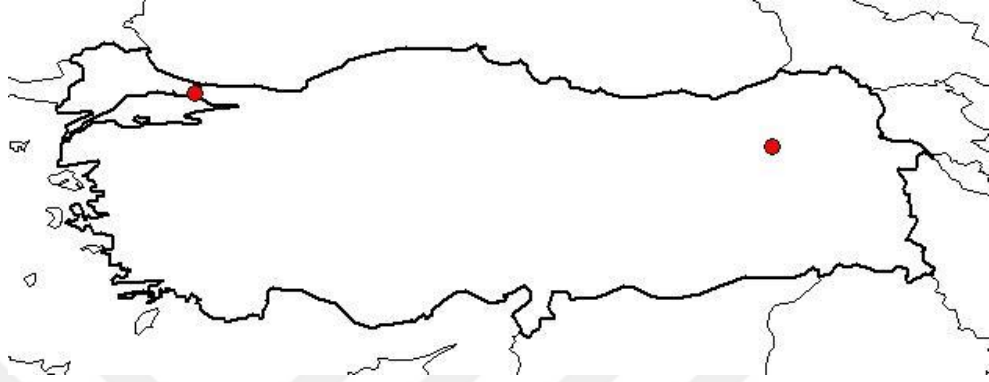
**Tablo 2.1.** Ülkemizde yıllara göre bazı marul türlerinin üretim miktarları (ton) (TUİK)

Marul türü	2015	2016	2017	2018	2019
Kıvırcık Marul	157981	179712	185070	187658	198491
Göbek Marul	225021	233662	223449	215725	215728
Aysberg Marul	64490	65068	81904	84160	85547

Ülkemizde illere göre marul üretiminde, Adana'da göbekli marulun 49.231 ton, Ankara'da aysberg marul 43.363 ton, Tokat' da ise kıvırcık marulun 24.454 ton üretiminin gerçekleştirilmesiyle en fazla marul üretimi yapılan iller olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde üretilen toplam marulun %23,5'i örtü altında yetiştirilmektedir.

Serada ise 2019 yılında, 69 bin 676 ton kıvrıkcık, 25 bin 654 tok göbekli, 22 bin 258 ton da aysberg marul üretimi yapılmıştır.

TÜBİVES veri tabanına göre ise *Lactuca sativa* doğal yetiştiriciliğinin kaynağı İstanbul ve Erzurum olarak **Görsel 2.1.**'de belirtilmiştir (Bakış, Babaç ve Uslu, 2011).



**Görsel 2.1.** TÜBİVES'e göre *L. sativa*'nın dağılımı

Kuraklık, topraklardaki tuzluluk oranı ve iklim değişiklikleri gibi çevresel faktörler verimliliği sınırlandıran temel sorunlardır. Günümüzde bitki yetiştiriciliğinde kuraklık ve su eksikliği önlem alınması gereken temel sorunlar olmaktadır (Ashraf ve Foolad 2007). *Lactuca sativa* türlerinin de ekonomik açıdan büyük öneme sahip bir sebze olmasından dolayı üretimini geliştirmek ve güvence altına almak için hassas çeşitlerinin tanınması ve karakterizasyonu şarttır. Genetik çeşitlilik ve ilişkilerin tahminleri, genetik gelişim için önemli temel bilgileri sağlayan genotiplerin özgünlüğünün ve farklılığının belirlenmesi için önemlidir (Limei Pana vd., 2017, Hurtado vd., 2012).

#### **2.4. Marul Yetiştiriciliği**

Tek yıllık serin iklim bitkisi olan marulun, açıkta ve örtü altında farklı mevsimlere uygun ıslah edilmiş formlarıyla yılın 12 ayı boyunca üretimi mümkün olmaktadır. Vejetasyon sürelerinin kısa olmasından dolayı Türkiye'nin tüm bölgelerinde marul yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Marul bitkisi, 6-7.0 pH oranına sahip hafif asidik 25-30 cm derinlikteki humusça ve besin maddelerince zengin toprak tabakasında, 12-15 °C sıcaklıkta optimum gelişim göstermektedir (Anonim, 2018b). Organik maddelerin zengin olduğu topraklarda marul bitkisinin kısa süre de hasat olgunluğuna ulaştığı bildirilmiştir (Vural vd., 2000). Ayrıca toprağın su tutma kapasitesinin yüksek olması ve düşük pH'lı topraklara kireç ilavesi yapılması önerilmektedir. Açıkta yapılan yetiştiricilikte -4 ve 5 °C arasındaki sıcaklıklardan çok etkilenmeden marullar dayanabilmektedirler. 18 °C'nin

üzerindeki sıcaklıklarda bitki vegetatif evreden generatif evreye geçiş yapmaktadır. Yapılan ıslah çalışmaları ile yüksek sıcaklıklara dayanıklı ve çiçeklenmeyen yazlık marul tipleri geliştirilmektedir.

## **2.5. Moleküler Markörler**

Moleküler markörler, fenotipik ekspresyonu kolaylıkla ayırt edilebilen, bir bireyi saptamak ve bir kromozomu, çekirdeği ya da lokusu işaretlemek için kullanılan genomdaki herhangi bir gen bölgesini ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasını ifade etmektedir (King ve Stansfield 1990; Schulmann, 2007). Markörler, genom lokuslarında nükleotid değişikliği veya mutasyon nedeniyle ortaya çıkabilen genetik farklılıkları tanımlamayı mümkün kılarak organizmalar veya türler arasındaki polimorfizmi göstermektedir (Collard vd., 2005). Moleküler markörler, genetik haritalama, kalıtsal hastalıklarla bağlantılı mutant genleri saptama, türlerin belirlenmesi, mahsul ıslahı, popülasyon geçmişi, epidemiyoloji ve gıda güvenliği çalışmaları gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Hartl ve Jones 2005). 1980'lerde moleküler markörlerin piyasaya sürülmesinden bu yana tarımdaki uygulamalarda türlerin belirlenmesi, çok sayıda agronomik ve hastalık direnci gibi özellikleri ortaya çıkarmak için hem ticari hem de bilimsel anlamda çalışmalar yapılmaktadır (Jain vd., 2002; Gupta ve Varshney 2004). Bu nedenle geleneksel ürün yetiştirme programları, tüm genomların çaprazlanmasını ve ardından çeşitli segregasyon ürünleri arasından üstün rekombinantların seçilmesini içermektedir. Gerçekte, böyle bir prosedür zaman alıcı ve zahmetlidir. Çünkü çok sayıda çaprazlama, nesil ve doğru fenotipik seçimini içerir ve arzu edilmeyen lokusların istenen lokuslarla sıkı bağlantısı istenen amaca ulaşmayı daha da zorlaştırabilir. Günümüzde birçok bitki yetiştiricisi, önemli bitkilerin istenen özelliklerini tanımlamak için ve çeşitli bitki araştırmacıları, genetik polimorfizmi ve bağlantı haritalarının yapısını incelemek için moleküler markörleri kullanmaktadır (Schulmann 2007).

Moleküler markör yöntemleri çift iplikli DNA'daki polimorfik bölgelerin belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. Genellikle DNA'nın kodlanmayan kısımlarında meydana gelmektedir. DNA markörleri teorik olarak sınırsız sayıda kabul edilmekte, morfolojik ve biyokimyasal markörlerin aksine, çevresel faktörlerden ve bitki gelişim evrelerinden etkilenmemektedirler. DNA markörleri ile belirlenen kalitatif ve kantitatif özellikler bitki ıslahında, seleksiyonda, genetik haritalamalarda, tür tanımlaması ve

genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde kullanılmaktadır (Bilgin ve Korkut, 2005).

Moleküler Markörlerinde İstenilen Özellikler;

- Kolay ulaşılabilir olmalıdır.
- Analizlerin hızlı ve kolay olmalıdır.
- Tekrarlanabilir ve oldukça polimorfik olup farklı genotipleri ayırt etmelidir.
- Kodominant (eş baskınlık) kalıtım göstermelidir.
- Seçici, nötr davranış göstermelidir.
- Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markör analizi her zaman aynı sonuçları vermelidir.

Moleküler markörler, temel olarak Hibridizasyona Dayalı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PZR) Dayalı Markörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Hibridizasyona dayalı markörlere örnek olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), PZR tabanlı markörlere örnek olarak; SSR (Simple Sequence Repeat), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) örnek verilebilir (Vos vd., 1995; Yang ve Park 1998; Yang vd., 2007; Zietkiewicz vd., 1994).

### 2.5.1. RFLP

Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), çift iplikli DNA'nın spesifik nükleotid sekanslarından restriksiyon endonükleaz tarafından kesilmesine dayanan bir yöntemdir. Kesime uğrayan DNA parçacıkları jel elektroforezi ile fragment boyutlarına göre ayrılır ve Southern blot ile bir membrana transfer edildikten sonra, fragmentler radyoaktif etiketli prob ile hibridizasyon yoluyla tanımlanır. Farklı boyutlarda veya uzunluklarda restriksiyon fragmentleri elde edilir. Böyle bir polimorfizm bitki türlerini, genotiplerini ve bazı durumlarda tek tek bitkileri ayırt etmek için kullanılabilir. (Karp vd., 1998). RFLP yöntemi, *Lactuca spp.*'nin türlerinin belirlenmesinde de kullanılmıştır (Landry vd., 1987, Kesseli vd., 1991, 1994, Vermeulen vd., 1994). Kesseli ve arkadaşları (1991)' de yaptığı çalışmada *L. sativa* ve *Lactuca* türlerinin morfolojik ve coğrafi çeşitliliğini temsil eden altmış beş kültürü yapılan ve yabani türleri incelenmiştir. Farklı morfoloplere ait *L. sativa* türlerinin ve *Lactuca spp.*'nin 5 farklı türe; bunların da *L. serriola*, *L. saligna*, *L. irosa*, *L. perennis* ve *L. indica* ait olduğu belirlenmiştir. RFLP

verileri, *L. sativa*'nın *L. Serriola* ile yakından ilişkili olduğunu ancak çalışmada yer alan diğer türler ile (*L. saligna*, *L. virosa*, *L. perennis* ve *L. indica*) yakın akrabalık olmadığını göstermiştir. Kültüre alınan *L. sativa* türleri, RFLP'nin tür içi varyasyon çalışmaları ve yakından ilişkili taksonlar arasında uygun olabileceğini kanıtlayan farklı kümeler oluşturmuştur (Kesseli vd., 1991).

RFLP yöntemi ile ayrıntılı bir marul genetik haritası geliştirilebilmekte ve bitki ıslahında pratik kullanım sağlamakla birlikte bitki genomlarının tanımlanması ve düzenlenmesi de yapılabilmektedir. Calmar × Kordaat, RFLP markörleri kullanarak marulun genetik bağlantı haritasını oluşturmak için ayıran popülasyonun kaynağı olarak geliştirilmiştir (Landry ve diğerleri, 1987). RFLP markörlerinin, türlerin tanımlanmasında, atalarının ve marul germplazm koleksiyonlarındaki çeşitliliğin belirlenmesinde güçlü araçlar olduğu kanıtlanmıştır. Bu yöntemin sınırlamaları, öncelikle iş yükü ve pahalı olmasıdır, bunlar yeni yöntemler aramanın ana nedenlerini oluşturmaktadır. DNA'yı amplifiye etmek için polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) geliştirilmesi, moleküler yöntemlerin uygulanmasında bir devrime yol açmıştır ve RFLP'lerin birçok teknik sınırlamasının üstesinden gelebilmiştir.

### **2.5.2. RAPD**

RAPD, PZR'a dayalı bir teknolojidir. Yöntem, hedef veya rastgele DNA'nın rastgele oligonükleotid primerlerle enzimatik amplifikasyonuna dayanmaktadır. Kullanılan primer için tamamlayıcı olan zıt iplikler üzerinde ters yönde iki kısa segment içeren bir genom bölgesinden türetilir ve DNA ipliğinde 5'→3' yönünde çalışır. Amplifikasyon ürünleri, etidyum bromür varlığında agaroz jellerde ayrılır ve ultraviyole ışık altında görüntülenmektedir (Jones vd., 1997). Bu yöntem ile az miktarda kalıp DNA'ya, daha az zamana ihtiyaç duyulması ve düşük maliyete gereksinim duyulması nedeniyle bazı yöntemlere göre daha çok tercih edildiği bildirilmektedir (Devos ve Gale, 1992). RAPD markörleri zaman ve maliyet bakımından tercih edilmelerine rağmen, dominant markör olmalarında dolayı verilerin yorumlanma zorluğu, kompleks olması ve zor tekrarlanabilir olmalarından dolayı bazı dezavantajlara sahiptir (Lavi vd., 1994). Hatta bazı durumlarda varyasyonun genetik ya da değişik mikroorganizma kökenli kontaminasyon ve amplifikasyon sırasında meydana gelen bir sorundan mı kaynaklandığının belirlenememesi bu markörlerin olumsuz yönlerindedir. RAPD-PZR yöntemi ile bitkilerde genetik varyasyonların araştırılması, bitkilerin genetik haritalarının

çıkarılması sağlanabilmektedir. Yapılan bir çalışmada RAPD tekniği, marulda varyasyon değerlendirmek ve germplazma koleksiyonlarındaki görünüşte yakından ilişkili popülasyon hatları arasındaki farklılıkları belirlemek için kullanılmıştır (Waycott and Fort 1994).

### **2.5.3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)**

AFLP yöntemi Vos ve arkadaşları tarafından 1995 yılında RAPD-PZR yönteminin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiştir. AFLP, PZR amplifikasyonu yoluyla restriksiyon enzimleriyle kesime uğrayan DNA'nın fragmentlerini tespit eden bir parmak izi tekniğidir. AFLP, genomik DNA'nın restriksiyon enzimleriyle kesime uğratılmasını, ardından kesime uğrayan bölgelerine tamamlayıcı olan sentetik adaptörlerin ligasyonunu ve nükleotid dizilişini de taşıyan başlatıcı DNA'lar (primerler) kullanımıyla nispeten spesifik DNA PZR yöntemi ile amplifikasyonunu içermektedir. Bu fragmentler, otoradyografik veya floresan metodolojileri yoluyla denatüre edici poliakrilamid jellerde görüntülenmektedir (Vos vd., 1995, Jones vd., 1997). Amplifikasyon işlemi iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak, her iki uçtan DNA kesim enzimlerinin tanıdığı diziden sonraki ilk nükleotide göre seçici amplifikasyon gerçekleştirilir. Daha sonra çoğaltılan diziden elde edilen parçaların kullanımıyla kesim enzimi tanıma yerinden sonraki ikinci ve üçüncü nükleotidler için seçici bölgelerden amplifikasyon gerçekleştirilir.

Tekniğin polimorfizm oranı çok yüksektir. Ayrıca düşük maliyet, daha az işgücü gereksinimi ve güvenilirliği yöntemin önemli avantajları arasında yer almaktadır. Çok sayıda lokusu aynı zamanda ve etkili bir şekilde taraması da yine önemli avantajları arasındadır. Ancak yöntemin baskın markörler vermesi ve farklı genetik haritalar arasında transferlerinin güç olması ise dezavantajlar meydana getirmektedir (Walton, 1993). AFLP yöntemi kullanılarak *Lactuca* türlerine ait üyeler ile yapılmış olan çalışmalar **Tablo 2.2.**'de verilmiştir. AFLP markörlerinin biyoçeşitlilik değerlendirmesi, germplazma koleksiyonlarının analizi, bireylerin genotipleme ve genetik uzaklık analizleri gibi genetik çalışmalarda kullanılmaktadır.

**Tablo 2.2.** AFLP yöntemi ile *Lactuca* türlerine ait üyelerle yapılan çalışmalar (Dziechciarkova vd., 2004)

Metot	<i>Lactuca</i> spp.	Çalışmanın amacı	Referanslar
RFLP	<i>L. sativa</i> (Calmar × Kordaat çaprazlama)	Marul genetik haritasının yapımı	Landry vd., (1987)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. indica</i>	Kültüre edilmiş ve birbiriyle ilişkili beş yabancı <i>Lactuca</i> türleri arasındaki ilişkiyi belirleyen çalışmalar	Kesseli vd., (1991)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. alpina</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. tatarica</i>	<i>Cichorium</i> türleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi ve <i>Lactuca</i> türleri	Vermeulen vd., (1994)
	<i>L. sativa</i> (Calmar × Kordaat çaprazlama)	<i>L. sativa</i> 'nın genetik haritasının yapımı	Kesseli vd., (1994)
RAPD	<i>L. sativa</i> (Calmar × Kordaat çaprazlama)	<i>L. sativa</i> 'nın genetik haritasının yapımı	Kesseli vd., (1994)
	<i>L. sativa</i>	12 marul ( <i>L. sativa</i> ) çeşidindeki DNA polimorfizmleri, 21 rastgele RAPD primeri ile amplifikasyonları yapılarak incelenmesi	Yamamoto vd., (1994)
AFLP	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. indica</i>	<i>Lactuca</i> spp'de genetik ilişkileri incelemek.	Hill vd., (1996)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. saligna</i>	<i>L. sativa</i> × <i>L. saligna</i> F2 popülasyonuna dayalı entegre türler arası AFLP haritası.	Jeuken vd., (2001)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. dregeana</i> , <i>L. altaica</i> , <i>L. aculeata</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. tenerrima</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. tatarica</i> , <i>L. sibirica</i> , <i>L. quercina</i> , <i>L. viminea</i> , <i>L. indica</i>	<i>Lactuca</i> spp.'de tür ilişkilerinin incelenmesi	Koopman vd., (2001)

**Tablo 2.2. (Devam)** AFLP yöntemi ile *Lactuca* türlerine ait üyelerle yapılan çalışmalar (Dziechciarkova vd., 2004)

Mikrosatellitler	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. indica</i>	SAMPL yöntemiyle <i>L. Sativa</i> ve yabani türler arasındaki genetik lokalizasyon ve alellik çeşitliliğinin tanımlanması	Witsenboer vd., (1997)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i>	Marul çeşitlerinde ( <i>L. sativa</i> ) çeşit tanımlama ve ekili marul ile yabani akrabalar arasında ayırım yapma	Van de Wiel vd., (1998)
	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. virosa</i>	Marul çeşitlerinin ayırt edilmesi ve genetik kaynakların çeşitliliğinin taranması	Van de Wiel vd., (1998)
ITS-1 DNA dizisi	<i>L. sativa</i> , <i>L. serriola</i> , <i>L. aculeata</i> , <i>L. dregeana</i> , <i>L. saligna</i> , <i>L. altaica</i> , <i>L. virosa</i> , <i>L. tenerrima</i> , <i>L. perennis</i> , <i>L. tatarica</i> , <i>L. sibirica</i> , <i>L. quercina</i> , <i>L. viminea</i> , <i>L. indica</i> Diğer ilgili türler: <i>Mycelis muralis</i> , <i>Steptorhampus tuberosus</i> , <i>Cicerbita plumieri</i> , <i>C. alpina</i> , <i>Prenanthes purpurea</i> , <i>Chondrilla juncea</i> , <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Sonchus asper</i> , <i>Cichorium intybus</i>	<i>Lactuca</i> türleri ve ilgili cinsler arasındaki filogenetik ilişkiler; <i>L. altaica</i> 'nın spesifikasyon pozisyonu; <i>Lactuca</i> cinsinin sınırlandırılması, <i>Cichorium</i> 'un taksonomik konumu	Koopman vd., (2001)

#### 2.5.4. Mikrosatellitler (Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm)

Basit dizi tekrarları (SSR) olarak bilinen mikrosatellitler, genom boyunca dağılmış yüksek frekansta bulunan 1-6 nükleotidin ardışık tekrar motifleridir. Örneğin (A)<sup>11</sup>, (GT)<sup>12</sup>, (ATT)<sup>9</sup>, (ATCG)<sup>8</sup>, (TAATC)<sup>6</sup> ve (TGTGCA)<sup>5</sup> şeklinde ifade edilmektedir. En yaygın SSR dizileri dinükleotid (AC)<sup>n</sup>, (AG)<sup>n</sup>, (AT)<sup>n</sup>, trinükleotid (TCT)<sup>n</sup>, (TTG)<sup>n</sup> veya tetranükleotid (TATG)<sup>n</sup> yapıdadır. Bir mikrosatellit lokusunun uzunluğu tipik olarak 5 ile 40 tekrar arasında değişir, ancak daha uzun tekrar dizileri mümkündür. Dinükleotid, trinükleotid ve tetranükleotid tekrarları, moleküler genetik çalışmaları için kullanılan en yaygın seçeneklerdir.

Mikrosatellitlerin birçok organizmada genom haritalaması için son derece değerli bir araç olduğu kanıtlanmıştır ve uygulamaları akrabalık analizinden popülasyon genetiğine ve biyolojik kaynakların korunması kadar farklı alanlara kullanımı yayılmıştır (Jarne and Lagoda 1996).

Mikrosatellitleri saran DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş bölgeleri içerdiklerinden farklı genotiplerde çakışan SSR'ların PZR ile amplifiye edilmesine izin vermektedir. Ardışık SSR tekrarlarının sayısındaki farklılık PZR sonrası farklı uzunlukta fragmentlerin oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Oluşan fragmentler yakın türler arasındaki tekrarlanan DNA dizilerinin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir (Gupta vd., 1994). SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak PZR yöntemi ile birlikte bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilmektedir. Alleller uzunluk bakımından farklılık gösterdiğinden, yüksek çözünürlüklü jel elektroforezi ile ayırt edilebilmektedir. Ancak PZR teknolojisi ile birlikte, mikrosatelit lokuslarını çevrelemesi için doğru işleyen primerlerin geliştirilmesi genellikle zahmetli ve maliyetli bir süreçtir (Liu and Cordes 2004).

SSR yönteminin önemli avantajları;

a. Bitki ıslahı, koruma biyolojisi ve popülasyon genetiği, adli tıp ve gen haritalama amacıyla kullanılır.

b. Yüksek kalitede olması gerekmeyen az miktarda DNA gerektirir.

c. Sonuçların yorumlanması kolaydır.

SSR yönteminin dezavantajlarına baktığımızda;

a. Amplifiye edilecek bilinen bir dizinin gerekliliği,

b. Yeni mikrosatellitleri geliştirmek pahalıdır ve zaman almaktadır.

## 2.6. Filogenetik Analiz Yöntemleri

Mesafe yöntemi bir filogenetik ağaç oluşturmak için bir dizide bulunan her bir dizi çifti arasındaki değişikliklerin sayısı ile işlem yapan bir yöntemdir. Minimum dizi değişikliğine sahip dizi çiftleri "komşular" olarak adlandırılır. Mesafe analizinde, aynı anda iki sekansı karşılaştırarak olası tüm sekans çiftlerinin matrisini oluşturmak için tek tek karşılaştırma yapmaktadır. Dizi çiftleri arasında belirlenen farklar ikili mesafeler olarak adlandırılır. Filogenetik ağaç oluşturmak için kullanılan en yaygın iki mesafe yöntemi Neighbor-Joining ve UPGMA'dir.

## **2.6.1. Mesafeye Dayalı Yöntemler**

### **2.6.1.1. Neighbor- Joining yöntemi**

Neighbor- Joining yöntemi evrimsel mesafe verileri için DNA ve protein dizileriyle filogenetik ağacın yeniden yapılandırılması amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Bu algoritmadaki amaç filogenetik ağacın dal uzunluklarını ve ağacın topolojisini oluşturmaktır. Bu yöntem maksimum olabilirlik yöntemleriyle kıyaslandığında en hızlı yöntemdir. Neighbor- Joining yöntemi yüzlerce hatta binlerce taksonu yani büyük dizi veri kümelerini analiz etmek için kullanılmaktadır.

### **2.6.1.2. UPGMA yöntemi**

UPGMA yöntemi bir mesafe metrisinden dendogram üretmeye dayalı hiyerarşik sınıflandırma yöntemine sadece aşağıdan yukarı bir yaklaşımdır. Bu dendogram, taksonlar arası hiyerarşik ilişkiyi gösteren bir diyagramı ifade etmektedir. UPGMA yöntemi ağacın dalları boyunca değişiklik hızının sabit olduğunu varsaymaktadır. Bu nedenle hesaplamaları yaparken ağacın kökünü de (root – ortak ata) hesaplamaktadır.

## **2.6.2. Karakter Tabanlı Yöntemler (Maximum Likelihood ve Parsimony Analizi)**

### **2.6.2.1. Maksimum olabilirlik (Maximum likelihood)**

Maksimum olabilirlik yöntemi, istatistiksel bir yöntemin parametrelerini tahmin etmek için kullanılan karakter tabanlı bir yöntemdir. Bu yöntem filogenetik ağaç oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu doğrultuda veriler DNA ya da protein dizilerini gözlemleyerek maksimum olabilirliği vermektedir. Yöntem, büyük oranda birbirinden uzaklaşan diziler grubu için uygun görülmektedir çünkü araştırmalarda evrim modeli seçimine olanak sağlamaktadır. Maksimum olasılık yönteminde öncelikli olarak filogenetik ağaç, hızlı optimal yöntem kullanılarak oluşturulur. Daha sonra, dal uzunlukları istenen evrim modeli altında ağaç topolojisi için veri setinin olabilirliğini en üst düzeye çıkarmak için ayarlamalar yapılmaktadır. Yöntemin dezavantajı ise analiz için çok sayıda dizinin ele alınması ve hesaplamalarının karmaşık olmasıdır. Ayrıca yüksek performanslı bilgi işlem sistemlerine ihtiyaç olması yöntemin olumsuz yönlerindedir.

### **2.6.2.2. Parsimony analizi**

Parsimony analizi, hizalanmış dizilerden filogenetik ağaçları oluşturmanın öncelikli yoludur. Bu yöntemde, ortak ata dizilerinden, dizilerdeki pragmatik varyasyonu üretmek için gereken sayısal adımları en aza indiren evrim ağacını oluşturmaktadır. PHYLIP programı maksimum parsimony yöntemi için en sık tercih edilen programdır.

### **2.6.3. Doğrulama Yöntemleri (Bootstrap ve Jackknife)**

Birbiriyle bağlantılı dizilerin filogenetik ilişkisini belirleme, daha uzak ilişkili dizilere göre daha kolaydır. Araştırmacılar dizi hizalaması ve filogenetik analiz için ne tür sekanslar gerektiğine ve sekans türüne göre çoklu dizi hizalama yaparak doğru hizalama sonuçları elde edebilirler. Bootstrap doğruluk ölçümlerinin gerçekleştirilmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Jackknife yöntemi ise, varyans tahmininde kullanılmaktadır ([http-2](#)).

### **2.7. Filogenetik Ağaç Oluşturken Kullanılan Araç ve Yazılımlar**

Filogenetik analizlerde ilk ve halen popüler olarak kullanılan başlıca yazılımlar PHYLIP ve PAUP'dur. PHYLIP; Windows, Mac ve Linux işletim sistemlerinde filogenetik analizler için kullanılan ücretsiz bir yazılım programıdır. PAUP ise Windows ve Linux sistemlerinde kullanılan bir yazılım programıdır. MrBayes, istatistiksel olarak filogenetik analizleri çıkarmada kullanılmaktadır. PHYML, filogenetik ağaç oluşturmak amacıyla kullanılan web arayüzüdür ve filogenetik ağacı tahmin etmek için DNA ve protein dizilerini hızlı ve doğru tahmin etmek için kullanılır (Guindon vd., 2005). MEGA, tüm işletim sistemlerine indirilebilen bir program olup DNA ve protein dizilerini analiz edebilmektedir ([http-3](#)).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyaller ve kaynakları, standart bileşenler, kimyasal maddeler, çözücüler, reaktifler, gereçler ve yöntemler sunulmuştur.

#### 3.1. Bitki Materyalleri

Bu çalışma için Dikmen Fide ve Tarım Şirketi'nden alınan toplam 23 *Lactuca sativa* genotipi kullanılmıştır.



**Görsel 3.1.** Bu çalışmada kullanılan genotiplerin yetiştiği tarla (Dikmen Fide ve Tarım Şti.)

Kullanılan *Lactuca sativa* genotipleri, Dikmen Tarım'ın kendi örneklerinden ve ıslah hatları koleksiyonundan, Türkiye genelinde yetiştirilen *Lactuca sativa* var *longifolia* genotiplerinden, Enza Zaden Tohum Şirketi'nden ve Syngenta AG Tarım şirketinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bitki materyalleri ve kaynakları **Tablo 3.1'** de verilmiştir. *Lactuca sativa* genotiplerine ait bazı örnekler **Görsel 3.2, 3.2, 3.4** ve **3.5.**'te gösterilmektedir.

**Tablo 3.1.** Analiz edilen *Lactuca sativa* katılım listesi

No	Genotip	Latince ismi	Kaynak
1	Sürpriz	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
2	Funfix	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	SYNGENTA AG
3	Funtime	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	SYNGENTA AG
4	Festival	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM

**Tablo 3.1. (Devam)** Analiz edilen *Lactuca sativa* katılm listesi

5	Armoni	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
6	Rüzgâr	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
7	Yedikule	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>longifolia</i>	DİKMEN TARIM
8	Eskule	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>longifolia</i>	DİKMEN TARIM
9	Maritima	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	ENZA ZADEN
10	M45B	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
11	M46B	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
12	M47	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
13	M63	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
14	M155	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
15	M162	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
16	M182	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
17	M187	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
18	M194	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
19	M199	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
20	M241	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
21	M242	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
22	M259	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM
23	M274	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	DİKMEN TARIM



**Görsel 3.2.** *Sürpriz*



**Görsel 3.3. Armoni**



**Görsel 3.4. Festival**



**Görsel 3.5. Eskule**



Görsel 3.6. *M46*

### 3.2. Genotiplerin DNA İzolasyonu

Marul örneklerinden genomik DNA izolasyonu ticari bir kit (Plant Genomic DNA Miniprep Sistemi, Viogene) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon için serada yetiştirilen üç haftalık bitkilerin taze genç yaprakları kullanılmıştır. Öncelikli olarak buz kabının içerisine 24 adet 1,5 ml'lik Eppendorf tüpü yerleştirilerek kapakları örneklerin isimleriyle numaralandırılmıştır. Numaralandırılan Eppendorf tüplerinin içerisine birer adet metal bilye eklenmiştir. Seradan toplanan her bir örnekten 20'şer mg tartılarak Eppendorf tüplerinin içerisine konulmuştur ve tekrar birer adet metal bilye eklenmiştir. Lizis işlemi için her bir tüpe 400  $\mu$ L Lizis Buffer (PX1 Tampon) eklenmiştir. Daha sonra örnekler Qiagen markalı Tissue Lyser II cihazında 1 dakika boyunca parçalanmıştır. Parçalama işleminden sonra Eppendorf tüplerinin içerisine 4  $\mu$ L RNAase eklenerek 10 saniye boyunca 2200 devirde vortekslenmiştir. Vortekslenen örnekler presipitasyon işlemi için önceden hazırlanmış 65 °C deki su banyosuna 30 dakika bırakılmıştır. Su banyosundan alınan örneklere 130  $\mu$ L PX2 Buffer eklenerek 10 saniye süresince 2200 devirde vortekslenmiş ve daha sonra 5 dakika buz kabı içerisinde inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra Eppendorf tüplerindeki örneklerden 500  $\mu$ L alınarak Lizat

Sharing (kit) tüplerine aktarılmıştır. Tüpler 13600 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve kolonun altında kalan kısım yeni Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Tüplere 250 µl PX3 Buffer ve 500 µl %90'lik etanol eklenmiştir. Tüpler 3-5 defa el ile ters düz edilerek karıştırılmıştır. Örneklerden 650 µl alınarak DNA mini kolonlara aktarılmıştır. Daha sonra tüpler 1 dakika boyunca 10000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Kolonun altında kalanlar atılarak, tekrar 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Yıkama işlemi için kolona 700 µl Washbuffer eklenerek 13600 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve kolon altında kalanlar tekrar atılmıştır. Bu işlem 2 kez gerçekleştirilmiştir. Kolonda kalan örnekler yeni 1,5 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Önceden 65° C sıcaklığa getirilmiş olan saf sudan 200 µL tüplere eklenerek 5 dakika beklenmiştir. Son olarak DNA'ları ayırmak amacıyla 2 dakika boyunca 10000 rpm'de santrifüj işlemi yapılarak izole edilen DNA'lar -20° C'de saklanmıştır.



**Görsel 3.7.** DNA izolasyonunda kullanılan tampon çeşitleri

### **3.3. DNA Miktarı ve Saflık Derecesinin Belirlenmesi**

DNA miktarını ve saflık derecesini belirlemek amacıyla Biospec-nano Life Science Spektrofotometresi kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminden elde edilen DNA örneklerinden 1'er µL alınarak cihazda ölçümleri gerçekleştirilmiştir ve kör olarak saf su kullanılmıştır. Saflık değer aralıkları 1.8-2.0 nm olan örnekler PZR reaksiyonları için kullanılmıştır.

### 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Hong ve arkadaşlarının 2015 yılında kullandıkları yöntemle göre DNA izolasyonu gerçekleştirilen 23 adet *L. sativa* genotipinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile amplifikasyonları yapılmıştır. Çalışmada her bir *L. sativa* genotipi için 14 farklı primer seti kullanılmıştır. Kullanılan primer setleri **Tablo 3.2.**' de verilmektedir.

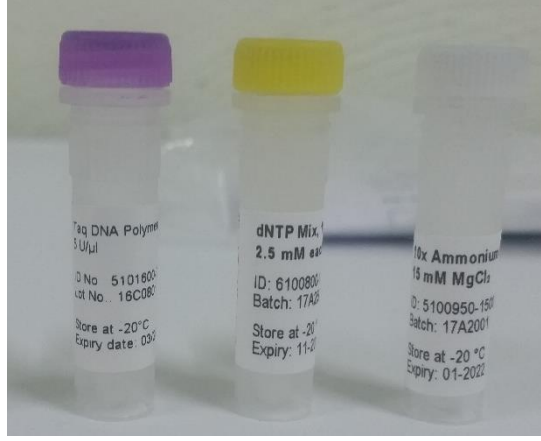
**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan primer setleri

No	Primer	İleri Primer Dizileri (P <sub>F</sub> )	Geri Primer Dizileri (P <sub>R</sub> )
1	SML-028	TGATCCAGGCTCTCCAGAAT	CACGACCATGAATGATAAGTGC
2	SML-002	GTGATTGCATGCCAAATGAA	TTAGTAGCCCGCATGCTTTT
3	SML-022	GGGCCTCAAATCCTCTCTG	TGTTCTTCCCCTCTTTGGAA
4	SML-039	ATTACCCCTGGCCTTATGCT	TCGTATCTTGGCTGCTCCAT
5	SML-057	TCCCATGATGGAGAGACTCA	CCCAAAAGGGAATAGCAACC
6	KSL-92	GGTCTCTTTCCTCTGCCCTG	TCGCGTTCTGAAGTAGCCAT
7	KSL-97	CGCAGAAAAGGGATCAGACA	TCAGAGACACTGCAAAAGGGA
8	KSL-119	TTCGACTCGTCTTCGACGC	CGATGTCACACCACCCATCT
9	KSL-123	ATTGTAACCTTCTGCGGGCT	GCCTCACATGTTCTTCCCCT
10	KSL-137	TTCTCTGAGCTTCACAAGAGGG	TCATCACCATCATCATTTC
11	KSL-173	ATAGTCACGACTCACGCCA	CCATTTTCTCTTTCTGCGA
12	KSL-7	TGCTCAATCTCGAGCTTATCCT	ATGTGCCACACAAGGAAGACA
13	KSLC-322	CTCCTCCGGGAAACTATGGA	TCTCCAACACAACACCCACC
14	KSL-271	ACAAAGGCAAGATTGGGTCA	GCGGATATGCAGCCATAACA

Çalışmada kullanılan PZR bileşenlerinin özellikleri ve görselleri **Tablo 3.3. ve Görsel 3.8.**' de verilmiştir.

**Tablo 3.3.** Reaksiyon bileşenleri

İçerik	1x Miktar
ddH <sub>2</sub> O	9,5 µl
10X Buffer	1,5 µl
dNtp	1 µl
İleri Primer	1 µl
Geri Primer	1 µl
Taq Polimeraz	0,17 µl
Kalıp DNA	2 µl



**Görsel 3.8.** Kullanılan reaksiyon bileşenleri

PZR bileşenleri son hacimleri 20 µL olarak şekilde her bir *L. sativa* genotipi için ayrı PZR tüpünde hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler PZR cihazına yerleştirilmeden önce kısa bir süre santrifüj edilerek cihaza konulmuştur. 23 genotipin amplifikasyonu **Tablo 3.4.**'te verilen reaksiyon koşullarına göre Thermo Thermal Cycler (Tc-5000) cihazında (**Görsel 3.9.**) gerçekleştirilmiştir.



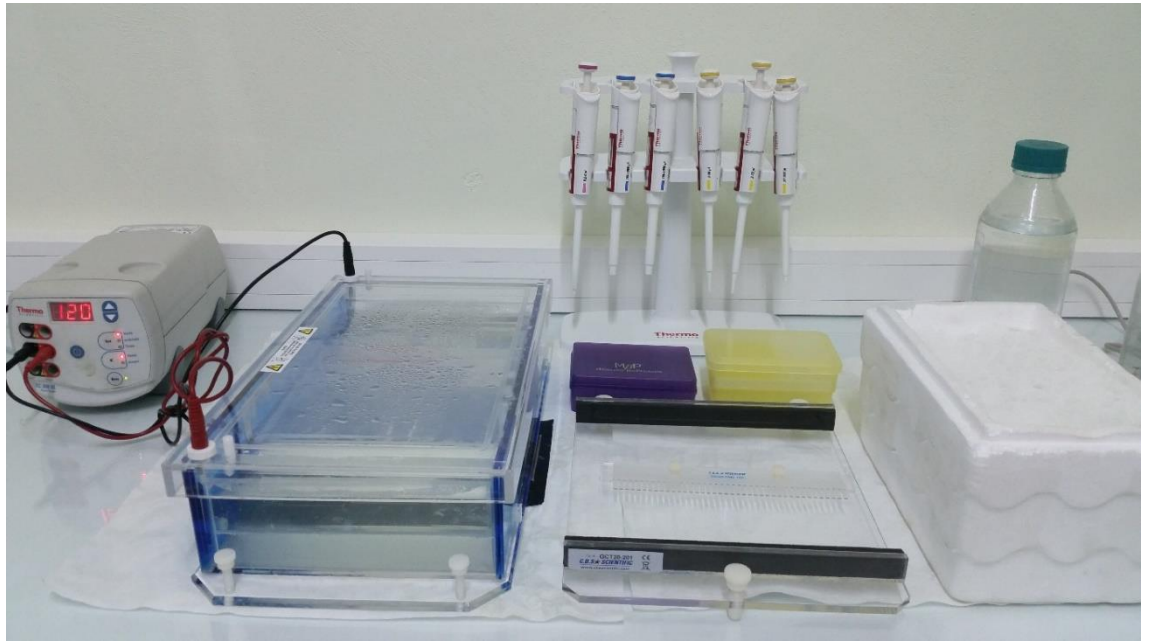
**Görsel 3.9.** Kullanılan PZR cihazı

**Tablo 3.4.** Programın reaksiyon koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
94 °C	4 dk.	1
94 °C	30 sn.	
55-58 °C	30 sn.	35
72 °C	45 sn.	
72 °C	6 dk.	1

### 3.5. Agaroz Jel Elektrofrez

PZR ürünleri %3'lük agaroz jel hazırlanarak UV veren transillüminatörde (Biolab Uvitec) gözlemlenmiştir. %3'lük agaroz jelin hazırlanması için 5,4 g agaroz tartılarak 190 mL TBE tamponuna eklenerek mikrodalga fırında homojen olarak çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra 6 µL RedSafe™ (20,000x) boyası eklenmiştir. Ardından jel tablaya dökülerek polimerleşmesi amacıyla 30 dakika beklenmiştir. Jelde oluşturulan kuyucuklara 6 µL PZR ürünü yükleme boyası ile karıştırılarak yüklenmiştir. PZR ürünlerinin boyutunu belirleyebilmek için Thermo Scientific Gene Ruler 100 bp Plus DNA Ladder kullanılmıştır. PZR ürünleri 120 V 300 amperde 150 dakika yürütülmüştür. Sonrasında jel, 312 nm dalga boyunda UV veren transillüminatör (Biolab Uvitec) ile incelenmiştir.



**Görsel 3.10.** Kullanılan elektroforez cihazı

### 3.6. *Lactuca sativa* Verilerinin Değerlendirilmesi

*Lactuca sativa* DNA örneklerinin PZR görüntülenmesi işlemi için QUANTUM ST4 programı kullanılmıştır. Bant görüntüleri kaydedilmiş ve elde edilen verileri sayısal değerlere çevirmek için GeneTools otomatik görüntü analiz programına yüklenmiştir. Bu program üzerinde hatalı bant görüntüleri temizlenmiş ve oluşturulan verilere bakılarak polimorfizm durumuna göre 0 (yok) veya 1 (var) olarak elektronik tabloya aktarılarak derecelendirilmiştir. Elde edilen genetik uzaklık değerleri UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) yöntemiyle gruplandırılmış ve oluşturulan kodu dendograma çevirmek için MEGA7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets) programına yüklenmiştir.



## 4. BULGULAR

Bu çalışmada Dikmen Fide ve Tarım Şirketi'nden (Söğüt/Bilecik) alınan toplam 23 *Lactuca sativa* genotipi kullanılmıştır. Dikmen Tarım'ın kendi üretimi olan örneklerden 4 tür (Sürpriz, Festival, Armoni, Rüzgâr) ve ıslah hatları koleksiyonundan 14 *Lactuca sativa* türü (M45B, M46B, M47, M63, M155, M162, M182, M187, M194, M199, M241, M242, M259, M274) ve 2 adet Türkiye genelinde yetiştirilen *Lactuca sativa* var. *longifolia* (Yedikule ve Eskule) örneklerinden alınmıştır. 1 adet *Lactuca sativa* örneği (Maritima) Enza Zaden Tohum Şirketi'nden ve 2 adet örnek (Funfix ve Funtime) Syngenta AG Tarım Şirketi'nden temin edilmiştir. Şirketler tarafından üretilen ve ıslah sonucu verimli kabul edilen *Lactuca sativa* genotipleri, tüm Türkiye'de yetiştirilen ve üretilen türlerden olup bu türlerin genetik ilişkileri SSR markörleri kullanılarak araştırılmıştır.

### 4.1. DNA İzolasyonu ve Spektrofotometrik Ölçümler

Yapılan moleküler analizlerde ıslah çalışmaları sonucunda elde edilen 23 *Lactuca sativa* genotipi kullanılmıştır. Materyallerin genç yaprakları toplanarak DNA izolasyonu yapılmış ve izole edilen DNA'ların saflık ve miktar tayinleri Bio-Spec-nano MicroVolume spektrofotometrede ölçülerek ve **Tablo 4.1.**'de gösterilmiştir. Nükleik asitler ışığı en iyi 260-280 nm boyunda absorbe ettiklerinden, ölçümler bu dalga boyunda yapılmıştır. Bu dalga boydaki ölçümler DNA'nın saflığını yani kalitesini göstermektedir.

**Tablo 4.1.** Tez çalışmasında kullanılan *Lactuca sativa* genotiplerinden elde edilen DNA'ların saflık ve miktarları

No	Genotip	DNA Miktarı (ng/µL)	Saflık (A <sub>260/280</sub> )
1	Sürpriz	324,61	1,86
2	Funfix	168,5	1,88
3	Funtime	79	1,88
4	Festival	101,83	1,91
5	Armoni	139,78	1,91
6	Rüzgâr	102,218	1,9
7	Yedikule	150,04	1,92
8	Eskule	178,09	1,86
9	Maritima	70,89	1,88
10	M45-B	343,5	1,86
11	M46-B	196	1,82
12	M47	335,7	1,83
13	M63	344	1,83

**Tablo 4.2.(Devam)** Tez çalışmasında kullanılan *Lactuca sativa* genotiplerinden elde edilen DNA'ların saflık ve miktarları

14	M155	306	1,83
15	M162	176	1,87
16	M182	151,97	1,82
17	M187	109	1,8
18	M194	204	1,83
19	M199	156	1,83
20	M241	159,7	1,86
21	M242	264	1,85
22	M259	84,5	1,89
23	M274	192	1,85

Başarılı bir DNA izolasyonu için DNA'nın saflık miktarı ve DNA'nın kullanılabilir oluşu ölçülmektedir. Kaliteli bir DNA saflığının 1,8-2,0 arasında olması istenmektedir. İzolasyon sonrası elde edilen DNA saflığının 2,0'den fazla olması örneğin RNA, fenol ya da kloroform ile kirli olduğunu göstermektedir. Saflık değerinin 1,6 değerinden düşük olması durumunda ise DNA örnekleri içerisinde protein ya da fenolik bileşik olduğunu göstermektedir. Çalışmada kullanılmış olan *Lactuca sativa* genotiplerine ait DNA'lar incelendiğinde saflık miktarları 1,80-1,92 ng/ $\mu$ L arasında değişmiştir.

## 4.2. SSR Analizleri

### 4.2.1. SSR markörleri kullanılarak polimorfizmlerin değerlendirilmesi

Yirmi üç *Lactuca sativa* genotipinin katılımının genetik çeşitliliğini değerlendirmek için 14 SSR primeri kullanılmıştır. Primer çiftleri daha önce yayınlanmış olan makalelerden (Jee-Hwa Hong, Yong-Sham Kwon vd., 2015; Michaela Jemelková Miloslav Kitner vd., 2015; Simko, 2009) yüksek polimorfizmi ve yüksek amplifikasyon kalitesi temelinde seçilmiştir. Bu primer setlerin dizileri Tablo 2'de gösterilmektedir.

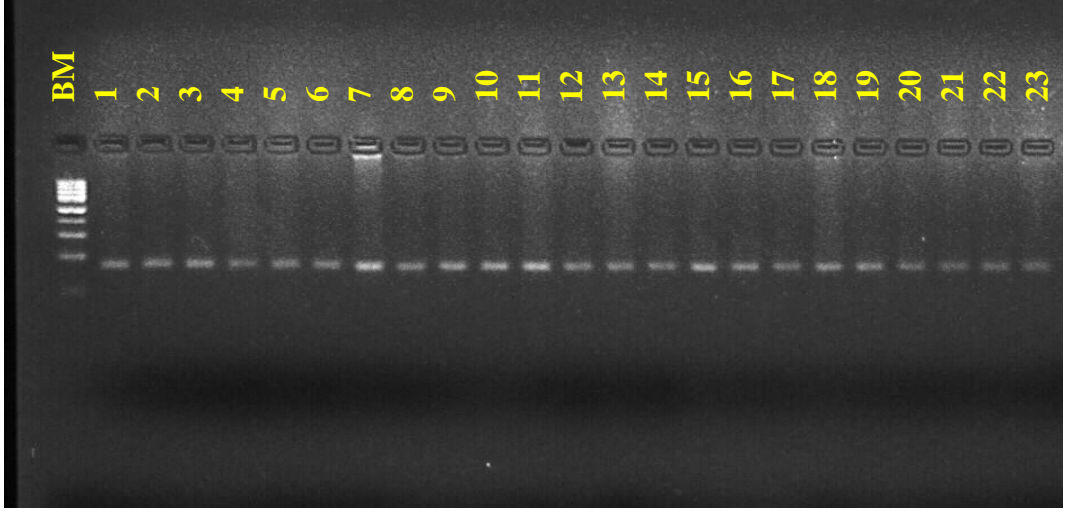
Bu çalışmada, daha önce yapılmış olan (Jee-Hwa Hong vd., 2015) çalışmasından referans alınarak primerlerin PZR da bağlanma sıcaklıkları 55 °C de bağlanmış fakat en net görüntüler farklı sıcaklıklarda denenerek elde edilmiştir. Uygulanmış olan bağlanma sıcaklıkları **Tablo 4.2.**'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** Kullanılan 14 SSR primeri ve özellikleri (Jee-Hwa Hong vd., 2015)

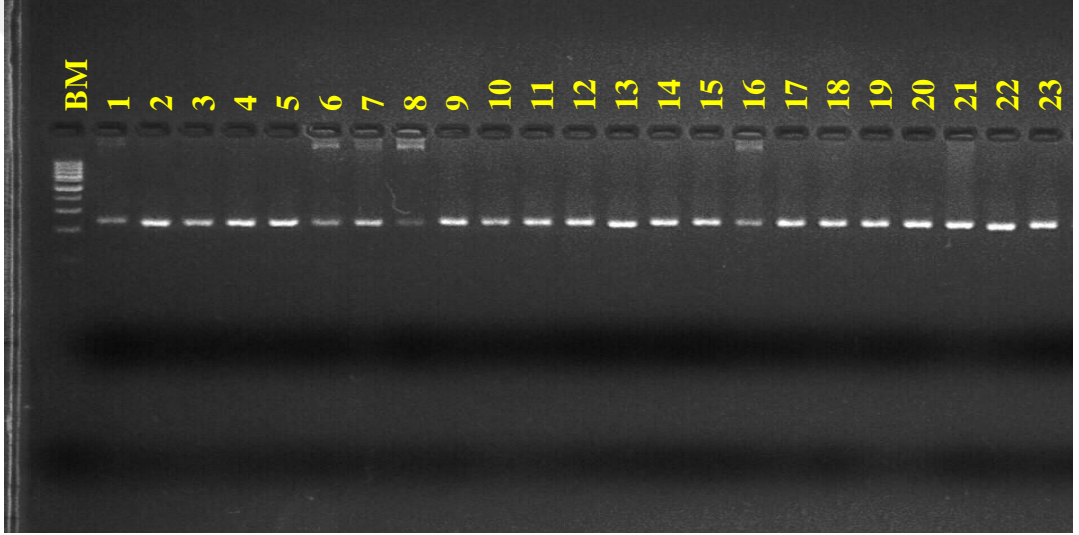
Primer	Primer dizisi (5'-3')	Bağlanma (Annealing) Sıcaklığı (°C)
KSL-092	F: GGTCTCTTTCCTCTGCCCTG R: TCGCGTTCTGAAGTAGCCAT	58°C
KSL-097	F: CGCAGAAAAGGGATCAGACA R: TCAGAGACACTGCAAAAGGGA	58°C
KSL-119	F: TTCGACTCGTCTTCGACGC R: CGATGTCACACCACCCATCT	57,5°C
KSL-123	F: ATTGTAACCTTCTGCGGGCCT R: GCCTCACATGTTCTTCCCCT	57,5°C
KSL-137	F: TTCTCTGAGCTTCACAAGAGGG R: TCATCACCATCATCATTTCCC	58°C
KSL-173	F: ATAGTCACGACTCACGCCCA R: CCATTTTCCTCTTTCTGCGA	58°C
KSL-271	F: ACAAAGGCAAGATTGGGTCA R: GCGGATATGCAGCCATAACA	57°C
KSL-322	F: CTCCTCCGGGAAACTATGGA R: TCTCCAACACAACACCACC	57°C
KSL-7	F: TGCTCAATCTCGAGCTTATCCT R: ATGTGCCCAACAAGGAAGACA	57°C
SML-002	F: GTGATTGCATGCCAAATGAA R: TTAGTAGCCCGCATGCTTTT	55,7°C
SML-022	F: GGGCCTCAAATCCTCTCTG R: TGTCTTCCCCTCTTTGGAA	55,7°C
SML-028	F: TGATCCAGGCTCTCCAGAAT R: CACGACCATGAATGATAAGTGC	58°C
SML-039	F: ATTACCCCTGGCCTTATGCT R: TCGTATCTTGGCTGCTCCAT	57°C
SML-057	F: TCCCATGATGGAGAGACTCA R: CCCAAAAGGGAATAGCAACC	57°C

#### 4.3. PZR Analizi Sonuçları

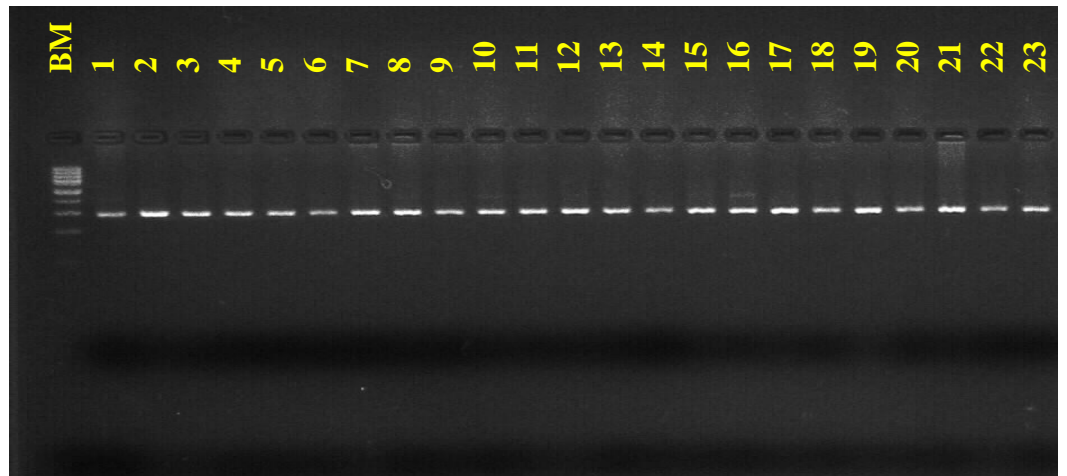
PZR işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen örnekler elektroforez yöntemi ile analiz edilmiş ve görüntülenmiştir. Çalışmada kullanılan 23 *Lactuca sativa* genotipine ait temsili agaroz jel görüntüleri **Görsel 4.1.**, **Görsel 4.2.**, **Görsel 4.3.**, **Görsel 4.4.**, **Görsel 4.5.** ve **Görsel 4.6'** da verilmiştir.



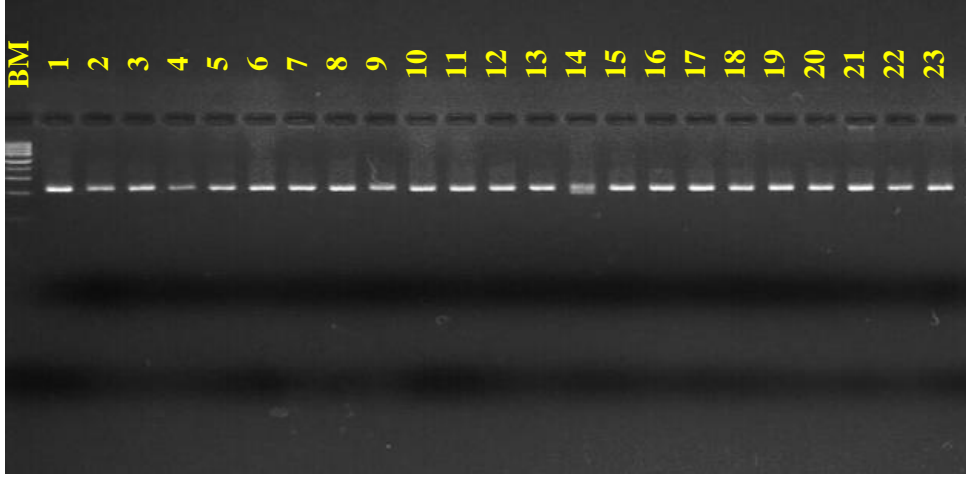
**Görsel 4.1.** *Ksl-173* elektroforez görüntüsü



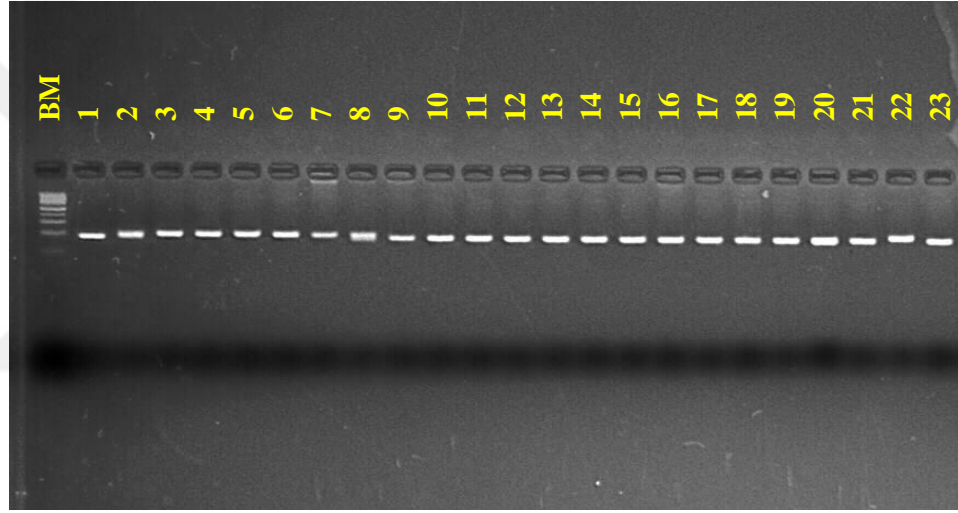
**Görsel 4.2.** *Ksl-271* elektroforez görüntüsü



**Görsel 4.3.** *Ksl-322* elektroforez görüntüsü



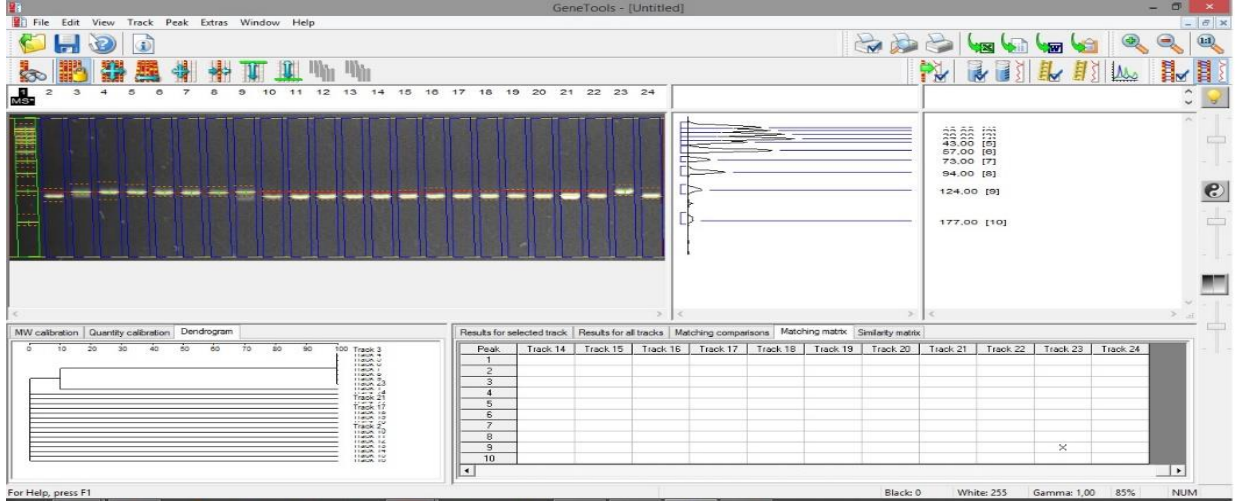
**Görsel 4.4.** *Sml-002* elektroforez görüntüsü



**Görsel 4.5.** *Sml- 022* elektroforez görüntüsü

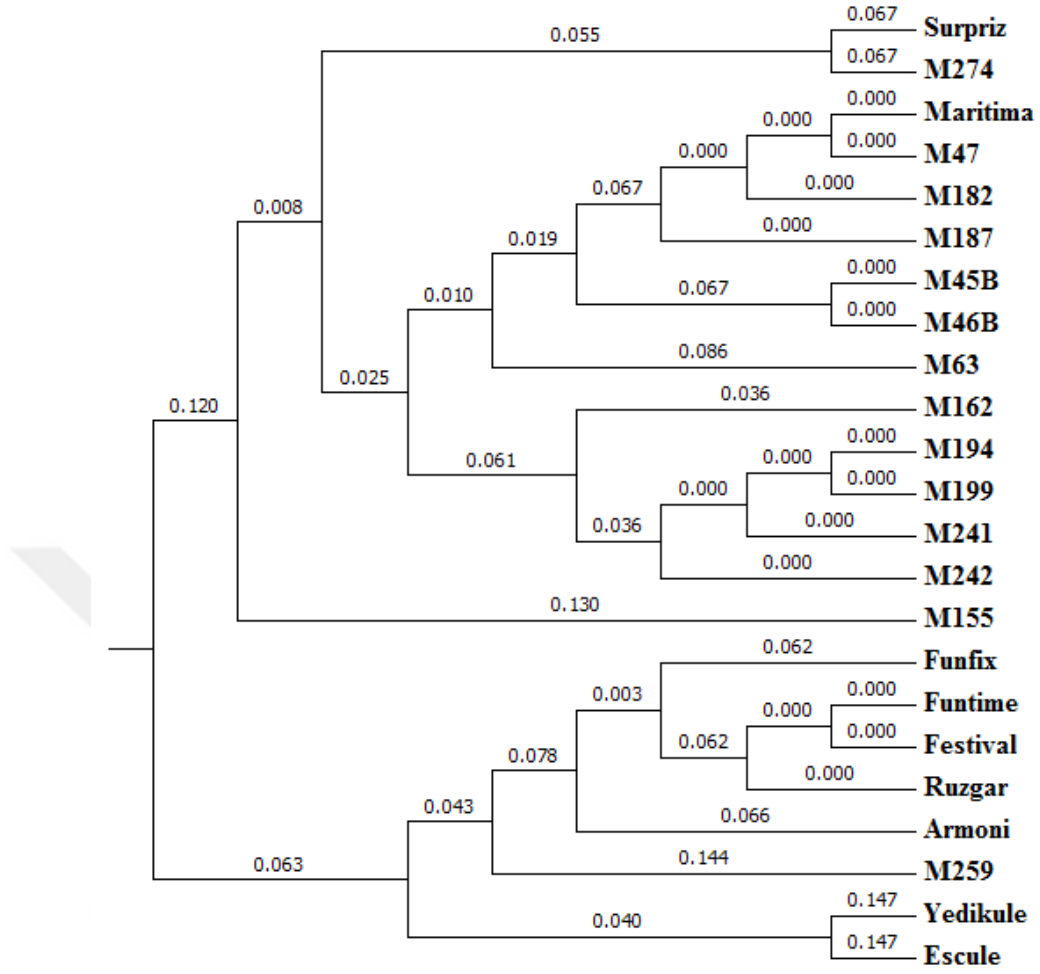
#### **4.4. Veri analizleri**

Çalışmada kullanılmış olan *Lactuca sativa* genotiplerinin PZR görüntülenmesi QUANTUM ST4 programında sağlanmıştır. Jel görüntüleme işleminden sonra elde edilen veriler bantların yerlerini belirleyerek sayısal veriye çevirmek için GeneTools otomatik görüntü analiz programına yüklenmiştir.



**Görsel 4.6.** SML-022 primerine ait PZR sonucunun GeneTools programında görüntülenmesi

Tez çalışmasında kullanılan *L. sativa* genotiplerine ait genetik farklılaşmaların görsel bir grafikte görülmesi için genetik mesafe değerleri UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) kümelendirme yöntemi ile sınıflandırılmıştır. UPGMA ile oluşturulan kodu dendograma çevirmek için MEGA7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets) programından yararlanılmıştır.



**Görsel 4.7.** Toplam 23 adet *Lactuca sativa* genotipinin 14 SSR ile amplifikasyonu sonucu elde edilen UPGMA soyağacı

UPGMA yöntemine göre türler arası akrabalık derecesini belirten dendogramın incelenmesi sonucunda *Lactuca sativa* genotipleri iki ana grup altında toplanmıştır. Grup 1; Sürpriz, M274, Maritima, M47, M182, M187, M45B, M46B, M63, M162, M194, M199, M241, M242, M155 genotiplerinden oluşmaktadır. Grup 2 ise Funfix, Funtime, Festival, Rüzgâr, Armoni, M259, Yedikule ve Eskule genotiplerinden oluşmaktadır. Yapılan çalışma boyutunda iki ana grup ve varyeteler arasında genetik farklılıklar saptanmıştır. Yapılan çalışma doğrultusunda iki ana grup arasında %12 farklılık tespit edilmiştir. Varyeteler arasında ise beklenildiği üzere göbekli marulların (Yedikule ve Eskule varyeteleri) genetik olarak daha uzak akrabalar olduğu belirlenmiştir.

	Surpiz	Furfix	Furtime	Festival	Amoni	Ruzgar	Yedikule	Escule	Maritima	M45B	M46B	M47	M63	M155	M162	M182	M187	M194	M199	M241	M242	M259	M274
Surpiz	0 0.571	0.600	0.600	0.667	0.600	0.727	0.619	0.353	0.250	0.250	0.353	0.353	0.389	0.200	0.353	0.353	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.526	0.133
Furfix		0 0.125	0.125	0.125	0.125	0.421	0.368	0.333	0.421	0.421	0.333	0.421	0.450	0.474	0.333	0.333	0.421	0.421	0.421	0.421	0.421	0.333	0.500
Furtime			0 0.000	0.133	0.000	0.444	0.294	0.353	0.444	0.444	0.353	0.444	0.474	0.500	0.353	0.353	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.250	0.526
Festival				0 0.133	0.000	0.444	0.294	0.353	0.444	0.444	0.353	0.444	0.474	0.500	0.353	0.353	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.250	0.526
Amoni					0 0.133	0.353	0.389	0.444	0.526	0.526	0.444	0.526	0.550	0.579	0.444	0.444	0.526	0.526	0.526	0.526	0.526	0.353	0.600
Ruzgar						0 0.444	0.294	0.353	0.444	0.444	0.353	0.444	0.474	0.500	0.353	0.353	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.250	0.526
Yedikule							0 0.294	0.667	0.727	0.727	0.667	0.727	0.739	0.650	0.667	0.667	0.600	0.600	0.600	0.600	0.600	0.444	0.667
Escule								0 0.550	0.619	0.619	0.550	0.619	0.636	0.526	0.550	0.550	0.474	0.474	0.474	0.474	0.294	0.550	
Maritima									0 0.133	0.133	0.000	0.133	0.188	0.200	0.000	0.000	0.133	0.133	0.133	0.133	0.133	0.526	0.250
M45B										0 0.000	0.133	0.250	0.188	0.312	0.133	0.133	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.600	0.133
M46B											0 0.133	0.250	0.188	0.312	0.133	0.133	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.600	0.133
M47												0 0.133	0.188	0.200	0.000	0.000	0.133	0.133	0.133	0.133	0.526	0.250	
M63													0 0.294	0.200	0.133	0.133	0.250	0.250	0.250	0.250	0.444	0.353	
M155														0 0.353	0.188	0.188	0.294	0.294	0.294	0.294	0.619	0.294	
M162															0 0.200	0.200	0.071	0.071	0.071	0.071	0.412	0.200	
M182																0 0.000	0.133	0.133	0.133	0.133	0.526	0.250	
M187																	0 0.133	0.133	0.133	0.133	0.526	0.250	
M194																		0 0.000	0.000	0.000	0.444	0.133	
M199																			0 0.000	0.000	0.444	0.133	
M241																				0 0.000	0.444	0.133	
M242																					0 0.444	0.133	
M259																						0 0.526	
M274																							0

**Görsel 4.8.** UPGMA ile hesaplanan uzaklık matrisi sonuçları

## 5. SONUÇLAR

Dünya nüfusunun hızla büyümesiyle birlikte meydana gelen beslenme sorunu, küresel ısınma ve iklim değişikliğiyle ortaya çıkan çeşitli sorunlar bitki genetik kaynaklarının önemini ortaya koymaktadır. Hızla artan dünya nüfusunun gıda gereksinimleri daha verimli çeşitler geliştirilerek karşılanmaktadır (Rao ve Hodgkin, 2002; Güleç vd., 2010).

Genetik çeşitliliğin bitkilerde nesiller boyunca sürdürülebilmesi açısından kullanılan bitki gen kaynakları ve gen havuzları oldukça kritik öneme sahiptirler. Bitki genetik kaynaklarının tarımsal ve ekonomik açıdan değer kazanabilmesi ve çeşitli ürünlerin ve özelliklerin elde edilmesinde kullanılabilmesi amacıyla doğru ve uygun tekniklerle değerlendirilmesi gerekmektedir.

1990'lı yıllardan beri klasik ıslah yöntemlerinin yanı sıra moleküler çalışmalar da hız kazanmıştır. Moleküler ve biyoteknolojik ıslah yöntemleri istenilen amaca uygun yeni ve verimli ürünlerin elde edilmesini mümkün kılmaktadır (Bradshaw, 2017). *Lactuca sativa*, günümüzde tüm Dünyada üretimi yapılan ve tüketilen önemli bir sebzedir. Türkiye' de yetiştiriciliği yapılan yerlerde yıllar boyunca üreticiler tarafından yapılan seleksiyonlar ve çalışmalar sonucu çok sayıda popülasyonlar oluşturulmuştur. Islah açısından önemli genetik potansiyele sahip bu popülasyonların belirlenmesi, genetik çeşitliliğinin artırılmasını ve daha verimli, kaliteli türler elde edilmesini sağlamaktadır.

Karmaşık ve maliyetli olan ıslah sistemleri, marul ıslahının süresini uzatmakla birlikte ıslah çalışmalarını da zorlaştırmaktadır. Bu nedenle moleküler ve biyoteknolojik yöntemler ıslah sürecinin hızlandırılmasında zorunluluk haline gelmiştir. Yeni çeşitlerinin orijinalliğini belirlemek için kullanılan moleküler yöntemler sayesinde daha sonra yapılacak olan ıslah çalışmalarına tanımlanmış ve özellikleri bilinen materyal sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır. Mikrosatellitler (SSR markörleri) bitki türlerinde çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerini belirlemek açısından büyük öneme sahiptir. Türler için geliştirilen SSR markörleri genetik çeşitliliği ve akrabalık ilişkilerini objektif bir şekilde ortaya koymakta birlikte bir tür için geliştirilmiş olan SSR markörleri yakın akraba türleri için de transfer edilebilir özelliktedirler.

İslah programlarında işleri kolaylaştırmak ve çeşit safiyet kontrolünü sağlamak amacıyla *Lactuca sativa*'da genotipler arası akrabalık ilişkilerini ve genetik çeşitliliği ortaya çıkarmak için bu çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmada, Türkiye'de yetişen ve ticari öneme sahip 23 *Lactuca sativa* türünün yetiştirildikten sonra toplanan yaprak örnekleri kullanılarak moleküler analizleri yapılmıştır. Yaprak örneklerinin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra DNA örnekleri kullanarak 14 SSR markörü ile uygun protokollere göre PZR analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir. Deneylelerden elde edilen jel görüntüleri Syngene GeneTools Programında analiz edilerek filogenetik ağaç Mega7 programına UPGMA algoritmasına göre çizdirilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda farklılıklar istatistiki olarak %95 duyarlılığında anlamlı kabul edilmiştir ve uzaklık matriksinde görülmektedir. Yapılan çalışmaya göre 23 genotip, 2 ana grupta toplanmıştır. İlk grupta Sürpriz, M274, Maritima, M47, M182, M187, M45B, M46B, M63, M162, M194, M199, M241, M242, M155 bulunmuştur. İkinci grupta Funfix, Funtime, Festival, Rüzgâr, Armoni, M259, Yedikule ve Eskule yer aldığı ortaya konmuştur. Yapılan çalışma boyutunda iki ana grup ve varyeteler arasında genetik farklar saptanmıştır. İki ana grup arasında yapılan çalışma doğrultusunda %12 farklılık tespit edilmiştir. Varyeteler arasında ise beklenildiği üzere göbekli marullar (Yedikule ve Eskule varyeteleri) genetik olarak daha uzak olarak belirlenmiştir.

İleride yapılacak olan bilimsel çalışmalar için araştırmacılar, bu çalışmada kullanılan genotiplere ve SSR markörlerine bakarak yapacakları araştırmalar doğrultusunda daha uygun SSR markörleri seçebileceklerdir. Bu sayede çalışmalar için harcanacak para, zaman ve emek kaybı minimuma indirilebilecektir. Yapılacak olan yeni moleküler çalışmalarla, bu tez çalışmasında kullanılan genotipler için PZR ve istatistiksel veriler daha fazla markör kullanılarak geliştirilebilirse bölgeye ve iklime daha yüksek adaptasyon sağlayan yeni *Lactuca sativa* genotiplerinin elde edilmesine katkı sağlanabilecektir. Sonuç olarak bu çalışma, Türkiye'de yetiştirilen ticari öneme sahip bazı *Lactuca sativa* türlerinin moleküler olarak tanımlanmasını sağlamış ve daha sonra yapılacak çalışmalara ışık tutmuştur.

## KAYNAKÇA

- Bakiş, Y., M.T. Babaç, and E. Uslu. *Updates and improvements of Turkish PlantsData Service (TÜBİVES)*. in *Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT), 2011 6th International Symposium on*. 2011. IEEE.
- Balkaya, Ahmet & Kandemir, Dilek & Sarıbaş, Şeyma. (2015). TÜRKİYE SEBZE FİDESİ ÜRETİMİNDEKİ SON GELİŞMELER. *Türktob Tohumculuk Dergisi*. s: 4-6
- Bayer, R. J., & Starr, J. R. (1998). Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two non-coding chloroplast sequences, the trnL intron and trnL/trnF intergenic spacer. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 242-256.
- Bennett, J. M., & Hollister, C. W. (2006). *Medieval Europe: a short history* (p. 326). New York: McGraw-Hill.
- Bilgin, O., Korkut, K.Z., (2005) Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 2005 2(3).
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z. and Pang, E.C.K. 2005. "An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts." *Euphytica* 142(1-2): 169-196.
- Çalı, I. Ö, 2007. Domates (*Lycopersicon esculentum* mill.) bitkisinde metalaxyl'in stomalar üzerine etkisi. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 28(1):36-39.
- De Vries, I. M. (1997). Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44(2), 165-174.
- Devos, K. M. and Gale, M. D., (1992). The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genetics*, 84; 567-572.
- Dziechciarkova, M., Lebeda, A., Dolezalova, I., & Astley, D. (2004). Characterization of *Lactuca* spp. germplasm by protein and molecular markers-a review. *Plant Soil and Environment*, 50(2), 47-58.
- Eşiyok, D., Özen, Ş., Özzambak, E. 1996. Salata-marul çeşitlerinde dikim mesafesinin verim ve kaliteye etkisi üzerinde bir araştırma. *GAP I. Tarımı Sempozyumu*. s.79-83, Şanlıurfa.
- Gupta, P.K. and Varshney, R.K. 2004. "Cereal genomics: an overview." In *Cereal genomics*, edited by Gupta P.K. and Varshney, R.K., 639. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Press

- Hartl, D.L. 1988. "Genetic variation." In A primer of population genetics. 2nd ed., Ch. 1:1-67. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Hartl, D.L. and Jones, E.W. 2005. "DNA Structure and DNA manipulation." In Genetics: analysis of genes and genomes. 5th ed., Ch. 2: 36-85. Sudbury: Jones and Bartlett Pub.
- Hill M., Witsenboer H., Zabeau M., Vos P., Kesseli R., Michelmore R. (1996): PCR-based fingerprinting using AFLPs as tool for studying genetic relationship in *Lactuca* spp. *Theor. Appl. Genet.*, 93: 1202–1210.
- Ismail, H., & Mirza, B. (2015). Evaluation of analgesic, anti-inflammatory, anti-depressant and anti-coagulant properties of *Lactuca sativa* (CV. Grand Rapids) plant tissues and cell suspension in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 199.
- Ivan Simko, Development of EST-SSR Markers for the Study of Population Structure in Lettuce (*Lactuca sativa* L.), *Journal of Heredity*, Volume 100, Issue 2, March-April 2009, Pages 256–262, <https://doi.org/10.1093/jhered/esn072>
- Jain, S.M., Brar, D.S. and Ahloowalia, B.S. 2002. Molecular techniques in crop improvement. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Jeuken M., Wijk R. van, Peleman J., Lindhout P. (2001): An integrated interspecific AFLP map of lettuce (*Lactuca*) based on two *L. sativa* × *L. saligna* F2 populations. *Theor. Appl. Genet.*, 103: 638–647.
- Jones C.J., Edwards K.J., Castaglione S., Winfield M.O., Sala F., Wiel C. van de, Bredemeijer G., Vosman B., Matthes M., Daly A., Brettschneider R., Bettini P., Buiatti M., Maestri E., Malcevski A., Marmioli N., Aert R., Volckaert G., Rudea J., Linacero R., Vazquez A., Karp A. (1997): Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol. Breed.*, 3: 381–390.
- Karp A., Isaac P.G., Ingram D.S. (eds.) (1998): Molecular tools for screening biodiversity. Chapman & Hall, London, UK.
- Kesseli R., Ochoa O., Michelmore R. (1991): Variation at RFLP loci in *Lactuca* spp. and origin of cultivated lettuce (*L. sativa*). *Genome*, 34: 430–436.
- Kesseli R., Ochoa O., Michelmore R. (1991): Variation at RFLP loci in *Lactuca* spp. and origin of cultivated lettuce (*L. sativa*). *Genome*, 34: 430–436.
- Kesseli R.V., Paran I., Michelmore R.W. (1994): Analysis of a detailed genetic linkage map of *Lactuca sativa* (Lettuce) constructed from RFLP and RAPD markers. *Genetics*, 136: 1435–1446.

- Kesseli R.V., Paran I., Michelmore R.W. (1994): Analysis of a detailed genetic linkage map of *Lactuca sativa* (Lettuce) constructed from RFLP and RAPD markers. *Genetics*, 136: 1435–1446.
- Kesseli, R., Ochoa, O., & Michelmore, R. (1991). Variation at RFLP loci in *Lactuca* spp. and origin of cultivated lettuce (*L. sativa*). *Genome*, 34(3), 430-436.
- Kim, Moo Jung, et al. "Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.)." *Journal of Food Composition and Analysis* 49 (2016): 19-34.
- Koopman W.J.M., Zevenbergen M.J., Ronald G., Berg R.G. van den (2001): Species relationship in *Lactuca* S.L. (Lactuceae, Asteraceae) inferred from AFLP fingerprints. *Am. J. Bot.*, 88: 1881–1887
- Landry B.S., Kesseli R.V., Farrara B., Michelmore R.W. (1987): A genetic map of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with restriction fragment length polymorphism, isozyme, disease resistance and morphological markers. *Genetics*, 116: 331–337.
- Landry B.S., Kesseli R.V., Farrara B., Michelmore R.W. (1987): A genetic map of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with restriction fragment length polymorphism, isozyme, disease resistance and morphological markers. *Genetics*, 116: 331–337.
- Lebeda, A., Ryder, E.J., Dolezalovk, G.I., Kristova, E., 2007. Lettuce (Asteraceae; *Lactuca* spp.). In: Singh R. (Ed), *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement*. vol. 3, pp. 377-472. *Vegetable Crops*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
- Örs, S. Ekinçi, M. 2015. Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. Atatürk Üniv.Ziraat fak.
- Rodenburg, C. M., & Basse, H. (1960). *Varieties of lettuce: an international monograph*. Zwolle: WEJ Tjeenk Willink.
- Schulmann, A.H. 2007. "Molecular markers to assess genetic diversity." *Euphytica* 158(3): 313-321.
- Schulmann, A.H. 2007. "Molecular markers to assess genetic diversity." *Euphytica* 158(3): 313-321.
- Subbarao, K. V., & Koike, S. T. *Lettuce, diseases, ecology and control [recurso electrónico]*.
- Van de Wiel C., Arens P., Vosman B. (1998): Microsatellite fingerprinting in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives. *Plant Cell Rep.*, 17: 837–842.

- Vermeulen A., Desprez B., Lancelin D., Bannerot H. (1994): Relationship among Cichorium species and related genera as determined by analysis of mitochondrial RFLPs. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 159–166
- Vermeulen A., Desprez B., Lancelin D., Bannerot H. (1994): Relationship among Cichorium species and related genera as determined by analysis of mitochondrial RFLPs. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 159–166.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee TVD, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: 4407-4414
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, D. 2000. Kültür sebzeleri (Sebze yetiştiriciliği). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü. s.378-393, İzmir.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova, İzmir, 440 s
- Walton, M., (1993). Molecular markers: which ones to use? *Seed World*, July (1993), p: 23-29.
- Wei, Z., Zhu, S. X., Van den Berg, R. G., Bakker, F. T., & Schranz, M. E. (2017). Phylogenetic relationships within *Lactuca* L.(Asteraceae), including African species, based on chloroplast DNA sequence comparisons. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(1), 55-71.
- Witsenboer H., Vogel J., Michelmores R.W. (1997): Identification, genetic localization, and allelic diversity of selectively amplified microsatellite polymorphic loci in lettuce and wild relatives (*Lactuca* spp.). *Genome*, 40: 923–936.
- Yamamoto T., Nishikawa A., Oeda K. (1994): DNA polymorphisms in *Oryza sativa* L. and *Lactuca sativa* L. amplified by arbitrary primed PCR. *Euphytica*, 78: 143–148.
- Yang TJ, Park HG. 1998. Optimization of the RAPD analyses procedure in *Capsicum annuum* L. *Korean J. Breed.* 30: 16-23
- Yıldırım, M., Bahar, E., Demirel, K., 2015. Farklı sulama suyu seviyelerinin serada yetiştirilen kıvrıkcık marulun (*Lactuca sativa* var. *Campania*) verimi ve gelişimi üzerine etkileri. *Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 3 (1): 29–34
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)- anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183
- http-1** <http://www.theplantlist.org/>  
(Erişim tarihi 12.12.2020).

**http-2**

<https://www.bioinforange.com/bioinforeviews/biyoinformatik/yazilimlar/filogenetik-analiz-yontemleri/>

(Erişim tarihi: 12.12.2020)

**http-3** <http://www.molbiol-tools.ca/Phylogeny.htm>

(Erişim tarihi: 12.12.2020)



## **EKLER**

Tezinizin bu bölümünü dipnot olarak verilmesi uygun olmayan uzunluktaki açıklamalar, tablolar, etik kurul izni gibi bilgi ve belgeleri içerecek şekilde kullanabilirsiniz.



## ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Yazgım FUNDA

### Eğitim ve Mesleki Geçmiş:

- 2011-2017** Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
- 2017-2018** Beyhan Rifat Çıkıloğlu Anadolu Lisesi, Eskişehir, Stajer  
Biyoloji Öğretmenliği
- 2019-** Medical Conductor - TK İlaç Mümessilik Şti.