

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARKLI *DAUCUS* TÜRLERİNDE GENETİK FARKLILIĞIN
BELİRLENMESİNDE İPBS RETROTRANSPOZON MARKIRLARININ
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gökhan SADIK
DANIŞMAN: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

VAN-2017

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARKLI *DAUCUS* TÜRLERİNDE GENETİK FARKLILIĞIN
BELİRLENMESİNDE İPBS RETROTRANSPOZON MARKIRLARININ
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gökhan SADIĞ

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2016-5519 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'ın danışmanlığında, Gökhan SADIK tarafından sunulan **“Farklı Daucus Türlerinde Genetik Farklılığın Belirlenmesinde iPBS Retrotranspozon Markırlarının Etkinliğinin Belirlenmesi”** isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 27/10/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç.Dr. Mehtap YILDIZ

İmza: 

Üye: Yrd. Doç. Dr. Faheem S. BALOCH

İmza: 

Üye: Yrd. Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ

İmza: 

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

imza

Gökhan SADIK

ÖZET

FARKLI *DAUCUS* TÜRLERİNDE GENETİK FARKLILIĞIN BELİRLENMESİNDE iPBS RETROTRANSPOZON MARKÖRLERİNİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

SADIK, Gökhan

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

Ekim 2017, 36 sayfa

Havuç [*Daucus carota* L. Subsp. *Sativus* (Hoffm.) Thell.] üretim alanı ve market değeri olarak dünyadaki en değerli 10 sebze türü arasında yer almaktadır. Havucun taze ve işlenmiş olarak farklı değerlendirme şekillerinin bulunması, tüketici tarafından bilinçli ve sağlıklı beslenme alışkanlıklarının yaygınlaşması ile tüketim potansiyeli giderek artmaktadır. Düşük maliyetli ve daha az iş gücü gerektiren basit tekniklere sahip moleküler markır tekniklerinin kullanımı genetik ve ıslah çalışmalarında tercih edilmektedir. iPBS retrotranspozonlar son zamanlarda geliştirilmiş ve bitki ve hayvan genomu çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. iPBS retrotranspozon markır tekniği 7 farklı *Daucus* türüne ait 17 genotipte genetik farklılığı değerlendirmek için ilk kez test edilmiştir. Yedi *Daucus* türüne ait 17 genotipte kullanılan 24 polimorfik iPBS primeri ile toplam 201 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Primer başına ortalama polimorfik bant sayısı 8.3 ve en yüksek bant sayısı (12 bant) iPBS2277, en düşük bant sayısı (5 bant) iPBS2238, iPBS2251 ve iPBS2388 numaralı primerlerden elde edilmiştir. En düşük PIC değeri 0.74 (iPBS2388) olarak ve en yüksek PIC değeri 0,97 (iPBS2374) ve ortalama PIC değeri 0.89 olarak hesaplanmıştır. En düşük ve en yüksek genetik uzaklıklar sırası ile 0.23 (*D. Pusillus*, Oregon/ABD ve *D. Pusillus* Florida, Uruguay) ve 0.95 (*D. Carota*, Kahramanmaraş/Türkiye ve *D. Pusillus*, California/ABD) olarak gözlenmiştir. UPGMA sınıflandırma temelli gruplandırma 7 türe ait tüm genotipleri iki ana gruba ayırmıştır. İlk grup *Daucus carota* türlerinden oluşurken ikinci grup diğer *Daucus* türlerinden oluşmuştur. Bu gruplandırma popülasyon yapısı analiziyle de açıkça örtüşmektedir. Elde edilen sonuçlar iPBS markır sisteminin *Daucus* türlerinde genetik farklılık ve taksonomik çalışmalarda güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelime: *Daucus*, Genetik farklılık, iPBS

ABSTRACT

iPBS RETROTRANSPOSON MARKERS EFFICIENCY in TAXONOMIC IDENTIFICATION of *DAUCUS* SPECIES

SADIK, Gökhan

M. Sc. Thesis, Agricultural Biotechnology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mehtap YILDIZ

October 2017, 36 pages

Carrot [*Daucus carota* L. Subsp. *Sativus* (Hoffm.) Thell.] is one of ten most valuable plants in the world due to its consumption in manufacturing yard and commercial value. Carrot has high consumptions in different forms such as fresh and processed foods because of conscious consumer preferences due to its health benefits. Molecular markers with low cost, less labor requirement and having minimum technical complexity are always preferred by geneticists and breeders to use them in their breeding and genetic studies. iPBS retrotransposons has been developed recently and successfully applied in plant and animal genome. Therefore, iPBS retrotransposons markers were first time tested to evaluate the genetic diversity and taxonomic relationship in 17 accessions belonging to 7 different *Daucus* species. Totally 201 scorable bands were obtained in 7 *Daucus* species with 24 polymorphic iPBS primers. The average polymorphic bands was 8.3 with highest bands (12 bands) amplified by iPBS2277 primer and lowest (5 bands) by iPBS2238, iPBS2251, and iPBS2388 primers. The PIC changed between 0.74 (iPBS2388) and 0.97 (iPBS2374) with an average of 0.89. The lowest and the highest genetic distances, (0.23) was observed between *D. pusillus* (Oregon/ABD) and *D. pusillus* (Florida, Uruguay) and highest (0.95) was seen between *D. carot* (Kahramanmaraş/Turkey) and *D. pusillus* (California/ABD). Clustering based on UPGMA classified all accession belonging to 7 species into two main groups and further subgroups according to their taxonomic relationship with cultivated carrot separated by other wild species. This grouping was clearly mirrored in population structure analysis based on membership of coefficient among accessions. The results indicated that iPBS marker system can successfully used for genetics and taxonomic studies with full trustability in *Daucus* species.

Keywords: *Daucus*, Genetic differences, iPBS



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'a teşekkür ederim. Tez verilerimin analizinde destek sağlayan Sayın Yrd. Doç. Faheem Shehzad Baloch'a tezimin değerlendirilmesi kısmındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ'e teşekkür ederim. Ayrıca tezimin her aşamasında benden yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Metin KOÇAK' a, Doç. Dr. Ayhan YILMAZ'a ve Dr. Hülya SADIK YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayattaki en büyük şansım saydığım ailem canım annem Kıymet SADIK ve kardeşlerime bu zaman sürecinde gösterdikleri sabır, anlayış ve destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya FYL-2016-5519 nolu proje ile destek veren Yüzüncü Yıl üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

2017

Gökhan SADIK



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Bitki materyali.....	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Bitki yetiştirilmesi.....	16
3.2.2. Genomik DNA izolasyonu.....	17
3.2.3. DNA izolasyon protokolü.....	17
3.2.4. DNA miktarı ve saflığı.....	18
3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR).....	19
3.2.6. Agaroz jel elektroforezi.....	20
3.2.7. Verilerin değerlendirilmesi.....	21
3.2.8. Popülasyon yapısı analizi.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	22
5. SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	36



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan 7 <i>Daucus</i> türüne ait 17 genotipin etiket numarası, Gen Bankası kodu, türü ve orijini.....	15
Çizelge 3.2. <i>Daucus</i> tür/genotiplerinden izole edilen genomik DNA örneklerinin Nanodropta ölçülen konsantrasyonları.....	18
Çizelge 3.3. Tez çalışmasında kullanılan iPBS retrotranspozon primerleri ve baz dizilimleri.....	19
Çizelge 3.4. iPBS retrotranspozon markırı tekniğinde kullanılan PZR reaksiyonu bileşeni.....	20
Çizelge 3.5. iPBS retrotranspozon için PZR döngüsü.....	20
Çizelge 4.1. <i>Daucus</i> genotiplerinde taranan 24 iPBS primerin Sekans dizilimi, yapışma sıcaklığı, toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler.....	24
Çizelge 4.2. IPBS verileri kullanılarak 17 <i>Daucus</i> tür/genotipte Jaccard'a göre elde edilen genetik mesafe tablosu.....	29
Çizelge 4.3. Structure analizinde hesaplanan Delta değerleri.....	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. <i>Daucus</i> türlerinin Türkiye'deki dağılım alanları. a) <i>D. broteri</i> , b) <i>D. guttatus</i> , c) <i>D. littoralis</i> , d) <i>D. involucratus</i>	3
Şekil 3.1. <i>Daucus</i> türlerinin saksıda görünüşleri.....	16
Şekil 4.1. iPBS 2232 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.....	23
Şekil 4.2. iPBS 2230 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.....	23
Şekil 4.3. iPBS 2373 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.....	24
Şekil 4.4. Jaccart katsayısı kullanılarak elde edilen matriks ile oluşturulan <i>Daucus</i> türlerine ait dendogram.....	27
Şekil 4.5. <i>Daucus</i> türlerinin genetik popülasyonunun yapı analizinin şeması (K=2).....	30



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

°C

Derece

dk

Dakika

M

Molar

ml

Mililitre

mM

Milimolar

ng

Nanogram

µl

Mikrolitre

rpm

Dakikadaki devir sayısı

sn

Saniye

Kısaltmalar

Açıklama

A

Adenin

At

Bağlanma Sıcaklığı

AFLP

Amlified Fragment Length Polymorphic

C

Sitozin

CTAB

Cetyl Trimethyl ammonium Bromide

DNA

Deoksiribonükleik asit

dNTP

Deoksinükleotit fosfat

dH₂O

Distile Su

EDTA

Ethylene diamino tetra acetic acid

G

Guanin

H₂O

Su

ISSR

Inter Simple Sequence Repeat

Kısaltmalar

Açıklama

iPBS

Inter Primer Binding Site Amplification

K

Popülasyon Numaralandırılması

MgCl₂

Magnezyum klorür

NaCl₂

Sodyum klorür

PB

Presipitasyon Tamponu

PCR

Polimeraz Chain Reaction

pH

Power Of Hydrogen

PIC

Polymorphic Information Contet

PZR

Polimeraz Chain Reaction

P%

Yüzdelik Polimorfizm

RAPD

Random Amplified Polymorphic DNA

SNP

Single Nucleotid Polymorphism

SRAP

Sequence Related Amplified Polymorphism

SSR

Simple Sequence Repeat

STS

Sequence Tagged Site

T

Timin

Taq

Thermus aquaticus

Taq DNA Polimeraz

Termo Stabil DNA Polimeraz Enzimi

UPGMA

Unweighted Pair Group Method with
Arithmetic Mean

UV

Ultraviyole

1. GİRİŞ

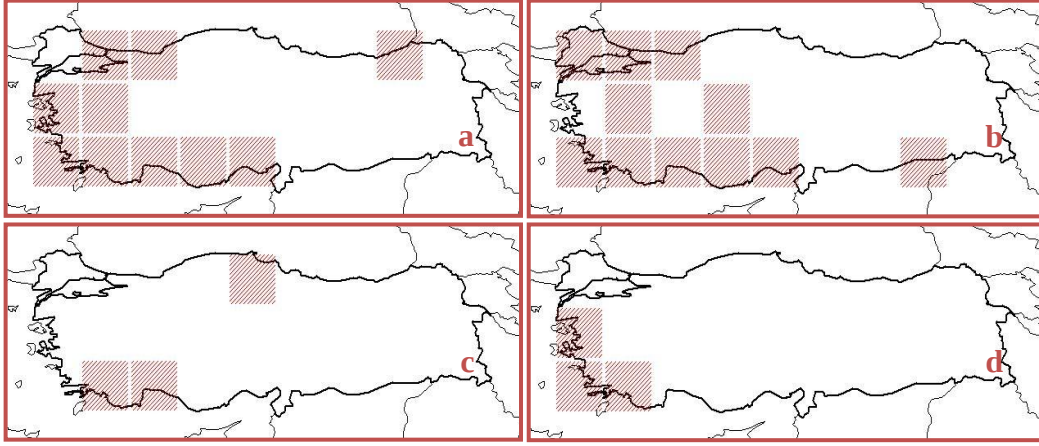
Havuç [*Daucus carota* L. Subsp. *Sativus* (Hoffm.) Thell.] gerek üretim alanı ve gerekse market değeri olarak dünyada ekonomik değeri en yüksek olan sebze türleri içerisinde ilk ona girmektedir. Havucun taze ve işlenmiş olarak farklı değerlendirme şekillerinin bulunması, tüketici tarafından bilinçli ve sağlıklı beslenme alışkanlıklarının yaygınlaşması ile tüketim potansiyeli giderek artmaktadır. Tüm dünyada yaygın olarak turuncu renkli havuç tipi yetiştirilmektedir. Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da ekonomik anlamda genel olarak turuncu havuç yetiştirilmekle birlikte son yıllarda marketlerde mor, sarı ve kırmızı havuçlarda yerlerini almışlardır. Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde turuncu havuç gibi mor ve kırmızı havuç; Asya'da buna ek olarak sarı havuç, ayrıca bazı ülkelerde hayvan yemi olarak kullanmak üzere beyaz havuç yetiştirilmektedir. Havuç tipik olarak serin iklim sebzesi olarak sınıflandırılmakta ve üretimin çoğu ılıman iklimlerde gerçekleştirilmektedir. Subtropik iklimlere uygun çeşitlerin geliştirilmesiyle birlikte havuç yetiştiriciliği iklim aralığı genişlemiş ve dünyanın birçok yerine yayılmıştır (Simon, 2000). Bununla birlikte havuç yetiştiriciliği özellikle Asya, Avrupa ve Amerika'da yoğunluk kazanmıştır. Dünya havuç yetiştirme alanı 2014 yılı verilerine göre yaklaşık 1.4 milyon hektar, üretim miktarı ise 38 milyon ton kadardır. Dünya üretiminin % 61.6'sı Asya ülkelerinde yapılmakta, bunu % 22.6 ile Avrupa, % 9.4 ile Kuzey ve Orta Amerika, % 5.2 ile Afrika ve %1.1 ile Okyanus ülkeleri izlemektedir. Yıllık 17.4 milyon tonluk üretimi ile Çin en büyük üretici ülke konumundadır ve bunu 1.7 milyon ton üretim ile Özbekistan, 1.6 milyon ile Rusya Federasyonu ve 1.4 milyon ton üretim ile Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir. Diğer önemli üretici ülkeler ise Polonya, Japonya, Fransa, İngiltere, Almanya, İtalya, Ukrayna, Türkiye, Fas, Hollanda, Kanada, İran, Endonezya ve Hindistan'dır (FAOSTAT, 2014). Ülkemizde yaklaşık olarak 26 bin hektarlık alanda 558 bin ton havuç üretimi yapılmaktadır (FAOSTAT, 2014). Türkiye'de havuç yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı yerler Ankara'nın Beypazarı ilçesi (%20), Konya'nın Kaşınhanı, Ereğli ve Çumra ilçeleri (%65) ve Hatay'ın Kırıkhan (%10) ilçesidir (TUİK, 2013).

Apiaceae (*Umbelliferae*) familyası 455 cins ve 3500 üzerinde türü kapsayan tohumlu bitkiler familyasının en geniş ailelerinden biridir (Pimenov ve Leonov, 1993).

Bu kapsamlı ve kompleks bitki familyası yaban havucu, rezene, kereviz, kişniş, maydanoz, kimyon, kök kerevizi ve birçok şifalı ot ve çeşniyi barındırmaktadır (Rubatzky ve ark., 1999). Bu familyadaki diğer bitkiler gibi havuç tohumları da aromatikdir ve dolayısıyla uzun yıllar çeşni veya tıbbi bitki olarak kullanılmıştır. İsviçre ve Almanya'da ilk insan yerleşim alanlarında M.Ö. 2000-3000'lere ait havuç tohumları bulunmuştur (Rubatzky ve ark., 1999). Bu tohumların yabani havuçlardan alınan ve tıbbi veya tat için kullanılan tohumlar olduğu düşünülmektedir.

Daucus cinsine giren 22 türden biri olan havuç (*Daucus carota* L.) *Apiaceae* familyasının kültürü yapılan en önemli üyesidir. *Daucus carota*'nın tahmini olarak 13 alt türü tanımlanmış olup (Simon ve Goldman, 2006; Simon ve ark., 2008), bu alt türlerden biri kültür havucudur, diğer on ikisi ise kullanılabilir bir kök yapısına sahip olmayan yabani formlardır. Havucun atası olan yabani *Daucus carota* L. ılıman iklim bölgelerinde kıtalar boyunca otsu bir yapıda ortaya çıkmaktadır. *Daucus* cinsinin çeşitlilik merkezi Akdeniz bölgesidir (Saenz Lain C., 1980'den Arbizu ve ark., 2016). Bunun yanında *Daucus* türleri, Avusturalya'da bir tür (*D. glochidiatus* [Labill.] Fischer & al.), Amerika kıtasında dört tür (*D. carota* L., *D. montanus* Humb. & Bonpl. ex Schutt., *D. montevidensis* Link ex Sprengel, *D. pusillus* Michx.) ile dünyanın her yerine dağılmıştır. Akdeniz iklim kuşağındaki ülkemizde ise *D. broteri*, *D. guttatus*, *D. involucratus*, ve *D. littoralis* türlerinin doğal yayılımı bulunmaktadır (Şekil 1.1.). *D. carota*'nın yabani ve kültür formlarını oluşturan taksonların tamamı $2n=18$ kromozoma sahiptir ve türler arası zayıf bir bariyere sahip oldukları için bu taksonların bazılarının taksonomik olarak tanımlanması zordur. Bu durum *Apiaceae* familyasında *D. carota*'yı en sorunlu tür yapmaktadır (Heywood, 1968; Small, 1978).

Daucus cinsine ait diğer üyelerin aksine Vavilov (1951), kültür havuçlarının orijin merkezinin Orta Asya olduğunu rapor etmiştir. Dünya genelinden toplanan kültür çeşitleri ve yabani havuçlarda yapılan moleküler farklılık analizleri de Orta Asya yabani havuçlarının kültür havuçlarına daha benzer olduğunu göstermiştir (Iorizzo ve ark., 2013).



Şekil 1.1. *Daucus* türlerinin Türkiye’deki dağılım alanları (Tubives, 2017).

a) *D. broteri*, b) *D. guttatus*, c) *D. littoralis*, d) *D. involucratus*.

Çeşitlilik merkezi olan Afganistan’da kökü tüketilen bir ürün olarak havucun kullanımı yaklaşık olarak 1100 yıl öncesine dayanmaktadır. Kültür havuçlarının batıya doğru yayılımı rapor edilmiştir. Kayıtlara göre; 900’lü yıllarda İran, 1000’lerde Orta Asya ve Kuzey Afrika, 1100’lerde İspanya ve 1300’lerde Kuzey Avrupa’ya yayılmıştır (Banga, 1963). Kültür havuçlarının doğuya yayılımı çok iyi bilinmemesine karşın tarihi kayıtlar 1300’lerde Çin’de, 1700’lerde Japonya’da kullanılmaya başlandığını göstermektedir. Kültür havuçları Doğu/Asya ve Batı olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır. Doğu/Asya havuçları antosiyanin içeren kırmızımtırak mor veya sarı kök renkli, tüylü yapraklı ve erken çiçeklenmeye eğilimlidirler. Batı havuçları ise turuncu, sarı, kırmızı veya beyaz kök renklerine sahip; yaprakları az tüylü ve uzun süreli düşük sıcaklığa maruz bırakılmadıkları takdirde çiçeklenmeye daha az eğilim göstermektedirler (Rubatzky ve ark., 1999). Banga (1963)’nın bildirdiğine göre Mackevic (1929), Afganistan’ın özellikle Himalaya ve Hindi-kuş dağlarının bulunduğu alanların Doğu/Asya havuçlarının birincil genetik çeşitlilik ve dünyaya yayılma merkezi olduğunu; Batı havuçlarının da kökeni olan ikincil genetik çeşitlilik merkezi ve yayılım merkezinin Anadolu ve Akdeniz Bölgesi olabileceğini rapor etmiştir.

Havuç A vitamini öncülerinin başlıca kaynağı olması nedeniyle özellikle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Havuçlarda ki turuncu karotenoidler’den α - ve β - karotenler A vitamininin öncüleridir ve bu havucu A vitamininin en önemli kaynağı yapmaktadır (Simon ve ark., 2009). Havucun ekonomik önemi, ıslah çalışmalarının tetiklenmesini sağlamıştır. Yabani *Daucus* türlerinin, böcek ve zararlılara tolerans veya

dayanıklılık, verim artışı, iklim değişikliğine adaptasyon, erkek kısırlık, nutrasötik ve tüketim gibi birçok özellikten sorumlu genlerin kaynağı olabileceği düşüncesi ıslah çalışmalarındaki önemini artırmıştır (Arbizu ve ark., 2017).

Bitki ıslah çalışmalarının başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için gen kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kaynaklar kültür çeşitlerinde üreticiler tarafından karşılaşılan veya gelecekte ortaya çıkabilecek problemlere karşı ıslahçıların veya genetikçilerin mücadele etmesinde kullanılabilecek genetik rezervlere ulaşmayı sağlamaktadır. Havuç ve diğer *Daucus* türlerinin gen kaynakları Vavilov enstitüsü (Rusya), Uluslararası Bahçe Bitkileri Araştırma Gen Kaynakları Birimi (İngiltere) ve Amerika Tarım Bakanlığı Kuzey Merkez Bölgesi Bitki Giriş İstasyonu (Iowa, US) birimlerinde toplanmıştır (Rubatzky ve ark., 1999). En önemli yabancı *Daucus* koleksiyonları Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunmaktadır. Avrupa koleksiyonları 10 farklı ülkede farklı gen bankalarında olacak şekilde dağıtılmıştır. Avrupa'da ki koleksiyonlar 46 ülke orijinlidir. Bu koleksiyonlar EURISCO veri tabanında (<http://eurisco.ecpgr.org>) tanımlanmakta böylece ilgili genotiplere ulaşım kolaylaştırılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki *Daucus* genetik kaynakları, Tarım Bakanlığı Tarımsal Araştırma Servisi (Agricultural Research Service of the USDA) bünyesinde toplanmış ve internet veri tabanında (<http://www.ars.grin.gov/npg/index.html>) kayıt altına alınmıştır (Grzebelus ve ark., 2011).

Yerel çeşitler ve yabancı formlar kültür çeşitlerine göre daha yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe sahiptir. Yabancı türler geniş genetik tabanı ile gelecekte çıkabilecek sorunlar için ıslah çalışmalarında önemli gen kaynakları olarak görünmektedir (Arbizu ve ark., 2017). Islah çalışmalarının temel amacı; bitki genetik yapılarında var olan veya melezleme, mutasyon gibi teknikler kullanılarak ortaya çıkacak varyasyonların seleksiyon yolu ile seçilmesi adaptasyon yeteneği yüksek, hastalık ve zararlılara dayanıklı, yüksek verim ve kalite özelliklerine sahip yeni çeşitlerin mümkün olduğunca kısa sürede elde edilmesidir. Bitki ıslahında varyasyon yaygın olarak melezlemeler yoluyla arttırılmakta ve seleksiyon aracılığıyla yeni çeşitler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunun yanında genetik kaynaklar taşıdıkları geniş genetik tabandan dolayı ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır.

Gen kaynaklarının önemli özelliklerinden yararlanabilmek için çeşitliliğinin araştırılması gerekmekte ve bu bağlamda karakterizasyonlar morfolojik, agronomik ve

genetik olarak yapılmaktadır. Morfolojik çalışmalar bitki türüne de bağlı olarak uzun zaman, yoğun iş gücü ve yüksek maliyet gerektirmekte aynı zamanda çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Özgen ve ark., 2000).

Bitki genotipleri arasındaki genetik benzerlikler/farklılıklar günümüzde en yaygın olarak moleküler teknikler ile belirlenmektedir. Moleküler tekniklerin çevresel faktörlerden etkilenmemesi, analizlerin zaman ile sınırlanmaması ve birçok türde önemli agronomik özellikler ile ilgili genlerin veya gen bölgelerinin belirlenmesi ıslah çalışmalarında hedefe ulaşmayı daha etkin hale getirmiştir. Moleküler markırlar, genetik çeşitliliğin araştırılması, çeşit tanımlama, genetik haritalama, tohumlularda ismine doğruluk ve saflığın belirlenmesi, markıra dayalı seleksiyon, sistematik çalışmaları, genotipler arasındaki yakınlıkların belirlenmesi gibi birçok şekilde kullanılmaktadır (Kumar, 1999). Moleküler markırlar gözlenebilir karakterlere dayanan morfolojik markırlara ve protein markırlarına göre oldukça güvenilirdir. DNA markırları bir tür içerisinde farklı bireylerde bulunan dizi polimorfizmini gösteren DNA bölgeleridir ve farklılıkların belirlenmesinde günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır.

Karry Mullis tarafından 1985 yılında genomun özgün bölgelerinin in vitro koşullarda çoğaltılabilmesinin (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-PZR) bulunması ile PZR temelli markırlar kullanılmaya başlanmış ve bu teknolojinin hızla gelişmesiyle çok sayıda markır tekniği ortaya çıkmıştır. DNA markırları (RAPD, EST, STS, AFLP, STR, SNP, SSR vb.) diğer türlerde olduğu gibi havuçlarda da çeşitliliğin araştırılmasında kullanılmaktadır (Shim ve Jorgewnsen, 2000; Braden ve ark., 2002; Cavagnaro ve ark., 2011; Iorizzo ve ark., 2011; Baranski ve ark., 2012; Iorizzo ve ark., 2013; Grzebelus ve ark., 2014; Arbizu ve ark., 2017).

Türler arası veya tür içi DNA dizilişlerinde farklılıkların olması sebebiyle aynı primerlerin kullanılması durumunda farklı DNA ürünleri elde edilmektedir. Bu farklılıklar markır olarak kullanılmakta ve bu şekilde değişik genetik markır tipleri geliştirilmektedir. PZR kullanımına dayalı RAPD (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA), AFLP (çoğaltılan fragmentlerin uzunluk polimorfizmi), SSR (mikrosatellit veya basit dizin tekrarları), ISSR (basit tekrarlı diziler arası polimorfizm), SRAP (sekansa bağlı çoğaltılmış polimorfizm), STS (dizisi etiketlenmiş sekanslar), SNP (tek nükleotid polimorfizmi) gibi DNA markırları başarıyla kullanılmaktadır.

Moleküler markır tekniklerinden biri de iPBS retrotranspozon (Primer Bağlanma Konumları Arası çoğaltma) yöntemidir. Retrotranspozonlar tekrar eden ve hareket eden DNA parçalarıdır ve hem bitki hem de hayvan genomunda yer alan iki büyük transpozon grubundan (sınıf I ve sınıf II) birisidir. Bir hücrenin genomunda, bir konumdan farklı bir konuma taşınarak hareket edebilen DNA dizileri olan transpozonlar mutasyonlara ve genomdaki DNA miktarının değişimine neden olurlar. Retrotranspozonlar (veya sınıf I transpozonlar) bir RNA ara ürünü aracılığıyla kendilerini kopyalayarak hareket ederler ve genomun başka bir konumuna yerleşirler. DNA transpozonları (Sınıf II transpozonlar) ise bir RNA ara ürünü kullanmazlar ve bulundukları konumdan kesilip taşınarak genomun başka bir konumuna yerleşirler (Todorovska, 2007; Startek ve ark., 2017). Retrotranspozonlar bu özellikleri ile genom içerisindeki kopya sayılarını artırır fakat hücre içerisinde çeşitli kontrol basamakları ile denetim altına alınmaktadır (Todorovska, 2007). Retrotranspozonların taşınma mekanizması stres etmenleri (Grandbastien ve ark., 2005) nedeniyle aktif hale gelmekte ve bitkilerin genomunda mutasyonlara ve genom büyüklüğünde artışlara, dolayısıyla genetik çeşitliliğe sebep olmaktadır.

Genel uygulanabilirlikleri, uygulanmalarının basit olması ve genotip çözünürlükleri nedeniyle değişik retrotranspozon markır sistemleri, çok sayıdaki evrimsel ve genetik çeşitlilik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmıştır (Feschotte ve ark., 2002; Kalendar ve Schulman, 2006; Schulman ve ark., 2004). Bununla birlikte önceki yıllarda kullanılan retrotranspozon markır sistemleri türe özgüydü ve bir türde iyi çalışan retrotranspozon başka bir türde kullanışlı olamamaktaydı. Bir türde retrotranspozon markır sistemi geliştirebilmek için o türün en azından retrotranspozon bölgelerine komşu bölgelerinin dizi bilgisi gerekmektedir. Bu kısıtlayıcı faktörleri ortadan kaldırmak için Kalendar ve ark. (2010), bitki ve hayvanlarda başarılı bir şekilde kullanılabilecek iPBS çoğaltma (Inter Primer Binding Site Amplification) yöntemi adı verilen yeni bir evrensel retrotranspozon markır sistemi geliştirmişlerdir. iPBS metodu PZR ile çoğaltılabilecek mesafede birbirine yakın olan LTR retrotranspozonların, ters transkriptaz primer bağlanma bölgeleri arasındaki DNA parçasının çoğaltılmasına dayalıdır. Genomun her yerine dağılmaları, genomda yüksek kopya sayılarının olması ve kromozomların içerisinde geniş alana yayılım göstermeleri nedeniyle

retrotranspozonların moleküler markır kaynağı olarak mükemmel potansiyele sahip oldukları bildirilmektedir (Kalendar ve ark., 2010).

Ökaryot canlıların büyük çoğunluğunda genomun büyük bir çoğunluğunu retrotranspozonlar oluşturmaktadır. Retrotranspozonların kopyala yapıştır özelliği genetik çeşitliliğin oluşmasına ve böylece önemli bir moleküler markır kaynağı olmasını sağlamaktadır. Havuç 9 kromozom çifti ile diploid bir yapıya sahiptir. Havuç genomunun yaklaşık %46'sı tekrarlanan sekansları içermekte ve bunun da %98'i hareketli (transpozon) elementlerden oluşmaktadır (Iorizzo ve ark., 2016). Yüksek miktarda tekrarlı bölgelerden oluşan *Daucus*'larda iPBS retrotranspozonların evrimsel süreçte etkili olması kaçınılmazdır.

Bu tez çalışmasında *Daucus* tür ve genotiplerinde moleküler karakterizasyon ve genetik mesafeyi belirlemede ilk olarak iPBS markır sistemi kullanılmış ve bu markır sisteminin *Daucus* tür ve genotiplerinde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Nakajima ve ark. (1998), beş *Daucus* türü ve *Daucus carota* L. alt türünü içeren 26 genotipin genetik çeşitliliğini belirlemek için RAPD ve AFLP markır tekniklerini kullanmışlardır. Hem RAPD hem de AFLP temelde benzer sonuçlar verirken, AFLP RAPD ile karşılaştırıldığında reaksiyon başına 4 kat fazla ayırt edici bant üretmiştir. Hem RAPD hem de AFLP ile oluşturulan dendrogramlar *D. carota*'nın bütün genotiplerinde, morfolojik özellikleriyle olan sınıflandırmayla uyumluluk içinde, diğer *Daucus* türlerinden ayrılmaksızın önemli bir kümelenmeyle gruplandırılabilceğini göstermiştir. *D. carota* türündeki varyasyon nispeten geniş olmasına karşın, kültür havuçlarının bütün genotipleri aynı grupta toplanmıştır. Aynı genotipler için mitokondriyal genomdaki çeşitlilikte RAPD ile belirlenmiştir. Mitokondriyal DNA dendrogramı nüklear çekirdek DNA'dan farklı çıkmıştır. Sonuç olarak çekirdek ve mitokondriyal DNA'nın farklı evrimsel süreçlere sahip olduğunu belirlenmiştir.

Vivek ve ark. (1998), RFLP markır sistemini kullanarak, kültür havucu dahil olmak üzere 8 *Daucus* türü üzerinde filojeni ve genetik benzerlik çalışması yapmışlardır. Nüklear genoma ait RFLP verilerinden elde edilen filogenetik bağlantıyı daha önceden yapılan morfolojik sınıflama desteklemiştir.

Vivek ve ark. (1999), prob olarak 14 petunya cpDNA'sı ve 10 restriksiyon enzimi kullanarak, 9 havuç genotipi ve 9 *Daucus* türünde RFLP çalışması yapmışlardır. Kladistik analizler genellikle son zamanlarda yapılan morfolojik sınıflandırma ile uyumlu bir filogeni vermiştir. Kültür havuçlarında bir nokta mutasyonu bulunmuştur (probe P10–*Bgl* II digest).

Shim ve ark. (2000), beş yabani ve 5 kültür çeşidinden oluşan havuç popülasyonları arasındaki ve içindeki genetik varyasyonu AFLP yöntemi kullanılarak araştırmıştır. On AFLP primer kombinasyonu 116 polimorfik bant üretmiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde, çalışılan popülasyon yabani popülasyonlar, eski çeşitler ve yeni ıslah edilen çeşitler olmak üzere 3 gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Yabani popülasyonlar arasındaki genetik mesafe toplam alelleri arasındaki fiziksel mesafeye yansımıştır. Genetik çeşitlilik analizleri 1974-1976 arasında piyasaya sürülen eski varyetelerin yeni geliştirilmiş F₁ hibrit varyetelerden daha heterojen olduğunu göstermiştir. Moleküler

varyasyon analizi (AMOVA) bitki materyalindeki genetik varyasyonun önemli bir parçasının popülasyon/çesit içinde yer aldığını göstermiştir.

Braden ve ark. (2002), kültür havucu (*Daucus carota* L.) ve kültür havucuna akraba yabani formlardan oluşan 124 genotipte farklı markır sistemleri kullanarak çalışma yapmışlardır. AFLP ve ISSR markırları havuç bitkisinde geniş bir çeşitliliğin bulunduğunu ortaya koymuştur. Kültür havucu ile yabani *Daucus carota* alt türleri birbirlerini tozlamalarına karşın, ayrı gruplarda dağılım göstermişlerdir. Bunun nedeninin kültür havuçlarında yapılan seleksiyon olduğunu ve her iki grup arasındaki gen geçişinin engellenmesi olduğu bildirilmiştir.

Cavagnaro ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada hibridizasyon tabanlı kütüphanelerden ve BAC uçlu sekanslar ile EST sekanslarından 300 SSR markırı geliştirmişlerdir. SSR çeşitliliği 65 *Daucus carota* çeşidinde seçilmiş bu bölgelerde lokus başına ortalama 19 allel ve tahmini 0,84 heterozigotluk ile yüksek polimorfizm göstermesiyle belirlenmiştir. Bu çalışmada geliştirilen SSR primerlerinin havuç ve diğer Apiaceae türlerinde genetik çeşitlilik, ıslah ve diğer genetik çalışmalar için değerli bir kaynak olacağı bildirilmiştir.

Martinez-Flores ve ark. (2012), Kuzey Morocco da endemik tür olan *D. mauritii* türünde çalışmışlardır. Yapılan ITS (Internal Transcribed Spacer) analizleri *D. mauritii* ve *D. auresle* türlerinin genetik olarak yakınlık gösterdiğini ortaya koymuştur.

Baranski ve ark. (2012), 88 havuç (*Daucus carota* L. subsp. *Sativus* Hoffm.) genotipinden oluşan bir koleksiyonda SSR markırları ile genetik çeşitlilik çalışması yapmışlardır. Çalışmada kullanılan popülasyon başlıca Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'nın yerel çeşitlerinden oluşmaktadır. Otuz SSR lokusu, allel frekansları, toplam allel, etkili allel, gözlemlenen ve beklenen heterozigotluk ve sabitleme indekslerinden elde edilen parametreler kullanılarak tamamen karakterize edilmiştir. Analizler sonucu 17 ve 61 genotiplerden oluşan ve sırası ile Asya ve Batı tipi genotiplere ait iki grup oluşmuştur. Asya gen havuzuna ait genetik çeşitlilik Batı gen havuzundaki çeşitlilikten daha fazla bulunmuştur. SSR analiz sonuçları morfolojik karakterizasyon ile desteklenmiştir ve havuç ıslahına ait tarihsel bilgiler ile uyum gösterdiği bildirilmiştir.

Iorizzo ve ark. (2013), coğrafik olarak geniş bir yayılım gösteren yabani ve kültür havuçlarını içeren 84 genotipte KASP analizi yapmışlardır. Araştırmacılar havuç

transkriptomu sekans verilerinden 4000 SNP geliştirmişlerdir. SNP verilerinden allelik farklılık analizleri kültür havuçlarına karşı yabancı genotiplerde genetik farklılıkta azalma olmadığı açığa çıkmıştır. Yapısal ve filogenetik analizler yabancı ve kültür genotipleri kadar doğu ve batı kültür havuçları arasında da açık bir ayırım ortaya çıkarmıştır. Orta Asya orijinli yabancı havuçlar kültür genotiplerine genetik olarak daha benzer bulunmuştur. Ayrıca Kuzey Amerika yabancı havuçlarının Avrupa yabancı genotiplerine daha yakın ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçların kültür havuçlarının orijininin Orta Asya olduğunu desteklediğini bildirmişlerdir.

Maksylewicz ve Baranski (2013), kodominant mikrosatellit (SSR) markırları kullanarak, kültürü yapılan farklı orijinlere sahip 18 havuç popülasyonunda popülasyon içi varyasyonu belirlemişlerdir. Kullanılan 27 genomik ve EST tabanlı markır ile markır başına ortalama 9.4 allel olmak üzere toplamda 253 allel tanımlanmıştır. Allel oluşumundaki farklılıklar popülasyondaki 18 genotipten 16 tanesinin yüksek ihtimale Batı ya da Asya gen havuzuna dahil olduğunu göstermiştir. Asya ve Avrupa orijinli genotipler Japonya ve Amerika orijinlilere göre daha fazla allelik varyasyon ve çeşitlilik göstermiştir. Ayrıca yerel çeşitlerdeki allelik zenginlik ve varyasyon F1 hibrit çeşit ve açık tozlananlara göre daha yüksek görülmüştür.

Arbizu ve ark. (2014), *Daucus*'un 13 türü ve iki alt türüne ait 92 genotip ve 15 yakın cinsten genotip olmak üzere toplam 107 genotipte Yeni Nesil Sekanslama Teknolojisi ile elde edilen 94 nükleer ortolog kullanarak taksonomik analiz yapmışlardır. *D. syrticus* dahil *Daucus* türlerini ayırt edebilmişlerdir. Çalışmada *D. guttatus* complex'in üç gruba ayrıldığı belirtilmiştir.

Grzebelus ve ark. (2014), yabancı ve kültürü yapılan havuçlarda genetik çeşitlilik ve genetik bağlantı haritaları oluşturmak için DarT (Diversity Arrays Technology) platformu geliştirme çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışmada 94 kültür çeşidi ve 65 yabancı genotipten oluşan popülasyonda 900 DarT markırından oluşan bir set analiz edilmiştir. Genotipler, yabancı genotipler, doğu ve batı kültür genotipleri olarak 3 farklı grupta toplanmıştır.

Lee ve Park. (2014), *Daucus* türleri ve yakın olduğu tahmin edilen taksonlar arasındaki genetik ilişkileri incelemek için, nükleer ribozomal DNA ITS sekanslarından elde edilen karakterlerin filogenetik analizlerini yapmışlardır. *Daucus* içinde aynı

kökenden gelen iki ana soy olduğu belirlenmiştir, ancak bunlar daha önceden morfolojik olarak tanımlanmamıştır. Filogeni de yeni tanımlanan *Daucus* türlerine (*D. arcanus* ve *D. conchitae*) taksonomik statü sağlamaktadır.

Thakur ve Jamwal (2015), 20 Avrupa havuç genotipine ait farklı karakterlerin genetik parametreleri ve kalıtımı üzerine çalışmışlardır. Genotipler çalışılan tüm özellikler için geniş bir varyasyon göstermiştir. Fenotipik varyasyon katsayısı ve genotipik varyasyon katsayısı sırası ile 3.42-29.60 ve 2.11-28.12 arasında değişim göstermiştir.

İpek ve ark. (2016), Ereğli bölgesinde yetişen mor havuç popülasyonundaki genetik varyasyonu SSR markırları kullanarak belirlemişlerdir. Toplamda kullanılan 20 SSR markırından 18 tanesi polimorfik özellik göstermiş olup toplamda 106 SSR alleli çoğaltılmıştır. SSR başına polimorfik allel sayısı 1 ile 14 arasında değişirken, polimorfizm bilgi içeriği 0.29 ile 0.85 ve tahmini heterozigotluk 0.32 ile 0.87 değer aralıklarında bulunmuştur. STRUCTURE analizleri Ereğli bölgesinde üretimi yapılan mor havuç genotiplerinin belirgin iki farklı popülasyondan oluştuğunu göstermiştir.

Iorizzo ve ark. (2016), 35 yabani ve kültür havucunda re-sequence analizi yapmış ve 1.3×10^6 SNP tanımlamışlar, bunlardan 49.365 SNP filogenetik ve kümeleme analizi için kullanmışlardır. Çalışmada Orta Asya ve Orta Doğu'nun kültür havuçlarının birincil merkezi olabileceği bulunmuştur. Doğu kültür havuçlarının (Asya havuçları) allelik yapısının Orta Asya yabani havuçlarına benzediği rapor edilmiştir. Çoğunlukla açık tozlanan kültür havuçlarındaki genetik farklılığın yabani havuçlardan az oranda düşük olduğu bildirilmiştir.

Arbizu ve ark. (2016), 10 nükleer ortolog kullanarak *D. guttatus* complex ve ilişkili türlerin filogenetik analizini yapmışlardır. Moleküler ağacın *D. guttatus* complex'ine ait genotiplerini birçok grup için yüksek çözünürlüğü olan dört gruba ayırdığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu dört grubu *D. bicolor*, *D. conchitae*, *D. guttatus* ve *D. setulosus* olarak tanımlamışlardır.

Andeden ve ark. (2013), yaptığı çalışmada orjini Türkiye'nin güneydoğusu olan ve 5 yabani ve 1 kültür türünü (*Cicer arietinum*) kapsayan 71 nohut aksesyonunun genetik çeşitliliği ve akrabalık ilişkileri iPBS-retrotranspozon ve ISSR markırları kullanmışlardır. On ISSR primeri kullanılarak toplam 6 türe ait 71 nohut genotipinde 136 skorlanabilir bant elde edilmiş ve bunlardan 135 (% 99.3)'inin polimorfik olduğu,

buna karşılık on iPBS markırında 130 (% 100 polimorfizimli) bant tespit edilmiş ve primer başına ortalama 13.0 bant ile en fazla çeşitlilik *C. echinospermum* ve *C. pinnatifidum* türleri arasında görüldüğü, *C. arietinum* daha düşük polimorfizm gösterdiği belirtilmiştir. Her iki markır sistemi için ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0.91 olarak bulunmuştur. iPBS ve ISSR NeighborNet (NNet) planar grafikleri karşılaştırıldığında aksesyonların ve türlerin gruplar arasındaki kümelenmesinin neredeyse benzer olduğu saptanmıştır. Bu çalışma iPBS markırların yabani nohut türlerinde ve kültür türünde çeşitlilik çalışmaları için faydasını ve rolünü ortaya koymuştur.

Guo ve ark. (2014), 35 farklı asma çeşidinde yaptıkları moleküler çeşitlilik çalışmasında %86.3 oranında polimorfizm gösteren toplam 99 polimorfik bant elde etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışma sonucunda iPBS markırlarının asmada genetik çeşitliliği belirlemek için basit, bilgi verici ve uygun bir metot olduğu sonucuna varmışlardır.

Yıldız ve ark. (2015), 66 bamya genotipindeki genetik çeşitliliği iPBS retrotranspozon markırları kullanarak analiz etmişlerdir. iPBS retrotranspozon primerlerinden, primer başına ortalama 6.8 band olmak üzere % 40.2 polimorfizm ile toplam 88 band elde edilmiştir. iPBS retropozonları için genetik çeşitlilik ve Shannon bilgi indeksi sırasıyla 0.01 ile 0.13 ve 0.02 ile 0.21, SSR markırları için yine sırasıyla 0.06 ile 0.46 ve 0.14 ile 0.65 aralığında olmuştur. Polimorfizm bilgi içeriği değeri, retrotranspozonlar için 0.12 ile 0.99 arasında değişirken SSR markırı için 0.52 ile 0.81 arasında değişmiştir. Retrotranspozon ve SSR temelli Neighbor Joining analizleri tüm genotipleri 4 gruba ayırmıştır. Fakat SSR markırları yerel çeşitleri orijine göre ayırma açısından daha etkin bulunmuştur. Popülasyon yapısını tanımlamak için STRUCTURE paket programı kullanılmış ve yerel çeşitleri arasında iki popülasyon (alt popülasyon varsayım sayısı, K=2) tanımlanmıştır. Bu çalışmada, bamyada iPBS markırların kullanılabilirliği rapor edilmiştir.

Nemli ve ark. (2015), 47 iPBS primeri kullanarak 67 fasulye genotipinde genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısını incelemişlerdir. Yapılan moleküler çalışmalarda toplamda 180, primer başına ise 4 polimorfik bant elde edilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği 0.73 olarak tespit edilmiş, genetik yakınlık ise 0.09 ile 0.99 arasında değişim

göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde iPBS primerlerinin fasulyede genetik çeşitliliği tespit etmekte başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

Duan ve ark. (2015), şakayık bitkisine ait 10 yabancı tür ve 55 çeşitten oluşan popülasyonda iPBS markırları kullanarak genetik çeşitlilik çalışması yapmışlardır. Kullanılan 36 primerden polimorfizm gösteren 16 primer seçilmiştir. Primer başına ortalama 12.88 bant olmak üzere her bir primerin ürettiği bant sayısı 9 ile 19 arasında değişim göstermiştir. Kullanılan 16 adet primer toplamda 206 bant üretmiş olup polimorfik bant sayısı ise % 83.98 ile 173 olarak tespit edilmiştir. Primer başına düşen ortalama polimorfik bant sayısı ise 10.81 olarak bildirilmiştir.

Baloch ve ark. (2015a), tarafından 104 bezelye yerel çeşidi ve 34 bezelye ıslah hattının moleküler karakterizasyonu iPBS-retrotranspozon markırları kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan 12 iPBS-retrotranspozon primerinden toplam 106 skorlanabilir bant elde edilmiş, bunların 81'i (%76.4) polimorfik bulunmuş ve primer başına ortalama 6.75 polimorfik bant elde edilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.33 ile 0.84 arasında değişirken ortalama 0.61 olarak bulunmuştur. Benzer coğrafik bölgeden gelen yerel bezelye çeşitleri NJ analizinde farklı gruplarda yer almış ve genetik parametre temelli gruplamanın coğrafik orijin ile yakın ilişki içinde olmadığını göstermiştir. Popülasyon yapısı STRUCTURE paket programı kullanılarak tanımlanmış ve yerel çeşitler arasında K=5'te 5 popülasyon, K=3'te 3 popülasyon tanımlanmıştır. iPBS retrotranspozonların bezelye genetik kaynaklarının moleküler karakterizasyon analizlerinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Baloch ve ark. (2015b), çoğunluğu Türkiye orijinli 6 yabancı ve 1 kültür mercimek türüne ait 50 aksesyonun moleküler karakterizasyonunu iPBS retrotranspozon markırları ve ISSR markırları kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. On iPBS primeri, 151 bant üretirken bunların 150'sinin (% 99.3) polimorfik olduğu ve primer başına 15.0 polimorfik fragment olduğu saptanmıştır. On ISSR primeri, primer başına ortalama 13.5 bant ile % 100 polimorfizm gösterirken, 138 skorlanabilir bant saptanmıştır. ISSR markırları için ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri (0.97) iPBS markırlarından (0.90) daha yüksek olmuştur. *Lens orientalis* genetik çeşitliliği en yüksek olan tür olarak saptanmış olup, bu durum *Lens culinaris* türü ile *Lens orientalis* türünün çaprazlanma ihtimalini arttırmıştır. Kültür çeşitleri ayrıca sırasıyla ISSR ve iPBS markırları ile % 82.92 ve % 51.92 oranında yüksek polimorfizm seviyesi

göstermişlerdir. *Lens lamottei* ve *Lens tomentosus*, her iki markır sisteminde de en az polimorfik tür olarak bulunmuştur. iPBS ve ISSR grafikleri karşılaştırıldığında, aksesyonlar ve türlerin kümeler içindeki gruplandırılması neredeyse benzer olarak bulunmuştur. Ayrıca, iPBS-retrotranspozonlarının yabani ve kültür *Lens* türlerinde moleküler karakterizasyon yapmak için evrensel bir işaretleyici olarak önemli bir rolü olduğunu rapor etmişlerdir.

Cömertpay ve ark. (2016), yedi ülkeden 81 ticari çeşit arasındaki genomik ilişkileri tahmin etmek için, dokuz primer içi bağlanma bölgesi (iPBS) retrotranspozon ve 17 basit tekrar dizileri (SSR) markırları kullanmışlardır. SSR markırları için lokus başına 3.47 ortalamaıyla toplam 59 allel ve iPBS retrotranspozon markırları için lokus başına 10.6 ortalamaıyla 96 bant saptamışlardır. Çeşitlerin her biri, SSR ve iPBS-retrotranspozon profilleri ile kesin olarak tanımlanabilmiştir. iPBS retrotranspozon ve SSR'a dayalı kümeleme benzerlik göstermiştir ve aralarında yüksek bir korelasyon saptanmıştır ($r = 0.73$). SSR ve iPBS retrotranspozon kombine verilerine dayanan bir komşu bağlantı kümelemesi, çeltik çeşitlerini üç kümeye bölmüştür. Popülasyon yapısı STRUCTURE yazılımıyla belirlenmiş ve incelenen çeşitler arasında Türk çeltik çeşitlerinin barındırdığı çeşitliliğin düşük olduğunu gösteren üç popülasyon ($K=3$) tespit edilmiştir. Sonuçlar, iPBS retrotranspozon belirteçlerinin, çeltik çeşitlerinin genetik çeşitliliğini belirlemek için çok güçlü bir teknik olduğunu ortaya koymuştur.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Bu tez çalışmasında kullanılan Daucus2, Daucus3, Daucus5, Daucus8, Daucus11, Daucus12, Daucus33, Daucus34, Daucus39, Daucus40 etiket numaralı *Daucus* türleri Amerika Bitki Gen Kaynaklarından temin edilmiştir. Daucus41, Daucus42, Daucus43 ve Daucus44 etiket numaralı genotipler Wisconsin Üniversitesi'nden alınmıştır. Daucus45 numaralı genotip Zen Garden Tohumculuktan, Daucus45H ve Daucus46M TAGEM projesinin materyallerinde temin edilmiştir. Materyallere ait detaylı bilgi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan 7 *Daucus* türüne ait 17 genotipin etiket numarası, Gen Bankası kodu, türü ve orijini

Etiket numarası	Gen bankası materyal kodu	Türü*	Orijin
Daucus2	PI 478858	<i>D. aureus</i>	Fransa
Daucus3	PI 652329	<i>D.setulosus (broteri)</i>	Peloponnes/Yunanistan
Daucus5	PI 652385	<i>D.conchitae</i> Greuter (<i>broteri</i>)	Antalya/Türkiye
Daucus8	Ames 25729	<i>D.guttatus (broteri)</i>	Suriye
Daucus11	PI 279763	<i>D.guttatus (maricatus)</i>	Kudüs/İsrail
Daucus12	PI 652327	<i>D.setulosus (guttatus)</i>	Yunanistan
Daucus33	Ames 31615	<i>D. muricatus</i>	Fas
Daucus34	PI 287113	<i>D. pusillus</i>	Florida, Uruguay
Daucus39	PI 661242	<i>D. pusillus</i>	Oregon/ABD
Daucus40	Ames 29891	<i>D. pusillus</i>	California/ABD
Daucus41	1255020	<i>D. carota</i>	Suriye
Daucus42	1255038 (PingDing)	<i>D. carota</i>	Çin
Daucus43	349-1 (7262)	<i>D. carota</i>	ABD
Daucus44	913-1 (Ereğli)	<i>D. carota</i>	Ereğli/Türkiye
Daucus45		<i>D. carota</i>	Chantenay
Daucus46H		<i>D. carota</i>	Hatay/Türkiye
Daucus46M		<i>D. carota</i>	Kahramanmaraş/Türkiye

*Tür isimleri yeniden tanımlanan isimler ve parantez içerisinde materyallerin ilk toplandığında kayıt altına alınan isimleri olarak verilmiştir.

Çalışmada Fransa orijinli bir adet *D. aureus*, Yunanistan orijinli iki adet *D. setulosus*, Türkiye orijinli bir adet *D. conchitae*, Suriye ve İsrail orijinli iki adet *D. guttatus*, Fas orijinli bir adet *D. muricatus*, Amerika Kıtası orijinli 3 adet *D. pusillus* türü ve Suriye, Çin, ABD, Türkiye orijinli 7 adet *D. carota* kullanılmıştır. Daucus44 ve Daucus46H numaralı genotipler tamamen mor renkli, Daucus43 numaralı genotip dışı mor içi turuncu bir ıslah hattı, Daucus41 ve Daucus42 numaralı genotipler ince mor kabuklu içi turuncu/sarı, Daucus46M numaralı genotip ise turuncu renkli kök yapısına sahiptir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki yetiştirilmesi

DNA izolasyonu için her tür/genotip için 5'er tohum 2:1 oranında torf:perlit karışımı içeren saksılara ekilmiş ve yeterli gerçek yaprak elde edilinceye kadar gerekli bakım işlemleri yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Daucus* türlerinin saksıda görünüşleri.

3.2.2. Genomik DNA izolasyonu

Her bir tür/genotipe ait beş bitkinin genç yaprakları karıştırılarak alınmış ve bir gün süreyle -85’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Derin dondurucuda 24 saat muhafaza edilen örnekler 2 gün süre ile liyoflizatörde (CHRIST-ALPHA 2-4 LD plus) kurutulmuş ve Tissue Lyser’da (QIAGEN-Tissue LyserII) öğütülmüştür. DNA izolasyonu Murray ve Thompson (1980)’ın DNA ekstraksiyon protokolü modifiye edilerek yapılmıştır.

3.2.3. DNA izolasyon protokolü

1. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku 2 ml’lik PCR tüpüne yerleştirilmiştir.
2. Su banyosu 65°C’ye ayarlanmıştır.
3. 1 ml ekstraksiyon tamponu [50 mM Tris-HCl, pH8.0, 700 mM NaCl, 10 mM EDTA, %1 (w/v) CTAB (cetyltriethylammoniumbromide), %1 (v/v) beta-mercaptoethanol] ve 1 µl RNase eklenerek vortex ile iyice karıştırılmıştır.
4. Dokular 30 dakika su banyosunda bekletilmiş ve ardından bir sonraki aşama için soğumaya bırakılmıştır.
5. Soğumuş doku üzerine 1000 µl chloroform: isoamyl (24:1 hacim) çözeltisi ilave edilmiş ve ters-düz edilerek iyice karışması sağlanmıştır.
6. 14000 rpm’de 5 dk. santrifüj yapılmıştır.
7. Üst faz pipetle çekilerek temiz bir 2 ml’lik tüpe aktarılmıştır.
8. Üzerine 100 µl CTAB (%10 w/v) eklenmiş ve iyice karıştırmak için ters-düz edilmiştir.
9. İyice karıştırılmış tüplere 1000 µl chloroform: isoamyl (24:1 hacim) eklenmiş ve ters-düz edilerek iyice karışması sağlanmıştır.
10. 14000 rpm’de 5 dk. santrifüj yapılmıştır.
11. Üst faz pipetle çekilerek temiz bir 2 ml’lik tüpe aktarılmıştır.
12. Çözelti üzerine 1000 µl PB (presipitasyon tamponu) tamponu [50 mM Tris-HCl, pH8.0, 10 mM EDTA, %1 (w/v) CTAB (cetyltriethylammoniumbromide)] eklenerek hafifçe ters-düz edilmiştir.
13. Çözelti 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
14. 1400 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
15. Pelet üzerine 400 µl 1 M NaCl ilave edilmiştir.

16. 60 °C su banyosunda 20 dk bekletilmiştir.
17. Su banyosundan çıkarılan pelet üzerine 1000 µl %95 soğuk etil alkol (ETOH) eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.
18. Çözelti -20°C’de gece boyunca bekletilmiştir.
19. 1400 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
20. Çökelti üzerine 500 µl %70’lik ETOH eklenmiştir.
21. 1400 rpm’de 5 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
22. Çökelti 37°C’de 30 dk tüplerin kapakları açık bir şekilde inkübe edilerek kuruması sağlanmıştır.
23. Kurumuş DNA pelet üzerine 100 µl steril distile H₂O ilave edilmiştir.

3.2.4. DNA miktarı ve saflığı

PZR reaksiyonlarında kullanılacak DNA’nın miktarı ve saflığı son derece önemlidir. İzolasyon sonrası öncelikle DNA %1’lik agaroz jelde koşturulmuş daha sonra DNA konsantrasyonu NanoDrop (Thermo Scientific-Nanodrop2000) ile ölçülmüş (Çizelge 3.2.) ve PZR reaksiyonları için 25 ng/µl’ye seyreltilmiştir.

Çizelge 3.2. *Daucus* tür/genotiplerinden izole edilen genomik DNA örneklerinin Nanodropta ölçülen konsantrasyonları

Etiket numarası	DNA miktarı (ng)	Kalitesi (260/280)
Daucus2	701	2.01
Daucus3	1377	2.04
Daucus5	503	1.91
Daucus8	672	2.07
Daucus11	5227	1.95
Daucus12	1272	2.05
Daucus33	2040	2.06
Daucus34	926	2.02
Daucus39	2716	2.05
Daucus40	1911	2.05
Daucus41	2207	2.10
Daucus42	2418	2.10
Daucus43	2230	2.04
Daucus44	467	2.03
Daucus45	806	1.95
Daucus45H	3395	2.08
Daucus46M	3061	2.06

3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR)

Bu çalışmada, Kalendar ve ark., (2010) tarafından geliştirilen iPBS retrotranspozon markırları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerlere ait detaylı bilgi Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tez çalışmasında kullanılan iPBS retrotranspozon primerleri ve baz dizilimleri

iPBS Markır	Baz dizilimi	Yapışma sıcaklığı (°C)	iPBS Markır	Baz dizilimi	Yapışma sıcaklığı (°C)
2074	GCTCTGATACCA	50	2217	ACTTGGATGTCGATACCA	52
2075	CTCATGATGCCA	50	2218	CTCCAGCTCCGATTACCA	51
2076	GCTCCGATGCCA	60	2219	GAACCTTATGCCGATACCA	53
2077	CTCACGATGCCA	55	2220	ACCTGGCTCATGATGCCA	57
2078	GCGGAGTCGCCA	63	2221	ACCTAGCTCACGATGCCA	57
2079	AGGTGGGCGGCCA	65	2222	ACTTGGATGCCGATACCA	53
2080	CAGACGGCGGCCA	63	2224	ATCCTGGCAATGGAACCA	55
2081	GCAACGGCGGCCA	65	2225	AGCATAGCTTTGATACCA	55
2083	CTTCTAGCGCCA	55	2226	CGGTGACCTTTGATACCA	53
2085	ATGCCGATACCA	53	2228	CATTGGCTCTTGATACCA	53
2087	GCAATGGAACCA	52	2229	CGACCTGTTCTGATACCA	52
2095	GCTCGGATACCA	53	2230	TCTAGGCGTCTGATACCA	53
2374	CCCAGCAAACCA	53	2231	ACTTGGATGCTGATACCA	52
2375	TCGCATCAACCA	50	2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	55
2376	TAGATGGCACCA	52	2237	CCCCTACCTGGCGTGCCA	55
2377	ACGAAGGGACCA	53	2238	ACCTAGCTCATGATGCCA	55
2378	GGTCCTCATCCA	53	2239	ACCTAGGCTCGGATGCCA	55
2379	TCCAGAGATCCA	50	2240	AACCTGGCTCAGATGCCA	55
2380	CAACCTGATCCA	52	2241	ACCTAGCTCATCATGCCA	55
2381	GTCCATCTTCCA	50	2242	GCCCCATGGTGGGCGCCA	57
2382	TGTTGGCTTCCA	52	2243	AGTCAGGCTCTGTTACCA	55
2383	GCATGGCCTCCA	53	2244	GGAAGGCTCTGATTACCA	50
2384	GTAATGGGTCCA	50	2245	GAGGTGGCTCTTATACCA	50
2385	CCATTGGGTCCA	50	2246	ACTAGGCTCTGTATACCA	50
2386	CTGATCAACCCA	52	2249	AACCGACCTCTGATACCA	51
2387	GCGCAATACCCA	52	2251	GAACAGGCGATGATACCA	53
2388	TTGGAAGACCCA	50	2252	TCATGGCTCATGATACCA	52
2389	ACATCCTTCCCA	52	2253	TCGAGGCTCTAGATACCA	51
2390	GCAACAACCCCA	55	2255	GCGTGTGCTCTCATACCA	52
2391	ATCTGTCAGCCA	52	2256	GACCTAGCTCTAATACCA	51
2392	TAGATGGTGCCA	50	2257	CTCTCAATGAAAGCACCA	52
2393	TACGGTACGCCA	50	2295	AGAACGGCTCTGATACCA	60
2394	GAGCCTAGGCCA	55	2298	AGAAGAGCTCTGATACCA	60
2270	ACCTGGCGTGCCA	65	2373	GAACCTTGCTCCGATGCCA	51
2271	GGCTCGGATGCCA	60	2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	53
2272	GGCTCAGATGCCA	55	2398	GAACCCTTGCCGATACCA	51
2273	GCTCATCATGCCA	55	2399	AAACTGGCAACGGCGCCA	52
2274	ATGGTGGGCGCCA	65	2400	CCCCTCCTTCTAGCGCCA	51
2276	ACCTCTGATACCA	50	2401	AGTTAAGCTTTGATACCA	53
2277	GGCGATGATACCA	50	2402	TCTAAGCTCTTGATACCA	52
2278	GCTCATGATACCA	50	2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	60
2279	AATGAAAGCACCA	50			

Çizelge 3.3’de verilen 83 primerde *Daucus* tür/genotiplerinde PZR ürünü ve polimorfizm verenlerin tespiti için rastgele seçilen 4 adet tür/genotipte PZR yapılmıştır. Polimorfizm gösteren 24 primer tüm *Daucus* tür/genotiplerinde her biri iki tekrarlı olacak şekilde moleküler karakterizasyon yapmak için kullanılmıştır. Reaksiyonlar Thermal cycler cihazında (Applied Biosystems-Veriti) gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonları her tüp için 25 µl olacak şekilde ayarlanmıştır (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. iPBS retrotranspozon markırında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu bileşeni

PZR Bileşeni	Kullanılan miktar (µl)
dH ₂ O	11.53 (12-13 nükleotid primerleri için) 13.53 (18 nükleotid primerleri için)
Primer (5mM)	5µl primer (12-13 nükleotid primerleri için) veya 3µl (18 nükleotid primerleri için)
Taq Buffer	2
MgCl ₂ (25mM)	2.45
dNTP (2.5mM)	2
TaqPolimeraz (5UFermentas)	0.2
gDNA (25 ng/ µl)	2
Toplam reaksiyon hacmi	25

Bütün PZR beş basamakta gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyon basamakları ve detayları Çizelge 3.5. 'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. iPBS retrotranspozon için PZR döngüsü

Basamaklar	Sıcaklık/Süre/Döngü
Ön Denatürasyon	95°C/ 4 dk / 1 döngü
Denatürasyon	95°C/ 15 sn / 30 döngü
Yapışma	50-65°C/ 1 dk / 30 döngü (primere bağlı olarak değişmek üzere)
Uzama	68°C/ 1 dk / 30 döngü
Son Uzama	72°C/ 5 dk / 1 döngü
Bekleme	+4 °C

3.2.6. Agaroz jel elektroforezi

iPBS analizleri için elde edilen PZR ürünleri 1xTAE tampon çözeltisi kullanılarak %2’lik agaroz jelde 120 V / 4 saat koşularak yürütülmüştür. Ayırışan bantların büyüklüğü 200-20000 baz çifti aralığında DNA markırı (ThermoFisher,

ZipRuler Express DNA Ladder) kullanılarak belirlenmiştir. Jel görüntüleri 0.5 µg/ml konsantrasyonda ethidium bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilerek elde edilmiştir.

3.2.7. Verilerin değerlendirilmesi

Her bir iPBS retrotranspozonlar için çoğaltılan PZR ürünlerinin jel görüntüleri incelenerek parlak ve diğerlerinden net şekilde ayrılmış bantlar skorlanmış, zayıf bantlar yapay bantların skorlanmasını önlemek için dikkate alınmamıştır. Bantlar ikili skora sistemine göre bant varlığında 1 yokluğunda 0 olarak sınıflandırılmış ve Jaccard (1987) genetik mesafe katsayısı kullanılarak UPGMA metoduna göre soyağacı çizilmiştir. Çoğaltılan her bir iPBS retrotranspozon markırı için toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı hesaplanmıştır. Polimorfizm bilgi içerikleri (PIC, Polymorphism Information Content) Laborda ve ark. (2005)'na göre yapılmıştır. İkili genetik uzaklık (GDj) matriksi R istatistiksel bilgisayar programında Jaccard katsayısı (Jaccard, 1987) kullanılarak hesaplanmıştır. Genotipler arasındaki uzaklık Jaccards benzerlik katsayısı alınarak hesaplandıktan sonra UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) ile dendrogram oluşturulmuştur.

3.2.8. Popülasyon yapısı analizi

Popülasyon yapısı analizleri STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard ve ark. 2000) yazılımı ile admixture modeline göre elde edilmiştir. STRUCTURE programına popülasyon numaraları (K), her biri her lokustaki bir allel setinin frekansı karakterize edilerek girilmiştir. Popülasyon numaraları (K) karıştırılmış ve ilişkilendirilmiş allel frekanslarının karakterize edilmesi modeline göre 1-10 arasında seçilmiştir. Her bir değer için bağımsız 10 tekrarlı [50,000 Burn-in periods ve 150,000 MCMC (Monte Carlo Markov Chain) (Evano ve ark., (2005))] ile farklı K değerleri (1'den 10'a kadar) test edilmiştir. Ardışık K değerleri arasındaki verilerin logaritmik olasılıklarındaki değişim, doğru alt popülasyon numarasını tespit etmek için kullanılan STRUCTURE programının çıktılarından elde edilmiştir. Structure Harvester kullanılarak Delta K (ΔK) yöntemine göre en uygun K değeri (alt popülasyon sayısı) belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

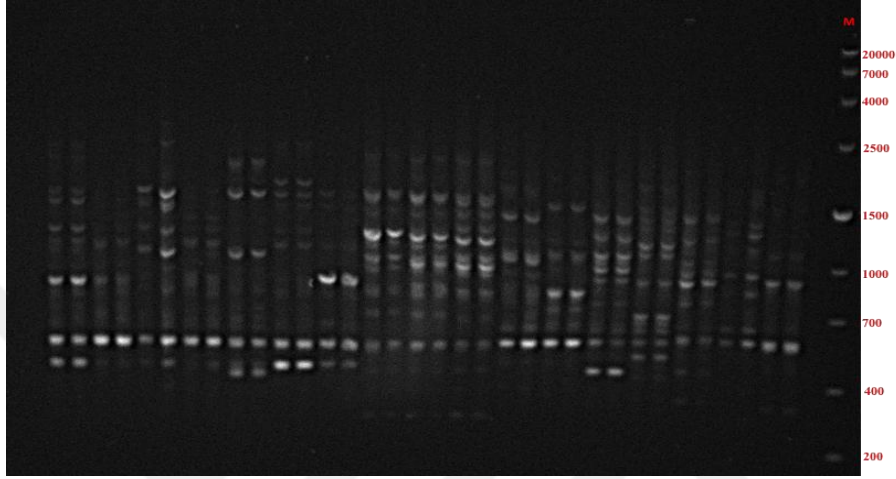
Dünyanın farklı bölgelerinden 7 *Daucus* türüne mensup 17 genotipe ait tohumlar 2:1 oranında hazırlanmış torf:perlite ortamına ekilmiş ve yeterli gerçek yaprak elde edilinceye kadar gerekli bakım işlemleri yapılmıştır. Türler arası genetik varyasyonun belirlenmesi ve genotipler arası genetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan moleküler karakterizasyonda, Kalendar ve ark. (2010)'nın geliştirdiği ve evrensel olarak tanımlanan iPBS retrotranspozon markırları ilk kez *Daucus* türlerinde kullanılmıştır.

Bu amaçla 83 primer 4 farklı türde ön taramaya tabi tutulmuştur. Ön tarama sonucunda 83 primerden 24 tanesi skorlanabilir PCR ürünü vermiş ve 17 genotipe genetik karakterizasyon için kullanılmıştır (Çizelge 4.1). Her bir genotip için ikişer tekerrür yapılarak deneysel hatalar en aza indirgenmeye çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan 24 iPBS retrotranspozon primerlerine ait bazı PZR jel görüntüleri Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.

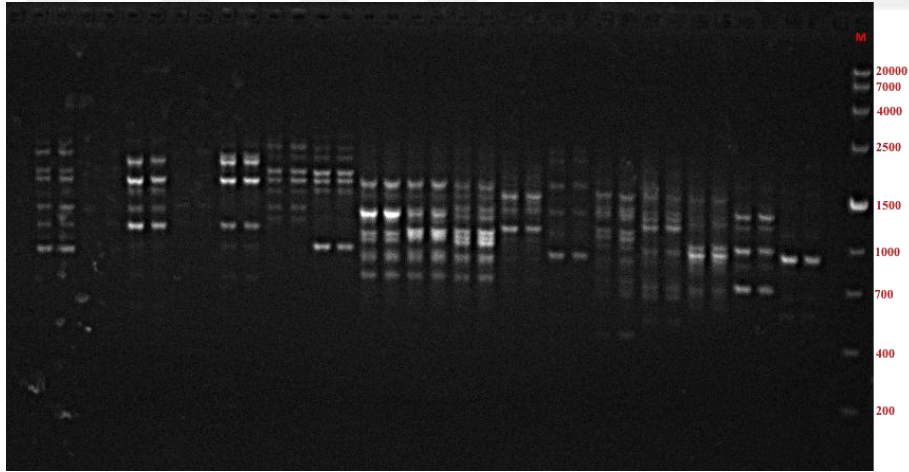
Daucus türlerinde kullanılan 24 iPBS retrotranspozon primeri ile toplam 201 bant üretilmiş ve bunlardan 200 tanesinin polimorfik olduğu saptanmıştır. Primer başına ortalama toplam skorlanan bant sayısı 8.4 ve primer başına ortalama polimorfik bant sayısı 8.3 olarak hesaplanmıştır. Toplam bant sayısı bakımından iPBS retrotranspozon primerleri karşılaştırıldığında; en yüksek bant sayısı 12 adet ile iPBS2277 retrotranspozon primerinden, en düşük bant sayısı iPBS2238, iPBS2251 ve iPBS2388 retrotranspozon primerlerinden elde edilmiştir (Çizelge 4.1). iPBS retrotranspozon primerleri polimorfizm oranı bakımından incelendiğinde, iPBS2388 primeri (%80) dışında tümünün %100 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1).

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri incelendiğinde en düşük değer 0.74 ile iPBS2388 primerinden, en yüksek değerler ise 0.97 ile iPBS2374, 0.96 ile iPBS2095 ve iPBS2390, 0.95 ile iPBS2074 ve iPBS2220, 0.94 ile iPBS2272, iPBS2395 ve iPBS2228 primerlerinden elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda elde edilen en yüksek ve en düşük PIC değerleri, Maksylewicz ve Baranski (2013)'nin SSR markırları ile kültür havuçlarında yaptıkları genetik farklılık çalışmasında GSSR için 0.53 ile 0.85 arasında, DCM markırları için 0.46 ile 0.83 arasında rapor etikleri PIC değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada dominant markır olan iPBS'den elde edilen ortalama PIC

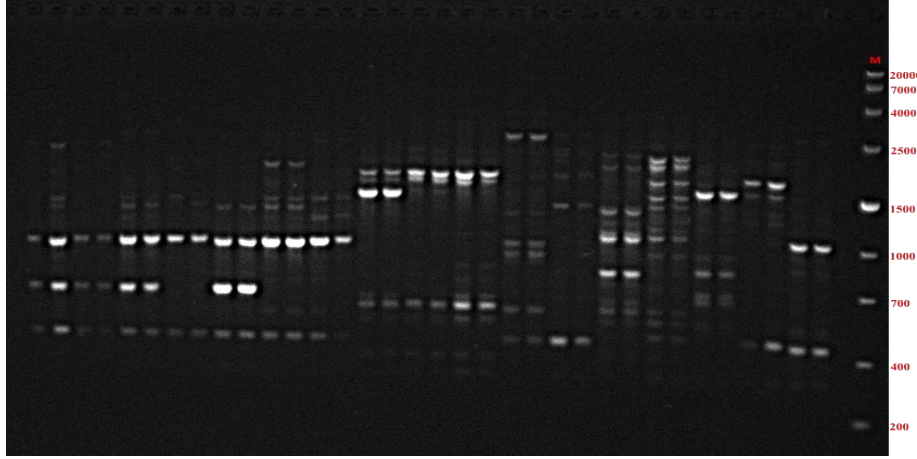
değeri 0.89 iken, Maksylewicz ve Baranski (2013)'nin kodominant markır kullandıkları çalışmada ortalama PIC değeri 0.56, Baranski ve ark. (2012) ile Clotault ve ark. (2010)'nın çalışmalarında ortalama PIC değeri 0.6 olarak rapor edilmiştir. Grzebelus ve ark., (2013) tarafından dominant bir markır tekniği olan DArT kullanılmış ve ortalama 0.34 PIC değeri elde edilmiştir.



Şekil 4.1. ipBS 2232 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.



Şekil 4.2. ipBS 2230 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.



Şekil 4.3. iPBS 2373 primeri kullanılarak elde edilen PZR jel görüntüsü.

Çizelge 4.1. *Daucus* genotiplerinde taranan 24 iPBS primerin sekans dizilimi, yapışma sıcaklığı, toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler.

Markır	Diziliş	At(°C)	Bant Sayısı		P%	PIC
			Toplam Bant	Polimorfik Bant		
iPBS2095	GCTCGGATACCA	53	9	9	100	0.96
iPBS2229	CGACCTGTTCTGATACCA	52	9	9	100	0.90
iPBS2230	TCTAGGCGTCTGATACCA	53	7	7	100	0.79
iPBS2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	55	10	10	100	0.82
iPBS2239	ACCTAGGCTCGGATGCCA	55	8	8	100	0.76
iPBS2238	ACCTAGCTCATGATGCCA	55	5	5	100	0.86
iPBS2249	AACCGACCTCTGATACCA	51	10	10	100	0.82
iPBS2251	GAACAGGCGATGATACCA	53	5	5	100	0.84
iPBS2252	TCATGGCTCATGATACCA	52	7	7	100	0.91
iPBS2253	TCGAGGCTCTAGATACCA	51	9	9	100	0.88
iPBS2256	GACCTAGCTCTAATACCA	51	7	7	100	0.89
iPBS2272	GGCTCAGATGCCA	55	10	10	100	0.94
iPBS2277	GGCGATGATACCA	50	12	12	100	0.92
iPBS2373	GAACCTTGCTCCGATGCCA	51	11	11	100	0.89
iPBS2383	GCATGGCCTCCA	53	9	9	100	0.84
iPBS2388	TTGGAAGACCCA	50	5	4	80	0.74
iPBS2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	53	8	8	100	0.94
iPBS2400	CCCCTCCTTCTAGCGCCA	51	8	8	100	0.93
iPBS2375	TCGCATCAACCA	50	10	10	100	0.92
iPBS2374	CCCAGCAAACCA	53	9	9	100	0.97
iPBS2390	GCAACAACCCCA	55	9	9	100	0.96
iPBS2074	GCTCTGATACCA	50	8	8	100	0.95
iPBS2220	ACCTGGCTCATGATGCCA	57	8	8	100	0.95
iPBS2228	CATTGGCTCTTGATACCA	53	8	8	100	0.94
Toplam			201	200		
Ortalama			8.4	8.3	99.2	0.89

At: bağlanma sıcaklığı, P%: yüzdelik polimorfizm, PIC: polimorfizm bilgi içeriği

İpek ve ark. (2016), Ereğli bölgesinde yetişen mor havuç popülasyonundaki genetik varyasyonu belirlemek için kullandıkları 18 SSR primerinden toplamda 106 SSR alleli çoğaltılmıştır. SSR başına polimorfik allel sayısı 1 ile 14 arasında değişirken, polimorfizm bilgi içeriği 0.29 ile 0.85 arasında hesaplanmıştır. STRUCTURE analizleri Ereğli bölgesinde üretilen mor havuç genotiplerinin belirgin iki farklı popülasyondan oluştuğunu göstermiştir. Yıldız ve ark., (2015) bamyada yapmış oldukları bir karakterizasyon çalışmasında, PIC değerinin retrotranspozon markırlarında 0.12 ile 0.97, SSR markırlarında 0.52 ile 0.81 arasında değiştiğini belirlemiş, ayrıca ortalama PIC değerlerinin sırasıyla 0.66 ve 0.62 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında elde edilen PIC değerlerinin (0.74 ile 0.97) yüksek çıkması farklı türlerin çalışmada kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Bu sonuç ayrıca iPBS retrotranspozon markırlarının *Daucus* türlerini ayırma gücünün yüksek olduğunu göstermektedir.

iPBS retrotranspozon markır tekniğinden elde edilen veriler ile hesaplanan benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA metodu ile oluşturulan dendrogram Şekil 4.4’de verilmiştir. *Daucus* türleri A ve B olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. A grubunda *D. carota* genotipleri toplanmışken B grubunda diğer *Daucus* türleri yer almıştır. A grubu iki alt gruba ayrılmış ve bir grupta sadece Daucus46M yer almıştır. Daucus46M genotipi diğer *Daucus carota* genotiplerinden farklı olarak turuncu kök yapısına sahiptir. A grubunun ikinci alt grubu yine iki alt gruba ayrılmış ve bir grubunda sadece Daucus12 numaralı Yunanistan orijinli *D. setulosus* yer almaktadır. *D. setulosus*’un *D. carota*’larla aynı grupta yer almasının *Daucus* türleri arasında meydana gelen tozlanmalardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Daucus44 numaralı tamamen mor renkli köke sahip olan Ereğli orijinli genotip diğer mor renkli kök yapısına sahip *D. carota* genotiplerinden ayrı bir grupta yer almıştır. Daucus41 ve Daucus42 numaralı ve sırasıyla Suriye ve Çin orijinli dışı ince mor içi sarı/turuncu olan genotipler aynı küçük alt grupta yer almıştır. B grubu iki alt gruba ayrılmış ve birinci alt grupta Daucus34, Daucus39 ve Daucus40 numaralı *D. pusillus*’a ait genotipler toplanmıştır. B grubunun ikinci alt grubunda ise Daucus8 ve Daucus11 numaralı *D. guttatus*’a ait genotipler *D. maricatus* ile aynı grupta fakat ayrı küçük bir grupta yer almıştır. *D. guttatus complex*’i karmaşık bir yapıya sahiptir. *D. muricatus* ve *D. guttatus*’un aynı alt grupta yer almasının özellikle İsrail ve diğer bazı Orta Asya’ya ait *D. guttatus* tohumlarının *D.*

muricatus gibi büyük ve benzer tohum yapılarına sahip olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

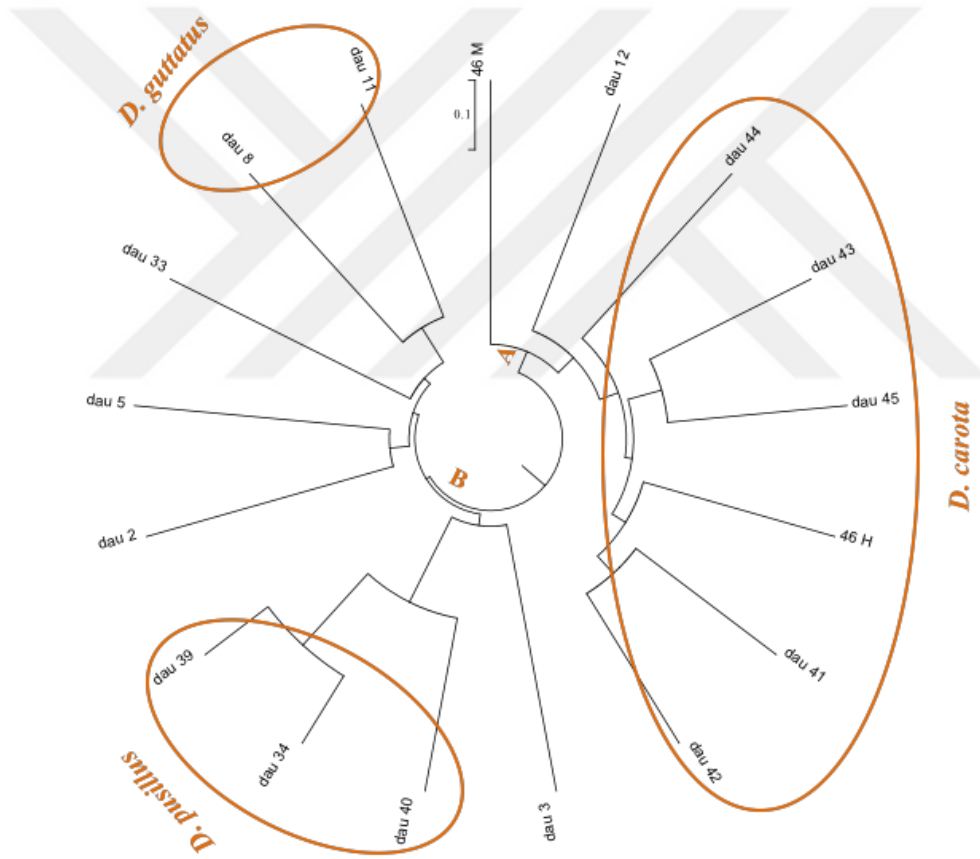
Braden ve ark. (2002), kültür havucu (*Daucus carota* L.) ve kültür havucuna akraba yabani formlardan oluşan 124 genotipte AFLP ve ISSR markırları kullanarak yaptıkları çalışmada havuç bitkisinde geniş bir çeşitliliğin bulunduğunu ortaya koymuştur. Araştırmada kültür havucu ile yabani *Daucus carota* alt türleri birbirlerini tozlamalarına karşın, ayrı gruplarda dağılım göstermişlerdir. Bunun nedeninin kültür havuçlarında yapılan seleksiyon olduğunu ve her iki grup arasındaki gen geçişinin engellenmesi olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde bu tez çalışmasında kültür havuçları ve *Daucus* türleri iPBS markır tekniği kullanılarak oluşturulan dendrogramda iki farklı ana grupta yer almıştır. Kültür çeşitleri ile yabani havuç türleri arasında her ne kadar tozlanmalar olsa bile morfolojik özelliklere göre yapılan seleksiyonlar kültür havuçlarını yabani alt türlerden ayırmaktadır.

Doğu ve Orta Akdeniz bölgesinde yaklaşık 13 tür olduğu kabul edilmektedir (Saenz Lain, 1981). Bunlar içerisinde *D. guttatus* Sm., *D. bicolor* Sm., *D. setulosus* Guss ex DC., ve *D. broteri* Ten. morfolojik olarak benzer grup olan *D. guttatus* complex'inde yer almaktadır (Martinez-Flores ve ark., 2012). *D. carota* complex'i Apiaceae içerisinde en değişken grup olarak kabul edilmesine rağmen *D. guttatus* complex'i çok karmaşıktır ve şimdiye kadar taksonomik olarak gerçek anlamda çözülememiştir (Arbizu ve ark., 2014). Tez çalışmamızda *Daucus* türlerinin benzer grupta yer alma nedeninin *Daucus* türleri arasında tozlanmaların olması ve genetik olarak bir bariyerin bulunmamasından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

St. Pierre ve ark. (1990), 32 ülkeye ait *D. carota* complex'ine ait 168 genotipte izozimlerle bir çalışma yapmış ve birbirlerinden ayrılmadıklarını rapor etmişlerdir. Nakajima ve ark. (1998), AFLP ve RAPD moleküler markır teknikleri kullanarak yaptıkları bir çalışmada tüm *D. carota* genotiplerinin bir grup içinde toplandıklarını belirtmişlerdir. Shim ve Jorgewnsen (2000), yabani ve kültür havuçlarının AFLP moleküler markır tekniği ile farklı gruplara ayrıldığını göstermişlerdir. Lee ve Park (2014), *D. sahariens*, *D. syrticus* ve *D. gracilis*'in *D. carota*'ya en yakın akrabalar olabileceğini belirtmişlerdir.

Daucus'un filogenetik yapısını çıkarmak için Spooner ve ark. (2013), sekiz nükleer ortolog geni kullanmışlardır. Bu çalışmada *D. carota* ve *D. capillifolius*'un (*D.*

carota subsp. *capillifolius* (Gilli) Arbizu) ve *D. syrticus*'un yakından ilişkili olduğu fakat alt türlerin ayrılmasında etkisiz kaldığı rapor edilmiştir. Arbizu ve ark. (2014), yeni nesil sekanslama teknolojisi ile elde edilen 94 nükleer ortolog kullanmış ve *D. syrticus* dahil *Daucus* türlerini ayırt edebilmişlerdir. Çalışmada *D. guttatus* complex'ın üç gruba ayrıldığı belirtilmiştir. Arbizu ve ark. (2016), 10 nükleer ortolog kullanarak *D. guttatus* complex ve ilişkili türlerin filogenetik analizini yapmışlar ve moleküler ağacın *D. guttatus* complex'ine ait genotiplerini birçok grup için yüksek çözünürlüğü olan dört gruba ayırmıştır. Araştırmacılar bu dört grubu *D. bicolor*, *D. conchitae*, *D. guttatus* ve *D. setulosus* olarak tanımlamışlardır.



Şekil 4.4. Jaccard katsayısı kullanılarak elde edilen matris ile oluşturulan *Daucus* türlerine ait dendrogram.

iPBS DNA analizleri kullanılarak 17 *Daucus* tür/genotipte Jaccard'a göre hesaplanan genetik mesafeler incelendiğinde birbirine en uzak genotipler 0.95 ile *Daucus*46M ve *Daucus*40, 0.91 ile *Daucus*46M ve *Daucus*34 numaralı genotipler

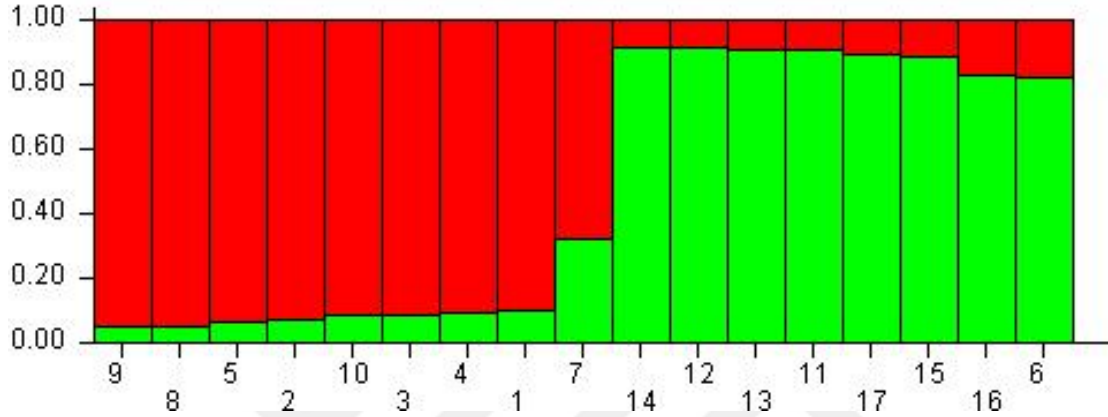
olduğu gör÷lmektedir. Birbirine en yakın genotipler ise 0.23 ile Daucus39 ve Daucus34, 0.47 ile Daucus39 ve Daucus40 numaralı genotipler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).



Çizelge 4.2. iPBS verileri kullanılarak 17 *Daucus* tür/genotipte Jaccard'a göre elde edilen genetik mesafe tablosu.

Genotip	dau_2	dau_3	dau_5	dau_8	dau_11	dau_12	dau_33	dau_34	dau_39	dau_40	dau_41	dau_42	dau_43	dau_44	dau_45	46_M
dau_3	0.808															
dau_5	0.739	0.813														
dau_8	0.794	0.828	0.756													
dau_11	0.800	0.796	0.779	0.655												
dau_12	0.774	0.810	0.730	0.869	0.844											
dau_33	0.831	0.843	0.810	0.797	0.747	0.794										
dau_34	0.816	0.802	0.786	0.800	0.773	0.785	0.798									
dau_39	0.802	0.776	0.783	0.807	0.802	0.792	0.794	0.229								
dau_40	0.896	0.759	0.815	0.831	0.835	0.819	0.817	0.538	0.474							
dau_41	0.821	0.870	0.867	0.892	0.845	0.714	0.800	0.846	0.810	0.850						
dau_42	0.853	0.865	0.862	0.875	0.818	0.716	0.797	0.822	0.796	0.817	0.507					
dau_43	0.845	0.844	0.865	0.854	0.760	0.671	0.756	0.836	0.811	0.849	0.636	0.571				
dau_44	0.780	0.875	0.831	0.818	0.874	0.733	0.833	0.871	0.840	0.882	0.656	0.636	0.686			
dau_45	0.802	0.835	0.832	0.821	0.778	0.731	0.731	0.785	0.759	0.753	0.663	0.617	0.519	0.585		
46_M	0.842	0.889	0.836	0.838	0.857	0.821	0.800	0.910	0.890	0.954	0.787	0.785	0.754	0.660	0.761	
46_H	0.730	0.786	0.781	0.796	0.856	0.618	0.779	0.786	0.761	0.798	0.588	0.561	0.667	0.639	0.565	0.746

Tez kapsamında kullanılan 17 *Daucus* tür/genotipinin popülasyon yapısı STRUCTURE analizi yapılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Delta K kriteri kullanılarak 17 *Daucus* tür/genotipi iki gen havuzu (iki alt popülasyon) oluşturmuştur (Şekil 4.5). Şekil 4.5'ten de anlaşılacağı üzere 17 *Daucus* tür/genotipi iki farklı popülasyondan oluşmaktadır. En yüksek Delta K değeri 3.536.558 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.5. *Daucus* türlerinin genetik popülasyonunun yapı analizinin şeması (K=2).

Çizelge 4.3. Structure analizinde hesaplanan Delta K değerleri

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	10	-1.805.630.000	2.492.232	—	—	—
2	10	-2.632.100.000	1.302.379.424	-826.470.000	4.605.940.000	3.536.558
3	10	-8.064.510.000	4.580.957.503	-5.432.410.000	4.683.280.000	1.022.336
4	10	-8.813.640.000	5.358.906.509	-749.130.000	1.912.850.000	0.356948
5	10	-11.475.620.000	6.148.661.312	-2.661.980.000	2.143.100.000	0.348547
6	10	-11.994.500.000	4.085.055.014	-518.880.000	828.360.000	0.202778
7	10	-13.341.740.000	3.897.554.485	-1.347.240.000	1.776.600.000	0.455824
8	10	-12.912.380.000	3.878.373.595	429.360.000	1.766.820.000	0.455557
9	10	-10.716.200.000	5.696.094.641	2.196.180.000	2.157.630.000	0.378791
10	10	-10.677.650.000	6.187.721.696	38.550.000	—	—

5. SONUÇ

Havuç en çok tüketilen bitkiler arasında yer almakta, çeşitli tüketim şekillerinin bulunması ve sağlık açısından önemli bir besin kaynağı olması nedeni ile tüketim hacmi her geçen gün daha da artmaktadır. Her bitkide olduğu gibi havuç bitkisinde de ıslah yolu ile bitki özellikleri geliştirilmektedir. Kültürü yapılan bitkilerin ıslahı için yabani türler çok önemli genetik kaynaklardır. Bu kaynakları ıslah sürecinde kullanmak için genetik çeşitliliğin bilinmesi faydalı olmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında *Daucus* cinsine ait 7 türden toplam 17 genotipte havuçta daha önceden kullanılmamış olan iPBS moleküler markır sisteminin *Daucus*'ta genetik çeşitliliği tespit etmedeki etkinliği araştırılmıştır. Yedi *Daucus* türüne ait 17 genotipte kullanılan 24 polimorfik iPBS primeri ile toplam 201 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Primer başına ortalama polimorfik bant sayısı 8.3 ve en yüksek bant sayısı (12 bant) iPBS2277, en düşük bant sayısı (5 bant) iPBS2238, iPBS2251 ve iPBS2388 numaralı primerlerden elde edilmiştir. En düşük PIC değeri 0.74 (iPBS2388) olarak ve en yüksek PIC değeri 0.97 (iPBS2374) ve ortalama PIC değeri 0.89 olarak hesaplanmıştır. En düşük ve en yüksek genetik uzaklıklar sırası ile 0.23 (*D. Pusillus*, Oregon/ABD ve *D. Pusillus* Florida, Uruguay) ve 0.95 (*D. Carota*, Kahramanmaraş/Türkiye ve *D. Pusillus*, California/ABD) olarak gözlenmiştir. iPBS retrotranspozon markır tekniği kullanılarak elde edilen veriler ile hesaplanan Jaccard benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA metodu ile oluşturulan dendrogramda iki ana grup oluşmuştur. Birinci grup *Daucus carota* genotiplerini içerirken ikinci grup diğer *Daucus* türlerinden oluşmuştur. *Daucus carota* genotipleri içerisinde turuncu kök rengine sahip 46M numaralı genotip kök bölgesinde mor rengi içeren diğer *Daucus carota* genotiplerden ayrılmıştır. *Daucus* türlerinin bulunduğu grupta *D. pusillus* türleri küçük bir grupta toplanmıştır. Elde edilen sonuçlar, iPBS moleküler markır sisteminin *Daucus* türlerinde genetik çeşitliliği belirlemede başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Andeden, E.E., Baloch, F.S., Derya, M., Kilian, B., Özkan, H., 2013. iPBS-Retrotransposons-based genetic diversity and relationship among wild annual Cicer species. **Journal of plant biochemistry and biotechnology**, 22(4): 453-466.
- Arbizu, C., Ruess, H., Senalik, D., Simon, P.W., Spooner, D.M., 2014. Phylogenomics of the carrot genus (*Daucus*, *Apiaceae*). **American Journal of Botany** 101: 1666–1685.
- Arbizu, C.I., Ellison, S.L., Senalik, D., Simon, P.W., Spooner, D.M., 2016. Genotyping by sequencing provides the discriminating power to investigate the subspecies of *Daucus carota* (*Apiaceae*). **BMC Evolutionary Biology**, 16: 234. DOI 10.1186/s12862-016-0806-x.
- Arbizu, C.I., Ruess, H., Senalik, D., Iorizzo, M., Simon, P.W., Spooner, D.M., Reitsma, K., 2017. Integrated molecular and morphological studies of *Daucus*. **Acta Horticulturae**. 1153.39. 265:271.
- Baloch, F.S., Alsaleh, A., de Miera, L.E.S., Hatipoğlu, R., Çiftçi, V., Karaköy, T., Yildiz, M., Özkan, H., 2015a. DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, 61: 244-252.
- Baloch, F.S., Derya, M., Andeden, E.E., Alsaleh, A., Cömertpay, G., Kilian, B., Özkan, H., 2015b. Inter-primer binding site retrotransposon and inter-simple sequence repeat diversity among wild *Lens* species. **Biochemical Systematics and Ecology**. 58: 162-168.
- Banga, O., 1963. **Main Types of the Western Carotene Carrot and Their Origin**. N.V. Uitgevers-Maatschappij W.E.J. Tjeenk Willink, Publisher, Zwolle, The Netherlands.
- Baranski, R., Maksylewicz-Kaul, A., Nothnagel, T., Cavagnaro, P.F., Simon, P.W., Grzebelus, D., 2012. Genetic diversity of carrot cultivars revealed by analysis of SSR loci. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 59: 163-170.
- Braden, J.M., Bach, I.C., Briard, M., le Clerc, V., Grzebelus, D., Senalik, D., Simon, P.W., 2002. Molecular diversity analysis of cultivated carrot (*Daucus carota* L.) and wild *Daucus* populations reveals a genetically nonstructured composition. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 127: 383-391.
- Cavagnaro, P.F., Chung, S.M., Manin, S., Yildiz, M., Ali, A., Alessandro, M. S., Iorizzo, M., Senalik, D.A., Simon, P.W., 2011. Microsatellite isolation and marker development in carrot genomic distribution, linkage mapping, genetic diversity analysis and marker transferability across *Apiaceae*. **BMC Genomics**, 12:386.
- Clotault, L., Geoffriau, E., Lionneton, E., Briard, M., Peltier, D., 2010. Carotenoid biosynthesis genes provide evidence of geographical subdivision and extensive linkage disequilibrium in the carrot. **Theoretical and Applied Genetics** 121: 650-672.
- Cömertpay, G., Baloch, F.S., Derya, M., Andeden, E.E., Alsaleh, A., Sürek, H., Özkan, H., 2016. Population structure of rice varieties used in Turkish rice breeding programs determined using simple-sequence repeat and inter-primer binding site-retrotransposon data. **Genetics and Molecular Research**: 15(1): gmr.15017158.

- Duan, Y.B., Guo, D.L., Guo, L.L., Wei, D.F. and Hou, X.G., 2015. Genetic diversity analysis of tree peony germplasm using iPBS markers. **Genetics and Molecular Research**. **14** (3): 7556-7566.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goutet, J., 2005. Detecting the number of clusters individuals using the software: a simulation study. **Molecular Ecology**, **14**, 2611-2620.
- FAOSTAT, 2014., <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (21.05.2017).
- Feschotte, C., Jiang, N., Wessler, S.R., 2002. Plant transposable elements: where genetics meets genomics, **Nature Reviews Genetics**, **3**(5): 329-341.
- Grandbastien, M.A., Audeon, C., Bonnivard, E., Casacuberta Chalhoub, Costa, A.P.P., Le, Q.H., Melayah, D., Petit, M., Poncet, C., Tam, S.M., Van Sluys, M.A., Mhiri, C., 2005. Stress activation and genomic impact of Tnt1 retrotransposons in Solanaceae. **Cytogenetics and Genome Research**, **110**: 229-241.
- Grzebelus, D., Baranski, R., Spalik, K., Allender, C., Simon, P.W., 2011. **Wild Crop Relatives: Genomics and Breeding Resources, Vegetables**. DOI 10.1007/978-3-642-20450-0_7, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter:7, 91-113.
- Grzebelus, D., Iorizzo, M., Senalik, D., Ellison, S., Cavagnaro, P., Macko-Podgorni, A., Heller-Uszynska, K., Kilian, A., Nothnagel, T., Allender, C., Simon, P.W., Baranski, R., 2014. Diversity, genetic mapping, and signatures of domestication in the carrot (*Daucus carota* L.) genome, as revealed by Diversity Arrays Technology (DArT) markers. **Mol Breeding**, **33**: 625-637.
- Guo, D.L., Guo, M.X., Hou, X.G., Zhang, G.H., 2014. Molecular diversity analysis of grape varieties based on iPBS markers. **Biochemical. Systematics and. Ecology**. **52**: 27-32.
- Heywood, V.H., 1986. The *Daucus carota*-gingidium complex. **Flora Europaea Notulae Systematicae**. **7**: 65–8.
- Ipek, A., Türkmen, Ö., Fidan, S., İpek, M., Karcı, H., 2016. Genetic variation within the purple carrot population grown in Ereğli District in Turkey. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry** **40**: 570-576.
- Iorizzo, M., Senalik, D.A., Grzebelus, D., Bowman, M., Cavagnaro, P.F., Matvienko, M., Ashrafi, H., Van Deynze, A., Simon, P.W., 2011. De novo assembly and characterization of the carrot transcriptome reveals novel genes, new markers, and genetic diversity. **BMC Genomics**, **12**: 389.
- Iorizzo, M., Senalik, D.A., Ellison, S.L., Grzebelus, D., Cavagnaro, P.F., Allender, C., Brunet, J., Spooner, D.M., Van Deynze, A., Simon, P.W., 2013. Genetic structure and domestication of carrot (*Daucus carota* subsp. sativus) (*Apiaceae*). **American Journal of Botany**. **100**: 930–8.
- Iorizzo, M., Ellison, S., Senalik, D., Zeng, P., Satapoomin, P., Huang, J., Bowman, M., Iovene, M., Sanseverino, W., Cavagnaro, P., Yildiz, M., Macko-Podgorni, A., Moranska, E., Grzebelus, E., Grzebelus, D., Ashrafi, H., Zheng, Z., Cheng, S., Spooner, D., Van Deynze, A., Simon, P.W., 2016. A high-quality carrot genome assembly provides new insights into carotenoid accumulation and asteroid genome evolution. **Nature Genetics**. **48**: 657–66.
- Jaccard, P., 1987. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles**. **44**; 233-270.
- Kalendar, R., Schulman, A.H., 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon based genotyping and fingerprinting. **Nature Protocols**, **1**: 2478-2484.

- Kalendar, R., Antonius, K., Smykal, P., Schulman, A.H., 2010. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, **121**: 1419-1430.
- Kumar, L. S., 1999. DNA Markers in Plant Improvement: An Overview. *Biotechnology Advances*, **17**: 143-182.
- Laborda, P.R., Oliveira, K.M., Garcia, A.A.F., Paterniani M.E.A.G.Z and Souza, A.P., 2005. Tropical maize germplasm: What can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theoretical and Applied Genetics* **111**: 1288-1299.
- Lee, B.Y., Park, C., 2014. Molecular phylogeny of *Daucus* (Apiaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Journal Species Research*. **3**:39–52.
- Maksylewicz, A., Baranski, R., 2013. Intra-population genetic diversity of cultivated carrot (*Daucus carota* L.) assessed by analysis of microsatellite markers. *Acta Biochimica Polonica*, **60** (4): 753-760.
- Martinez-Flores, F., Juan, A., Crespo, M.B., 2012. Molecular and morphological evidence supports the resurrection of a neglected species of *Daucus* (Apiaceae) from North Africa. *Botanical Journal of the Linnean Society*. **169**:320-337.
- Murray, M., Thompson, W., 1980. Rapid isolation of high-molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, **8**:4321-4325.
- Nakajima, Y., Oeda, K., Yamamoto, T., 1998. Characterization of genetic diversity of nuclear and mitochondrial genomes in *Daucus* varieties by RAPD and AFLP. *Plant Cell Reports*. **17**:848–853.
- Nemli, S., Kianoosh, T., Tanyolaç, M.B., 2015. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions through retrotransposon based interprimerbinding sites (iPBSs) markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **39**: 940-948.
- Özgen, M., Adak, M.S., Söylemezoglu, G., Ulukan, H., 2000. Bitkisel gen kaynaklarının korunma ve kullanımında yeni yaklaşımlar. *V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi*, 17-20 Ocak 2000, Ankara.
- Pimenov, M.G., Leonov, M.V., 1993. *The Genera of Umbelliferae: A Nomenclator* (Kew, UK: Royal Botanic Gardens), pp.164.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, **155**(2): 945-959.
- Rubatzky, V.E., Quiros, C.F., Simon, P.W., 1999. *Carrot and related vegetable Umbelliferae*. CABI Publishing, Wallingford.
- Saenz Lain, C., 1981. Research on *Daucus* L. (*Umbelliferae*). *Actas III Congr. ÓPTIMA. Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **37** (2): 481-534.
- Schulman, A.H., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., 2004. The Application of LTR Retrotransposons as Molecular Markers in Plants. In: *Miller W.J., Capy P. (eds) Mobile Genetic Elements. Methods in Molecular Biology*, vol 260. Humana Press.
- Shim, S.I., Jorgewnsen, R.B., 2000. Genetic structure in cultivated and wild carrots (*Daucus carota* L.) revealed by AFLP analysis. *Theoretical and Applied Genetics* **101** (1-2), 227–233 <http://dx.doi.org/10.1007/s001220051473>.
- Simon, P.W., 2000. Domestication, historical development, and modern breeding of carrot. *Plant Breeding Reviews*, **19**: 157-190.

- Simon, P.W., Goldman, I.L., 2006. Carrot. *In: Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series, CRC Press, Boca Raton, Florida*, 3:497-517.
- Simon, P.W., Freeman, R., Vieira, J.V., Boiteux, L.S., Briard, M., Thomas, N., Barbara, M., Kwon, Y.S., 2008. Carrot. In: Prohens, J. and Nuez, F. (eds) Vegetable II, Fabaceae, Liliaceae, Solanaceae, and Umbelliferae. **Handbook of Plant Breeding, Springer Verlag**, 329-357.
- Simon, P.W., Pollak, L., Clevidence, B., Holden, J., Haytowitz, D., 2009. Plant breeding for human nutrition. **Plant Breeding Reviews** 31; 325–392.
- Small, E., 1978. A numerical taxonomic analysis of the *Daucus carota* complex. **Can J Bot** 56:248–276.
- Spooner, D., Rojas, P., Bonierbale, M., Mueller, L.A., Srivastav, M., Senalik, D., Simon, P., 2013. Molecular phylogeny of *Daucus* (Apiaceae). **Systematic Botany** 38:850–7.
- St. Pierre, M.D., Bayer, R.J., Weis, I.M., 1990. An isozyme-based assessment of the genetic variability within the *Daucus carota* complex (Apiaceae: Caucalideae). **Canadian Journal of Botany** 68 : 2449–57.
- Startek, M.P., Nogly, J., Gromadka, A., Grzebelus, D., Gambin, A., 2017. Inferring transposons activity chronology by TRANScendence –Tes database and de-novo minning tool. **BMC Bioinformatics** 18:422
- Todorovska, E., 2007. Retrotransposons and their role in plant genome evolution. **Biotechnology Biotechnological Equipment**, 21:3.
- Thakur and R.S., Jamwal., 2015. Genetic Variability of European Carrot (*Daucus carota* L.) Genotypes. **Annals of Agri-Bio Researk** 20(1): 40-42.
- TUBİVES., 2017. www.tubives.com (06.06.2017).
- TUİK., 2013. <http://www.tuik.gov.tr/> (17.07.2017).
- Vivek, B.S., Simon, P.W., 1998. Genetic relationships and diversity in carrot and other *Daucus* taxa based on nuklear restriction fragment length polymorphisms. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 123:1053-7.
- Vivek, B.S., Simon, P.W., 1999. Phylogeny and relationships in *Daucus* based on restriction fragmentlength polymorphisms (RFLPs) of the chloroplast and mitochondrial genomes. **Euphytica** 105: 183–189.
- Yıldız, M., Koçak, M., Baloch, F.S., 2015. Genetic bottlenecks in Turkish okra germplasm and utility of iPBS retrotransposon markers for genetic diversity assessment. **Genetic and Molecular Research**, 14 (3): 10588-10602.

ÖZGEÇMİŞ

Van'da 1988 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 2009 yılında Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümündeki lisans eğitimini 2014 yılında tamamladı. Van Bölge ve Araştırma Hastanesi'nde 2012 yılında 30 işgünü staj yaptı. 2015 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.



YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 05/10/2017

Tez Başlığı / Konusu: **Farklı Havuç Türlerinde Genetik Farklılığın Belirlenmesinde İPBS Retrotranspozon Markırlarının Etkinliğinin Belirlenmesi**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 9 sayfalık kısmına ilişkin, 03/10/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5 (Beş) tir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


05.10.2017
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Gökhan SADIK

Öğrenci No: 159101024

Anabilim Dalı: Tarımsal Biyoteknoloji

Programı:

Statüsü: Y. Lisans ☐

Doktora ☐

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR


Doç. Dr. Mehmet YILDIZ

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR

(Unvan, Ad Soyad, İmza)