

**T.C.**  
**HİTİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *CARTHAMUS* L. CİNSİNE AİT  
TÜRLERDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE KARAKTERİZASYONU**

**Funda KÜYÜK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Özlem ÖZBEK**

**OCAK 2018**  
**ÇORUM**



**T.C.**  
**HİTİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *CARTHAMUS* L. CİNSİNE AİT  
TÜRLERDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE KARAKTERİZASYONU**

**Funda KÜYÜK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Özlem ÖZBEK**

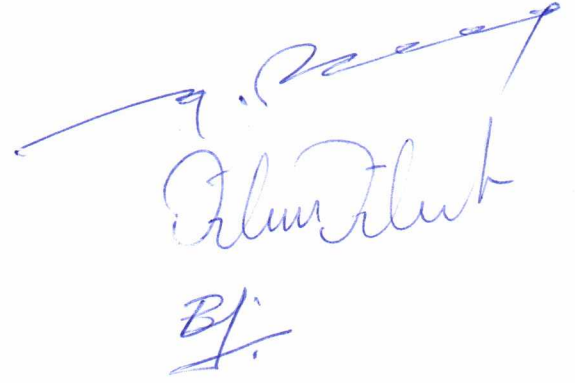
**OCAK 2018**  
**ÇORUM**

Funda Küyük tarafından hazırlanan ‘‘Türkiye’de yetişen *Carthamus* L. cinsine ait türlerde genetik çeşitliliğin moleküler işaretleyicilerle karakterizasyonu’’ adlı tez çalıŐması 25/01/2018 tarihinde aşağıdaki jüri  yeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Aydın ÖZLÜK

Doç. Dr. Özlem ÖZBEK

Doç. Dr. Belgin GÖÇMEN TAŐKIN




Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 26/02/2018.. tarih ve .2018./77.. sayılı kararı ile Funda KÜYÜK’ e Biyoloji Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıŐtır.



Doç. Dr. Cengiz BAYKASOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BEYANI

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 beyan ederim.



Funda KÜYÜK

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN *CARTHAMUS* L. CİNSİNE AİT TÜRLERDE  
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE  
KARAKTERİZASYONU**

Funda KÜYÜK

HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2018

**ÖZET**

Bu çalışmada Diyarbakır, Gaziantep ve Şanlıurfa illerinin farklı lokasyonlarından toplanan *Carthamus* L. cinsinin farklı türlerine ait 10 popülasyonda genetik çeşitliliğin moleküler karakterizasyonu 12 adet UBC ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) moleküler işaretleyicisi kullanılarak yapıldı. UBC ISSR işaretleyicileri toplam 287 lokus üretti. Lokus düzeyindeki genetik çeşitlilik verilerine göre toplam genetik çeşitlilik  $H_T= 0,2161$ , popülasyon içi genetik çeşitlilik  $H_S= 0,1490$ , popülasyonlar arası genetik farklılaşma  $G_{ST}= 0,3106$  ve gen akışı  $N_m = 1,1096$  olarak tespit edildi. En yüksek ortalama alel sayısı ( $n_a = 1,7003$ ) A popülasyonunda, en yüksek etkili alel sayısı ( $n_{ea}= 1,2936$ ) ve en yüksek genetik çeşitlilik ( $h_e = 0,1870$ ) D popülasyonunda belirlendi. En düşük ortalama alel sayısı ( $n_a= 1,4251$ ) J popülasyonunda, en düşük etkili alel sayısı ( $n_{ea}= 1,1718$ ) ve en düşük genetik çeşitliliğin ( $h_e = 0,1078$ ) F popülasyonunda tespit edildi. Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık ( $D$ ) analizlerine göre, en düşük genetik uzaklık değeri  $D= 0,0459$  değeri ile E ve F popülasyonları arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık değeri  $D= 0,1444$  değeri ile H ve J popülasyonları arasında bulundu. ISSR ile moleküler karakterizasyon analizi sonuçlarına göre *Carthamus* L. popülasyonları arasında genetik çeşitliliğin dikkate değer oranda yüksek olduğunu gösterdi. Gelecekte *Carthamus* L. bitkisinin kullanım şekilleri düşünüldüğünde öne çıkan kullanım şekillerinin medikal kullanımlarının yanı sıra yağ ve biyodizel üretimi olacağı tahmin edilmektedir. Bu nedenle ülkemizde doğal olarak yetişen bu cinsine ait potansiyeli olan ekonomik bitki türleriyle ilgili daha detaylı araştırmaların

yapılmasının ülkemizin tarımsal üretimine ve ekonomik kazancının artırılmasına katkı sağlayacağı kanaatine varıldı.



**Anahtar Kelimeler:** *Carthamus L.*, Aspir, Genetik çeşitlilik, Moleküler işaretleyiciler, ISSR.

**MOLECULAR CHARACTERISATION OF GENETIC DIVERSITY IN  
SPECIES OF GENUS *CARTHAMUS* L. GROWN IN TURKEY**

Funda KÜYÜK

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

JANUARY 2018

**ABSTRACT**

In this study, genetic diversity was estimated in 10 populations from the species belong to genus *Carthamus* L. collected from Diyarbakır, Gaziantep, and Şanlıurfa provinces by 12 UBC ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) molecular markers. UCB ISSR markers produced 287 loci. The mean values of total genetic diversity, genetic diversity within populations, genetic differentiations between populations, and gene flow between populations were determined as  $H_T=0.2161$ ,  $H_S=0.1490$ ,  $G_{ST}=0.3106$  and  $N_m=1.1096$  respectively at locus level. The highest mean values for allele number, effective allele number and genetic diversity were identified as  $n_a=1.7003$  in population A,  $n_{ea}=1.2936$  and  $h_e=0.1870$  in population D, while The lowest mean values for allele number, effective allele number and genetic diversity were identified as  $n_a=1.4251$  in population J,  $n_{ea}=1,1718$  and  $h_e=0.1078$  in population F. According to genetic distance data between populations, the highest genetic distance value was estimated as  $D=0.1444$  between the populations H and J, while the lowest genetic distance value was estimated as  $D=0.0459$  between the populations E and F. The molecular characterization results, using ISSRs, indicated considerably very high genetic diversity among the populations of *Carthamus* L. When the different usages of *Carthamus* L. are considered, it is estimated that the oil and biodiesel production beside its medical usage will be the prominent usages in the future. The main idea is the planning the detailed studies about the candidate species, which have high potential in this genus growing naturally in Turkey, would contribute to increase in agricultural production and economy.

**Keywords:** *Carthamus* L., Safflower, Genetic diversity, Molecular markers, ISSR.



## TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında engin bilgi ve becerilerinden fazlasıyla faydalandığım, emeğini hiçbir şekilde esirgemeyen çok kıymetli hocam Doç. Dr. Özlem ÖZBEK'e en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasında örneklerin toplanma ve teşhis işlemlerini gerçekleştiren Harran Üniversitesi'nden Yrd. Doç. Dr. Mustafa ARSLAN'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim Verem Savaş Dispanserinde çalışan tüm mesai arkadaşlarıma, meslektaşlarım Hayati YAYLACI ve Sebair ŞEN'e teşekkür ederim. Sunum ve yazım aşamasında destekleri için arkadaşım Sevda Sultan KOYUNCU'ya teşekkür ederim.

Yoğun çalışma günlerimde beni anlayışla karşılayıp omuzlarımdaki yükü hafifletmek için sevgi ve şefkatle elinden gelen çabayı gösteren sevgili eşim Mustafa KÜYÜK'e, teşekkür ederim. Hayatımın en kıymetlileri, sevgileri ve varlıklarıyla yaşama sevincim olan yavrularım Egemen ve Kıvanç KÜYÜK'e, bu süreçte ve her zaman yanımda olan Meryem KÜYÜK anneme teşekkür ediyorum.

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem Azize BABAYİĞİT ve kardeşlerime, ayrıca sözleriyle hayatıma ışık tutmaya devam eden rahmetli babam Nezir BABAYİĞİT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Bu tez çalışmasına, FEF 19004.14.002 numaralı Hızlı Destek Projesi kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz**

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
HARİTALAR DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1.GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	12
3. MATERYAL YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Bitki materyali.....	27
3.2. Yöntemler.....	28
3.2.1. DNA izolasyonu.....	28
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PCR).....	29
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	32
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Popülasyon Düzeyinde İstatistiksel Analizler.....	35
4.1.1. Genetik çeşitlilik analizleri.....	35
4.2. Tür Düzeyinde Yapılan İstatistiksel Analizler.....	44
4.2.1. Genetik çeşitlilik analizleri.....	44
5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
KAYNAKLAR.....	54
EKLER.....	60
EK-1. DNA İzolasyon Basamakları.....	60

EK-2. ISSR-PCR Ve Agaroz Jel Hazırlama İşlem Basamakları.....	60
EK-3. Kullanılan Kimyasal Malzeme Ve Tampon Çözeltiler.....	62
EK-4. Bu Çalışmada Kullanılan <i>Carthamus L.</i> Cinsine Ait Popülasyonların Herbaryum Örneklerinin Fotoğrafları.....	63
EK-5. Popülasyonlara Göre Lokuslardaki Alel Frekansın Gösteren Çizelgeler.....	73
EK-6. Lokusların <i>Carthamus L.</i> Popülasyonlarında Gösterdiği Verilere Göre Genetik Çeşitlilik ( $H_t$ ), Popülasyon İçi Genetik Çeşitlilik ( $H_s$ ), Popülasyonlar Arası Genetik Farklılaşma ( $G_{st}$ ) Ve Gen Akışı ( $N_m$ ) Verilerini Gösteren Çizelgeler.....	77
EK-7. <i>Pearson</i> Korelasyon Katsayısı Verileri.....	85
ÖZGEÇMİŞ.....	86

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 1.1.	Aspir bitkisinin yıllara göre üretim istatistikleri.....	4
Çizelge 1.2.	2016 yılı TÜİK verilerine göre aspir bitkisinin bölgesel dağılımı.....	4
Çizelge 3.1.	<i>Carthamus</i> L. Türlerine ait popülasyonların genel bilgileri....	28
Çizelge 3.2.	Çalışmada kullanılan UBC primerlerin dizi bilgileri.....	
Çizelge 3.3.	Çalışmada kullanılan master mix içeriği.....	30
Çizelge 4.1.	Popülasyonlardaki polimormik lokus sayısı ve yüzdesi.....	31
Çizelge 4.2.	Popülasyon düzeyinde genetik çeşitlilik verileri.....	36
Çizelge 4.3.	Analiz edilen <i>Carthamus</i> L. popülasyonları arasındaki genetik uzaklık.....	39
Çizelge 4.4.	Eko-coğrafik faktörlerin genetik verilerin varyasyonundaki etkilerinin regresyon analizi ile gösterilmesi (2013 ve 2014 verilerine göre).....	42
Çizelge 4.5a.	Temel bileşenler analizine (Principal Component Analysis PCA) (2013 ve 2014 verilerine) göre temel bileşenlerin Eigen değerleri .....	43
Çizelge 4.5b.	Temel bileşenler analizine (Principal Component Analysis PCA) (2013 ve 2014 verilerine) göre genetik ve eko-coğrafik etkenlerin temel bileşenlere katkıları .....	43
Çizelge 4.6.	<i>Carthamus</i> L. türlerinde genetik çeşitlilik verileri ( $n_a$ : alel sayısı, $n_{ea}$ : etkili alel sayısı, $h_e$ : genetik çeşitlilik).....	45
Çizelge 4.7.	Analiz edilen <i>Carthamus</i> L. türleri arasındaki genetik uzaklık ( $D$ )değerleri.....	47
Çizelge E3.1.	50X TAE çözeltisi hazırlanışı.....	62
Çizelge E5.1	Popülasyonlara göre lokuslardaki alel frekansı.....	73
Çizelge E6.1.	Lokusların <i>Carthamus</i> L. populasyonlarında gösterdiği verilere göre genetik çeşitlilik ( $H_i$ ), popülasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_s$ ), popülasyonlar arası genetik farklılaşma ( $G_{st}$ ) ve gen akışı ( $N_m^*$ ) verileri.....	77
Çizelge E7.1.	Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan <i>Pearson</i> korelasyon katsayısı verileri (2013 ve 2014 verilerine göre).....	85

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. AFLP tekniğinin şematik gösterimi.....	9
Şekil 1.2. ISSR-PCR şematik gösterimi.....	11
Şekil 3.1. Şanlıurfa Karaköprü-Karahaydar arasından toplanan <i>Carthamus persicus</i> popülasyonunun bireylerinin DNA jel elektroforez görüntüleri.....	29
Şekil 3.2. Primer UBC-808 (T <sub>m</sub> =55 °C)'in PCR optimizasyon çalışmalarında elde edilen jel elektroforez görüntüsü.....	31
Şekil 4.1. Primer UBC-811'in I ve J popülasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.2. Primer UBC-810'un I ve J popülasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.3. Primer UBC-826'nın I ve J popülasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü.....	36
Şekil 4.4. Türkiye'de yetişen <i>Carthamus L.</i> popülasyonları arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendrogram.....	40
Şekil 4.5. Alt popülasyonların sayısını belirlemek üzere STRUCTURE yazılımı iç Evanno (2005) tarafından geliştirilen ikincil istatistikler .....	40
Şekil 4.6. 12 ISSR primeri analiz edilen <i>Carthamus L.</i> türlerine ait popülasyonlarda Bayesian yöntemine dayalı popülasyon yapısını gösteren bar grafiği.....	41
Şekil 4.7. Popülasyonların birbirlerine uzaklıklarına göre temel koordinat analizleri ile dağılımlarının gösterimi .....	44
Şekil 4.8. <i>Carthamus L.</i> popülasyonlarının tür bazında kümeleme analizi sonucunu gösteren dendrogram.....	46
Şekil 4.9. Türlerin birbirlerine uzaklıklarına göre temel koordinat analizleri ile dağılımlarının gösterimi.....	47
Şekil 5.1. ISSR UBC-826 primerinin I ve J popülasyonlarındaki farklılığı tespit ettiğini gösteren bant paternlerin görüntüsü .....	51

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim</b>		<b>Sayfa</b>
Resim 1.1.	Hacettepe Üniversitesi herbaryumuna ait <i>Carthamus dentatus</i> Vahl bitki örneğinin görüntüsü .....	2
Resim 3.1.	Plastik kaplarda yetiştirilmiş <i>Carthamus</i> L. cinsinin farklı türlerine ait popülasyonların 1-1,5 aylık görüntüleri.....	29
Resim E4.1	<i>Carthamus dentatus</i> 'a ait herbaryum.....	63
Resim E4.2	<i>Carthamus persicus</i> Wild'e ait herbaryum örneği .....	64
Resim E4.3	<i>Carthamus glaucus</i> Bieb. ssp. <i>glaucus</i> 'a ait herbaryum.....	65
Resim E4.4	<i>Carthamus persicus</i> 'a ait herbaryum örneği.....	66
Resim E4.5	<i>Carthamus persicus</i> Wild'e ait herbaryum örneği.....	67
Resim E4.6	<i>Carthamus tenuis</i> (Boiss & Blache Bornm. ssp. <i>tenuis</i> )'e ait herbaryum örneği.....	68
Resim E4.7	<i>Carthamus dentatus</i> Vahl'a ait herbaryum örneği.....	69
Resim E4.8	<i>Carthamus tinctorius</i> (dikenli)'a ait herbaryum örneği .....	70
Resim E4.9	<i>Carthamus tinctorius</i> (Remzi bey-05 dikenli)'a ait herbaryum örneği.....	71
Resim E4.10	<i>Carthamus tinctorius</i> L. Dinçer (dikensiz)'e ait herbaryum örneği.....	72

**HARİTALAR DİZİNİ**

<b>Harita</b>	<b>Sayfa</b>
Harita 3.1. Bitki örneklerinin toplandığı illerin Türkiye haritası üzerinde gösterimi.....	27





## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	Yüzde
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromolar
bp	Baz Çifti
<i>D</i>	Popülasyonlar Arasındaki Genetik Uzaklık
da	Dekar
dH <sub>2</sub> O	Distile Su
dk	Dakika
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
Gr	Gram
<i>h</i>	Genetik Çeşitlilik
ha	Hektar
<i>H<sub>e</sub></i>	Popülasyonlar Arası Genetik Çeşitlilik
<i>H<sub>s</sub></i>	Popülasyon İçinde Genetik Çeşitlilik
<i>H<sub>T</sub></i>	Popülasyonların Tümünde Genetik Çeşitlilik
K	Optimal Alt Popülasyon Sayısı
kg	Kilogram
M	Molar
m	Metre
mA	Miliamper
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
<i>n<sub>a</sub></i>	Ortalama Alel Sayısı
NaCl	Sodyum Klorür
<i>n<sub>ea</sub></i>	Ortalama Etkili Alel Sayısı
ng	Nanogram
<i>N<sub>m</sub></i>	Popülasyonlar Arasındaki Gen Akışı
°C	Derece Selsiyus
pH	Power Hidrojen

ssp	Alttür
U	Ünite
UV	Ultraviyole
V	Volt
<b>Kısaltmalar</b>	
AFLP	Çoğalmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
CTAB	Hexadecyltrimethylammonium Bromid
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
HDL	High-Density Lipoprotein
HN	Herbaryum Numarası
ISSR	Basit Dizi Tekrarları Arası Bölgeler
KS	Kromozom Sayısı
LDL	Low-Density Lipoprotein
MÖ	Milattan Önce
N	Örnek Sayısı
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PK	Popülasyon Kodu
PLS	Polimorfik Lokus Sayısı
PLS%	Polimorfik Lokus Yüzdesi
PN	Primer Numarası
PVP	Polividinprolidon
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi
rpm	Dakikada Dönüş Sayısı
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SN	Sıra Numarası
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi
SSR	Basit Tekrarlı Diziler

syn	Sinonim
TAE	Tris Asetik Asit EDTA
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBA	Temel Bileşenler Analizi
TE	Tris EDTA
TKDK	Tarımsal ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu
TLS	Toplam Lokus Sayısı
TT	Toplanma Tarihi
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UBC	University of British Columbia
UPGMA	Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu
Y	Yükseklik

## 1. GİRİŞ

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Astericeae veya Compositae ailesinin üyesi olan bir yağ bitkisidir. Carthamus, aspir çiçeğinden elde edilen boyanın rengini ifade eden Arapça ‘quartum’ veya ‘gurtum’ kelimesinin Latince sinonimi olan bir kelimedir (Nimbkar ve Singh, 2006).

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) geleneksel olarak doğal boya, besin, arıtma ve ilaç kaynağı olarak yetiştirilen en eski evcilleştirilmiş bitkilerden biridir (Lee ve ark., 2013). Yağ oranı ortalama % 30-45 arasında değişebilen bir yağ bitkisi olan aspir bitkisinin (Aşkın, 2008) kökeni ile ilişkili yapılan çalışmalarda ise yaklaşık 4 000 yıl önce Verimli Hilal Bölgesi olarak adlandırılan Mezopotamya ve Doğu Akdeniz’i kapsayan coğrafi bölgeden yayıldığı ifade edilmektedir (Kızılsahin, 2014). İlk olarak Asya Kıtası’nın güneyinde, Ortadoğu Bölgesi’nde ve Akdeniz Ülkeleri’nde ekildiği bilinmekle beraber tüm dünyaya buradan yayılmış olabileceği düşünülmektedir. Hatta milattan önce ekildiği bilinen ve yaklaşık 3 500 yıl önce Mısır’da da ekilmesi nedeniyle, aspir bitkisinin buradan yayıldığı da kabul edilmektedir. Neredeyse, tarih öncesi zamanlardan beri Çin, Japonya, Hindistan ve İran’da tarımının yapıldığı yazılı kaynaklarda geçmektedir (Aşkın, 2008). Ashri ve Knowles (1960) ve Hanelt (1961) çalışmalarında aspirin orijin merkezinin Yakın Doğu olduğunu gösterdiler. Bu varsayım kültür formu aspirin Türkiye, Suriye ve Lübnan’daki *Carthamus flavensensis* ve Batı Irak’taki çöl alanları ile Güney İsrail’deki *Carthamus palaestinus* gibi yabancı iki yakın akraba türüne benzerliğine dayanmaktadır. Knowles (1969) aspirin kültür merkezini “benzerlik merkezi” olarak tarif etti (Nimbkar ve Singh, 2006).

Önceleri tıbbi amaçlarla ve çiçeğindeki boya maddesinin gıda ve kumaş boyacılığında kullanılması nedeniyle yetiştirilmekteydi. Sonraları tohumundaki yağının daha çok önem arz etmesinden dolayı yetiştirilmeye başlanmıştır (Aşkın, 2008).

Aspirin tohum yağı linoleik ve oleik asidi yüksek oranda içermektedir ve bu özelliğinden dolayı zeytine benzer besin değerine sahip olduğu düşünülmektedir (Nimbkar ve Singh, 2006; Lee ve ark., 2013). Aspir bitkisinin sadece tohumları değil, yaprakları ve çiçekleri de çok farklı kullanım alanlarına sahiptir. Yaprakları

ay yapımında kullanılmakta, iek petallerinden elde edilen karthamin ve karthamidin maddeleri ise kozmetik, gıda ve boya endüstrisinde kullanılmaktadır (ulha, 2011). Petrol üretimi verimi diğerk yağ bitkilerinin ürünlerinden daha düşük oranda olsa da aspir tuzluluk ve kuraklığa uyum sağlama avantajlarıyla dünyada yetiştirilmeye devam etmektedir (Lee ve ark., 2013).

Aspir bitkisi 2-3 metreye ulaşabilen kazık kök sistemine sahiptir (Nimbkar ve Singh, 2006). Bu şekilde olması birçok bitki kökünün toprakta ulaşamadığı bölgelerdeki nemi ve besin elementlerini alabilmelerine olanak sağlar (ulha, 2011). Bu da onu yağmurla sulanan tarım (rainfed cropping) sistemi için ideal bir bitki yapar (Nimbkar ve Singh, 2006). Kuru ve sıcak iklim koşullarına uyum sağlayabilen bu bitki ülkemizde yazlık ve kışlık olarak ekilebilmektedir (ulha, 2011). Aspir ülkemizde üretilen bitki türlerinden biridir. Kırıkkale Kocababa Kasabası Kömünönü mevki 1200 m'den toplanan *Carthamus dentatus* Vahl'e ait örnek Resim 1.1'de verildi.



**Resim 1.1.** Hacettepe Üniversitesi herbariumuna ait *Carthamus dentatus* Vahl bitki örneğinin görüntüsü (Fotoğraflayan:Ö. Özbek, 2018)

Aspirde çiçeklenme süresi 20 ile 35 gün arasında değişir. Bu safhadan sonra gövde hızlıca uzar ve aşırı şekilde dallanma gösterir (Nimbkar ve Singh, 2006). Aspir

bitkisinde çiçek renkleri kırmızı, turuncu, sarı ve nadiren beyaz renklerde olabilir. Ancak, aynı bitkinin farklı tabla pozisyonlarına ve hatta aynı tablanın farklı olgunlaşma evrelerine bağlı olarak renk tonlarında değişim gözlenmesi mümkün olmakla birlikte, değişim sarıdan turuncuya veya turuncudan kırmızıya doğru gerçekleşebilmektedir (Erbaş ve Baydar, 2017). Aspir çalı formunda, yıllık ve otsu bir bitkidir. Her biri uç kısmında globüler yapıya sahip kapitulum bulunduran primer, sekonder ve tersiyer şekilde bulunan birkaç dal içerir (Nimbkar ve Singh, 2006).

Aspir bitkisinin aynı zamanda mükemmel bir yem bitkisi olduğu da bilinmektedir. Kuru ot üretimi için yulaf ve arpaya benzer bir şekilde yem bitkisi olarak da yetiştirilebilmektedir. Aspir anızının keçi ve koyun gibi küçükbaş hayvanlar tarafından besin olarak tercihen daha çok tüketildiği ifade edilmektedir (Paşa, 2008). Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Endüstriyel Bitki Ana Bilim Dalı Başkanı ve Türkiye Aspir Derneği Başkanı olan Prof. Dr. Fikret Akınerdem, verdiği bir röportajda aspir bitkisinin yağında “Conjugated Linoleic Acid” olarak adlandırılan OMEGA-6’nın bulunduğunu, OMEGA-6’nın da yağ yakıcı ve yağın depolanmasını engelleyici özelliklerinin olduğunu söylemiştir. Ayrıca, aspir bitkisinin üretiminde son 10 senede önemli bir artış olduğunu, kullanımda soğuk sıkım olarak tercih edilmesi gerektiğini ve aspir yağının elde edilmesinin de kolaylaştığını ifade etmiştir (Kılıç, 2015).

Ülkemizin yağ bitkileri üretiminde kendine yeterli olmadığı görülmüştür. Yağ üretiminde ilk sıraları alan zeytin, ayçiçeği, pamuk ve kozla gibi bitkilerin toplumun yağ ihtiyacını karşılayamadığı görülmüştür (Dalgıç, 2011). Aspir, Türkiye’de karasal iklimin görüldüğü İç Anadolu Bölgesi ve diğer bölge illerinden özellikle Şanlıurfa, Konya, Eskişehir ve Ankara’yı da içeren 31 farklı ilde üretimi mevcuttur (Kızılsahin, 2014). Her ne kadar ülkemizdeki aspir ekim alanları son yıllarda sürekli bir artış eğilimi gösteriyor olsa da, tarımı yapılan mevcut aspir çeşitlerinin tohum verimi ve yağ oranı düşüktür (Tonguç, 2011). Ülkemizde bitkisel yağ üretimine katkıda bulunabilmek ve aynı zamanda da bitkisel yağ açığını kapatabilmek amacıyla alternatif yağ bitkileri arasında önemli bir yere sahip olan aspir, diğer ekonomik yağ bitkilerine oranla olumsuz iklim koşullarına daha iyi uyum sağlar. Alternatif yağ bitkisi olan aspirin zor iklim şartlarına gösterdiği uyumdan ötürü ekimi gitgide

artmaktadır (Dalgıç, 2011). Resmi verilere göre Türkiye’de 2014 yılında mevcut koşullarda aspir verimi en yüksek Elazığ ve Samsun illerinde sırasıyla 250 kg/da ve 240 kg/da olarak gerçekleşti. Aspir bitkisinin yıllara ve bölgelere göre dağılım istatistikleri Çizelge 1.1 ve Çizelge 1.2’de verildi.

**Çizelge1.1.** Aspir bitkisinin yıllara göre bitkisel üretim istatistikleri

Yıl	Ekilen Alan	Hasat Alan	Edilen Üretim (ton)	Verim (kg/da)
2011	131 668	131 668	18 228	138
2012	155 918	155 918	19 945	128
2013	292 920	292 599	45 000	154
2014	443 050	439 350	62 000	141
2015	431 071	427 931	70 000	164
2016	395 710	393 520	58 000	147

**Çizelge1.2.** 2016 Yılı TÜİK verilerine göre aspir bitkisinin bölgesel dağılımı

Bölge Adı	Ekilen Alan (dekar)	Hasat Alan (dekar)	Edilen Üretim (ton)	Verim (kg/da)
Güneydoğu Anadolu	4 361	4 361	292	67
Batı Anadolu	222 111	220 111	32 596	148
Batı Karadeniz	16 767	16 717	3.044	182
Batı Marmara	6 396	6 396	1 088	170
Doğu Marmara	4 635	4 635	600	129
Kuzeydoğu Anadolu	4 005	4 005	641	160
Orta Anadolu	80 055	80 055	11 166	139
Orta Doğu Anadolu	34 264	34 259	5 083	148
Ege	19 868	19 733	2 891	147
Akdeniz	3 248	3 248	599	184

### *Carthamus L. Cinsinin Sistematigi*

*Carthamus L.* cinsi 25 tür içerir ve bu türlerden birçoğu Akdeniz havzasına özgü türlerdir. *Carthamus L.* cinsinin kültürü yapılan tek türünün aspir (*Carthamus tinctorius L.*) olduğu bilinmektedir (Tonguç, 2011). Anadolu florasında *Carthamus lanatus L.*, *Carthamus dentatus Vahl.*, *Carthamus persicus Willd* (syn. *Carthamus*

*flavescens* Spreng), *Carthamus glaucus* Bieb. subsp *glaucus*, *Carthamus tenuis* (Bois ve Balansa) Bornm. ssp. *tenuis* ve *Carthamus tenuis* (Bois ve Balansa) Bornm. ssp *gracillimus* türlerinin bulunduğu bilinmektedir (Arslan ve ark., 2010) . *Carthamus L.* cinsinde yer alan bu türlerin 10, 11, 12, 22 ve 32 çift olmak üzere farklı kromozom sayıları bulunmaktadır (Çulha, 2011). Aspir bitkisi 4 seksiyona ayrılmaktadır.

**Seksiyon I (2n = 24)** *Carthamus tinctorius*, *Carthamus palaestinus* ve *Carthamus oxyacantha* türlerini kapsar. Bu türler birbiri ile tozlaşabilir ve üretken bireyler meydana getirebilir. Fakat *Carthamus tinctorius* ile *Carthamus plaestinus* ve *Carthamus oxyacantha* türleri arasında doğal gen transferinin olması ihtimali türlerin birbirinden uzak lokasyonlarda ve farklı sezonlarda yetişmelerinden dolayı düşüktür. *Carthamus oxyacantha*'nın *Carthamus tinctorius* kültür formunun yabancı atası olduğu da ileri sürülmektedir (Nimbkar ve Singh, 2006).

**Seksiyon II (2n = 20)** içerisinde *Carthamus alexond*, *Carthamus glaucus*, *Carthamus syriacus* ve *Carthamus tenuis* türleri vardır. Bütün türler mavi veya pembe renkli çiçeklere sahiptir. İlk üç tür morfolojik olarak aynı özellikleri taşır. Ashri ve Knowles (1960) çalışmalarında Seksiyon I ve Seksiyon II'deki türlerin yakın akraba olmadıklarını gösterdiler. İki seksiyon arasında başarılı suni melezler geliştirilmiş, ancak bütün melezlerin kısır olduğu rapor edilmiştir. Bunun nedeni ise kromozomlar arasındaki eşleşme düzeyinin çok düşük olmasıdır. Bu da iki seksiyon arasında neden genetik materyal alışverişinin olmadığını açıklamaktadır (Nimbkar ve Singh, 2006).

**Seksiyon III (2n = 44)**'te tek bir tür bulunur o da *Carthamus lanatus*'tur (2n = 22). Önceleri I. ve II. türler arasında oluşan bir hibrit olup kromozom katlanması ile oluştuğu düşünülmekteydi. Ashri ve Knowles (1960) *Carthamus lanatus* ve Seksiyon I'deki türler arasında oluşan hibritlerde kromozom eşleşmesinin zayıf olduğunu ve Seksiyon I'deki türlerin *Carthamus lanatus*'un ataları olmadığını ileri sürdüler. Seksiyon II'deki bazı türlerin *Carthamus lanatus*'a 10 kromozom çifti vererek katkı yaptıkları çalışmalarla gösterildi (Nimbkar ve Singh, 2006).

**Seksiyon IV (2n = 64)** *Carthamus baeticus* (Boiss ve Reuter) Numan ve *Carthamus turkestanicus* M. Popov türlerini içerir. *Carthamus baeticus* mayoz I'de 32 bivalente



sahip olduğundan 3 farklı genoma sahip allohexaploid olduğu ileri sürüldü. *Carthamus baeticus* x *Carthamus lanatus* arasındaki melezler 22 kromozomda tam eşleşme gösterdi ve bu da *Carthamus lanatus*'un *Carthamus baeticus*'un atalarından biri olduğunu gösterdi (Ashri ve Knowles, 1960). Khidir ve Knowles (1970) *Carthamus glaucus*'un ( $2n = 20$ ) *Carthamus turkestanicus*'un da atası olduğunu ifade etmektedirler. *Carthamus baeticus* ile *Carthamus turkestanicus*'un 22 çift kromozomları ortak ve görüntü olarak da büyük oranda benzerdirler. Bu benzerlik iki tür arasındaki dikkate değer orandaki gen alışverişini de göstermektedir (Nimbkar ve Singh, 2006).

#### Moleküler İşaretleyiciler ve PCR

Bitki ıslahçıları moleküler yöntemlerin geliştirilmesine kadar geçen sürede istenilen karakterleri seçmek için klasik ıslah metodlarını kullanmışlardır. Klasik yöntemler zaman alıcı ve her zaman istenilen sonuçları vermiyordu. Moleküler tekniklerin geliştirilmesi, ortaya çıkabilecek problemleri tamamen ortadan kaldırmasa da en aza indirgenmesinde yardımcı olmaktadır (Tonguç, 2011). Filogenetik çalışmalar 1970'lerde morfolojik yöntemlerle başladı ve 1980'lerin sonu 1990'ların başında ise Kery Mullis'in PCR'ı (Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) keşfiyle moleküler yöntemlerle devam etti. Moleküler yöntemlerin gelişmesi canlıların arasında kalıtsal benzerliğe dayalı evrimsel ilişkilerin araştırılması çalışmalarının da artmasına neden oldu (Sanön, 2011).

Artık günümüzde türler arası ilişkileri anlamak ve analiz etmek için DNA ve protein esaslı teknikler kullanılmaktadır (Sanön, 2011). Canlılar arasındaki genom benzerliklerinin araştırılmasında DNA nükleotit dizisi ya da proteini oluşturan amino asit zincir bilgilerinin kullanıldığı bilinmektedir (Sanön, 2011). Bir popülasyondaki genetik çeşitlilik veya o popülasyon içindeki genotipler arasındaki ilişkilerin tespitinde kullanılan bazı moleküler yöntemlerin %99'a yakın güvenilirlikle sonuçlar verdiği bilinmektedir (Kara, 2012).

Türler arasındaki genetik farklılıkları ortaya çıkarmakta hangi moleküler yöntemin en uygun olduğunu belirlemek önemlidir. Kullanılacak olan moleküler yöntemin belirlenmesi çalışmanın hedeflerine ulaşılmasında, gerekli teknik hususlara, mevcut

laboratuvar koşullarına ve maliyetine bağlı olarak değişebilmektedir (Ash ve ark., 2003).

Yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemlerden bazıları şunlardır:

- i. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms- Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi),
- ii. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms- Çoğalmış Parça Uzunluk Polimorfizmi),
- iii. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA- Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA),
- iv. SSR (Simple Sequence Repeat- Basit Dizi Tekrarları) ve
- v. ISSR (Inter Simple Sequence Repeat- Basit Dizi Tekrarları Arası Bölgeler )

Bu yöntemlerin özellikleri karşılaştırıldığı zaman polimorfizm düzeyi bakımından SSR ve AFLP yöntemleri, maliyetin ekonomikliği bakımından RAPD ve ISSR yöntemleri, tekrarlanabilirlik bakımından da RFLP, SSR, ISSR ve AFLP DNA yöntemlerinin avantajlı olduğu birçok kaynakta ifade edilmiştir. Bunların yanı sıra çalışılacak laboratuvar koşulları düşünüldüğünde, RAPD ve ISSR yöntemlerinin radyoaktif madde kullanımının olmaması ve ekonomik olması bütün laboratuvarlarda rahatlıkla kullanılacak yöntemler olduğunu göstermektedir (Filiz ve Koç, 2011; Kara, 2012; Karaselek, 2012; Kafkas ve Karadut, 2013; Costa ve ark., 2016).

Moleküler işaretleyiciler genel olarak hibridizasyona dayalı moleküler markırlar ve PCR tekniğine dayalı moleküler markırlar olmak üzere iki kategoride incelenebilmektedir (Gülşen ve Mutlu, 2005; Yorgancılar ve ark., 2015) Hibridizasyona dayalı moleküler işaretleyicilere RFLP yöntemi örnek verilebilir ve ilk uygulanan yöntemlerden biridir. Yöntemin basamakları kısaca şu şekilde özetlenebilir: DNA, üzerindeki özgül baz dizilerini tanıyıp bu noktalardan kesen restriksiyon enzimleriyle kesilir. Bu şekilde farklı uzunluklarda fragmentlerden oluşan bir DNA popülasyonu oluşturulur ve bu fragmentler agaroz jel elektroforezi ile moleküler ağırlıklarına göre yaklaşık 16 saat süre sonunda ayrılır. Elektroforezden sonra ayrılan DNA fragmentleri bir naylon membrana transfer edilir ve radyoaktif olmayan veya radyoaktif işaretli problarla hibridize edilen fragmentler radyografi yöntemi ile x-ray filmlere veya fosfat emici özel plakların üzerine tespit edilir. X-ray

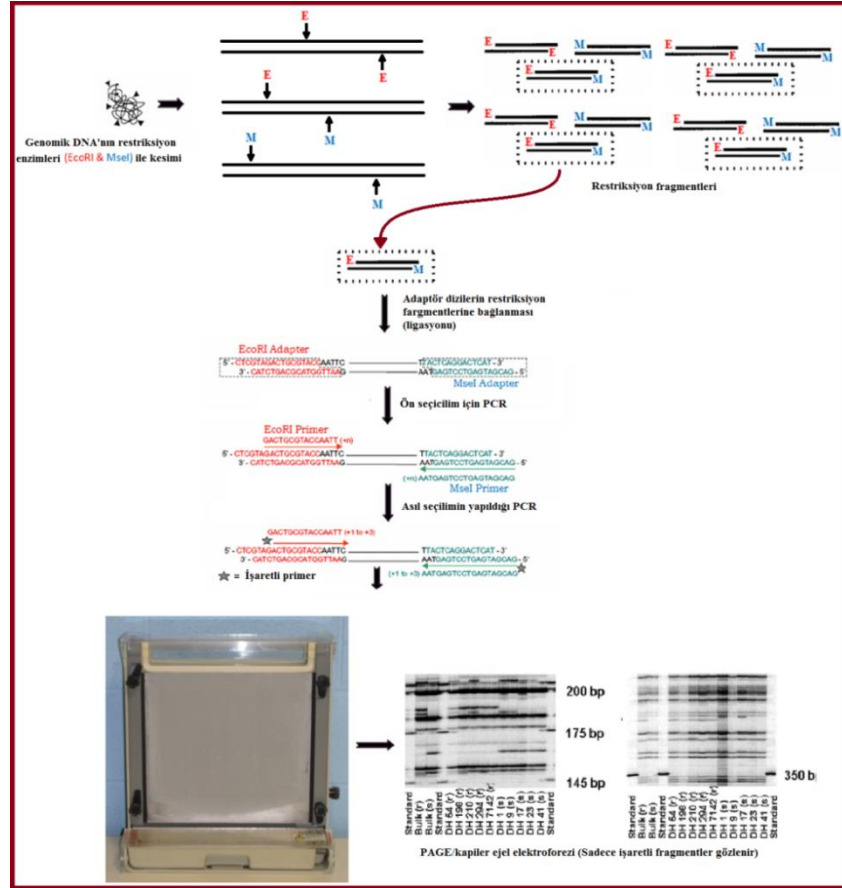
filmleri karanlık odada tab edilir veya fosfat emici plaklar özel tarayıcılarda taranarak görüntüler elde edilir. İki veya daha fazla bireyin tespit edilen bant patternleri karşılaştırılır. Karşılaştırıldığında enzimle kesilen DNA'ların uzunluklarında bir farklılık varsa bu enzimlerin tanıyıp kestiği noktalarda meydana gelen mutasyonel değişimleri ifade eder ve polimorfizm olarak değerlendirilir. Bu farklılıklar kromozomal rekombinasyon, delesyon veya insersiyon gibi mutasyonel durumlarda oluşur. RFLP'ler kodominant kalıtım gösterir ve tekrarlanabilirliği yüksek bir işaretleyici yöntemidir. Yöntemin dezavantajları polimorfizminin düşük olması, çok zaman alan bir yöntem ve toksik kimyasallarla çalışmayı gerektirmesi şeklinde sıralanabilir (Gülşen ve Mutlu, 2005; Sanön, 2011).

PCR tekniği Cetus Firması'nın İnsan Genetiği Birimi'nde (Yorgancılar ve ark., 2015) çalışan Kary Banks Mullis tarafından 1980'lerin başlarında bulunmuş ardından patenti alınmıştır. Bu buluşundan dolayı 1993 yılında Kary Banks Mullis, Micheal Smith ile birlikte kimya alanında Nobel Ödülü'nü aldılar (Anonim, 2014).

PCR yöntemi hedef DNA'nın bir parçasının *in vitro* koşullarda çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PCR'in aşamaları; başlangıç denatürasyonu (DNA'nın çift sarmal yapısının açılarak tek zincirli hale gelmesi), denatürasyon, tek zincir üzerinde ilgili hedef bölgesine önceden tasarlanmış primerlerin bağlanması (annealing) ve primer-DNA kompleksine polimeraz enziminin bağlanıp 3' ucuna dNTP ekleyerek yeni zincirin uzaması (extension) ve son uzama (final extension) şeklinde sıralanabilir (Yorgancılar ve ark., 2015).

PCR tekniğine dayalı moleküler işaretleyicilere AFLP, RAPD, SSR ve ISSR örnek verilebilir. AFLP, Vos tarafından geliştirilmiş orijinal bir DNA parmakizi tekniğidir. Yöntem temel olarak üç basamaktan oluşur (Şekil 1.1): (i) hedef DNA restriksiyon enzimleri (*Eco* R I ve *Mse* II) ile kesilir ve oligonükleotit adaptörlerle birleştirilir (ii) Restriksiyon fragmentlerinin seçici PCR ile çoğaltımı (iii) seçici PCR klonları asıl PCR için kalıp DNA olarak kullanılarak PCR gerçekleştirilir. Primerler adaptör dizilerinden sonra hedef klon DNA'lar üzerinde +1-3'e kadar nükleotit dizisine uyacak şekilde tasarlanır (Gülşen ve Mutlu, 2005). Dizi bilgisi gerektirmez ve tüm genomu taradığı için avantajlıdır.

Dominant kalıtım ve yüksek polimorfizm gösterir. RAPD'in hızlılığını ve RFLP'nin güvenilirliğini birleştiren bir yöntemdir. Tipik olarak 50–100 restriksiyon fragmenti çoğaltılabilir ve denatüre poliakrilamid jellerde tespit edilir. AFLP tekniği herhangi bir orijinden olan veya karmaşık bir DNA için orijinal ve çok güçlü DNA parmak izi sağlayan bir tekniktir.



Şekil 1.1. AFLP tekniğinin şematik gösterimi

RAPD yöntemi, standart PCR'ın uygulandığı ve dizi bilgisi gerektirmeyen bir yöntemdir. Primer dizileri rastgele diziler şeklinde tasarlanır, bu nedenle genomda tam olarak hangi bölgeyi çoğalttığı bilinmez (Sanön, 2011; Yorgancılar ve ark., 2015).

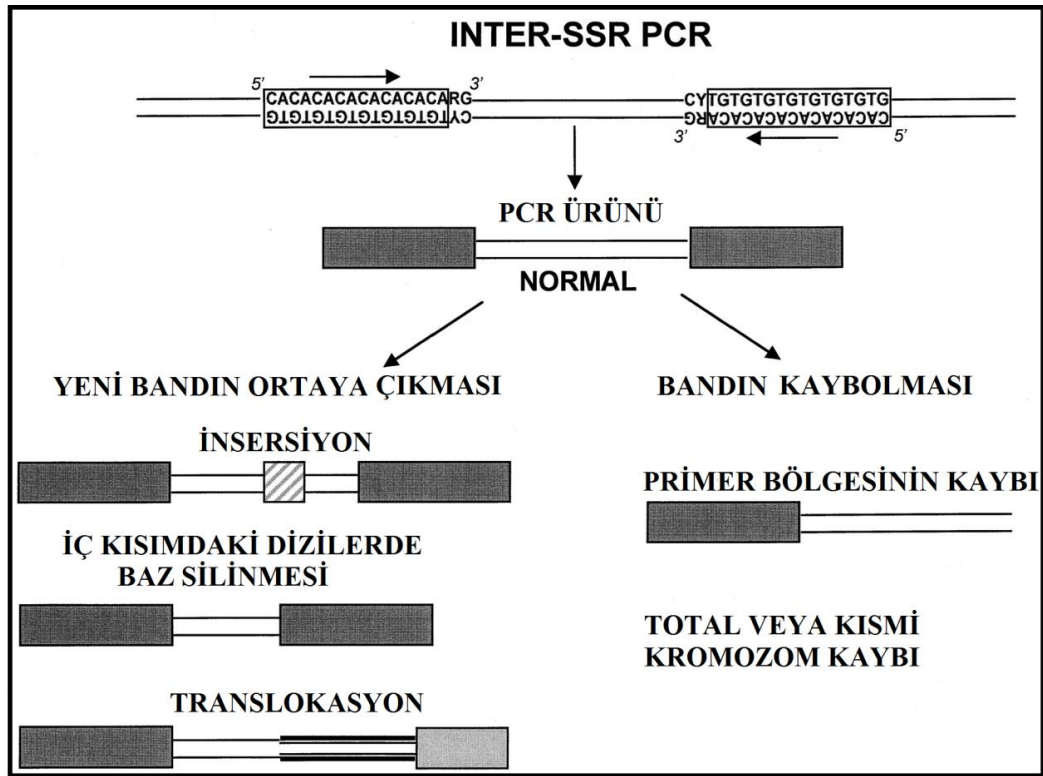
Genetik varyasyon analizlerinde, kladistik çalışmalarında, genotiplendirmede kullanılmaktadır. SSR yöntemi, mikrosatellit DNA analizi olarak da adlandırılırlar. SSR'lar genomda sentromer bölgeleri ve telomer bölgelerinde yoğun olarak bulunurken genomun diğer bölgelerine de dağılmış durumdadırlar. Kodlayan bölgeler olmadıklarından genomda en çok varyasyon gösteren dizi bölgeleri arasında

sayılabilirler. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri primer dizileri olarak tasarlanır ve PCR ile çoğaltılarak bireylerin SSR bölgelerindeki varyasyonlar tespit edilir. SSR'lar kantitatif karakterler ile bağlantı gösterdiklerinden QTL haritaların çıkarılmasında ve ıslah çalışmalarında oldukça verimlidirler. Güvenilirlikleri ve tekrarlanabilirlikleri oldukça yüksektir. Kodominant kalıtım ve yüksek polimorfizm gösterirler. Ancak dizi bilgisi gerektirmesi ve pahalı bir yöntem olması ise dezavantajlarıdır (Yorgancılar ve ark., 2015).

ISSR, Zietkiewicz ve ark. (1994) tarafından önerilmiş bir moleküler işaretleyici türüdür. ISSR genom üzerinde birbirine yakın noktalarda bulunan iki basit dizi tekrarı bölgesi arasında kalan bölgenin PCR yöntemi ile çoğaltılmasıdır. Primer dizileri basit dizi tekrarlarındaki dizilerden yararlanılarak tasarlanır. Primerleri özgülleştirmek için primerden sonra hedef bölgenin ilk birkaç bazı primer dizilerinin sonuna eklenerek sadece bu bölgelerin çoğaltılması da sağlanabilir. ISSR basit, dominant kalıtım gösteren ve güvenilir işaretleyici sistemlerden biri olarak kullanılır (Baloch ve ark., 2010). RAPD yöntemine göre hassasiyeti yüksektir ve tekrarlanabilirliği olan bir yöntem olarak öne çıktığı görülmektedir (Golkar ve ark., 2011;Yorgancılar ve ark., 2015).

ISSR markörlerinin kullanımının hızlı ve uygulanmasının kolay olduğu bilinmektedir. Primerleri daha uzun olmasından dolayı güvenilirlikleri RAPD yöntemine göre daha fazladır. ISSR primerlerini kullanmanın maliyetinin düşük olduğu, zamandan tasarruf ve genetik analizlerde kolaylık sağladığı bilgileri de kaynaklarda belirtilmektedir (Yorgancılar ve ark., 2015). ISSR işaretleyicileri genetik varyasyon çalışmalarında, gen haritalama, germplazm tanımlama ve parmak izi oluşturma işlemlerinde başarıyla kullanılmıştır (Golkar ve ark., 2011). ISSR PCR şematik olarak Şekil 1.2'de gösterilmiştir.

ISSR'ın aspir bitki popülasyonlarında popülasyon içindeki bireyler veya popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin saptanmasında ve filogenik ilişkilerin araştırılmasında etkili bir yöntem olduğu daha önce yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir (Sehgal ve Raina, 2005; Yang ve ark., 2007; Sabzalian ve ark., 2009; ve ark., 2011; Yaman ve ark., 2014; Tekkanat, 2014)



**Şekil 1.2.** ISSR-PCR tekniğinin şematik gösterimi

ISSR metodunun, aspir bitki popülasyonları içindeki genetik çeşitliliği incelemek için basit bir yöntem sunduğu, sağlam ve tekrarlanabilir olduğu ifade edilmektedir (Ash ve ark., 2003). ISSR'in aspir genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği saptamada etkili bir işaretleyici sistem olduğu vurgulanmakta ve filogenik ilişkiler hakkında faydalı bilgiler sağladığı belirtilmektedir (Golkar ve ark., 2011).

Son yıllarda birçok bitki türünde de bu yöntem sıklıkla tercih edilmektedir. Buna örnek olarak limon (Gülşen ve Roose, 2001), kavun (Atalmış, 2007), nohut (Yorgancılar ve ark., 2008) gibi bitkilerdeki çalışmalar örnek olarak verilebilir.

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen *Carthamus* L. cinsine ait türlerin popülasyonlarında ISSR moleküler işaretleyici yöntemini kullanarak;

- a. Popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin karakterizasyonunun,
- b. Tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin karakterizasyonunun,
- c. Popülasyonların genetik yapılarının analizinin yapılması ve
- d. Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın tespit edilmesi hedeflendi.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Paşa (2008) “Kışlık ve Yazlık Ekimin Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Bitkisinin Verimi ve Bitkisel Özelliklerine Etkisi” başlıklı tez çalışmasında 14 aspir çeşit ve hatlarını iki farklı ekim zamanında ekerek yazlık ve kışlık ekimin verim ve bitkisel özellikler üzerine etkilerini incelemiştir. Araştırma sonuçlarına göre; her iki ekim döneminde de en erken çiçeklenmeyi Dinçer-228 (95 gün) çeşidinde, en geç çiçeklenmeyi ise Yenice-2427 (105 gün) çeşidinde belirledi. Kışlık ekimde en uzun bitki boyu 207,5 cm ile Yenice çeşidinde, en kısa bitki boyu 55,2 cm ile yazlık ekilen Montola-2000 çeşidinde elde etti. En yüksek dal sayısını 18,27 adet ile kışlık ekilen ŞW-9305 çeşidinde gözlerken, en düşük dal sayısını 7 adet ile yazlık ekilen Montola-2000 çeşidinde gözledi. En yüksek tabla sayısını 27,3 adet olarak kışlık ekilen PI-306924 hattında belirlerken, en düşük tabla sayısını 11,4 adet ile yazlık ekilen Montola-2000 çeşidinde belirledi. Tablada bulunan en yüksek sayıdaki tohum adedini 38 ile kışlık ekilen Finch çeşidinde saptarken, en düşük sayıdaki tohum adedini 23,4 olarak yazlık ekilen Montola-2000 çeşidinde saptadı. En yüksek BTA miktarını yazlık ekim uygulamasında ŞW-9003 çeşidinde 45,4 gr olarak hesaplarken, en düşük BTA miktarını yazlık ekilen Kazakistan popülasyonu çeşidinde 36,7 gr olarak hesapladı. En yüksek tane verimini kışlık ekilen Dinçer çeşidinde 356.983 kg/da olarak, en düşük tane verimini ise 104.567 kg/da olarak yazlık ekilen Yenice çeşidinde elde etti. En yüksek yağ verimini kışlık ekilen Dinçer çeşidinde 103,78 kg/da olarak belirlerken, en düşük yağ verimini ise 26.46 kg/da olarak yazlık ekilen Yenice çeşidinde belirledi. En yüksek ham yağ oranını kışlık ekilen Montola-2000 çeşidinde % 36,9 olarak saptarken en düşük ham yağ oranını % 25,3 ile yazlık ekilen Yenice çeşidinde saptamıştır.

Aşkın (2008) doğadan toplanan yabani aspir (*Carthamus persicus*, Wild) bitkisinin çiçekten tohuma doğru gelişim periyodunu takip ederek yağ asidi bileşimindeki değişiklikler inceledi. Tunceli ve Malatya’dan toplanan çiçek örneklerinde başlıca yağ asidinin linoleik asit olduğu, bu yağ asidini sırasıyla palmitik, linolenik, oleik ve stearik asidin izlediğini gözlemledi. Tunceli ve Malatya örneklerinden farklı olarak Elazığ çiçek örneklerinde bu sıralamayı şu şekilde tespit etti: Palmitik, linoleik, miristik, linolenik, oleik, stearik asit. Her üç toplama bölgesinden alınan tohum

örneklerinde linoleik asidin başlıca yağ asidi olma özelliğini koruduğu, diğer yağ asitlerinin miktarlarının artarak oleik, palmitik ve stearik asit şeklinde sıralandığı tespit etti. Linolenik asit miktarının ise tayin edilemeyecek kadar azaldığını belirledi. Linoleik asit miktarının yüksek olması yağ kalitesi bakımından oldukça önemli bir özelliktir. *Carthamus persicus* Wild' de elde edilen bu sonuçların yağ bitkisi olarak yetiştirilen, alternatif tıpta, boya ve gıda sanayinde insanlar tarafından geniş ölçüde kullanılan *Carthamus tinctorius* L.'nin yağ asidi bileşimine oldukça benzer olduğunu ifade etti.

Li ve ark. (2009) *Carthamus tinctorius* L.'den elde edilen kartaminlerin ratların kan dolaşımındaki hemorolojik bozuklukların üzerindeki etkilerini araştırdılar. Hemorolojik hastalıklar çoğu hastalığın gelişmesinde ve patogeneğinde önemli rol oynar. Örneğin azalmış kan akış hızı hemorolojik anormalliği gösterir. *Carthamus tinctorius* L.'den izole edilen sarı kartamin (CY) doğal gıda renklendiricisi olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Araştırmacılar CY'nin iki epinefrin enjeksiyon zamanı aralığında buz gibi soğuk suya yerleştirilen ratlarda kan dolaşımını durması modeli üzerindeki etkilerini incelediler. Sonuçlar CY'nin kan viskozitesini, plazma yoğunluğunu ve kan dolaşımını durması modelinde artan eritrosit çökmesi indeksini önemli derecede azalttığını gösterdi. Protrombin miktarı uygulama zamanı artan CY dozları ile birlikte azalırken hematokrit ve pıhtılaşma hücrelerinin çökmesinin de azaldığı gözlemlendi. Bu yüzden CY yönetimi riskli hastalarda hemorolojik bozuklukla ilgili hastalıkların önlenmesinde büyük değeri olabilen ve kan viskozitesini düşürerek kanın akışkanlığının artırılmasına da ek katkı sağlayan önemli bir madde olabilir. Bu arada hemoroloji hastalarının CY ile renklendirilmiş gıdaları tüketirken göreceli olarak beklenmedik bazı talihsiz durumlar ortaya çıktığında dikkat etmeleri gereken hususlar vardır. CY tarafından uyarılan kan pıhtılaşma hücrelerinin çökmesini önleyen hafif aktivite ve antikoagülan etkileri ile gıdalarda çok az miktarda kullanıldığı zaman bile beklenmedik etkilere neden olabileceği dikkate alınmalıdır.

Çulha (2011) araştırmasında tuz stresine toleranslı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerini belirlemek ve tuzluluğun bitki büyümesi üzerine etkisi ile tuzluluğa karşı oluşturulan içsel savunma mekanizmaları arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçladı. Çimlenme ve erken fide evresinde uygulanan NaCl konsantrasyonu ile



aynı miktarda tuz stresi büyüme evresinde 12 gün boyunca uygulandı. Araştırmacı bu stres koşullarının aspir çeşitlerinde ölçülen morfolojik parametreler (gövde büyümesi, yaprak sayısı, taze ve kuru ağırlık) ile gerçek ve oransal su içeriğini olumsuz yönde etkilediğini belirledi. Çeşitlerin tuz stresine karşı oluşturdukları içsel savunma sistemleri olarak bilinen antioksidan enzimlerinin (SOD, POD, APX ve GR) aktivitelerindeki değişimler incelendiğinde, bu enzimlerin uygulanan NaCl konsantrasyonuna ve çeşide göre farklı tepkiler oluşturduğunu gözledi. Dinçer çeşidinin antioksidan enzim aktivitesindeki artış değeri ile diğer çeşitlere göre daha etkin bir savunma gerçekleştirmiş olduğunu belirledi.

Kızılsahin (2014) aspir olarak bilinen *Carthamus tinctorius* L. bitki tohumlarından elde edilen aspir yağı (SFO) ve içeriğinde yer alan oleik asit (OLA) ve konjugatif linoleik asit (CLA) 10E-12Z (trans10, cis12) olarak adlandırılan türevlerinin aktivitelerini analiz etti. Araştırmacı bu türevlerin *in vitro* pro-apoptotik ve mutajenik etkinliğini ortaya koymak, terapötik etkilerini belirlemek ve moleküler etki mekanizmalarını saptamak amacıyla araştırdı. Sonuçta elde edilen verilerle, aspir yağının kanser tedavisinde alternatif bir farmasötik olarak güvenli kullanılabilmesi için yapılması gereken çalışmaların ilk adımını başlattığını ifade etti.

Gök (2016) aspir ile ilgili çalışmasında tane verimi, yağ verimi, protein verimi ve taç yaprağı verimi bakımından ekim zamanı ve çeşitler arasındaki farklılıkların yanı sıra ekim zamanı x çeşit etkileşimleri arasındaki ilişkiyi de istatistiksel olarak önemli buldu. Ekim zamanı geciktikçe bu verim değerlerinin azaldığını belirledi. Araştırmacı en yüksek tane verimi, yağ oranı ve yağ verimi değerlerini (sırasıyla 152,9 kg/da, % 28,0, 42,9 kg/da) Remzibey-05 çeşidinde saptarken, en yüksek taç yaprağı verimini (21 kg/da) ise Dinçer çeşidinde saptamıştır.

Erbaş ve Baydar (2017) araştırmalarında; çiçek rengi ve dikenlilik karakterlerinin kalıtımını belirlemek amacıyla, her iki karakter bakımından farklı olan Dinçer 5-118 (P1, dikensiz ve kırmızı çiçekli) ve Montola-2000 (P2, dikenli ve sarıçiçekli) çeşitlerinin F1 ve F2 jenerasyonları ile geri melezleme popülasyonlarını (BC1P1 ve BC1P2) analiz ettiler. Elde ettikleri veriler, her iki karakterin de birbirlerinden bağımsız olarak monogenik kalıtım gösterdiğini, dikenliliğin dikensizlik üzerine ve kırmızı çiçek renkliliğinin ise sarıçiçek renkliliği üzerine baskın olduğunu

gösterdiler. F1 jenerasyonunun tamamı kırmızı çiçekli ve dikenli fenotipe sahip iken, F2 jenerasyonunda 9:3:3:1 oranına uygun dört farklı fenotip (kırmızı-dikenli; kırmızı-dikensiz; sarı-dikenli; sarı-dikensiz) elde ettiler. BC1P1 jenerasyonunda bütün bitkiler kırmızı çiçekli, ancak dikenlilik için 1:1 açılımına uygun, BC1P2 döllerinde ise bütün bitkiler dikenli, ancak çiçek rengi için 1:1 açılımına uygun olduğunu belirlediler.

Kara (2012) “Türkiye’de Yetişen Kapari (*Caparis* ssp.) Bitkisinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu” başlıklı yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye’de yetişen 15 *Capparis* L. popülasyonunda genetik çeşitliliği rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA analizi tekniğini kullanarak araştırdı. Çalışmada kullanılan 10 RAPD primeri %100’ü polimorfik 98 lokus üretti. Lokus düzeyindeki genetik çeşitlilik verilerine göre toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ ) ve popülasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_s$ ) değerleri sırasıyla 0,16 ve 0,12 olarak tespit edildi. Popülasyonlar arası genetik farklılaşma ( $G_{ST}$ ) ve gen akışı ( $N_m$ ) değerleri sırasıyla 0,22 ve 1,79 olarak hesaplandı. Lokus başına ortalama alel sayısı ( $n_a$ ), etkili alel sayısı ( $n_{ea}$ ), genetik çeşitlilik değeri ( $H_e$ ) ve Shannon enformasyon indeksi değeri ( $I$ ) sırasıyla 2, 1,20, 0,16 ve 0,29 olarak tespit edildi. *Pearson* korelasyon analizine göre alel sayısı ile rüzgar arasında negatif ve alel sayısı ile yağış arasında pozitif korelasyon olduğunu saptadı. Regresyon analizi verilerine göre eko-coğrafik faktörlerin alel sayısı, etkili alel sayısı, genetik çeşitlilik ve Shannon enformasyon indeksi değerleri üzerinde etkili olduğu görüldü. Uzaysal genetik varyasyonu açıklamak için yapılan temel bileşenler analizinde, beş bileşenin toplam genetik varyasyonun % 87,42’sini açıkladığını tespit etti. Yaptığı bu çalışma Türkiye çapında *Capparis* L. bitkisinin genetik karakterizasyonu ile ilgili yapılmış ilk çalışma olup, araştırmacı genetik çeşitliliğin dikkate değer oranda olduğunu ve eko-coğrafik faktörlerin genetik çeşitlilik üzerine etkisinin oldukça yüksek düzeyde olduğunu gözlemledi.

Ash ve ark. (2003) Avustralya, Yeni Güney Wale’de *Carthamus lanatus*’ta genetik çeşitliliği ISSR işaretleyicilerini kullanarak araştırdılar. Araştırmacılar Yeni Güney Wale’de 11 farklı lokasyondan topladıkları örneklerden izole ettikleri DNA’yı analiz ettiler. Sonuçlarını Batı Avustralya’dan toplanan bir örnek ve yakın akraba türlerinden olan aspirden bir örnek aksesyona karşılaştırdılar. Grup içi genetik

çeşitlilik değerini Shanon genetik çeşitlilik indeksi olarak hesapladılar. Genetik çeşitlilik değerini güney ve kuzey grupları için sırasıyla 0,33 ve 0,22 olarak hesapladılar. Araştırmanın sonuçları gösterdi ki iki farklı *C. lanatus* grubu bulunmaktadır ve bunlar kuzey ve güney bölgelerindekilerle ilişkilidir.

Genellikle aspir olarak bilinen *Carthamus tinctorius* ( $2n = 2x = 24$ ) (Asteraceae ailesi) Asya, Avrupa, Avustralya ve Amerika'da tarımsal üretim sistemlerinde sebze kalitesi yüksek ve endüstriyel yağ olarak yaygın ekimi yapılmaktadır. Hindistan ise yağ üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Hindistan'da farklı agro-klimatik bölgelerde yoğun olarak ekimi yapılan 14 aspir kültivar (tarımsal çeşit) RAPD, ISSR ve AFLP işaretleyicileri ile sırasıyla 36, 21 primer ve 4 primer kombinasyonunu kullanılarak parmak izleri Sehgal ve Raina (2005) tarafından çıkarıldı. Bireysel bazda ele alındığında AFLP'nin diğer iki işaretleyici sistemlerle karşılaştırıldığında yüksek ayırt edici gücü (0,98), analiz verimlilik indeksi (33,2), işaretleyici indeksi (18,2), çözünürlük gücü (40,62), ve genotip indeksi (0,856) bakımından en iyi işaretleyici sistem olduğunu ispatladılar. Araştırmacılar iki AFLP primerinin 14 kültivarın tamamını ayırıştırırken 36 RAPD ve 21 SSR primeri maksimum sırasıyla 8 ve 4 kültivarı ayırıştırabildiğini açıkladılar. Bu kültivarlar arasındaki genetik ilişkileri anlamak için üç işaretleyici sistemine Jacckard'ın benzerlik katsayısı ve UPGMA kümeleme algoritması uyguladılar. Ortalama genetik benzerlik oranlarını 0.689 (AFLP) ve 0.952 (ISSR) aralığında değiştiğini buldular. Benzerlik matrisleri ve kofenetic matrisler arasında ki korelasyon katsayısı karşılaştırmalarına göre AFLP'nin RAPD ve ISSR verilerine karşı hiçbir uygunluk göstermediğini açıkladılar. Bununla birlikte RAPD ve ISSR işaretleyici sistemleri arasında kuvvetli korelasyon olduğunu gözlemladiler. Bu makale ile genetiği çok az bilinen dünyanın en büyük yağ tohumluk bitkisi olan aspirin nükleer genomunu hedefleyen moleküler biyoloji programının başlamasını rapor ettiklerini açıkladılar (Sehgal ve Raina 2005).

Yang ve ark. (2007) 48 aspir akseyonu arasındaki genetik çeşitlilik ve ilişkiler 22 ISSR primeri kullanılarak analiz ettiler. Toplam 429 bant çoğalttılar ve bunların 355'i (%82,7) polimorfikti. Her primer tarafından üretilen bant sayısını 5 ile 41 arasında olmak üzere ortalama 16,1 olarak buldular. Sonuçları gösterdi ki aspirin germplasmı DNA düzeyinde yüksek polimorfizme sahipti. 48 aksesyona tümü

ISSR işaretleyicileri tarafından ayırt edildi ve UPGMA yöntemini kullanarak genetik benzerlik indeksine göre 9 gruba ayırdı. Farklı kıtalardan olan aksesyonlar arasındaki genetik ilişkiyi yakın buldular. Karşılaştırmalı olarak Asya'dan olan aksesyonların Avrupa'dan olanlara göre daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu tespit ettiler. Sonuçları ayrıca, Hindistan ve Orta Doğu çeşitlilik merkezinden olan aksesyonların da göreceli olarak yüksek genetik çeşitliğe sahip olduklarını gösterdi. Araştırmacılar ISSR sisteminin aspir aksesyonları arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmede etkili olduğu ve filogenetik ilişkiler konusunda kullanışlı bilgiler sağladığını ifade ettiler (Yang ve ark. 2007).

Aspirin 4 000 yıl önce Orta Doğu'da Verimli Hilal Bölgesi'nde evcilleştiğine inanılmaktadır. Önceki hipoteze göre, aspirin orijini *Carthamus* seksiyonundaki diğer iki tür (*C. oxyacanthus* ve *C. palaestinus*) üzerinde birincil olarak yoğunlaşmakla birlikte üçüncü bir tür (*C. persicus*) üzerinde de durulmaktadır. Chapman ve Burke (2007) yedi nükleer geni kullanarak bütün *Carthamus* seksiyonunun filogenetik analizini açıkladılar. Tek gen filogenetik analizi bazı ağsı (karmaşık) veya tamamlanmamış soy ağacı şeklini göstermekteydi. Bununla birlikte birleştirilmiş veri setleri aspir ve *C. palaestinus* arasındaki yakın ilişkiyi açıklamaktaydı. Aksine *C. oxyacanthus* ve *C. persicus* aspir ile daha uzak ilişkili görünüyordular. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre aspirin büyük bir olasılıkla yabani *Carthamus palaestinus*'tan türediği sonucuna vardıklarını açıkladılar. Beklendiği gibi, ataları ile kıyaslandığında aspirin azalmış nükleotit çeşitliliği göstermesi evcilleşme sürecinde popülasyon genetik darboğazının oluştuğu ile de tutarlıdır. Araştırmacılar bu çalışmalarının sonuçlarının aspirin evcilleşmesinin genetiğinin araştırılmasında bir basamak oluşturduğunu ifade ettiler.

Peng ve ark. (2008) Çin'de yetişen 23 *Carthamus tinctorius* L. ve 2 *Carthamus lanatus* L. popülasyonunda genetik çeşitliliği SRAP işaretleyicileri ile analiz ettiler. 30 primer kombinasyonu ile elde edilen 274'ü (%57) polimorfik 483 lokus bütün popülasyonları birbirinden ayırt etti. UPGMA kümeleme analizi farklı popülasyonlar arasında genetik uzaklığa göre bir dendrogram oluşturdu. Dendrogram 23 *C. tinctorius* popülasyonu arasında ortaya çıkan yüksek düzeydeki genetik çeşitliliği

açıkladı. Ayrıca, 4 primer kombinasyonu ile *C. lanatus*'ta elde edilen 5 tipik fragment *C. lanatus*'u *C. tinctorius*'tan açıkça ayırma olanağı sağladı.

Mahasi ve ark. (2009) ekzotik aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) genetik çeşitliliği RAPD işaretleyicileri kullanarak incelediler. Aspir soğuğa dayanıklı bir yağ bitkisidir ve bu özellik ona Kenya'nın kurak bölgelerinde diğer bitkilerin üzerinde bir avantajlı bir konum sağlar. Aspir dünya çapında yüksek kaliteli bir yağ kaynağı olarak çok değerlidir. Araştırmacılar 36 aspir aksesyonunda polimorfizm derecesini 10 mer'lik 14 rastgele RAPD primeri kullanarak analiz ettiler. Sonuçta 61 lokus elde ettiler ve bu lokuslardan elde ettikleri binary matriks (1 var ve 0 yok) verilerini NTSYS ile yapılan istatistiksel analizlerde kullandılar. Sonuç olarak 0,79 benzerlik katsayısına sahip 8 grup oluşturdular. Aksesyon çiftleri arasındaki farklılıklar temel olarak paylaştıkları RAPD fragment sayısına göre belirlenir. Farklı ülkelerden olan aksesyonların birlikte gruplanma eğilimi gösterdiğini gözlemlediler. PCA ile elde edilen 3 bileşen varyasyonun %44'ünü açıkladı. Bu sonuçlar incelenen aspir aksesyonlarının arasındaki polimorfizmi açıkça gösterdi.

Türleri doğrulanmamış beş türü kapsayan 18 *Carthamus* taksonuna bağlı 29 aksesyon RAPD, ribozomal DNA tekrar birimlerinin uzunluğu, içsel tanımlanmış diziler (internal transcribed sequence, ITS), RFLP, karşılaştırmalı ITS ve dışsal tanımlanmış dizi (external transcribed sequence ETS) bölgeleri üzerinden Sehgal ve ark. (2009) tarafından analiz edildiler. Bu çalışma (1) ekili botanik aspir varyeteleri arasındaki ilişkileri, *C. tinctorius* ve filogenetik ilişkilerini (2) aspir ve onun yakın akrabaları arasında ve (3) *Carthamus* ve onun alt türleri hakkında yeni bilgiler elde etmek amacıyla gerçekleştirildi. 12 aksesyonun kök ucu hücrelerinde kromozom sayısını 24 olarak elde ederken 9, 6 ve 2 aksesyonda ise sırasıyla 64, 44 ve 20 kromozom sayılarını tespit ettiler. *C. lanatus*'tan başka her takson içindeki aksesyonlar aynı zigotik sayıya sahipti. Araştırmacılar elde edilen sonuçlara göre yabani *C. palaestinus* ( $2n = 24$ ) ve kültür formu *C. tinctorius*'un ( $2n = 24$ ) yakın akraba olduğu görüşü güçlü bir şekilde desteklenmekteydi. Birkaç istisna hariç, bütün DNA dendrogramları bu cins içinde üç soy ağacı olduğunu göstermekteydi. Bir soy ağacı tek başına *C. arborescens*'ten ( $2n = 24$ ) oluşmaktaydı. Mevcut veriler onun diğer *Carthamus* taksonlarından farklı özgül bir genomu sahip olduğunu göster-

mekteydi ve *C. arborescens* ayrı bir alt cinse yerleştirilmeliydi. Diğer iki soyağacından biri  $2n = 24$  ve  $2n = 20$  kromozom sayılarına sahip taksonlardan oluşurken, diğeri  $2n = 44$  ve  $2n = 64$  kromozom sayılı taksonlardan oluşmaktaydı. Bu iki taksonomik seksiyon ise diğeri alt cinse yerleştirilmeliydi. Mevcut çalışma  $2n = 24$  kromozomlu taksonların hiçbirinin poliploit taksonların orijinine katkısının olmadığını göstermekteydi. *Carthamus boissierii* ( $2n = 20$ ) ve *C. glaucus* ssp. *anatolicus* ( $2n = 20$ ) muhtemelen *C. lanatus* ssp. *creticus* ( $2n = 64$ ), *C. lanatus* ( $2n = 44$ ), *C. lanatus* ssp. *lanatus* ( $2n = 44$ ) ve *C. lanatus* ssp. *montanus* ( $2n = 44$ ) ve *C. lanatus* ssp. *turkestanicus* ( $2n = 64$ ) türlerinin diploit gen verici kaynağı olabilir. Araştırmacılar *C. lanatus*, *C. lanatus* ssp. *lanatus*, *C. lanatus* ssp. *montanus*, *C. lanatus* ssp. *turkestanicus* ve *C. lanatus* ssp. *creticus*'tan oluşan Lanatus tür kompleksinde ITS ve ETS dizilerinin içinde yeni türeyen karakterlerin oranının yüksek olması ve ortak atadan gelen karakterlerin sayısının düşük olmasından dolayı bu tür kompleksinin içindeki taksonların yakın zamanda çeşitlendiğini ileri sürmektedirler. Ayrıca, araştırmacılara göre kompleksin içindeki *Carthamus lanatus* ssp. *creticus* ( $2n = 64$ ) ve *C. lanatus* ssp. *turkestanicus* ( $2n = 64$ ) tür statüsünü hak etmekteydiler ve bu analizler doğrulanmamış beş taksonun ve bilinen *Carthamus* taksonların arasında evrimsel ilişkileri hakkında bilgiler sağlamaktadır (Sehgal ve ark. 2009).

Sehgal ve ark. (2009) 22 RAPD primeri, 18 SSR primeri ve 10 AFLP primer kombinasyonunu kullanarak (1) aspirin dünya çapında germplasmının varyasyonunu temsil eden 85 aksesyonun (24 farklı ülkeden) genetik çeşitliliğini, (2) daha önce ileri sürülen aspirin “benzerlik merkezi” veya “bölgesel gen havuzları” arasındaki ilişkileri analiz ettiler. RAPD, SSR primerleri ve AFLP primer kombinasyonları aksesyonlardan çoğaltılan sırasıyla 111, 72 ve 330 genetik lokuslarda % 57,6, 68,0 ve 71,2 oranlarında polimorfizm olduğunu açıkladı. Toplam etkili alel sayısı (66.44), çözülme gücü (59.16) ve işaretleyici indeksi (51,3) AFLP'nin göreceli olarak aspirin varyasyonunun açıklanmasındaki üstünlüğünü gösterdi. Tüm bunlara ek olarak AFLP “benzerlik merkezi” veya “bölgesel gen havuzları”nı ayırt edebildi. Moleküler varyans analizi ve Shannon İnfomasyon indeksi mevcut çalışma ve önceki çalışmalar için sağladığı bilgi ile aspirin gen havuzunun pekçok gen havuzuna parçalandığı sonucunu ortaya koydu. Çeşitliliğin şekillenmesinde ıraksak

yönlendirilmiş seçilimin önemli rol oynadığı muhtemel görünüyordu. Pratik uygulama noktasında durulduğunda ise, İran-Afganistan gen havuzunun türlerin çeşitliliğinin tümüne eşit şekilde çok yüksek olduğunu gözlediler. Uzak Doğu gen havuzu en düşük genetik çeşitliliğe sahipti. Araştırmacılar aspirin kendi çeşidindeki bu ilk mevcut geniş kapsamlı girdi işaretleyicilere dayalı program geliştirilmesini asiste edeceğini açıkladılar.

Yabani aspirin, *Carthamus oxyacanthus* Bieb. Kültür formlarından *C. tinctorius* L. ile yüksek düzeyde çaprazlanabilmektedir ve aspirin gen havuzunun genişletilmesinde, biyotik ve abiyotik stres koşulları için bitki geliştirmede doğrudan kullanılabilir. Bu çalışmada *C. oxyacanthus* aksesyonları ve onun kültür formu akrabaları arasındaki genetik çeşitlilik agromorfolojik özellikler ve polimorfik ISSR işaretleyicileri kullanılarak araştırıldı. Aksesyonlar arasında özellikle her çiçek başındaki tohumlar, bitki başına ürün miktarı, hasat indeksi ve bitki başına çiçek başı için önemli derecede varyasyon gözlemlendi. Agromorfolojik özelliklere göre yapılan kümeleme analizi yabani aksesyonları coğrafik bölgelerine göre iki gruba böldü ve onları kültür formu genotiplerinden ayırdı. ISSR işaretleyicileri de aksesyonlar arasında yüksek genetik varyasyonu açıkladı ve ISSR'a dayalı kümeleme analizi genotipleri kültür formları ayrı bir grupta olmak üzere dört gruba böldü. Yabani aspirin germplasmında DNA düzeyindeki genetik varyasyon agromorfolojik özelliklere göre daha yüksek düzeyde gözlemlendi. Bu da ISSR yönteminin Aspirin genotipleri arasında genetik çeşitliliği ve ilişkileri araştırmada etkili bir yöntem olduğunu gösterdi. Araştırmacılar kültür formu türlerle yüksek düzeyde genetik ilişkileri olan *C. oxyacanthus* aksesyonlarının aspirin ıslah programlarında türler arası hibridizasyonda kullanılabileceğini belirttiler (Sabzalian ve ark., 2009).

Mark ve ark. (2010) aspirin (*Carthamus tinctorius* L.; Asteraceae) popülasyon genetik analizleri ile beş farklı çeşitlilik merkezini ve yakın doğu orijinini açıkladılar. Bitkilerin gen havuzlarında yapılan genetik varyasyon analizleri bitkilerin soyağaçlarının evriminin erken dönemlerini ve orijinlerini incelemek açısından kullanılan güçlü araçlardır. Yağlık tohum bitkisi olan aspirin (*Carthamus tinctorius* L.) Verimli Hilal Bölgesi'nde evcilleştiği düşünülmektedir. Fakat morfolojik özelliklere dayalı olarak dünya çapında 10 farklı coğrafik merkezin benzer oldukları

da ileri sürülmektedir. Bu 10 benzer merkezden alınan aksesyonlarda yapılan çekirdek mikrosatellit analizlerine göre atasal türlerin bireylerinde olduğu gibi beş grubun olduğunu ileri sürüldü. Bu gruplar ve kapsadıkları ülkeler şu şekildedir: 1. grup Avrupa ülkeleri; 2. grup Türkiye, İran, Irak ve Afganistan; 3. grup İsrail, Ürdün ve Suriye, 4. grup Mısır ve Etiyopya; 5. grup Uzak Doğu, Hindistan ve Pakistan'dır. Kuzey Amerika aksesyonları primer gen merkezindeki türlerin ikincil gen merkezlerine dağılımlarının sonucunda ortaya çıkan türlerdir. Araştırmacılar primer gen merkezinin olduğu bölgedeki aksesyonların barındırdıkları eşsiz genetik çeşitliliğin gelecekte yapılacak ıslah çalışmaları için yararlı gen kaynakları olarak kullanılabilirlerini önermektedirler.

Tonguç ve ark. (2011) Dinçer 5–118 ile Remzibey–05 çeşitlerinin çaprazlanması ile geliştirilen ve F6 seviyesine kadar ilerletilen rekombinant saf hatların (RIL) aspirde genetik haritalama popülasyonu olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırdılar. Çalışmada toplam 16 RIL hattını ve anaçlar arasındaki polimorfizmi 10 AFLP primer kombinasyonunu kullanılarak analiz ettiler. Çalışmada kullanılan AFLP primerleri ile toplam 439 bant gözlemlenildi ve bu bantlardan 20 tanesi anaçlar ve hatlar arasında polimorfizm olduğunu gösterdi. Ayrıca primer kombinasyonu başına üretilen polimorfik bant sayısının 0–4 arasında değiştiğini tespit ettiler. Elde edilen polimorfik bantlardan dokuz tanesinin beklenen orandan sapma gösterdiğini belirlediler.

Golkar ve ark. (2011) aspirdeki (*Carthamus tinctorius* L.) tohumun kalite ile ilgili özelliklerinde sahip oldukları genetik varyasyonu ISSR markerleri ile analiz ettiler. Araştırmacılar İran'dan ve bazı egzotik bölgelerden toplanan 16 aspir genotipinin genetik varyasyonunu değerlendirdiler. Aspir yüksek kaliteli yağ bitkisidir. Araştırmacılar tohumlarda yağ asidi özelliği dâhil 8 tohum kalite ile ilgili özelliği ve yağ (sterik asit, palmitik asit, oleik asit ve linoeik asidi), protein, lif ve kül içeriğini analiz ettiler. Varyans analizi sonuçları genotiplerin tohum kalite özellikleri için önemli varyasyona sahip olduklarını gösterdi. ISSR işaretleyicileri ile yapılan analizlere göre toplam 204 lokus elde ettiler ve bunların 149'unun polimorfik (%70) olduğunu tespit ettiler. Biyokimyasal ve moleküler analizlere göre yaptıkları kümeleme analizi genotipleri dört gruba ayırdı.



Barati ve Arzani (2012) yabani aspir (yalancı safran) ve kültür formlarında genetik çeşitliliği EST-SSR işaretleyicileri ile incelediler. *Carthamus tinctorius* L. Dünyada kurak ve yarı kurak bölgelerde yağlık bitki tohumu olarak yetiştirilmektedir. Araştırmacılar üç türe (*Carthamus lanatus*, *Carthamus oxyacanthus* ve *Carthamus tinctorius*) ait 48 genotipin genetik varyasyonunu 109 EST-SSR primer çiftini kullanarak araştırdılar. 42 primer çifti ile moleküler ağırlıkları 100 bp ile 500 bp arasında değişen toplam 145 polimorfik lokus elde ettiler. Polimorfik enformasyon indeksi (PIC) değerleri 0,04 ile 0,695 arasında değişirken ortalama PIC değerini 0,322 olarak hesapladılar. Kümeleme analizinin türleri açık bir şekilde ayırt ettiğini tespit ettiler. Aspirin kültür formları dört gruba ayrılırken, her birinin genotipinin aynı orijine ve genetik özgeçmişine sahip oldukları gözlemlendi. Moleküler varyans analizleri her bir popülasyon arasında yüksek düzeyde varyasyonun bulunduğunu ve İran ile egzotik bölgelerden toplanan genotiplerin arasında önemli bir genetik farklılık olduğunu gösterdi.

Mokhtari ve ark. (2013) SRAP işaretleyicilerini kullanarak *Carthamus* türleri arasında ve tür içinde genetik çeşitliliği analiz ettiler. *Carthamus* türleri arasında genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi için 52'si yabani (*C. oxyacanthus* M. Bieb, *C. lanatus* L., *C. dentatus* Vahl, *C. boissieri* Hala'csy, *C. glaucus* M.B.) ve 10 tanesi kültür formundan (*Carthamus tinctorius* L.) toplam 62 genotip, seçildi. 12 SRAP primer kombinasyonu ile her bir kombinasyon için ortalama 22 lokus olmak üzere toplam 238 polimorfik lokus (%81,2) elde ettiler. Kümeleme analizi bütün aksesyonları beş ana gruba ayırdı. Bu kümelerde kültür ve yabani formlar belirgin bir şekilde birbirinden ayrıldılar. Moleküler varyans analizlerine göre en yüksek ve en düşük genetik varyasyon değerleri sırasıyla tür içinde %76,90 ve türler arasında %22,84 olarak tespit edildi. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre *C. dentatus*, *C. glaucus* ve *C. boissieri* türleri bir seksiyon içinde sınıflandırılabilirliğini ifade etmektedirler. Bu seksiyon içinde ayrıca *C. dentatus* bir alt seksiyonda yer alırken *C. glaucus* ve *C. boissieri* diğer alt seksiyonda bulunmaktadır. Araştırmacılar sonuçlarının farklı morfolojik karakterlerine rağmen, *C. oxyacanthus* ve *C. tinctorius* arasında yüksek genetik çeşitlilik olduğunu da gösterdiğini belirttiler. Farklı ülkelerden ve coğrafik bölgelerden gelen aspir germplazm koleksiyonlarının genetik açıdan değerlendirilmesi genetik çeşitliliğin kullanımı ve korunmasının

sürdürülebilirliği için kullanışlı bilgiler sağlar. Bununla birlikte aspir germplazmasının genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi için moleküler işaretleyici bilgisi de kısıtlıdır. Bu nedenle Lee ve ark. (2013) bir aspir (*Carthamus tinctorius* L.) koleksiyonunun genetik açıdan değerlendirmesini mikrosatellite işaretleyicilerini kullanarak yaptılar. Bu çalışmada araştırmacılar yeni nesil jenerasyon dizileme (Next Generation Sequencing) yöntemlerini kullanarak genomu yeterli şekilde kapsadığını varsaydıkları 509 SSR işaretleyicisini elde ettiler ve 100 farklı aksesyonlardan oluşan aspir koleksiyonunda 30 polimorfik SSR işaretleyicisini (lokusu) karakterize ettiler. Ortalama alel sayısını ve beklenen genetik çeşitlilik (heterozigotluk) değerlerini sırasıyla 2,8 ve 0,386 olarak tespit ettiler. 30 SSR bant profiline dayalı yapılan filogeni ve popülasyon yapısı analizlerinin tersine coğrafik bölgeler arasında genetik karışmanın (admixture) olduğunu belirlediler. Bununla beraber, Kore'den olan aksesyonların aspirin diğer gen havuzunun aksine ayrı bir grup olarak olduklarını gösterdi. Sonuç olarak bu yeni genomik SSR'lar aspir için yapılacak olan popülasyon genetik yapısı analizlerini, genetik haritaları ve bağlantı analizlerini ilişkilendiren çalışmalar kadar genetik ilişkileri açıklamak için yapılan değerli çalışmaları da kolaylaştıracaktır.

Yaman ve ark. (2014) Türkiyenin farklı illerinden toplanan altı *Carthamus* taksonunu (11 *C. dentatus*, 5 *C. glaucus*, 18 *C. lanatus*, 3 *C. persicus*, 1 *C. tenuis* subsp. *tenuis* ve 1 *C. tenuis* subsp. *gracillimus*) temsil eden 39 bitki örneğini dokuz ISSR primeri kullanarak analiz ettiler. Toplam 151 polimorfik bant elde ettiler. ISSR'a dayalı bir dendrogramda ilk dal *C. tenuis* subsp. *gracillimus* idi, *C. persicus* ise ikinci grubu oluşturdu. Geri kalan taksonlar iki kümede gruplandılar. İlki *C. lanatus*, *C. tenuis* subsp. *tenuis* ve *C. glaucus*'u kapsarken, ikincisi *C. dentatus*'u kapsıyordu. İlk grupta *C. tenuis* subsp. *tenuis* ve *C. glaucus* bir alt küme oluşturdular. Aynı taksonun temsilcileri kararlı bir şekilde birlikte gruplandılar. Ayrıca türün içinde, gruplanma genellikle coğrafik dağılımlarla uyuşmaktaydı (Yaman ve ark. 2014).

Tekkanat (2014) çalışmasında aspir (*Carthamus tinctorius* L.) türlerini ISSR işaretleyicileri aracılığıyla genotiplendirdi. Aspir çeşitlerinin kromozom sayılarını ve morfolojilerini araştırıp ve aralarındaki kromozomal ilişkileri belirledi. Araştırma sonuçlarına göre araştırdığı çeşitlerin tamamının kromozom sayısını  $2n = 24$  olarak

tespit etti ve çeşitlerin tamamı diploit kromozom sayısına sahipti. Kromozom morfolojileri açısından incelenen çeşitler yüksek oranda benzerlik gösterirken birkaç çeşidin farklılık gösterdiğini belirledi. Sonuç olarak seleksiyonu yapılmış aspir çeşitlerinin genetik karakterizasyonunun yapılmasında ve genotiplendirilmesinde kromozom morfolojisi ve ISSR işaretleyicilerinin etkili bir biçimde kullanılabileceğini ifade etti.

Hamamcı ve ark. (2011) Diyarbakır'da yetişen aspir (*Carthamus tinctorius* L.) tohumlarından aspir yağını izole ettiler. Geleneksel solvent ekstraksiyonundan elde ettikleri yağdan transesterifikasyonla ham petrol ürettirler. Maksimum (93%) yağ-ester dönüşümünü %0,5 konsantrasyonunda NaOH katalizörlüğünde 6:1 metanol molar derişimi:yağ (%100 metanol) oranını kullanarak 65 °C'ta başardılar. Biyodizel yakıtın akışkanlığını petrolden üretilen dizele yakın oranda ve kalorimetrik değerini ise %5,5 daha az oranda buldular. Biyodizelin kalitesi motor kısımları için çok önemlidir ve kaliteyi kontrol etmek için çeşitli standartlar mevcuttur. Araştırmacılar kinematik akışkanlık (cSt) (40 C'ta), parlama/alev alma sıcaklık noktası, kükürt içeriği (wt%), nötralizasyon sayısı, akışkanlık/dökülme sıcaklık noktası, bulutsulanma sıcaklık noktası ve setan sayısını (bir dizel motor yakıtının iç yanma niteliğini diğer karışımlarla karşılaştıran sayı) buldular ve 2 numara petrol dizeli ile karşılaştırdılar. Sonuç olarak *Carthamus tinctorius* L. yağının metil esterlerinin yakıt özelliklerinin ASTM ve EN biyodizel standartlarıyla uygun olduğunu ve mevcut çalışmalarının sonuçlarının aspir tohum yağının metil esterlerinin dizel olarak başarılı şekilde kullanılabileceğini açıkladılar.

Ahmad ve ark. (2015) biyodizel sentezi için hammadde olarak yüksek (52%) yağ içeriği olan potansiyel yeni bir aspir kültürü tohumlarını analiz ettiler. Çalışmalarının özgül amacı ise maksimum biyodizel üretimi için farklı parametreleri kullanarak transesterifikasyon işlemini optimize etmekte ve mineral yağlarla onun yakıt uyumluluğunu değerlendirmektir. Aspir yağının yağ asidi metil esterlerini potasyum hidroksit (KOH) katalizörlüğünde standart transesterifikasyon işlemi ile ürettirler. Optimum biyodizel üretimini (%98) 65 °C'ta 5:1 metanol:yağ molar oranında 0.32 g katalizör konsantrasyonu kullanarak 80 dakikalık reaksiyon süresinde ürettirler. Kinematik akışkanlık (cSt) (40 C'ta), parlama/alev alma sıcaklık noktası, kükürt

içeriği (wt%), akışkanlık/dökülme sıcaklık noktası ve saf aspir yağ biyodizelinin bulutsulanma sıcaklık noktası değerlerini sırasıyla 5.32 mm<sup>2</sup>/s, 80°C, %0,00041, –9°C ve –11°C olarak elde ettiler. Diğer yakıt parametreleriyle birlikte bunların hepsi ASTM (American Society for Testing and Materials) standartları ile uyumludur. Araştırmacılar çalışmalarının sonuçlarına göre aspir yağı biyodizelinin biyodizel üretimi için potansiyel hammadde olarak ortaya çıktığını ve dizel motorlarda biyodizel alternatif yakıt kaynağı olarak kullanılabileceğini ifade etmektedirler.

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) ve kenevir (*Cannabis sativa*) yağları bu hammaddelere örnektir. Al-Samaraae ve ark. (2016) Türkiye’de biyodizel üretimi için aspir ve kenevir yağlarını potansiyel hammadde olarak araştırdılar. Aspir ve kenevir metil esterlerini sodyum hidroksidin (NaOH) katalizörlüğünde metanol ile transesterifikasyon işlemi ile ürettir. Bu işlemi üretilen biyodizelde kinematik akışkanlık, belli sıcaklığın altında balmumunun (wax) biyodizel içinde oluşturduğu bulutsu görüntü (cloud pour point) sıcaklık noktası, akışkanlık sıcaklık noktası (pour point), yoğunluk ve standart bir filtreden geçmek için gerekli minimum sıcaklık değeri (cold filter plugging point) gibi bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin araştırılması takip etti. Araştırmacılar aspir ve kenevir metil esterlerinin ASTM D 6751 ve EN 14214 biyodizel standartlarını karşıladığını ve her iki hammaddenin Türkiye gibi soğuk bölgeler için iyi olduğunu ifade ettiler. Araştırmacılar çalışmalarının sonuçlarına göre fosil dizel ile farklı oranlardaki karışımları, motor üzerinde etkisi ve emisyon performansları bakımından bu hammaddelerin daha ileri düzeyde araştırılması gerektiğini ifade ettiler (Al-Samaraae ve ark. 2016).

Aspir (*Carthamus tinctorius*) Türkiye’de yaygın olarak tarımı yapılan bir bitkidir. Al-Samaraae ve ark. (2017) bu çalışmalarında aspir biodizelinin onun Eurodizel ve butanolle karışımlarının fizikokimyasal özelliklerini araştırdılar. Kinematik akışkanlığı ve üçlü karışımlarının yoğunluklarını araştırmak için PCM-F (polynomial curve-fitting) yöntemini kullandılar. DSC (Differential scanning calorimetry), FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy), UV-Vis (Ultraviolet–visible spectroscopy) ve TGA (Thermogravimetric analysis) gibi özellikleri butanolün biyodizel ve dizel karışımları üzerine etkilerini değerlendirmek için adapte ettiler. BP (Brake power), tork ve CO (Carbon monoxide), HC (hydrocarbons), NO<sub>x</sub> (Nitrogen oxides) and

EGT (Exhaust gas temperature) emisyonları gibi motor performans parametrelerini de araştırdılar. Aspirin metil esterleri akışkanlık, parlama/alevlenme noktası ve yoğunluk özelliklerine göre EN 14214 ve ASTM D 6751 standartlarını karşıladığını ifade ettiler. Bununla birlikte iyot değerleri oldukça yüksekti. Oksidasyon kararlılığı da her iki standardı karşılamakta yetersiz kaldı. Bunun nedeninin yüksek düzeydeki (91.05%) doymamış yağ asitleri olduğunu belirttiler. Bütün karışımlar Eurodizelle kıyasladıklarında BP, tork, HC ve CO'daki azalmaya BSFC, NOx emisyonları ve EGT'de yükselme eşlik ettiği gözlediler. Genel olarak bütün karışımların biyodizel-dizel karışımlarına karşı iyi bir alternatif olarak ortaya çıktığını tespit ettiler. Araştırmacılar çalışmalarının sonuçlarının biyodizelin dizel ve bütanaol ile üçlü karışımlarını (%20'ye kadar) sıkıştırmalı ateşleme yapan motorlarda yakıt olarak kullanılabileceğini desteklediğini ve karışımların yanma özelliklerinin daha ileri düzeyde araştırılması gerektiğini ifade ettiler (Al-Samaraae ve ark. 2017).

### 3. MATERYAL YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitki materyali

Bu çalışmada Türkiye'nin Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişen *Carthamus L.* cinsinin farklı türlerine ait popülasyonlarda genetik çeşitliliğin moleküler karakterizasyonu ISSR yöntemi kullanılarak yapıldı. Bitki materyali Harran Üniversitesi'nden Yrd. Doç. Dr. Mustafa Arslan tarafından 2014 yılında Diyarbakır, Gaziantep ve Şanlıurfa illerinden toplandı ve teşhis edildi. Toplamda 10 popülasyon olmak üzere her popülasyondan 10 örnek olacak şekilde 100 adet bitki örneği toplandı. Popülasyonlar kullanım kolaylığı açısından alfabetik dizine göre kodlandı ve bundan sonraki içerik boyunca bu kodlar kullanıldı. Bitki örneklerinin toplandığı illerin Türkiye haritası üzerinde gösterimi Harita 3.1'de verildi.



**Harita 3.1.** Bitki örneklerinin toplandığı illerin Türkiye haritası üzerinde gösterimi

Bu çalışmada kullanılan *Carthamus L.* popülasyonlarına ait bitkilerin herbaryumda saklanan örneklerinin görüntüleri EK- 4' de verildi. Bitki örnekleri Doç Dr. Özlem ÖZBEK tarafından fotoğraflandı.

Çalışmada kullanılan bitki materyaline ait detaylı bilgiler Çizelge 3.1'de verildi.

**Çizelge 3.1.** *Carthamus* L. türlerine ait popülasyonların genel bilgileri (SN: Sıra Numarası, PK: Popülasyon Kodu, KS: Kromozom Sayısı, N: Örnek Sayısı, Y: Yükseklik, HN: Herbarium Numarası)

SN	PK	Tür Adı	Toplandığı Yer	KS	N	Y (m)	HN
1	A	<i>Carthamus persicus</i>	Şanlıurfa Karaköprü- Karahaydar arası	2n = 24	11	550	4030
2	B	<i>Cartamus tenuis</i>	Şanlıurfa Merkez Osmanbey Kampüs	2n = 20	10	500	4031
3	C	<i>Carthamus glaucus</i>	Şanlıurfa Bozova Kızlar Köyü	2n = 20	11	600	4028
4	D	<i>Carthamus persicus</i>	Gaziantep Nizip arası 10. km	2n = 24	10	550	4027
5	E	<i>Carthamus persicus</i>	Şanlıurfa Merkez Dağeteği Köyü	2n = 44	11	500	4029
6	F	<i>Carthamus dentatus</i>	Şanlıurfa Merkez Osmanbey Kampüs	2n = 20	11	500	4026
7	G	<i>Carthamus dentatus</i> Vahl.	Diyarbakır Ergani Bahçekapı	2n = 20	12	950	4032
8	H	<i>Carthamus tinctorious</i> (Remzi bey-05 dikenli)	Şanlıurfa Birecik Mezra Köyü civarı	2n = 24	11	400	4034
9	I	<i>Carthamus tinctorious</i> L. Dinçer (dikensiz)	Şanlıurfa Birecik Mezra Köyü civarı	2n = 24	11	400	4035
10	J	<i>Carthamus tinctorius</i> (dikenli)	Diyarbakır Ergani Boğazköyü civarı	2n = 24	11	950	4033

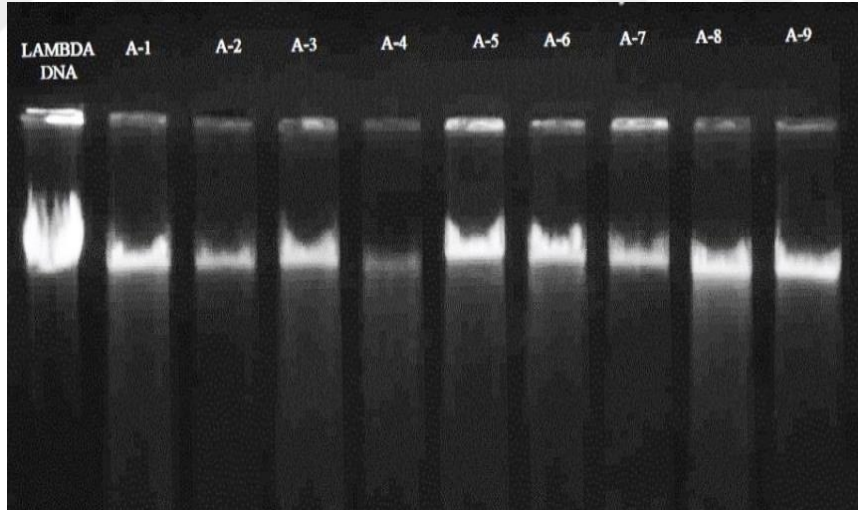
## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1. DNA izolasyonu

*Carthamus* L. cinsinin farklı türlerine ait popülasyonlardan seçilen bireylerin tohumları petri kaplarında çimlendirildikten sonra içinde torf bulunan plastik kaplara ekildi. Bitkiler 1–1,5 aylık olduğunda (Resim 3.1) genç bitki yaprakları kesilerek sıvı azotta dondurulduktan sonra, bitki genomik DNA'ları Kidwell ve Osborn (1992)'e göre izole edildi (EK-1). İzole edilen DNA'lar konsantrasyonu moleküler ağırlığı bilinen  $\lambda$  DNA (250 ng/ $\mu$ L) ile birlikte %0,6'lık agaroz jellere yüklendikten sonra elektroforez işlemi 50 mA ve 100 V elektrik akımı uygulanarak yürütüldü. Jellerin görüntüleri GEN-BOX SDR (bio-imaging system) görüntüleme sisteminde UV ışığı kullanılarak görüntülendi ve fotoğrafları çekildi. Genomik DNA konsantrasyonları  $\lambda$  DNA (250 ng/ $\mu$ L)'ya göre bu fotoğraflar üzerinde belirlendi (Şekil 3.1).



**Resim 3.1.** Plastik kaplarda yetiştirilmiş *Carthamus L.* cinsinin farklı türlerine ait popülasyonların 1-1,5 aylık görüntüleri



**Şekil 3.1.** Şanlıurfa Karaköprü- Karahaydar arasından toplanan *Carthamus persicus* popülasyonunun bireylerine ait DNA jel elektroforezi görüntüleri

### 3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) (Polymerase Chain Reaction, PCR)

#### PCR reaksiyonlarının hazırlanması

Bu çalışmada Wolfe ve ark. (1998)'nin ISSR-PCR protokolünün PCR koşulları bu çalışmada kullanılan malzemelere ve laboratuvar koşullarına uygun şekilde modifiye



edildi. Bir PCR reaksiyonu için 20 $\mu$ l'lik reaksiyon hacmi olmak üzere bir PCR döngüsünde kullanılan örnek sayısına göre master mix hazırlandı.

### Primerler

*Carthamus* L. cinsinin farklı türlerine ait popülasyonlarda genetik çeşitliliğin moleküler karakterizasyonu için 20 adet UBC (University of British Columbia) ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) moleküler işaretleyici kullanıldı. Primerlerin dizi bilgileri ve listesi Çizelge 3.2'de verildi.

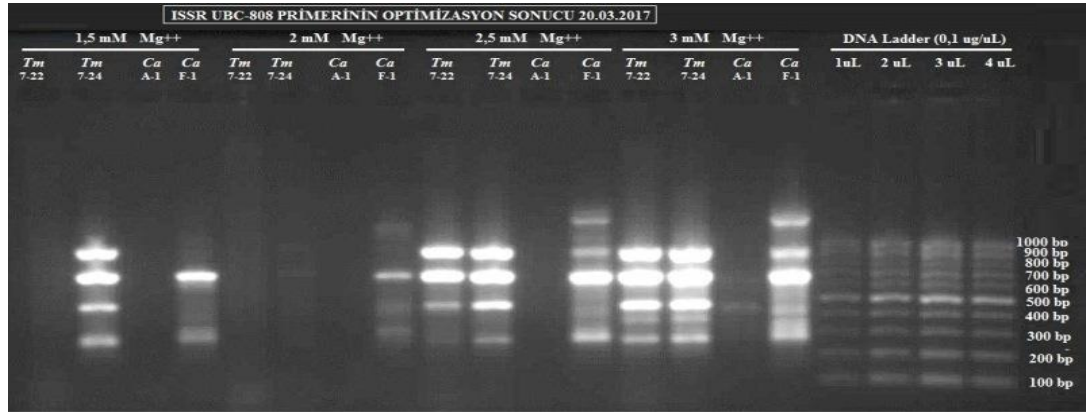
PCR optimizasyon çalışmaları için her popülasyondan rastgele seçilmiş bir örnek alınarak toplam 10 örnekten oluşan bir örnek grubu oluşturuldu. Bu örnek grubu ile 20 primer için optimum PCR koşulları belirlendi. Optimizasyon işlemlerinden sonra 12 primerin polimorfik ve skorlanabilir sonuç ürettiği tespit edildi (Şekil 3.2) ve bu 12 primer 10 *Carthamus* L. popülasyonuna uygulandı. PCR optimizasyon çalışmalarında, UBC-808 primeri için belirlenen optimum PCR reaksiyon koşullarını gösteren bir örnek aşağıda verildi.

**Çizelge 3.2.** Çalışmada kullanılan UBC primerlerin dizi bilgileri

SN	PN	PRİMER DİZİSİ (5'→3')	SN	PN	PRİMER DİZİSİ (5'→3')
1	UBC 808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	11	UBC 843	CTC TCT CTC TCT CTC TRA
2	UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	12	UBC 846	CAC ACA CAC ACA CAC ART
3	UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	13	UBC 853	TCT CTC TCT CTC TCT CRT
4	UBC 817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	14	UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT
5	UBC 818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	15	UBC 858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT
6	UBC 826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	16	UBC 872	GAT AGA TAG ATA GAT A
7	UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	17	UBC 873	GAC AGA CAG ACA GAC A
8	UBC 829	TGT GTG TGT GTG TGT GC	18	UBC 878	GGA TGG ATG GAT GGA T
9	UBC 835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	19	UBC 880	GGA GAG GAG AGG AGA
10	UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	20	UBC 881	GGG TGG GGT GGG GTG

**Çizelge 3.3.** Çalışmada kullanılan master mix içeriği

Reaksiyon bileşenleri	1 Reak.
1. 10x Taq DNA polimeraz buffer (Na <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ) (Fermantas)	2 µL
2. 3 mM MgCl <sub>2</sub> (25 mM) (Fermantas)	2,4 µL
3. 0,2 mM dNTPs (Fermantas)	0,4 µL
4. 0,4 µM primer (UBC)	0,8 µL
5. 0,2 U Taq (5U/µL) (Fermantas)	0,2 µL
6. DNA (10-50 ng/ µL)	1 µL
7. H <sub>2</sub> O	13,2 µL
Toplam	20 µL

**Şekil 3.2.** Primer UBC-808 (T<sub>m</sub> = 55 °C)'in PCR optimizasyon çalışmalarında elde edilen jel elektroforez görüntüsü

PCR analizleri Thermo Electron Thermalcycler marka bir cihazla gerçekleştirildi. ISSR-PCR analizi işlemlerinde kullanılan termal program her bir primer için ayrı ayrı belirlendi. Kullanılan termal programlardan bir örnek aşağıda verildi.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	Döngü
1. Başlangıç denatürasyonu	94	1,5	1
2. Denatürasyon	94	40	
3. Primer bağlanma (annealing)	T <sub>m</sub>	55	35
4. Sentez (extention)	72	1,5	
5. Son uzama (final extention)	72	5	1
6. Saklama	+6	∞	

Çoğaltılan PCR ürünleri 100 bp'lik moleküler size marker (Fermantas) ile birlikte %1,3'lük agaroz jellerde, 100 V ve 50 mA'lik akım uygulanan elektroforez koşullarında yürütüldü. Elektroforez işleminden sonra yürütülen örneklerin

görüntüleri GEN-BOX SDR bio-imaging system ile UV ışığı altında görüntülendi ve fotoğrafları çekildi. PCR sonucu üretilen bantların değerlendirilmesi fotoğraflar üzerinden Total Lab Image Quant yazılım programı kullanılarak yapıldı.

### ISSR Analizi

Türkiye’de daha çok Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yetişen *Carthamus tinctorius* L. cinsine ait toplanan 10 popülasyonun genetik çeşitlilik düzeylerini ve popülasyonların genetik yapılarını belirlemek üzere ISSR-PCR (Zietkiewicz ve ark., 1994) yöntemi kullanıldı. Bu yöntem için 12 adet UBC primeri kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan primerler ise sırasıyla; UBC 808, UBC 810, UBC 811, UBC 817, UBC 818, UBC 826, UBC 827, UBC 829, UBC 836, UBC 842, UBC 853, UBC 858 numaralı primerlerdir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı ve işlem basamaklarının detayları anlatım bütünlüğünün bozulmaması ve okuyucuların dikkatinin dağılmaması için EK’lerde verildi.

### **3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi**

ISSR dominant kalıtım gösteren bir DNA işaretleyicisidir. *Carthamus* L. diploit bir bitki olduğundan bu çalışmada skorlama ile elde edilen ISSR ham veriler diploit ve dominant olarak kabul edildi. Bant patternlerinin skorlanması DNR (bio-imaging system) görüntüleme sistemi ile çekilen fotoğraflar üzerinden yapıldı. Buna göre her bir bireyin bant modeli moleküler size marker’ın moleküler ağırlıkları bilinen bantları ile kıyaslanarak göreceli olarak moleküler ağırlıkları ve bant sayıları belirlendi. PCR sonucu üretilen bantların değerlendirilmesi yapılırken bir primerin ürettiği her farklı bant bir lokus olarak kabul edildi. Bu şekilde belirlenen ISSR lokusları iki alelli kabul edildi. Lokusta bant gözlendiğinde (1) gözlenmediği zaman (0) olarak skorlandı. Tüm jellerin bu şekilde ham verileri elde edilmiş oldu. Ham veriler genetik ile ilgili istatistik analizleri yapmak için kullanılan POPGENE dosya formatına dönüştürüldü.

Popülasyon genetiği ve genetik çeşitlilik analizi için elde edilen veriler POPGENE sürüm 1.32 yazılımı kullanılmak suretiyle analiz işlemi yapıldı (Yeh ve ark., 1997). Analiz işleminde popülasyonların kendi içinde ve popülasyonlar arası genetik

çeşitliliği değerlendirilirken ilgili parametreler kullanıldı. Bu çalışmada Nei (1973)'nin  $G$  istatistiği popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği ( $H_e$ ) hesaplamak için kullanıldı.

Mevcut çalışmada popülasyonların bütün lokuslara ait ortalama alel sayısı ( $n_a$ ) ve ortalama etkili alel sayısı ( $n_{ea}$ ) hesaplama işlemi yapıldı. Eşit sıklıkta görülen alel sayısı etkili alel sayısı olarak ifade edilir ve genetik çeşitliliği hesaplama amacıyla kullanılır. Popülasyonları karşılaştırmada etkili alel sayısı gayet önem taşır. Bu alellerin sayısına, dağılımına önemli ölçüde farklılaşmaya göre belirlenir (Hart ve Clark, 1989).

Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ortak olarak paylaştıkları alel sayısı ile ters orantılıdır. Popülasyonların genetik yapılarının tespitiyle evrimsel biyoloji, bitki ıslahı, koruma, vb. alanların ilgilendiği ve sonuçlarından faydalandığı bilinmektedir. Popülasyon genetik yapısının araştırılmasında birçok çalışmada kullanılan  $F_{ST}$  (Wright, 1943, 1965) yöntemi idi. Wright  $F$  istatistiklerini (inbreeding coefficient) kendileşme katsayısı olarak kullandı ve birleşen iki gamet arasındaki korelasyon olarak tanımlamaktaydı. Wright her bir lokusu iki alelli kabul etti.  $F_{ST}$ 'yi hesaplamayı da iki alelli lokuslar üzerine kurdu. Ancak günümüzdeki DNA moleküler işretleyicileri yöntemleri çok alelli olduğundan bu yöntem tercih edilmiyor. Onun yerine Nei (1987)'nin geliştirdiği  $G_{ST}$ , Cockerham (1984)  $\theta_p$  veya Jost  $D$  (2008) kullanılmaktadır.

Nei (1987)'nin  $G_{ST}$  hesaplaması Wright'in çalışmasının doğrudan açılımı şeklindedir ve beklenen genetik çeşitlilik (expected heterozygosity) değerinin popülasyon içi ve popülasyonlar arasında karşılaştırılması esasına dayanır. Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düzeyini belirlemek için Nei'nin  $G$  istatistiği ( $G_{ST}$ ), kullanılmıştır.

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T = D_{ST} / H_{ST}$$

Popülasyonların gen havuzları arasında gen transferinin meydana gelmesi olayına gen akışı denir. Gen akışı genellikle polen transferi, tohum transferi vb. yöntemlerle veya bireylerin göç etmesiyle gerçekleşebilir. Gen akışı popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı ölçen  $G_{ST}$  veya  $F_{ST}$  değerlerine göre hesaplanır. Bu çalışmada

popülasyonlar arasındaki gen akışı ( $N_m$ ) değeri,  $G_{ST}$ 'den aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Burada  $N$ , etkili popülasyon büyüklüğünü ve  $m$  değeri popülasyondaki göç eden bireylerin oranını temsil etmektedir.

$$N_m = 0,5 (1-G_{ST})/G_{ST}$$

Popülasyonlarda ISSR analizi için kullanılan 12 primerin ürettiği lokusların popülasyon düzeyinde ve tüm popülasyonların tamamında gösterdiği polimorfizm oranları elle hesaplandı. ISSR lokuslarının popülasyon içinde ( $H_s$ ) ve popülasyonlar tümünde ( $H_T$ ) gösterdikleri genetik çeşitlilik değerleri de POPGENE ile bulundu.

Bütün istatistiksel analizler Doç. Dr. Özlem Özbek tarafından yapıldı.

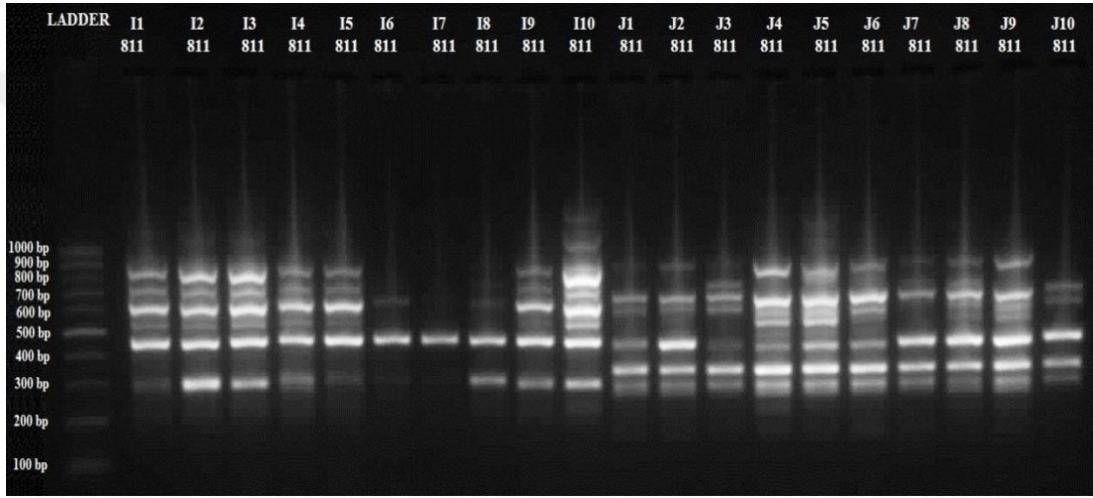


## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

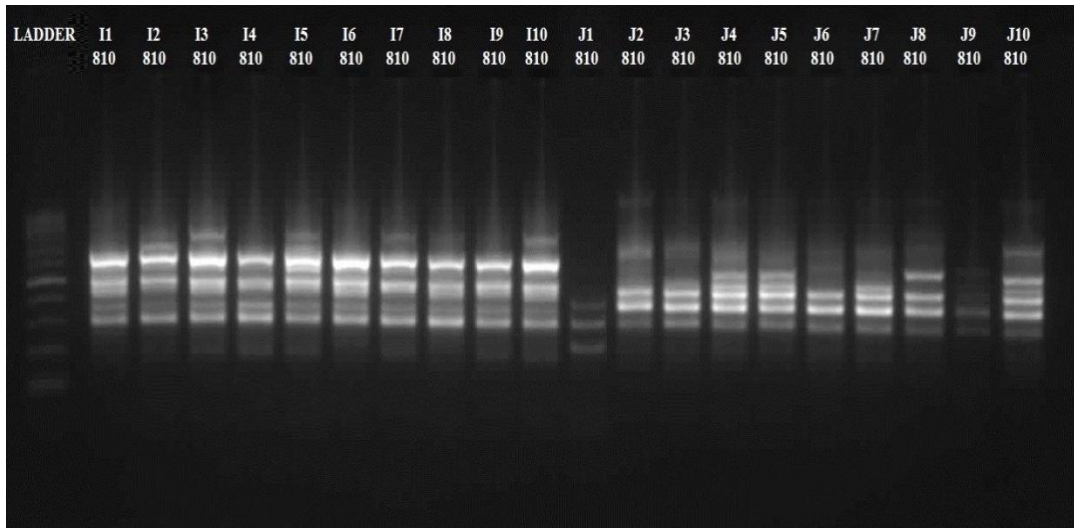
### 4.1. Populasyon Düzeyinde İstatistiksel Analizler

#### 4.1.1. Genetik çeşitlilik analizleri

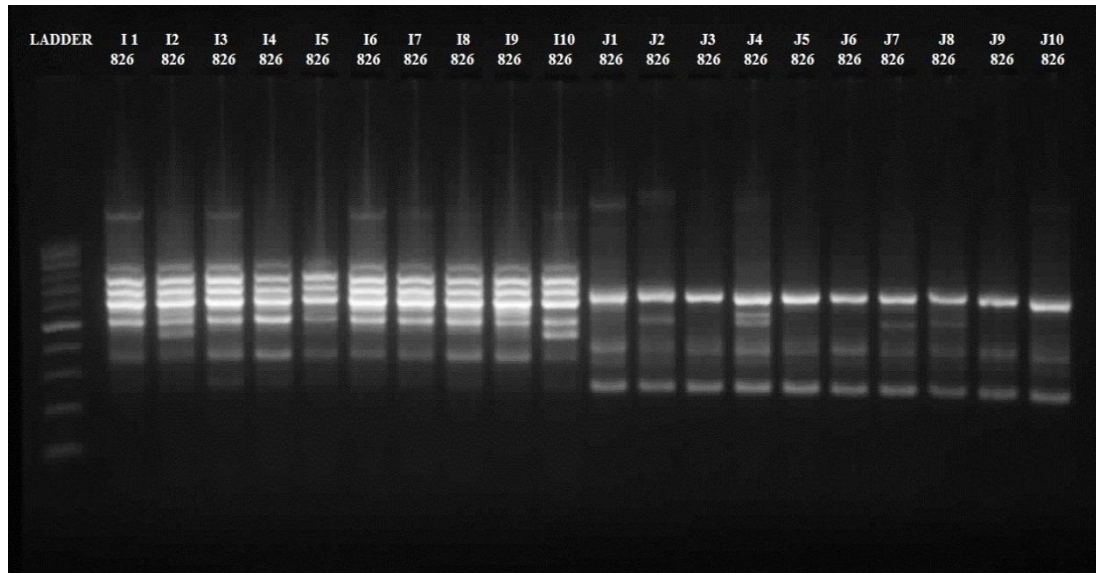
Bu çalışmada 10 *Carthamus* L. populasyonunda genetik çeşitlilik 12 ISSR primeri kullanılarak ISSR-PCR yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen sonuçları gösteren elektroforez görüntülerinden üç örnek aşağıda verildi (Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).



Şekil 4.1. Primer UBC-811'in I ve J populasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.2. Primer UBC-810'un I ve J populasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü



**Şekil 4.3.** Primer UBC-826'nın I ve J popülasyonuna ait ISSR PCR agaroz jel görüntüsü

ISSR primerleri toplam 287 polimorfik lokus üretti. Popülasyonlara göre toplam polimorfik lokus sayısı ve polimorfik lokus yüzdesi (% P) Çizelge 4.1'de verildi. Buna göre en yüksek polimorfik lokus sayısı ve yüzdesi sırasıyla 201 ve %70,03 olarak A popülasyonunda tespit edilirken, en düşük polimorfik lokus sayısı ve yüzdesi ise sırasıyla 122 ve % 42,3751 olarak J popülasyonunda tespit edildi.

**Çizelge 4.1.** Popülasyonlardaki polimorfik lokus sayısı ve yüzdesi (TLS:Toplam lokus sayısı, PLS: Polimorfik lokus sayısı, PLS%: Polimorfik lokus yüzdesi)

SN	PK	TLS	PLS	PLS%
1	A	287	<b>201</b>	<b>70,03</b>
2	B	287	173	60,28
3	C	287	182	63,41
4	D	287	195	67,94
5	E	287	159	55,40
6	F	287	122	42,51
7	G	287	147	51,22
8	H	287	126	43,90
9	I	287	129	44,95
10	J	287	<b>122</b>	<b>42,51</b>
		287	<b>283</b>	<b>98,61</b>

Büyük bir popülasyonda bir lokusta bulunan bir alelin frekansı aynı lokusta bulunan diğer tüm alellere göre (%) oranını ifade eder. Bir lokusta bulunan alellerin frekansı incelenen tüm popülasyonlarda bulunma oranlarına göre hesaplanmaktadır. Çalışmada kullanılan 12 ISSR primeri toplam 287 polimorfik (%100) lokus üretti (Çizelge E5.1). Alellerin polimorfik olarak kabul edilmesi için %99 sınırı ölçütü uygulandı. Frekansı %99 ve üzerinde olan aleller monomorfik, %99'un altında olan aleller ise polimorfik olarak kabul edildi.

Buna göre teorik olarak polimorfik görünen UBC-810-21, UBC-811-1, UBC-818-3, UBC-818-5, UBC-818-27, UBC-826-1, UBC-835-12, UBC-842-1, UBC-842-2, UBC-842-3, UBC-842-4, UBC-853-2, UBC-853-3, UBC-853-6, UBC-853-8, UBC-858-2 ve UBC-858-27 lokuslarında bir alelin frekansı 0,99'un üzerinde gözleendiğinden monomorfik olarak değerlendirildi. Bu lokuslar değerlendirme dışı bırakılmasına rağmen toplam polimorfik lokus yüzdesinin %94,08 olarak oldukça yüksek düzeyde olduğu gözleendi.

Lokus düzeyindeki genetik çeşitlilik verilerine göre toplam genetik çeşitlilik  $H_T = 0,2161$ , popülasyon içi genetik çeşitlilik  $H_s = 0,1490$ , popülasyonlar arası genetik farklılaşma  $G_{ST} = 0,3106$  ve gen akışı  $N_m = 1,1096$  olarak tespit edildi (Çizelge E6.1). En yüksek genetik çeşitlilik değeri  $H_T = 0,4985$  UBC-817-18 lokusunda gözlenirken, en düşük genetik çeşitlilik değeri  $H_T = 0,000$  UBC-829-24, UBC-842-1, UBC-842-2 ve UBC-858-2 lokuslarında gözleendi. Yine lokuslara göre popülasyon içi genetik çeşitlilik incelendiğinde, UBC-826-16 lokusu en yüksek genetik çeşitlilik değerini  $H_s = 0,3743$  gösterirken, UBC-829-24, UBC-842-1, UBC-842-2 ve UBC-858-2 lokusları en düşük popülasyon içi genetik çeşitlilik değerini  $H_s = 0,000$  gösterdi. Bununla birlikte, lokuslara göre popülasyonlar arası genetik farklılaşma düzeyine bakıldığında, en yüksek genetik farklılaşma UBC-808-14 lokusunda  $G_{ST} = 0,8575$  olarak gözlenirken, en düşük genetik farklılaşma UBC-842-6 lokusunda  $G_{ST} = 0,0365$  olarak gözleendi. Ayrıca lokuslara göre gen akışı incelendiğinde en yüksek gen akışı değeri  $N_m = 13,2049$  UBC-842-6 lokusunda tespit edilirken, en düşük gen akışı değeri  $N_m = 0,0831$  UBC-808-14 lokusunda tespit edildi. Wright (1978)'in kriterlerine göre *Carthamus L.* popülasyonları arasında  $G_{ST} = 0,3106$  değeri ile önemli derecede farklılaşma olduğu gözleendi.



Popülasyon düzeyinde genetik varyasyon ortalama değerlere göre belirlendi. Buna göre en yüksek ortalama alel sayısı ( $n_a = 1,7003$ ) A popülasyonunda, en yüksek etkili alel sayısı ( $n_{ea} = 1,2936$ ) D popülasyonunda ve en yüksek genetik çeşitlilik ( $H_e = 0,1870$ ) değeri D popülasyonunda tespit edildi. En düşük ortalama alel sayısı ( $n_a = 1,4251$ ) J popülasyonunda, en düşük etkili alel sayısı ( $n_{ea} = 1,1718$ ) F popülasyonunda ve en düşük genetik çeşitliliğin ( $H_e = 0,1078$ ) F popülasyonunda tespit edildi (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4. 2.** Popülasyon düzeyinde genetik çeşitlilik verileri ( $n_a$ : alel sayısı,  $n_{ea}$ : etkili alel sayısı,  $h$ : genetik çeşitlilik)

Pop ID	PK	N	$n_a^*$	$n_{ea}^*$	$h^*$
1	A	10	<b>1,7003</b>	1,2853	0,1832
2	B	10	1,6028	1,2904	0,1788
3	C	10	1,6341	1,2806	0,1761
4	D	10	1,6794	<b>1,2936</b>	<b>0,1870</b>
5	E	10	1,5540	1,2314	0,1492
6	F	10	1,4251	<b>1,1718</b>	<b>0,1078</b>
7	G	10	1,5122	1,2192	0,1378
8	H	10	1,4390	1,1750	0,1117
9	I	10	1,4495	1,2255	0,1369
10	J	10	<b>1,4251</b>	1,1956	0,1217

Genetik uzaklık ifadesi bir türe ait popülasyonların arasında veya her bir popülasyondaki bireyler arasındaki genetik uzaklaşmayı (ıraksamayı) ifade eder. Çeşitli parametreler kullanılarak hesaplanır. Genetik uzaklık değerinin küçük olması yakın genetik ilişkiyi ifade eder. Büyük olması ise genetik olarak uzak olmasını ifade eder. Genetik uzaklık farklı türler arasında genetik benzerliklerin olup olmadığını karşılaştırmada kullanılabilir.

Genetik uzaklık hesaplamada biyolojik olmayan ve biyolojik olan olmak üzere iki farklı yol kullanılabilir. Biyolojik olmayan yöntemlerde kullanılan faktör biyolojik değildir. Bu yüzden geometrik özellik olarak bilinmektedir. Biyolojik olan yöntemde ise Reynolds ve Nei'nin yöntemleri kullanılmaktadır. Reynold's uzaklığı veya

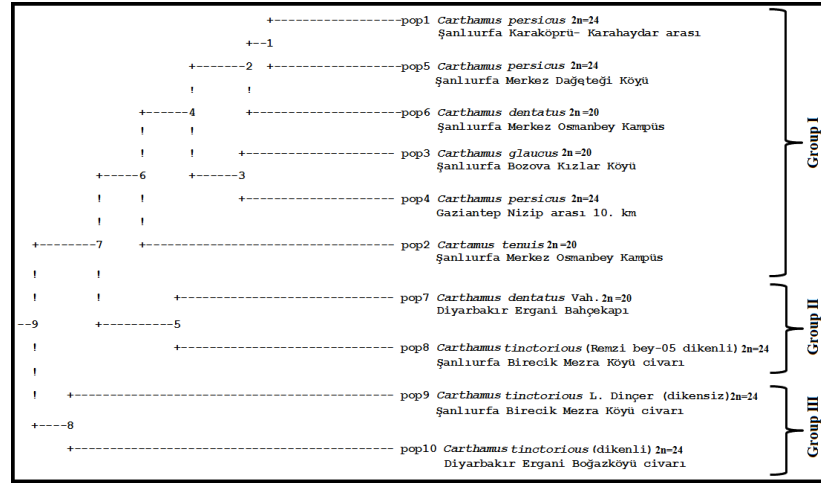
“coancestry” distance (Reynolds ve ark., 1983; Weir, 1996) ve Nei'nin uzaklığı'dır (Nei, 1972, 1978).

Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık ( $D$ ), Nei (1972)'nin Standart genetik uzaklık hesaplama yöntemine göre hesaplandı. Buna göre 10 popülasyon arasında yapılan genetik uzaklık analizinde, en düşük genetik uzaklık  $D= 0,0459$  değeri ile E ve F popülasyonları arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık  $D = 0,1444$  değeri ile H ve J popülasyonları arasında bulundu (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3.** Analiz edilen *Carthamus L.* popülasyonları arasındaki genetik uzaklık ( $D$ ) değerleri (Nei, 1972) (PopGen 1.32'ye göre)

Pop ID	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
A	****									
B	0,0575	****								
C	0,0697	0,0891	****							
D	0,0613	0,0979	0,0567	****						
E	0,0478	0,0809	0,0640	0,0573	****					
F	0,0578	0,0963	0,0907	0,0753	<b>0,0459</b>	****				
G	0,0797	0,1079	0,1041	0,0932	0,0743	0,0791	****			
H	0,0878	0,1234	0,1055	0,0965	0,0655	0,1016	0,0703	****		
I	0,0815	0,1277	0,1256	0,1186	0,0988	0,1223	0,1237	0,1333	****	
J	0,0859	0,0987	0,1100	0,1078	0,0934	0,0995	0,1082	<b>0,1444</b>	0,1015	****

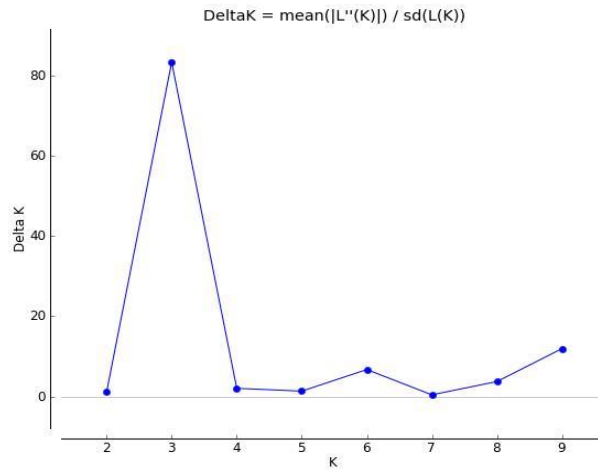
Nei'nin (1972) genetik uzaklık hesabına göre UPGMA yöntemi ile popülasyonların kümelenme analizi yapıldı ve elde edilen dendrogramda popülasyonların genetik uzaklıklarına göre kümelendikleri gözlemlendi (Şekil 4.4). Dendrograma göre 10 popülasyon iki temel ana gruba ayrıldı. Bunlardan birinci temel ana grup iki alt gruba ayrılırken, diğer temel grupta alt kümelenme gözlenmedi. Popülasyon A, B, C, D, E ve F birinci temel grubun büyük alt kümesini oluştururken popülasyon G ve H küçük alt kümeyi oluşturdu. Popülasyon I ve J ikinci temel grubu oluşturdu.



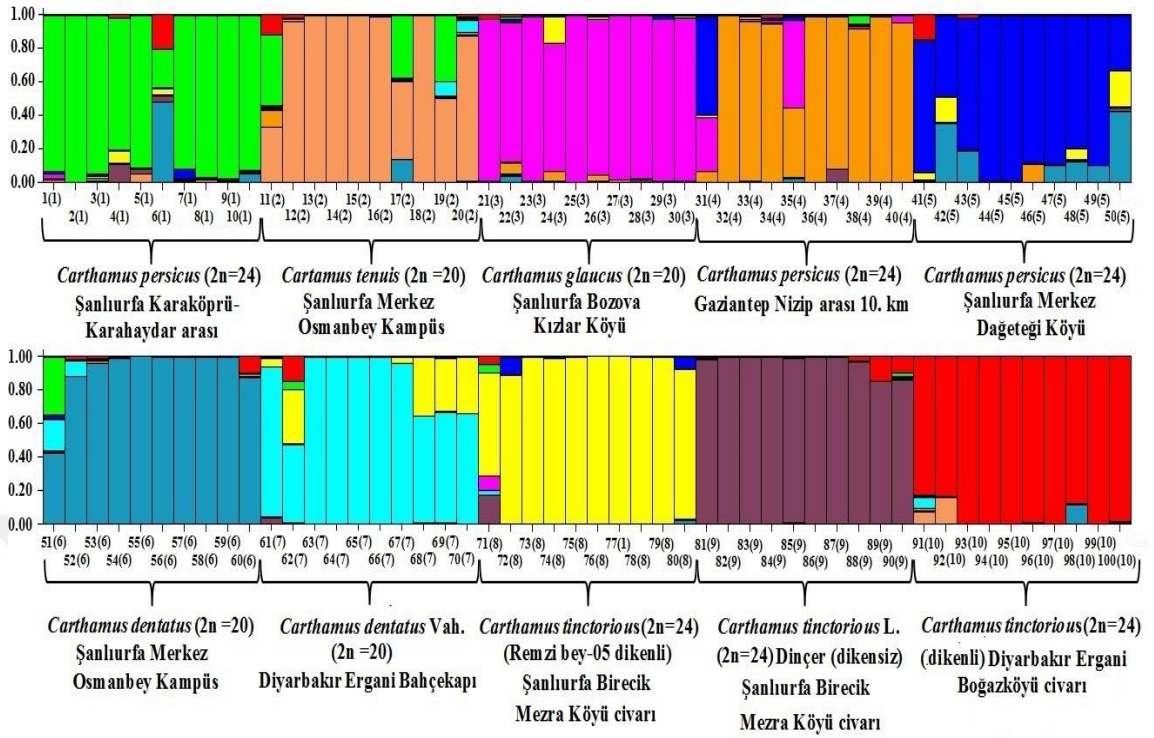
**Şekil 4.4.** Türkiye’de yetişen *Carthamus* L. popülasyonları arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendrogram (POPGENE genetik veri analizi programına göre)

#### STRUCTURE analizi

Alt popülasyonların sayısını belirlemek üzere STRUCTURE yazılımı için Evanno (2005) tarafından geliştirilen ikincil istatistikler optimal alt popülasyon sayısını  $K = 3$  olarak belirledi (Şekil 4.5 ). Ayrıca bu sayı Pritchard ve ark. (2000) tarafından geliştirilen *ad hoc* işlemine göre de doğrulandı. Buna göre analiz edilen bitki örnekleri (accessions) üç kümeye dağılmaktadır. Renkli bar grafiğini incelediğimizde popülasyonların homojen bir yapıya sahip oldukları çok az miktarda farklı popülasyonlardan da genetik materyal katkısı aldıkları görülmektedir (Şekil 4.6). Genel olarak popülasyonların hibrit bir yapıya sahip olmadıkları gözlemlendi.



**Şekil 4.5.** Alt popülasyonların sayısını belirlemek üzere STRUCTURE yazılımı için Evanno (2005) tarafından geliştirilen ikincil istatistikler



**Şekil 4.6.** 12 ISSR primeri analiz edilen *Carthamus* L türlerine ait popülasyonlarda Bayesian yöntemine dayalı popülasyon yapısını gösteren bar grafiği (K=3)

#### Pearson korelasyon analizi

Eko-coğrafik faktörlerin genetik veriler üzerine etkilerinin araştırılması için *Pearson* korelasyon analizi yapıldı. Bu analizde genetik veri olarak alel sayısı, etkili alel sayısı ve genetik çeşitlilik verileri kullanılırken, eko-coğrafik faktörler olarak sıcaklık (2013 ve 2014 yılı verileri), yağış (2013 ve 2014 yılı verileri), rüzgar (2013 ve 2014 yılı verileri), nem (2013 ve 2014 yılı verileri), yükseklik (2013 ve 2014 yılı verileri), enlem (2013 ve 2014 yılı verileri) ve boylam (2013 ve 2014 yılı verileri) değerleri kullanıldı. Pearson korelasyon analizi sonuçlarına göre genetik veriler ile eko-coğrafik faktörler arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi (EK-7).

#### Regresyon analizi

2013 ve 2014 yıllarına ait eko-coğrafik değişkenler olarak sıcaklık, yağış, rüzgar, nem, yükseklik, enlem ve boylamın genetik veriler üzerine olan etkisi regresyon analizi ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre eko-coğrafik faktörlerin etkisi birlikte ele alındığında  $n_a$ ,  $n_{ea}$  ve  $h_e$  üzerine etki değerleri sırasıyla %85, %59 ve %66

olarak tespit edildi (Çizelge 4.4). Enlem, boylam, yükseklik, 2013 yılı rüzgar ve sıcaklık değerleri ile 2014 yılı nem oranlarının genetik veriler üzerinde etkili oldukları gözlemlendi. Coğrafik faktörler olarak enlem, boylam ve yükseklik genetik veriler üzerinde etkili olabilmektedir. Çünkü coğrafik koşullara göre ekolojik çevrede değişiklik göstermekte bu da bitkilerin toprakta çimlenmesi, büyümesi ve gelişmesi için gerekli olan koşullardan örneğin su, ışık, sıcaklık ve nem vb.'de çeşitliliğe neden olmaktadır. Bu da genetik verilerdeki varyasyonlarla sonuçlanmaktadır. Rüzgarın etkisi öncelikle tozlaşmayı etkinleştirilmesi açısından önemlidir. Bu durum farklı polenlerin daha uzaklara taşınmasına neden olabilir ve varyasyonu etkileyebilir. Ayrıca rüzgarın etkisi her zaman olumlu yönde olmayabilir. Örneğin şiddetli rüzgar otsu bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkileyebilir, sonuç olarak da varyasyonda azalmaya bile neden olabilir. Bitki materyali 2014 yılında toplandı. Ancak 2013 yılındaki rüzgar ve sıcaklığın 2014 yılı bitki materyalinde ki genetik veriler üzerinde etkili olması bir önceki sezonda çok sayıda bitki ve tohumun gelişmesini ve bunların da 2014 yılı için gen kaynağı oluşturduğu şeklinde yorumlanabilir. 2014 yılında ise nemin etkili olması buharlaşma (transpirasyon) ile su kaybının azalması büyüme ve gelişme için gerekli suyun verimli şekilde kullanılmasını sağladığından büyüme ve gelişmesini tamamlayıp hayatta kalan bitki sayısının fazla olması da genetik verilerde ki varyasyonu pozitif yönde etkileyebilir.

**Çizelge 4.4.** Eko-coğrafik faktörlerin genetik varyasyon üzerindeki etkilerinin regresyon analizi ile gösterilmesi (2013 ve 2014 verilerine göre)

BD	R	R <sup>2</sup>	BZD
$n_a$	0,92	0,85	Enlem, Boylam, Yükseklik, 2013-Rüzgar, 2013- Sıcaklık, 2014-Nem
$n_{ca}$	0,59	0,59	Enlem, Boylam, Yükseklik, 2013-Rüzgar, 2013-Sıcaklık, 2014-Nem
$h$	0,81	0,66	Enlem, Boylam, Yükseklik, 2013-Rüzgar, 2013- Sıcaklık, 2014-Nem

BD: Bağımlı değişken      BZD: Bağımsız değişken      R: Regresyon katsayısı

#### Temel Bileşenler Analizi (TBA)

Genetik çeşitliliğin uzaysal dağılımını tespit etmek için Temel Bileşenler Analizi (TBA), (Principal Component Analysis PCA) yapıldı. 2013 ve 2014 verileri kullanılarak, TBA sonucunda eigen değeri “1” ve üzerinde olan üç temel bileşen elde

edildi. Bu temel bileşenlerden birincisi yükseklik, boylam, enlem, 2014-sıcaklık, 2014-yağış, 2014-rüzgar, 2014-nem, 2013-sıcaklık, 2013-yağış değişkenlerinden oluşurken (Çizelge 4.5a ) genetik çeşitliliğe katkısının % 50,46 olduğu tespit edildi. Temel bileşenlerden ikincisi  $n_a$ ,  $n_{ea}$ ,  $h_e$  ve 2013-rüzgar değişkenlerinden oluşurken genetik çeşitliliğe katkısının katkısının % 25 olduğu belirlendi (Çizelge 4.5b). Üçüncü temel bileşenin  $n_a$ ,  $n_{ea}$ ,  $h_e$ , boylam, 2014-nem, 2013-sıcaklık, 2013-yağış ve 2013-nem değişkenlerinden oluştuğu, etkisinin %19,74 olduğu hesaplandı. Bu sonuçlara göre genetik çeşitliliğe olan en büyük etkinin birinci temel bileşenin oluşturduğu %50,46 oranındaki eko-coğrafik faktörlerin önemli bir kısmının etkisi sebebiyle olduğu temel bileşenler analizi ile de açıklanmış oldu.

**Çizelge 4.5a.** Temel bileşenler analizine (Principal Component Analysis PCA) (2013 ve 2014 verilerine) göre temel bileşenlerin Eigen değerleri

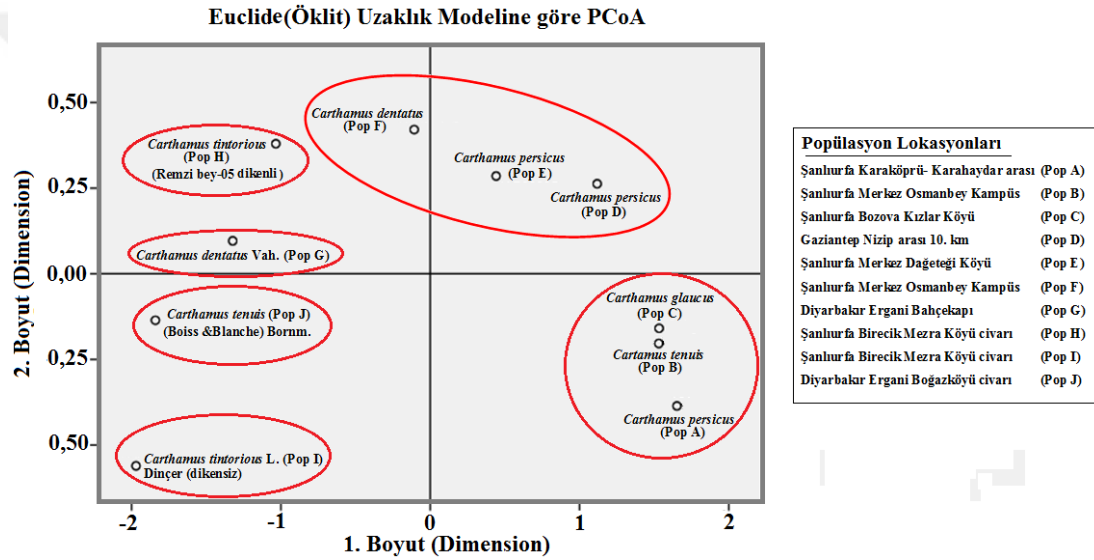
Bileşen	Eigen değerleri		
	Toplam	Toplam Varyans (%)	Katlanmış Varyans (%)
1	7,065	50,463	50,463
2	3,501	25,009	75,472
3	2,764	19,745	95,216

**Çizelge 4.5b.** Temel bileşenler analizine (Principal Component Analysis PCA) (2013 ve 2014 verilerine) göre genetik ve eko-coğrafik etkenlerin temel bileşenlere katkıları

	Bileşenler		
	1	2	3
$n_a$	-0,330	<b>0,790</b>	<b>0,469</b>
$n_{ea}$	-0,320	<b>0,809</b>	<b>0,418</b>
$h_e$	-0,325	<b>0,818</b>	<b>0,432</b>
Yukseklık	<b>0,953</b>	0,283	-0,071
Boylam	<b>0,771</b>	-0,196	<b>-0,460</b>
Enlem	<b>0,938</b>	-0,078	0,337
2014-Sıcaklık	<b>-0,893</b>	-0,249	0,355
2014-Yağış	<b>0,909</b>	0,139	0,332
2014-Rüzgar	<b>0,666</b>	<b>0,632</b>	-0,293
2014-Nem	<b>-0,701</b>	0,311	<b>-0,640</b>
2013-Sıcaklık	<b>-0,788</b>	-0,259	<b>0,475</b>
2013-Yağış	<b>0,846</b>	-0,265	<b>0,456</b>
2013-Rüzgar	0,485	0,773	-0,208
2013-Nem	-0,483	0,343	<b>-0,802</b>

### Temel koordinatlar analizi (TKA)

Akrabalık ilişkileri ve coğrafik dağılımları belirlemek üzere popülasyonlar arası benzemezlik (dissimilarity) değerleri matrisi SPSS (versiyon 22) ile oluşturuldu. Bu matris kullanılarak temel koordinatlar analizi (TKA) (Principal Coordinate Analysis PCoA) yapıldı. TKA sonucuna göre popülasyonların birbirlerine uzaklıklarına göre dağılımları Şekil 4.7’de verildi. TKA sonuçlarına göre popülasyonların dağılımı POPGEN analizleri sonucunda elde edilen kümeleme analizi sonuçları ile örtüşmektedir. Popülasyonların bağlı oldukları türlerden ziyade coğrafik olarak yakınlıklarına göre daha yakın dağılıma eğilimi gösterdiği görülmektedir.



**Şekil 4.7.** Popülasyonların birbirlerine uzaklıklarına göre temel koordinat analizleri ile dağılımlarının gösterimi

## 4.2. Tür Düzeyinde Yapılan İstatistiksel Analizler

### 4.2.1. Genetik çeşitlilik analizleri

Türlere göre genetik çeşitlilik verilerine bakıldığında ortalama en yüksek alel sayısı ( $n_a = 1,8990$ ) ve genetik çeşitlilik değeri ( $H_e = 0,1940$ ) *Carthamus persicus* türünde, en yüksek etkili alel sayısı ( $n_{ea} = 1,2904$ ) ise *Carthamus tenuis* türünde gözlemlendi (Çizelge 4.6). Ortalama en düşük alel sayısı ( $n_a = 1,6028$ ) *Carthamus tenuis* türünde görülürken, en düşük etkili alel sayısı ( $n_a = 1,2277$ ) ve genetik çeşitlilik değeri ( $H_e = 0,1507$ ) *Carthamus dentatus* türünde görüldü. Bireysel popülasyon bazında genetik çeşitlilik değerlerine bakıldığında en yüksek genetik çeşitlilik değeri Gaziantep Nizip

arası 10. km'den toplanan *Carthamus persicus*'a ait D popülasyonunda  $H_e = 0,1870$  olarak gözlenirken tür bazında bakıldığında üç popülasyon içeren *Carthamus persicus* türünün  $H_e = 0,2037$  değeri ile en yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu tespit edildi. Bireysel popülasyon baz alınarak genetik çeşitlik değerlerine bakıldığında en düşük genetik çeşitlilik değeri *Carthamus dentatus*'a ait F popülasyonunda ( $H_e = 0,1078$ ) görülürken tür bazında bakıldığında yine *Carthamus dentatus* türünün en düşük genetik çeşitlilik ( $H_e = 0,1492$ ) değerine sahip olduğu belirlendi. Tür bazında ve bireysel popülasyon bazında değerlendirildiğinde genetik çeşitlilik değeri tür bazında incelenen farklı popülasyon sayısı arttıkça daha yüksek gözlenme eğiliminde olduğu görüldü.

**Çizelge 4.6.** *Carthamus* L. türlerinde genetik çeşitlilik verileri ( $n_a$ : alel sayısı,  $n_{ea}$ : etkili alel sayısı,  $h_e$ : genetik çeşitlilik)

Tür adı	N	$n_a$	$n_{ea}$	$h_e$
<i>Carthamus persicus</i>	30	<b>1,8990</b>	1,2849	<b>0,1940</b>
<i>Carthamus dentatus</i>	20	1,7038	<b>1,2277</b>	<b>0,1507</b>
<i>Carthamus tinctorius</i>	30	1,7526	1,2649	0,1756
<i>Carthamus tenuis</i>	10	<b>1,6028</b>	<b>1,2904</b>	0,1788
<i>Carthamus glaucus</i>	10	1,6341	1,2806	0,1761
Genel Ortalama	100	1,9861	1,2913	0,2023

Tür bazında genetik farklılaşma istatistiksel veriler incelendiğinde toplam genetik çeşitlilik  $H_t = 0,2099$  olarak gözlenirken tür içi genetik çeşitlilik  $H_s = 0,1750$  olarak gözlemlendi. Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma değeri  $G_{ST} = 0,1662$  olarak hesaplanırken türler arası gen akışı değeri  $N_m = 2,5084$  olarak hesaplandı. Genetik varyasyonun %83,38'i tür içinde olduğu belirlenirken %16,62'ünün türler arasında olduğu belirlendi.

Bireysel popülasyon bazındaki genetik farklılaşma istatistiksel verileri ile karşılaştırıldığında toplam çeşitlilik ve popülasyon içi genetik çeşitlilik verilerinde büyük bir farklılık olmadığı verilerin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi. Ancak genetik farklılaşma değerleri arasındaki farklılığın oldukça fazla olduğu tespit edildi. Bireysel popülasyonlar arasında  $G_{ST} = 0,3106$  olarak hesaplanırken türler arasındaki genetik farklılaşma  $G_{ST} = 0,662$  olarak hesaplandı. Tür düzeyinde gözlenen genetik farklılaşma popülasyon düzeyine kıyasla düşük olmasına karşın bu değer hala



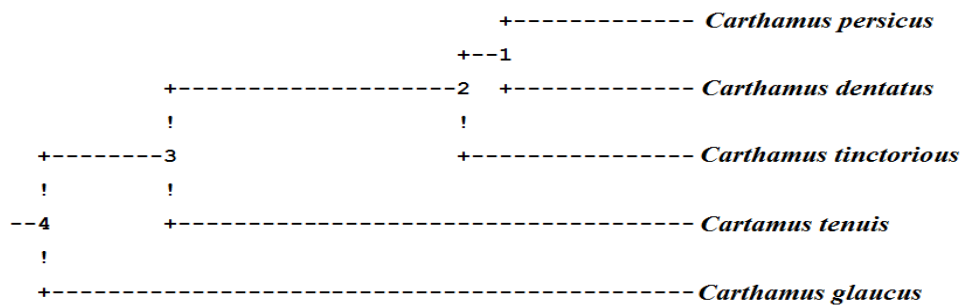
dikkate değer düzeyde yüksektir. İncelenen her tür için analiz edilen farklı popülasyon sayısı arttıkça verilerin de değerlerinin anlamlı şekilde değişebileceği tahmin edilmektedir. Gen akışı değeri de popülasyonlar düzeyinde düşük olarak gözlenirken tür düzeyinde popülasyon düzeyinde gözlenen değer yaklaşık iki katı kadar olduğu tespit edildi.

Türler arasındaki genetik uzaklık değerlerine bakıldığında en yüksek genetik uzaklık değeri ( $D = 0,0891$ ) *C. tenuis* türü ile *C. glaucus* türü arasında gözlenirken en düşük genetik uzaklık ( $D = 0,0221$ ) *C. tinctorius* türü ile *C. persicus* türü arasında gözlemlendi (Çizelge 4.7). Genelde türler arası genetik uzaklığın çok yüksek olmadığı belirlendi.

**Çizelge 4.7.** Analiz edilen *Carthamus* L. türleri arasındaki genetik uzaklık ( $D$ ) değerleri (Nei 1972) (PopGen 1.32'ye göre)

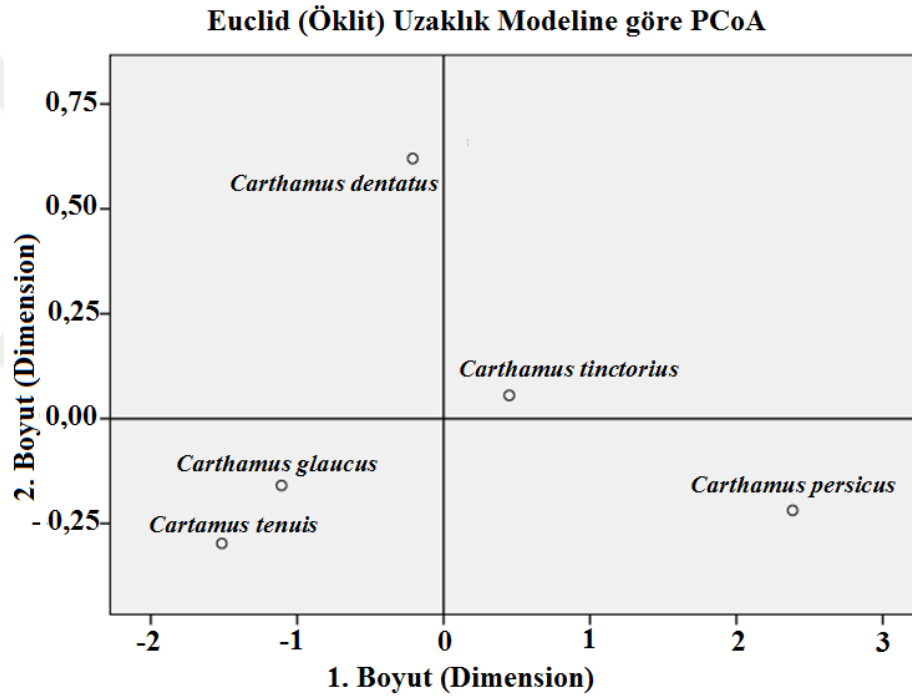
	<i>C. persicus</i>	<i>C. dentatus</i>	<i>C. tinctorius</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>C. glaucus</i>
<i>C. persicus</i>	****				
<i>C. dentatus</i>	0,0241	****			
<i>C. tinctorius</i>	<b>0,0221</b>	0,0294	****		
<i>C. tenuis</i>	0,0575	0,0757	0,0684	****	
<i>C. glaucus</i>	0,0447	0,0699	0,0634	<b>0,0891</b>	****

Popülasyonlar tür bazında oluşturulduğunda beş popülasyon oluştu. Başka bir ifadeyle aynı türden bulunan farklı popülasyon verileri birleştirilerek tek popülasyon (tür) verileri oluşturuldu. ISSR verilerine göre POPGEN ile kümeleme analizi yapıldığında 4 numaralı popülasyonun yani türün diğer türlere en uzak veya dış popülasyon/tür konumunda olduğu görülmektedir (Şekil 4.8). Genetik uzaklık verileri de bu durumu desteklemektedir.



**Şekil 4.8.** *Carthamus* L. popülasyonlarının tür bazında kümeleme analizi sonucunu gösteren dendrogram

Tür düzeyinde elde edilen genetik verilere göre SPSS (22. versiyon) ile oluşturulan benzemezlik (dissimilarity) matrisi kullanılarak yapılan TKA sonuçlarına göre türlerin birbirine olan uzaklıklarına göre dağılımları Şekil 4.9'da verildi. *C. glaucus* ve *C. tenuis*'in diğer türlere göre daha uzak dağılım gösterdiği gözlemlendi. Genetik farklılaşmanın tür düzeyinde ve populasyon düzeyinde dikkate alınması durumunda TKA grafiği türlerin birbirinden uzak dağılım göstermesi durumuna açıklık getirmektedir. Bu analiz tür bazında daha fazla farklı populasyon kullanılarak gerçekleştirildiğinde sonuçların daha anlamlı olacağı tahmin edilmektedir. Ancak bu şekli ile de POPGEN 1.32 ile yapılan diğer analizlerin sonucunu desteklemektedir.



**Şekil 4.9.** Türlerin birbirlerine uzaklıklarına göre temel koordinat analizleri ile dağılımlarının gösterimi

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

*Carthamus* L. botanik bir takson olarak ekolojik önemi olmasının yanı sıra insanlar için medikal ve endüstriyel açıdan ekonomik önemi olan önemli bir yağ bitkisidir. Bu cins içinde sadece *Carthamus tinctorius* evcilleşmiş bir kültür bitkisi olarak üretilmektedir. *Carthamus* L. Türkiye’de de doğal olarak yetişen bir bitkidir. Ancak cins içindeki diğer türlerin de benzer potansiyele sahip olup olmadıklarının araştırılması gereklidir. İslah programlarının planlanabilmesi için bu cinsin germplazmının detaylı şekilde analiz edilmesiyle ilgili çalışmalar yapılması gerekli genetik düzeydeki diğer çalışmaların başlatılmasına uygun çalışma zeminini oluşturacaktır.

*Carthamus* L. ile ilgili moleküler düzeyde yapılmış çalışmaların çoğunluğu *Carthamus tinctorius* hakkında yapılmıştır (Sehgal ve Raina, 2005; Yang ve ark., 2007; Mahasi ve ark., 2009; Sehgal ve ark., 2009b; Mark ve ark., 2010; Tonguç ve ark., 2011; Golkar ve ark., 2011; Lee ve ark., 2013; Tekkanat, 2014). Farklı türler arasında genetik çeşitlilikle ilgili analizlerin yapıldığı çalışma (Ash ve ark., 2003; Chapman ve Burke, 2007; Peng ve ark., 2008; Sehgal ve ark., 2009; Sabzalian ve ark., 2009; Barati ve Arzani, 2012; Mokhtari ve ark., 2013; Yaman ve ark., 2014) sayısı *Carthamus tinctorius*’la yapılanla kıyaslandığında daha azdır. Bu nedenle Türkiye’de yetişen *Carthamus* L. türlerine ait popülasyonlarda yapılan bu çalışmanın sonuçlarının bilimsel literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Özellikle doğal ortamında çoğunluğu yabani olarak yetişen *Carthamus* L. gibi bitkilerin genetik yapısının bilinmesinin ekolojik açıdan türlerin ve sahip oldukları genetik çeşitliliğin korunması ve değerlendirilmesi açısından önemlilik arz ettiği bilinmektedir. Doğal popülasyonların genetik yapılarının belirlenmesi, ıslah ve gen kaynaklarının koruma altına alınması gibi uygulamalarda önem taşımaktadır (Velioğlu ve ark., 2002). Popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin yüksek veya düşük olması, zamana ve yere göre değişen çevre koşullarına adapte olma yeteneğine sahip olup olmadığının da bir göstergesidir. Genetik faktörlerin belirlenmesi, özellikle yok olma riski taşıyan belirli türler için koruma programların planlanması ve önlemlerin alınması açısından önemlidir. Bu nedenle popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi popülasyonlar hakkında karar vermede ve planlamalar

yapmada kullanılan etkili bir kritik verinin ortaya konulmasını sağlar. Islah programları için popülasyonlar arasında genetik çeşitliliğin yüksek olması halinde popülasyon seçimi, genetik çeşitliliğin popülasyon içinde fazla olması halinde ise birey ve aile seçimi önemli hale gelmektedir. Her iki durumda da uygun popülasyon ve genotipler seçilerek ıslah çalışmalarında parental hatlar olarak kullanılabilir. Buna göre değerlendirdiğimizde bu çalışmada incelenen 10 popülasyon arasında genetik çeşitliliğin dikkate değer düzeyde olduğu belirlenmekle beraber bu çalışma ileride planlanabilecek daha detaylı çalışmalar için bir ön çalışma niteliğindedir.

Bu çalışmada 12 ISSR primeri kullanılarak toplam 287'si polimorfik (%96,63) 297 lokus elde edildi. Bu sonuçları daha önce *Carthamus* L. türlerinde moleküler işaretleyicilerle yapılan çalışmaların sonuçlarıyla kıyasladığımızda Yang ve ark. (2007) ISSR işaretleyicileri ile 355'i polimorfik (%82,7) 429 lokus, Peng ve ark. (2008) SRAP işaretleyicileri ile 274'ü polimorfik (%57) 483 lokus, Mahasi ve ark. (2009) RAPD işaretleyici sistemi ile 61 lokus, Golkar ve ark. (2011) ISSR işaretleyicileri ile 149'u polimorfik (%70) 204 lokus, Mokhtari ve ark. (2013) SRAP işaretleyicileri ile 238 polimorfik (%81,2) lokus ve Yaman ve ark. (2014) ISSR işaretleyicileri ile 151 polimorfik lokus elde ettiler. Bu çalışmada elde edilen yüksek düzeydeki polimorfizm daha önceki çalışmalarla tutarlı görünmekte ve Türkiye'de dâhil olmak üzere dünya çapında *Carthamus* L. germplazmının yüksek düzeyde polimorfizme sahip olduğunu da göstermektedir.

Yaman ve ark. (2014) Türkiye'nin farklı illerinden toplanan altı *Carthamus* taksonunu (11 *C. dentatus*, 5 *C. glaucus*, 18 *C. lanatus*, 3 *C. persicus*, 1 *C. tenuis* subsp. *tenuis* ve 1 *C. tenuis* subsp. *gracillimus*) temsil eden 39 bitki örneğini ISSR işaretleyici sistemleri ile analiz ettiler. Ancak kullanılan örnek sayıları dikkate alındığında türlerin teşhis edilmesi için yeterli olmadığı kanaati oluşturmaktadır. Bu örnek sayısı ile Türkiye'de yetişen *Carthamus* türlerinin gen havuzları ve popülasyon genetik yapıları ve mevcut statüleri hakkında yorum yapmak için yeterli değildir. Bu nedenle bu çalışmada kullanılan farklı *Carthamus* L. türleri için bir popülasyonun gen havuzunu minimum düzeyde temsil edecek örnek sayısı ISSR işaretleyici sistemi ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlar popülasyonların temsil ettiği türlerde popülasyon genetik yapılarında hibrit olmayan homojen bir yapıya sahip olduklarını

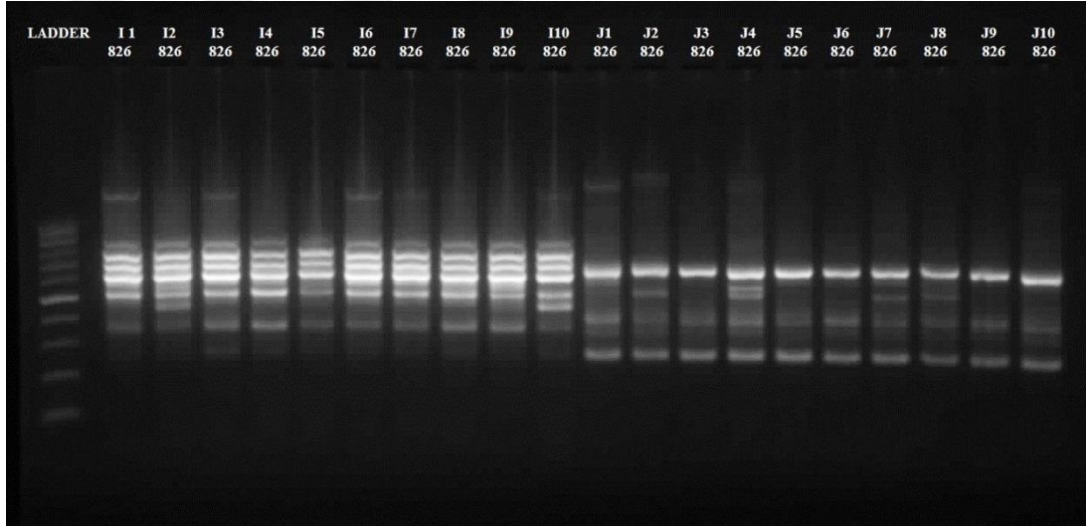
buna karşın popülasyon içinde yüksek düzeyde genetik çeşitlilik taşıdıklarını gösterdi.

Genetik çeşitliliği yüksek olan türler ve ırklar, insanların değişen ve artan ihtiyaçlarını ve isteklerini karşılamada daha etkili ve yararlı olarak kullanılabilir. Özellikle tıbbi, aromatik ve ekonomik açıdan önemli bir değere sahip olan *Carthamus L.* bitkisinde genetik çeşitliliğin yüksek olması bu bitkiden daha fazla yarar sağlayabilmek açısından büyük önem arz etmektedir. Genetik çeşitliliğin yüksek düzeyde olması demek bir popülasyonun hastalıklara, aşırı iklim değişikliklerine ve diğer çevre şartlarına dayanıklı gen veya gen kombinasyonları gen havuzunda bulundurması demektir ve bu gen kombinasyonlarını taşıyan genotipler, türe neslinin devam ettirmesini sağlamak açısından önemli katkı sağlar (Velioğlu ve ark., 2002).

Popülasyonlar arasında en yüksek genetik çeşitlilik Gaziantep Nizip arası 10. km'den toplanan popülasyonda ve en düşük genetik çeşitliliğin Şanlıurfa Merkez Harran Üniversitesi Osmanbey Kampüs alanından toplanan popülasyonda olduğu tespit edildi. İnsan popülasyonlarının yaşam alanlarına yakın olan yerlerde insanların çeşitli organik ve inorganik atıkları, fosil yakıtların kullanıldıklarında ürettikleri toprak ve hava kirliliğine neden olan azot ve kükürt içeren gazlı toksik bileşikler, fiziksel ve sosyal aktiviteleri yakın çevrelerindeki bitki popülasyonları üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir ve bu etkiler genetik sürüklenmeye neden olabilir, sonuç olarak genetik çeşitlilikte azalma yönünde eğilim görülebilir.

Tür içi türler arası varyasyonların belirlenmesinde başlangıçta morfolojik karakterler markör olarak kullanılmaktaydı. Biyokimyasal işaretleyiciler olan proteinler ve enzimler onları takip etti. Ancak tüm bu işaretleyicilerin ifade edilmeleri çevre koşullarından ve bitkilerin yaşam döngülerinde buldukları evrelerden etkilenmekteydi. Bu nedenle genetik çeşitliliğin analizinde çevre koşullarından etkilenmeyen yöntemlerin geliştirilmesi bir zorunluluk haline geldi. Bilimsel ve teknolojik gelişmelerin sonucunda günümüzde çevre koşullarından etkilenmeyen moleküler işaretleyiciler geliştirildi. Moleküler işaretleyiciler popülasyon genetiğinde çok verimli bir şekilde sıklıkla kullanılmakta ve araştırılan bilimsel problemlere güvenilir sonuçlar üretmektedir. ISSR yöntemi de popülasyon genetiği analizlerinde

en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Yöntem hızlı, ekonomik ve genellikle güvenilir sonuçlar üretmektedir. Bitkilerde genetik çeşitliliğin ve popülasyon genetik yapılarının belirlenmesi onların daha verimli kullanılması ve yararlanılması açısından önemlidir. Gerek ıslah çalışmaları, gerekse tükenme tehlikesi altında olan türlerin tespit edilmesi ve korunmasında moleküler yöntemlerin kullanılması çok önemlidir, özellikle sonuçların güvenilirliği açısından. Ancak moleküler işaretleyiciler çevre koşullarından etkilenmeseler bile bitkiler çevre koşullarından etkilenmekte, gerek kalıtsal gerekse kalıtsal olmayan şekillerde varyasyonlar gösterebilmektedir. Bu nedenle popülasyonların gösterdikleri morfolojik çeşitliliğin ne kadarı bitkinin genotipinden ne kadarı çevresel etmenlerden kaynaklanmaktadır bunların bilinmesi doğru adımların atılmasında önemli katkı sağlayacaktır. Dolayısıyla imkânlar ve laboratuvar koşulları düşünüldüğünde ISSR yönteminin popülasyon genetiği çalışmalarında etkili bir yöntem olarak kullanılabileceği ifade edilebilir. Bu çalışmada ürettiği sonuçlar elektroforez jel görüntülerinde dahi popülasyonlar arasındaki farklılaşmaları açık ve anlaşılır bir şekilde gösterdi (Şekil 5.1).



**Şekil 5.1.** ISSR UBC-826 primerinin I ve J popülasyonlarındaki farklılığı tespit ettiğini gösteren bant paternlerin görüntüsü

Gen akışı değeri ( $N_m = 1,1096$ ) 1'den büyük olduğundan genetik farklılaşmanın genetik sürüklenmeden kaynaklanmadığını fakat az bir oranda da olsa etkileyebileceği ortaya konuldu (Wright, 1951). Toplam genetik çeşitlilik ve çapraz popülasyon içi genetik çeşitlilik değerleri tozlaşan, diploit ve doğal bir popülasyonlar

olarak *Carthamus* L. popülasyonlarında dikkate değer oranlarda olduğu gözlemlendi. Ortalama  $G_{ST}$  (0,3106) değerlerine baktığımızda genetik çeşitliliğin popülasyonlar arasından ziyade popülasyon içinde daha fazla olduğunu gösterdi. Bu durum doğal popülasyonlarda sıklıkla rastlanan bir durumdur.

Ülkemizde bitkisel yağ üretimine katkıda bulunabilmek için ve aynı zamanda da bitkisel yağ ihtiyacını karşılayabilmek amacıyla alternatif yağ bitkileri arasında olan aspir, diğer ekonomik yağ bitkilerine oranla kuraklık stresi gibi olumsuz iklim koşullarına daha iyi uyum sağlaması ile öne çıkmaktadır (Dalgıç, 2011; Paşa, 2008). Aspir bitkisinin kuraklık stresine gösterdiği uyum onu küresel ısınmanın da etkisiyle kuraklaşan iklim koşulları için yetiştirilme avantajı yüksek olan bir yağ bitkisi haline getirecektir. Ayrıca kazık kök sisteminin bulunması da toprakta ulaşamayacak düzeydeki su, tuz ve minerallere ulaşmasına olanak sağlamaktadır. Ekimi yapılan yerlerde sulama olmaksızın sadece iklimsel yağışın yeterli olması bunun bir göstergesidir. Sadece yağ bitkisi olarak değil kozmetik, gıda, boya ve yem sanayisinde de etkin rol oynamaktadır. Ülkemizde de gün geçtikçe önemi artmakta ve üretimi için de birçok devlet kurumu destek sunmaktadır. Hatta Avrupa Birliği ile koordineli olarak çalışan Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumunun aspir üretimi yapan çiftçilere üretim, toplama ve işleme için gerekli olan tüm ekipman ihtiyacını karşılayarak masraflarının % 50'sini hibe etmesi buna bir örnektir (Anonim, 2017).

Linoleik asit miktarının yüksek olması yağ kalitesi bakımından oldukça önemli bir özelliktir. Farklı *Carthamus* L. türlerinin yağ kalitesi ile ilgili özelliklerinin incelenmesi yeni potansiyel yağ kaynağı olacak bitkilerin ekonomiye kazandırılmasına katkı sağlayacaktır. Aşkın'ın (2008) *Carthamus persicus* Wild'de yağ kalitesi ile elde ettiği sonuçların yağ bitkisi olarak yetiştirilen, alternatif tıpta, boya ve gıda sanayinde insanlar tarafından geniş ölçüde kullanılan *Carthamus tinctorius* L.'nin yağ asidi bileşimine oldukça benzer olduğunu göstermektedir. Bu nedenle farklı *Carthamus* L. türlerinde genetik varyasyonların analizinin yapılması potansiyeli yüksek bitkilerin tespit edilmesine katkı sağlayacaktır.

Türkiye bütçesinin önemli bir kısmını yurt dışından ham petrol ithalatına harcamak-

tadır. Biyoyakıt üretiminin artırılması petrol ithalatının oranını düşürerek petrole daha bütçe ayırmamıza katkı sağlayabilir. Alternatif bir yakıt olarak biyodizel çevresel avantajlarından dolayı en çok ilgi çeken biyoyakıtlardan birisidir. Son zamanlarda çeşitli hammaddelerden biyodizel üretiminin araştırılmasına geçmiş zamanlara göre daha fazla emek harcanmaktadır (Al-Samarrae ve ark., 2016). *Carthamus tinctorius* (aspir) bitkisi *Carthamus* L. cinsinin tek kültür formudur, ülkemizde tarımsal üretim açısından desteklenen bir bitkidir. Endüstriyel olarak da biyodizel üretiminde kullanılma potansiyeli yüksek olan aday bitkilerden birisi olduğunu gösteren *Carthamus tinctorius*'un biyodizel yakıt üretimi için potansiyelinin araştırıldığı daha önce yapılan çalışmaların (Hamamcı ve ark., 2011; Ahmad ve ark., 2015; Al-Samarrae ve ark., 2016; Al-Samarrae ve ark., 2017) sonuçlarına göre oldukça uyumlu olduğu görünmektedir. Bu nedenle *Carthamus* L. cinsine bağlı diğer türlerin de bu özellikler açısından daha yüksek potansiyele sahip olanlarının belirlenmesi bitki üretim yelpazesini, kalitesini ve üretim miktarını etkileyecek unsurlardır. Bu çalışma ve bundan sonra yapılacak benzer diğer çalışmalar ön bilgi oluşturmak açısından oldukça önemlidir.

Li ve ark (2009) *Cathamus tinctorius* L.'den elde edilen kartaminlerin ratların kan dolaşımındaki hemorolojik bozuklukların üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmaları aspirin medikal olarak alternatif tıpta fitoterapik yöntemlere destek olması açısından önemli bilgiler sunmaktadır. Ayrıca Kızılsahin de (2014) *Carthamus tinctorius*'dan elde ettiği yağda bulunan bazı farmasötiklerin kanser tedavisinde ümit verici sonuçlar ortaya koyduğunu ve bu anlamda çalışmaların daha da artırılması gerektiğini vurgulamaktadır. Bu nedenle araştırmaların sadece tek tür üzerine odaklanılmadan diğer alternatif türlerinin de değerlendirilmesi oldukça önemlidir.

Tüm bu özellikler dikkate alındığında, bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin mevcut literatüre önemli bir katkıda bulunduğu ve bir boşluğu doldurduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak elimizdeki mevcut gen kaynaklarının daha verimli bir şekilde kullanılması, üretime ve tüketime kazandırılması, ticari olarak da ülke ekonomisine katkısının artırılması konusunda aspirin ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması yadsınamaz bir gerekliliktir.



## KAYNAKLAR

- Ahmad, M., Teong, L.K., Sultana, S., Khan, I.U., Zuhairi, A. A., Zafar, M., Hassan, F., 2015. Optimization of Biodiesel Production from *Carthamus tinctorius* L. CV.Thori 78: A Novel Cultivar of Safflower Crop. International Journal of Green Energy, 12(5): 447-452.
- Al-Samaraae, R.R., Mohammed, M.N., Atabani A.E., (2016). Hemp (*Cannabis sativa*) and safflower (*Carthamus tinctorius*) as Potential biodiesel feedstocks in Turkey. The 1st International Conference on Alternative Fuels: Future and Challenges (ICAF'16) (ICAF-2016-112).
- Al-Samaraae, R.R., Atabani, A.E., Uguz, Gediz, Kumar, G., Arpa, O., Ayanoglu, A., Mohammed, M.N., Farouk, H., 2017. Perspective of safflower (*Carthamus tinctorius*) as a potential biodiesel feedstock in Turkey: characterization, engine performance and emissions analyses of butanol–biodiesel–diesel blends, Biofuels, DOI:10.1080/17597269.2017.1398956
- Anonim, 2014. [https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1993/](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/) (25.10.2017)
- Anonim, 2015. <http://www.turktob.org.tr/tr/kayseride-aspir-bitkisi-ile-aspir-yagi-uretimine-destek/19625> (10.12.2017)
- Anonim, 2016. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp.zu/> (18.10.2017)
- Anonim, 2017. [http://www.tkd.gov.tr/Duyurular.TKDK\\_ile\\_Hayat\\_Bulan\\_Yatirimlar](http://www.tkd.gov.tr/Duyurular.TKDK_ile_Hayat_Bulan_Yatirimlar) (28.11.2017)
- Arslan, Y., Katar, D., Güneylüoğlu, H., Subaşı, İ., Şahin, B., Bülbül, A.S., 2010. Türkiye Florasındaki Yabani *Carthamus* L. Türleri ve Aspir (*C. tinctorius* L.) İslahında Değerlendirme Olanakları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, Cilt:19, Sayı:1-2, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı.
- Ash, G.J., Raman, R., Crump, N.S., 2003. An investigation of genetic variation in *Carthamus lanatus* in New South Wales, Australia, using intersimple sequence repeats (ISSR) analysis. Farrer Centre, School of Agriculture, Charles Sturt University, PO Box 588, Wagga Wagga, NSW 2678, Australia.
- Ashri, A., Knowles, P.F., 1960. Cytogenetics of Safflower (*Carthamus* L.) Species and Their Hybrids. Argon.J. 52:11-17
- Aşkın, Y., 2008. Aspir (*Carthamus persicus* Wild) Bitkisinin Yağ Asidi Bileşiminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Atalmış, F., Ege Bölgesi'nde yetişen kavun çeşitlerinin morfolojik ve ISSR DNA markörleri kullanılarak tanımlanması. <http://hdl.handle.net/11454/2912>. (02.11.2017)

- Baloch, F.S., Kurt, C., Arnoğlu, H., Özkan, H., 2010. Assaying of Diversity Among Soybean (*Glycin max*(L.) Merr.) and Peanut (*Arachis hypogaea*L.) Genotypes at DNA Level. Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, University of Çukurova, Adana.
- Barati, M., Arzani., A., 2012. Genetic diversity revealed by EST-SSR markers in cultivated and wild safflower. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44: 117–123.
- Chapman, M.A., Burke, J.M., 2007. DNA sequence diversity and the origin of cultivated safflower (*Carthamus tinctorius* L.; Asteraceae). *BMC Plant Biology*, 7(60):2-9.
- Chapman, M.A., Hvala, J., Strever, J., Burke, J.M., 2010. Population genetic analysis of safflower (*Carthamus tinctorius*; Asteraceae) reveals a Near eastern origin and five centres of diversity. *American Journal of Botany*, 97(5): 831–840.
- Costa, R., Pereira, G., Garrido, I., Tavares-de-Sousa, M.M., F., 2016. Comparison of RAPD, ISSR, and AFLP Molecular Markers to Reveal and Classify Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) Germplasm Variations. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4829269/> (22.10.2017)
- Çulha, Ş., 2011. Tuz Stresinin Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dalgıç, H., 2011. Farklı Bitki Sıklığı ve yabancı Ot Mücadelesi Uygulamalarının Aspirde Verim ve Kaliteye Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Erbaş, S., Baydar, H., 2017. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)’de Yaprak Dikenliliği ve Çiçek Renginin Genetiği. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32 (2017) 244-248.
- Filiz, E., Koç, İ., 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011, 28(2), 207-214.
- Golkar, P., Arzani, A., Rezaei, A.M., 2011. Genetic Variation in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) for Seed Quality-Related Traits and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 2664-2677. doi:10.3390/ijms12042664.
- Görgülü, E., 2012. İç Anadolu Bölgesinde Yetişen *Isatis glauca*.’nın Genetik Çeşitliliğinin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Gök, N., 2016. Hakkari Ekolojik Koşullarında Farklı Ekim Zamanı Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinde Önemli Tarımsal Karakterler ve Verim Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

- Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatırım Dergisi* ISSN:1304-2653 2005, 4 (2): 27-37.
- Gülşen, O., Roose, M.L., 2001. Limonlarda Genetik Çeşitlilik, Bazı Turunçgillerle Akrabalık Derecelerinin DNA Markırlarının Kullanarak Belirlenmesi. *Bahçe* 30 (1-2): 53 - 63 2001.
- Hamamci, C., Saydut, A., Tonbul, Y., Kaya, C., Kafadar, A.B., 2011. Biodiesel Production via Transesterification from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Seed Oil, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 33(6) : 512-520.
- Hanelt, P., 1961. Information on *Carthamus tinctorius* L. *Die Kulturpflanze*. 9:114-145.
- Hartl, D. J., Clark, A.G., 1989. *Principals of Population Genetics*, Second Edition. Sinauer Sunderland, MA.
- Kafkas, S., Karadut, Ö. 2013. Antepfıstığı SSR Lokuslarından Yeni ISSR Primerlerinin Geliştirilmesi. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* Yıl:2013 Cilt:29-2 - 139 .
- Kara, A., 2012. Türkiye’de Yetişen Kapari (*Capparis* ssp.) Bitkisinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Karaselek, M.A., 2012. *Helvella* L. Ve yakın İlişkili Mantar Türleri Arasındaki Genetik Akrabalık İlişkilerinin ISSR Yöntemi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi., Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Khidir, M.O., Knowles, P.F., 1970. Cytogenetics Studies of *Carthamus* species (Compositae ) With 32 Pairs of Chromosomers. II: intersectional Hybridization. *Genetic Cytology* 12:90-99.
- Kılıç, A., Aspir Yağı ile Zayıflama. 2015. <https://www.bilgidoktoru.com/aspir-yagi-ile-zayiflama.html>. (22.10.2017)
- Kızılsahin, S., 2014. Aspir Tağı ve Türevlerinin invitro Proapoptatik ve Mutajenik Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Kidwell, K. K., Osborn, T. C., 1992. Simple plant DNA isolation procedures, *Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1–13.
- Knowles, P.F., 1969. Centers of Plant Diversity and Conservation of Crop Germplasm: Safflower. *Econ.Bot.* 23: 324-329.
- Lee, G.A.J.S.S., Lee, S.Y. , Chung, J.W., Yi, J.Y., Kim Y. and Lee M.G., 2013. Genetic assessment of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) collection with microsatellite markers acquired via pyrosequencing method. *National*

Agrobiodiversity Center, National Academy of Agricultural Science, RDA, 88-20, Seodun-Dong, Suwon, Gyunggi-do 441-707, Korea.

- Li, H-X., Han, S-Y., Wang, X-W., Maa, X., Zhang, K., Wang, L., Maa, Z-Z., Tu, P-F. (2009) Effect of the carthamins yellow from *Carthamus tinctorius* L. on hemorheological disorders of blood stasis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47 1797–1802.
- Mahasi, M.J., Wachira, F.N., Pathak, R.S., Riungu, T.C., 2009. Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorios* L.) using RAPD markers. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(1):008-012.
- McLean, R.C., Cook, V.R.I. 1941. *Plant science formulae*. Macmillan and Co., Limited, London, S. 203
- Mokhtari, N., Rahimmalek, M., Talebi, M., Khorrami, M., 2013. Assessment of genetic diversity among and within *Carthamus pecies* using sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. *Plant Syst Evol*, 299:1285–1294.
- Nimbkar, N., Singh, V., 2006. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). [http://www.nariphaltan.org/nari/pdf\\_files/safflowerbook.pdf](http://www.nariphaltan.org/nari/pdf_files/safflowerbook.pdf). (10.12.2017)
- Özbek, Ö., 2006. Yabani Tetraploit Buğday *Triticum Turgidum* Var. *Dicoccoides* (Körn.Schwein) Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Markörler (AFLP, RFLP) ile Tespit Edilmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Paşa, C., 2008. Kışlık ve Yazlık Ekimin Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Bitkisinin Verimi ve Bitkisel Özelliklerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.
- Peng, S., Feng, N., Guo, M., Chen, Y., Guo, Q., 2008. Genetic variation of *Carthamus tinctorius* L. and related species revealed by SRAP analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36 531–538.
- Reynolds, J., Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1983. Estimation of the coancestry coefficient. Basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105,767-779.
- Sabzalian, M.R., Mirlohi, A., Saeidi, G., Rabbani M.T., 2009. Genetic variation among populations of wild safflower, *Carthamus oxyacanthus* analyzed by agro-morphological traits and ISSR markers. *Genet Resour Crop Evol* 56:1057–1064.
- Sanön, B., 2011. Türkiye’de Yetişen *Carlina* L.(Asteraceae, Cardueae) Türlerinin Morfolojik ve Moleküler Filogenetik Analizi . Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Sass, J.E., 1951. *Botanical technique*. The Iowa State College Press. Iowa S.228.
- Sehgal, D., Raina, S.N., 2005. Genotyping safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars by DNA fingerprints. *Euphytica* 146: 67–76.

- Sehgal, D., Raina S.N., Devarumath, R.M., Sasanuma, T., Sasakuma, T., 2009. Molecular Phylogenetics and Evolution, 53 631–644.
- Sehgal, D., Rajpal V.R., Raina, S.N., Sasanuma, T., Sasakuma, T., 2009. Assaying polymorphism at DNA level for genetic diversity diagnostics of the safflower (*Carthamus tinctorius* L.) World germplasm resources. *Genetica* 135:457–470.
- Sung, G.L.J.-S., Lee S.-Y., Chung, J.-W., Yi, J.-Y., Kim, Y., Lee, M.-C., 2013. Genetic assessment of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) collection with microsatellite markers acquired via pyrosequencing method. *Molecular Ecology Resources* doi: 10.1111/1755-0998.12146.
- Tekkanat, B.S., 2014. Seleksiyonu Yapılmış *Carthamus tinctorius* L. Türüne Ait Bazı Çeşit ve Hatların Moleküler ve Karyolojik Markırlarla Tiplendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Tonguç, M., Erbaş, S., Baydar, H., 2011. Aspirde Geliştirilen Rekombinant Saf Hat Popülasyonunun Genetik Harita Popülasyonu Olarak Kullanma İmkânlarının Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 6 (2):1-7, 2011 ISSN 1304-9984, Araştırma Makalesi, Isparta.
- Velioglu, E., İçgen, Y., Çengel, B., Öztürk, H., Kaya, Z., 2002. Moleküler belirteçler yardımıyla kızılçam (*Pinus brutia* ten.) tohum meşcerelerinde, tohum bahçelerinde ve ağaçlandırmalarında bulunan genetik çeşitliliğin karşılaştırılması. T.C. Çevre ve orman bakanlığı orman ağaçları ve tohumları ıslah araştırma müdürlüğü, Orman Bakanlığı Yayın No: 189,10, Ankara
- Vyas, G.K., Sharma, R., Kumar, V., Sharma, T.B., Khandelwal, V., 2009. Diversity analysis of *Capparis decidua* (Forssk.) Edgew. using biochemical and molecular parameters. *Genetic Resources Crop Evolution*, 56, 905-911.
- Wolfe, A.D., Xiang, Q.Y., Kephart, S.R., 1998. Diploid Hybrid Speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 95, pp. 5112–5115. Weir, B. S., 1996. *Genetic Data Analysis II: Methods for discrete population genetic data* (2nd. ed.). Sinauer Assoc., Sunderland, MA.
- Wright S., 1951. The Genetical Structure of Populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323-354.
- Yaman, H., Tarıkahya-Hacıoğlu, B., Arslan, Y., Subaşı İ., 2014. Molecular characterization of the wild relatives of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in Turkey as revealed by ISSRs. *Genet Resour Crop Evol* 61: 595–602.
- Yang, Y-X., Wu, W., Zheng, Y-L., Chen, L., Liu, R-J., Huang, C-.Y., 2007. Genetic diversity and relationships among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) analyzed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genet Resour Crop Evol* 54:1043–1051.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., Ye, Z.H., Mao., J.X., 1997. POPGENE (version 1.32). The 523 user-friendly shareware for population genetic analysis.

Molecular Biology and 524 Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.

Yorgancılar, M., Atalay, E., Bayrak, H., Hakkı, E.E., Önder, M., Babaoğlu, M., 2008. ISSR Markörleri Kullanarak Konya Bölgesinden Toplanan Nohut (*Cicer arietinum* L.) Popülasyonları Arasındaki Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Selçuk Gıda ve Tarım Bilimleri Dergisi Cilt (22), Sayı (46).

Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M.T., 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi 4 (2):1-12, 2015 ISSN: 2148-3205. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Konya.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored PCR amplification. Genomics, 20, 176-183.

## **EKLER**

### **EK-1. DNA İzolasyon Basamakları**

Kidwell ve Osborn (1992)' a ait olan protokolün aşamalar sırasıyla aşağıda açıklanmıştır:

İzolasyon çözeltisi hazırlanışı: 45ml distile su, 20ml (pH:7,5) 200mM'lık Triss-HCl, 5ml 250 mM'lık NaCl (Sodyum klorür), 5ml (pH:8) 200mM'lık EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) ve %5'lik SDS (sodyum dodesil sülfat) önce distile su ile başlamak suretiyle mezur ile ölçülüp dikkatli bir şekilde eklendi. Tam homojen olana kadar karıştırıldı.

Hazırlanmış izolasyon çözeltisi öncelikle ısıtıcı özelliği de olan karıştırıcıda 20 dk çevrildi. Örneğin üzerine 500 µl ( yaklaşık 1 gr toz halindeki örnek için) izolasyon çözeltisi eklenip dikkatli bir şekilde alt-üst edildi ve 65 °C de 45 dk inkübasyona bırakıldı. Sonrasında üzerine 500 µl Kloroform: İzoamil (24:1) eklenip 5-10 dakika alt-üst edildi. +4 °C dereye ayarlanmış santrifüjde 13 000 rpm 5 dk santrifüjlendi ve süpernatant alınıp temiz bir tüpe konuldu. Kloroform basamağı şeffaf bir görüntü elde edilene kadar birkaç kez tekrarlandı. En son alınan süpernatanta 1'e 1 oranında İzopropanol (soğuk olmalı) eklenip -20 °C derecede yaklaşık 2 saat bekletildi. Daha sonra 13 000 rpm de 5 dk santrifüjlendi ve üstte kalan kısım dökülüp dipte jel yapılı bir pellet gözlemlendi. 10 dk kadar içindeki alkolün uçması için tüpün ağzı açık bırakıldı. Tüpe 100-150 µl 1X TE eklenerek DNA'nın çözünmesi sağlandı.

DNA'lar % 0,5'lik agaroz jelde 50 mA ve 100 V elektrik akımı uygulanarak elektroforez işlemi yürütüldü. Jellerin görüntüleri DNR (bio-imaging system) görüntüleme sistemi ve UV ışığı kullanılarak görüntülendi ve fotoğrafları çekildi. DNA konsantrasyonları bu fotoğraflar üzerinde belirlendi.

### **EK-2. ISSR-PCR ve Agaroz Jel Hazırlama İşlem Basamakları**

PCR (Mullis, 1985) genel prensip olarak fazlasıyla hassasiyet gerektiren bir çalışmadır. Bu çalışmada ISSR PCR ( Zietkiewicz ve ark., 1994) yönteminin kontaminasyona bağlı olarak negatif sonuç alındığı dekontaminasyon işleminin hassasiyetle ne kadar etkilendiği görüldü. Ön hazırlık aşamasında laboratuvar koşulları ve bu hazırlıkların tamamı çalışmanın gidişatını belirlemektedir. Bu yüzden çok önemlidir. Çalışma esnasında aşağıda değinilen hususlara dikkat edildi:

\*Ortamda bulunan çalışmada kullanılacak tüm cihazlar (Thermalcycler, santrifüj, laminer flow kabin... vb.) % 70'lik alkolle dekontamine edildi.

\*PCR 'da kullanılacak ependorf tüpleri, PCR tüpleri, pipetler, kabin içine alınacak sarf malzemeler otoklavda (Kubato marka ) sterilizasyon işleminden geçirildi.

\*Thermalcycler'e örnekler yüklenene kadar olan tüm işlemler kabin içinde ve buz üzerinde gerçekleştirildi.

\* Kabine her giriş çıkış işleminde eldivenler % 70 'lik alkolle dekontamine edildi.

\*Dondurulmuş olan kimyasallar(MgCl<sub>2</sub>, dNTP, primerler, dH<sub>2</sub>O, Taq, 10X Buffer) dikkatlice çözdürülüp ve 4-5 sn'lik santrifüjde flaşlandı.

\*DNA'lar en son kabine getirildi ve getirildiğinde kabin içindeki tüm kimyasallar tekrar -20°C'lik dolaba kaldırıldı.

Oluşan ürünler %1'lik, %1,2'lik ve % 1,5'lük agaroz jelde yürütülerek optimizasyonu yapıldı. Görüntü kalitesi; por çapı ve oluşan fragmentlerin büyüklüğü ile ilgili olarak değişiklik gösterdi. Bunlar göz önüne alındığında oluşan tüm ürünlerin %1,3'lük jelde yürütülmesinin uygun olduğuna karar verildi.

Jel hazırlama işleminde öncelikle kalibrasyonu sık aralıklarla yapılmış olan bir tartı kullanımını kullanılan malzemelerin çok az miktarda kullanımıyla alakalı olarak son derece önemlidir. 100 ml 1X TAE mezür ile ölçülüp bir erlenmayere aktarıldı. Üzerine 1,3 gr tartılmış agaroz (Sigma) dikkatlice eklendi ve 80 °C'deki mikrodalgafırında (Blueline) yavaşça çözdürüldü. Oda ısısında soğumaya bırakıldı. İdeal ısıya geldiğinde (Akışkan ve el ile temas halinde ılık olarak hissedilen sıcaklıkta) içerisine 4 µl etidyum bromür (sigma) eklendi ve hafif sağ-sol hareket ile etidyum bromürün homojen olarak dağılması sağlandı. Tarakları ve kenarlıkları takılmış olan jel tepsisi içine hava kabarcığı oluşturmadan yavaş ve dikkatlice döküldü. Döküm esnasında maske kullanımına dikkat edildi. Soğuduktan sonra tarak ve kenarlıklar çıkarıldı ve üzerini kapatmayacak fakat jel seviyesinde aynı hizada olacak şekilde 1X TAE ile tank dolduruldu.

Oluşan ürünler kuyulara yüklenmeden önce jel üzerinde hareketlerinin gözlemlenebilmesi için her bir örnek için 2µl 6X LB yükleme boyası eklendi. Oluşan fragmentlerin büyüklüğünün tespiti için 1. Kuyuya 17 µl 1X TAE içine 3µl DNA ladder (100 bp) eklenerek yüklendi. Diğer kuyulara toplam hacim 22 µl olan her bir ürün yüklendi.



Örnekler dış ortamda tepsi içindeki jele yüklendikten sonra tank içine yerleştirildi. 1XTAE konurken fazlasıyla hassasiyet gösterildi jel ile hizalandığı anda tampon eklenmesi bırakıldı. Elektroforez açılmadan önce elektrotların kontrolü yapıldı. 50 mA'de 120 V'a ayarlanan güç kaynağı ile örnekler yaklaşık 2 saat yürütüldü. Yürütme işlemi sonrasında jel UV transilüminatörünün üzerine yerleştirilerek örneklerin fotoğraflanması bilgisayar üzerindeki DNR (bio-imaging system) görüntüleme sistemi kullanılarak yapıldı. Burada UV ışık kaynağının jel üzerine yansıtılmasıyla görüntü eldesi sağlandı. Alınan görüntüler örnek adı, popülasyon kodu, primer numaralarına göre bilgisayara kaydı yapıldı.

### **EK-3. Kullanılan Kimyasal Malzeme Ve Tampon Çözeltiler**

**Çizelge E3.1. 50X TAE çözeltisi hazırlanışı**

<b>Toplam Hacim</b>	<b>1000 mL</b>
Tris Base	242 gr
0,5 M EDTA (pH 8)	100 mL
Glasiyal asetik asit	51,7 mL
dH <sub>2</sub> O	500 ml

242 gr Tris base tartılır. Beherin içinde 500 mL dH<sub>2</sub>O ile çözdürülür. Bu çözeltiliye 100 mL, 0,5 M EDTA (pH8) ve 57,1 mL glasiyal asetik asit eklenir. Beher manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir. Karışım tamamen çözüldükten sonra son hacim 1L'ye dH<sub>2</sub>O ile tamamlanır. 1X'e seyreltilerek kullanılır.

#### **Etidyum Bromidin Hazırlanışı (Sigma) (10mg/mL)**

DNA'nın UV ışığı altında görüntülenmesini sağlamak için agaroz jel çözeltinin içine eklenir. 100 gr etidyum bromid, 100 mL dH<sub>2</sub>O içinde çözünür. +4°C'ta siyah renkli veya üzeri alüminyum folyo ile kaplı bir şişede saklanır.

**EK-4. Çalışmada Kullanılan *Carthamus L.* Cinsine Ait Popülasyonların  
Herbaryum Örneklerinin Fotoğrafları**



**Resim E4.1.** HN-4026 *Carthamus dentatus*'a ait herbaryum örneği (Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.2.** HN-4027 *Carthamus persicus* Wild'e ait herbarium örneği  
(Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.3.** HN-4028 *Carthamus glaucus* Bieb. ssp. *glaucus*'a ait herbarium örneği  
(Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.4.** HN-4029 *Carthamus persicus*'a ait herbaryum örneği (Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.5.** HN-4030 *Carthamus persicus* Wild'e ait herbarium örneği  
(Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.6.** HN-4031 *Cartamus tenuis* (Boiss & Blache Bornm. ssp. *tenuis*)'e ait herbarium örneği (Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.7.** HN-4032 *Carthamus dentatus* Vahl'a ait herbaryum örneği  
(Fotoğraflayan: Özbek, 2018)





**Resim E4.8.** HN-4033 *Carthamus tinctorius* (dikenli)'a ait herbarium örneği  
(Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.9.** HN-4034 *Carthamus tinctorius* (Remzi bey-05 dikenli)'a ait herbarium örneği (Fotoğraflayan: Özbek, 2018)



**Resim E4.10.** HN-4035 *Carthamus tinctorius* L. Dinçer (dikensiz)'e ait herbarium örneği (Fotoğraflayan: Özbek, 2018)

### EK-5. Popülasyonlara Göre Lokuslardaki Alel Frekansını Gösteren Çizelgeler

**Çizelge E5.1.** Popülasyonlara göre lokuslardaki alel frekansı(Koyu renkli rakamlar alel frekansları %99 ve üzerinde olan alelleri ifade etmektedir)

Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)
808-1	0,9366	0,0634	810-5	0,8978	0,1022	811-8	0,7816	0,2184
808-2	0,8701	0,1299	810-6	0,8598	0,1402	811-9	0,7681	0,2319
808-3	0,8985	0,1015	810-7	0,7347	0,2653	811-10	0,7197	0,2803
808-4	0,8871	0,1129	810-8	0,7911	0,2089	811-11	0,8513	0,1487
808-5	0,8574	0,1426	810-9	0,7416	0,2584	811-12	0,8443	0,1557
808-6	0,9199	0,0801	810-10	0,8325	0,1675	811-13	0,7686	0,2314
808-7	0,8526	0,1474	810-11	0,6313	0,3687	811-14	0,5721	0,4279
808-9	0,8316	0,1684	810-12	0,7467	0,2533	811-15	0,6946	0,3054
808-9	0,9019	0,0981	810-13	0,5502	0,4498	811-16	0,6556	0,3444
808-10	0,9080	0,0920	810-14	0,5801	0,4199	811-17	0,6761	0,3239
808-11	0,7994	0,2006	810-15	0,7501	0,2499	811-18	0,6403	0,3597
808-12	0,7824	0,2176	810-16	0,5630	0,4370	811-19	0,8869	0,1131
808-13	0,6018	0,3982	810-17	0,6506	0,3494	811-20	0,9622	0,0378
808-14	0,7656	0,2344	810-18	0,8527	0,1473	817-1	0,9734	0,0266
808-15	0,6532	0,3468	810-19	0,7890	0,2110	817-2	0,9571	0,0429
808-16	0,6002	0,3998	810-20	0,8927	0,1073	817-3	0,9618	0,0382
808-17	0,7239	0,2761	810-21	<b>0,9949</b>	0,0051	817-4	0,9234	0,0766
808-18	0,6335	0,3665	811-1	<b>0,9949</b>	0,0051	817-5	0,8756	0,1244
808-19	0,8312	0,1688	811-2	0,9479	0,0521	817-6	0,9008	0,0992
808-20	0,7327	0,2673	811-3	0,8418	0,1582	817-7	0,8558	0,1442
810-1	0,9785	0,0215	811-4	0,9127	0,0873	817-8	0,8769	0,1231
810-2	0,9265	0,0735	811-5	0,9052	0,0948	817-9	0,8356	0,1644
810-3	0,9837	0,0163	811-6	0,9461	0,0539	817-10	0,8946	0,1054
810-4	0,9683	0,0317	811-7	0,8517	0,1483	817-11	0,6730	0,3270

Çizelge E5.1 Devamı

Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)
817-12	0,8750	0,1250	817-16	0,5345	0,4655	817-20	0,7697	0,2303
817-13	0,5553	0,4447	817-17	0,7596	0,2404	817-21	0,9785	0,0215
817-14	0,7490	0,2510	817-18	0,5277	0,4723	818-1	0,9482	0,0518
817-15	0,6011	0,3989	817-19	0,6314	0,3686	818-2	0,9837	0,0163
818-3	<b>0,9894</b>	0,0106	818-22	0,7479	0,2521	826-14	0,6882	0,3118
818-4	0,9785	0,0215	818-23	0,8164	0,1836	826-15	0,7918	0,2082
818-5	<b>0,9894</b>	0,0106	818-24	0,6206	0,3794	826-16	0,5272	0,4728
818-6	0,9656	0,0344	818-25	0,7056	0,2944	826-17	0,8601	0,1399
818-7	0,8977	0,1023	818-26	0,9079	0,0921	826-18	0,6718	0,3282
818-8	0,9165	0,0835	818-27	<b>0,9894</b>	0,0106	826-19	0,6577	0,3423
818-9	0,9260	0,0740	826-1	<b>0,9897</b>	0,0103	826-20	0,8403	0,1597
818-10	0,8441	0,1559	826-2	0,9632	0,0368	826-21	0,8896	0,1104
818-11	0,7740	0,2260	826-3	0,9459	0,0541	826-22	0,8587	0,1413
818-12	0,8181	0,1819	826-4	0,9632	0,0368	827-1	<b>0,9949</b>	0,0051
818-13	0,8459	0,1541	826-5	0,9571	0,0429	827-2	0,9672	0,0328
818-14	0,8374	0,1626	826-6	0,9281	0,0719	827-3	0,9397	0,0603
818-15	0,8243	0,1757	826-7	0,9403	0,0597	827-4	0,9101	0,0899
818-16	0,8614	0,1386	826-8	0,9520	0,0480	827-5	0,8353	0,1647
818-17	0,8126	0,1874	826-9	0,9635	0,0365	827-6	0,8821	0,1179
818-18	0,7489	0,2511	826-10	0,9237	0,0763	827-7	0,8327	0,1673
818-19	0,6432	0,3568	826-11	0,8026	0,1974	827-8	0,9407	0,0593
818-20	0,8273	0,1727	826-12	0,8285	0,1715	827-9	0,9669	0,0331
818-21	0,5885	0,4115	826-13	0,8067	0,1933	827-10	0,9632	0,0368
827-11	0,9631	0,0369	827-20	0,7346	0,2654	829-5	0,8081	0,1919
827-12	0,9175	0,0825	827-21	0,7325	0,2675	829-6	0,8530	0,1470
827-13	0,8632	0,1368	827-22	0,7685	0,2315	829-7	0,9459	0,0541
827-14	0,5919	0,4081	827-23	0,9622	0,0378	829-8	0,9574	0,0426
827-15	0,8035	0,1965	827-24	0,9549	0,0451	829-9	0,9792	0,0208

Çizelge E5.1 Devamı

Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)
827-16	0,7732	0,2268	829-1	0,9544	0,0456	829-10	0,9284	0,0716
827-17	0,9461	0,0539	829-2	0,9448	0,0552	829-11	0,9349	0,0651
827-18	0,7033	0,2967	829-3	0,9519	0,0481	829-12	0,8290	0,1710
827-19	0,8628	0,1372	829-4	0,8049	0,1951	829-13	0,8480	0,1520
829-14	0,7600	0,2400	835-24	0,9036	0,0964	853-4	0,9837	0,0163
829-15	0,9288	0,0712	835-25	0,8623	0,1377	853-5	0,9669	0,0331
829-16	0,8350	0,1650	835-26	0,9064	0,0936	853-6	<b>0,9949</b>	0,0051
829-17	0,9290	0,0710	835-27	0,9574	0,0426	853-7	0,9418	0,0582
829-18	0,7141	0,2859	842-1	<b>1,0000</b>	0,0000	853-8	<b>0,9897</b>	0,0103
829-19	0,7940	0,2060	842-2	<b>1,0000</b>	0,0000	853-9	0,9392	0,0608
829-20	0,7491	0,2509	842-3	<b>0,9949</b>	0,0051	853-10	0,9618	0,0382
829-21	0,8002	0,1998	842-4	<b>0,9897</b>	0,0103	853-11	0,7954	0,2046
829-22	0,8333	0,1667	842-5	0,9527	0,0473	853-12	0,9410	0,0590
829-23	0,9345	0,0655	842-6	0,9846	0,0154	853-13	0,9577	0,0423
829-24	1,0000	0,0000	842-7	0,9843	0,0157	853-14	0,8885	0,1115
835-1	0,8502	0,1498	842-8	0,9792	0,0208	853-15	0,8542	0,1458
835-2	0,9621	0,0379	842-9	0,9785	0,0215	853-16	0,9091	0,0909
835-3	0,9785	0,0215	842-10	0,9574	0,0426	853-17	0,8133	0,1867
835-4	0,9159	0,0841	842-11	0,9843	0,0157	853-18	0,8841	0,1159
835-5	0,9130	0,0870	842-12	0,9618	0,0382	853-19	0,7251	0,2749
835-6	0,9355	0,0645	842-13	0,9673	0,0327	853-20	0,7316	0,2684
835-7	0,9523	0,0477	842-14	0,8448	0,1552	853-21	0,7531	0,2469
835-8	0,9580	0,0420	842-15	0,9297	0,0703	853-22	0,7873	0,2127
835-9	0,9158	0,0842	842-16	0,9118	0,0882	853-23	0,7487	0,2513
835-10	0,9179	0,0821	842-17	0,8266	0,1734	853-24	0,6929	0,3071
835-11	0,8778	0,1222	842-18	0,8028	0,1972	853-25	0,8396	0,1604
835-10	0,9179	0,0821	842-17	0,8266	0,1734	853-24	0,6929	0,3071
835-11	0,8778	0,1222	842-18	0,8028	0,1972	853-25	0,8396	0,1604

Çizelge E5.1. Devamı

Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)	Lokus	Alel (0)	Alel (1)
835-12	<b>0,9897</b>	0,0103	842-19	0,6935	0,3065	853-26	0,8154	0,1846
835-13	0,9230	0,0770	842-20	0,9047	0,0953	853-27	0,9837	0,0163
835-14	0,9686	0,0314	842-21	0,8015	0,1985	858-1	0,8813	0,1187
835-15	0,9352	0,0648	842-22	0,7482	0,2518	858-2	1,0000	0,0000
835-16	0,9297	0,0703	842-23	0,7077	0,2923	858-3	0,9738	0,0262
835-17	0,9360	0,0640	842-24	0,6771	0,3229	858-4	0,9618	0,0382
835-18	0,9454	0,0546	842-25	0,8143	0,1857	858-5	0,9390	0,0610
835-19	0,8379	0,1621	842-26	0,8554	0,1446	858-6	0,9499	0,0501
835-20	0,9178	0,0822	842-27	0,9792	0,0208	858-7	0,9112	0,0888
835-21	0,7308	0,2692	853-1	0,9837	0,0163	858-8	0,9312	0,0688
835-22	0,9574	0,0426	853-2	0,9949	0,0051	858-9	0,9355	0,0645
835-23	0,8541	0,1459	853-3	0,9949	0,0051	858-10	0,9403	0,0597
858-11	0,8471	0,1529	858-17	0,8818	0,1182	858-23	0,8295	0,1705
858-12	0,9461	0,0539	858-18	0,9322	0,0678	858-24	0,8386	0,1614
858-13	0,9417	0,0583	858-19	0,9168	0,0832	858-25	0,8995	0,1005
858-14	0,9219	0,0781	858-20	0,8973	0,1027	858-26	0,9566	0,0434
858-15	0,8869	0,1131	858-21	0,8672	0,1328	Ortalama	<b>0,9949</b>	0,0051
858-16	0,9469	0,0531	858-22	0,8754	0,1246			

**EK-6. Lokusların *Carthamus L.* Popülasyonlarında Gösterdiği Verilere Göre  
Genetik Çeşitlilik ( $H_t$ ), Popülasyon İçi Genetik Çeşitlilik ( $H_s$ ),  
Popülasyonlar Arası Genetik Farklılaşma ( $G_{st}$ ) Ve Gen Akışı ( $N_m$ )  
Verilerini Gösteren Çizelgeler**

**Çizelge 6.1.** Genetik çeşitlilik ( $H_t$ ), popülasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_s$ ),  
popülasyonlar arası genetik farklılaşma ( $G_{st}$ ) ve gen akışı ( $N_m^*$ ) verileri

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
1.	808-1	100	0,1187	0,0933	0,2139	1,838
2.	808-2	100	0,2260	0,1803	0,2023	1,9717
3.	808-3	100	0,1824	0,1570	0,1394	3,0863
4.	808-4	100	0,2002	0,1343	0,3293	1,0182
5.	808-5	100	0,2446	0,1547	0,3675	0,8606
6.	808-6	100	0,1474	0,1198	0,1874	2,1678
7.	808-7	100	0,2514	0,2052	0,1838	2,22
8.	808-9	100	0,2801	0,0432	0,8456	0,0913
9.	808-9	100	0,1769	0,1439	0,1867	2,1776
10.	808-10	100	0,1671	0,0959	0,4260	0,6738
11.	808-11	100	0,3207	0,2388	0,2556	1,4561
12.	808-12	100	0,3405	0,2448	0,2809	1,2798
13.	808-13	100	0,4793	0,3036	0,3664	0,8645
14.	<b>808-14</b>	100	0,3589	0,0512	0,8575	<b>0,0831</b>
15.	808-15	100	0,4531	0,1664	0,6327	0,2902
16.	<b>808-16</b>	100	<b>0,4799</b>	0,2604	0,4574	0,5932
17.	808-17	100	0,3997	0,1678	0,5802	0,3617
18.	808-18	100	0,4644	0,227	0,5112	0,4781
19.	808-19	100	0,2806	0,1824	0,3498	0,9295
20.	808-20	100	0,3917	0,1654	0,5778	0,3653
21.	810-1	100	0,0420	0,0371	0,1176	3,7510
22.	810-2	100	0,1362	0,0530	0,6110	0,3183
23.	810-3	100	0,0321	0,0273	0,1494	2,8457
24.	810-4	100	0,0613	0,0567	0,0763	6,0515
25.	810-5	100	0,1835	0,1356	0,2609	1,4165
26.	810-6	100	0,2412	0,1995	0,1727	2,3951
27.	810-7	100	0,3898	0,2294	0,4115	0,7151
28.	810-8	100	0,3305	0,1823	0,4485	0,6147
29.	810-9	100	0,3832	0,2233	0,4174	0,6978
30.	810-10	100	0,2789	0,105	0,6237	0,3017
31.	810-11	100	0,4655	0,3225	0,3072	1,1275
32.	810-12	100	0,3783	0,1734	0,5416	0,4231
33.	810-13	100	0,4950	0,3205	0,3525	0,9185
34.	810-14	100	0,4872	0,2602	0,4659	0,5733
35.	810-15	100	0,3749	0,2202	0,4126	0,7118
36.	810-16	100	0,4921	0,246	0,5001	0,4998



Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
37.	810-17	100	0,4547	0,2011	0,5576	0,3967
38.	810-18	100	0,2512	0,1855	0,2617	1,4109
39.	810-19	100	0,3329	0,1181	0,6453	0,2748
40.	810-20	100	0,1915	0,1055	0,4491	0,6134
41.	810-21	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
42.	811-1	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
43.	811-2	100	0,0989	0,0757	0,2343	1,6344
44.	811-3	100	0,2664	0,0836	0,6863	0,2285
45.	811-4	100	0,1594	0,1454	0,0878	5,1947
46.	811-5	100	0,1717	0,1103	0,3573	0,8994
47.	811-6	100	0,1020	0,0922	0,0966	4,6743
48.	811-7	100	0,2526	0,2234	0,1154	3,8336
49.	811-8	100	0,3414	0,2632	0,2289	1,6841
50.	811-9	100	0,3562	0,2163	0,3928	0,7729
51.	811-10	100	0,4035	0,3193	0,2086	1,8967
52.	811-11	100	0,2532	0,2026	0,2000	2,0004
53.	811-12	100	0,2629	0,2487	0,0539	8,7740
54.	811-13	100	0,3557	0,2973	0,1643	2,5440
55.	811-14	100	0,4896	0,3643	0,2560	1,4534
56.	811-15	100	0,4243	0,2892	0,3185	1,0699
57.	811-16	100	0,4516	0,2912	0,3552	0,9078
58.	811-17	100	0,4380	0,2522	0,4243	0,6785
59.	811-18	100	0,4606	0,2206	0,5211	0,4596
60.	811-19	100	0,2006	0,1139	0,4322	0,6569
61.	811-20	100	0,0727	0,0644	0,1147	3,8605
62.	817-1	100	0,0518	0,0468	0,0961	4,7045
63.	817-2	100	0,0822	0,0741	0,0978	4,6110
64.	817-3	100	0,0735	0,0635	0,1359	3,1789
65.	817-4	100	0,1415	0,1068	0,2451	1,5403
66.	817-5	100	0,2179	0,1912	0,1226	3,5795
67.	817-6	100	0,1788	0,1615	0,0967	4,6704
68.	817-7	100	0,2468	0,2316	0,0615	7,6252
69.	817-8	100	0,2158	0,1939	0,1016	4,4203
70.	817-9	100	0,2747	0,1112	0,5952	0,3400
71.	817-10	100	0,1886	0,1292	0,3147	1,0888
72.	817-11	100	0,4401	0,1661	0,6227	0,3030
73.	817-12	100	0,2188	0,1699	0,2236	1,7364
74.	817-13	100	0,4939	0,3105	0,3712	0,8469
75.	817-14	100	0,3760	0,3179	0,1546	2,7339

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
76.	817-15	100	0,4796	0,3422	0,2864	1,2459
77.	817-16	100	0,4976	0,2291	0,5397	0,4265
78.	817-17	100	0,3652	0,1992	0,4547	0,5996
79.	<b>817-18</b>	100	<b>0,4985</b>	0,3553	0,2871	1,2413
80.	817-19	100	0,4654	0,2829	0,3923	0,7747
81.	817-20	100	0,3545	0,2394	0,3247	1,0398
82.	817-21	100	0,0420	0,0371	0,1176	3,7510
83.	818-1	100	0,0983	0,0763	0,2233	1,7393
84.	818-2	100	0,0321	0,0273	0,1494	2,8457
85.	818-3	100	0,0209	0,0189	0,0960	4,7067
86.	818-4	100	0,0420	0,0371	0,1176	3,7510
87.	818-5	100	0,0209	0,0189	0,0960	4,7067
88.	818-6	100	0,0665	0,0512	0,2304	1,6703
89.	818-7	100	0,1837	0,1154	0,3716	0,8454
90.	818-8	100	0,1530	0,1131	0,2608	1,4172
91.	818-9	100	0,1370	0,1121	0,1821	2,2455
92.	818-10	100	0,2632	0,1881	0,2853	1,2523
93.	818-11	100	0,3499	0,2679	0,2343	1,6344
94.	818-12	100	0,2977	0,1361	0,5427	0,4213
95.	818-13	100	0,2606	0,2319	0,1103	4,0319
96.	818-14	100	0,2723	0,1948	0,2846	1,2567
97.	818-15	100	0,2897	0,1886	0,3489	0,9332
98.	818-16	100	0,2387	0,2029	0,1502	2,8293
99.	818-17	100	0,3045	0,2653	0,1289	3,3787
100.	818-18	100	0,3761	0,2778	0,2612	1,4140
101.	818-19	100	0,459	0,2264	0,5068	0,4865
102.	818-20	100	0,2858	0,2346	0,1791	2,2921
103.	818-21	100	0,4843	0,2969	0,3869	0,7923
104.	818-22	100	0,3771	0,0757	0,7993	0,1256
105.	818-23	100	0,2997	0,1329	0,5567	0,3982
106.	818-24	100	0,4709	0,2812	0,4029	0,7411
107.	818-25	100	0,4155	0,1512	0,6361	0,2860
108.	818-26	100	0,1672	0,1158	0,3072	1,1275
109.	818-27	100	0,0209	0,0189	0,0960	4,7067
110.	826-1	100	0,0203	0,0195	0,0415	11,5543
111.	826-2	100	0,0708	0,0465	0,3434	0,9560
112.	826-3	100	0,1024	0,0917	0,1042	4,2971
113.	826-4	100	0,0709	0,0664	0,0635	7,3687
114.	826-5	100	0,0822	0,0741	0,0978	4,6110
115.	826-6	100	0,1334	0,1163	0,1285	3,3900

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
116.	826-7	100	0,1123	0,1006	0,1038	4,3170
117.	826-8	100	0,0914	0,0840	0,0811	5,6640
118.	826-9	100	0,0704	0,0670	0,0479	9,9308
119.	826-10	100	0,1410	0,1074	0,2383	1,5979
120.	826-11	100	0,3169	0,1452	0,5419	0,4226
121.	826-12	100	0,2842	0,2169	0,2368	1,6119
122.	826-13	100	0,3119	0,2333	0,2519	1,4846
123.	826-14	100	0,4292	0,2763	0,3562	0,9037
124.	826-15	100	0,3297	0,2636	0,2007	1,9913
125.	<b>826-16</b>	100	0,4985	<b>0,3743</b>	0,2491	1,5069
126.	826-17	100	0,2406	0,2203	0,0847	5,4063
127.	826-18	100	0,4410	0,3235	0,2663	1,3775
128.	826-19	100	0,4503	0,2753	0,3885	0,7869
129.	826-20	100	0,2684	0,2206	0,1781	2,3073
130.	826-21	100	0,1964	0,1593	0,1890	2,1455
131.	826-22	100	0,2426	0,1374	0,4335	0,6533
132.	827-1	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
133.	827-2	100	0,0635	0,0544	0,1428	3,0010
134.	827-3	100	0,1134	0,0993	0,1241	3,5274
135.	827-4	100	0,1636	0,1402	0,1431	2,9952
136.	827-5	100	0,2752	0,2505	0,0898	5,0687
137.	827-6	100	0,2080	0,1842	0,1147	3,8606
138.	827-7	100	0,2786	0,2254	0,1908	2,1204
139.	827-8	100	0,1116	0,1013	0,0925	4,9028
140.	827-9	100	0,0640	0,0538	0,1594	2,6376
141.	827-10	100	0,0709	0,0664	0,0635	7,3687
142.	827-11	100	0,0710	0,0663	0,0665	7,0132
143.	827-12	100	0,1514	0,1350	0,1079	4,1348
144.	827-13	100	0,2361	0,1865	0,2103	1,8776
145.	827-14	100	0,4831	0,2038	0,5781	0,3650
146.	827-15	100	0,3158	0,2670	0,1546	2,7342
147.	827-16	100	0,3507	0,1864	0,4686	0,5669
148.	827-17	100	0,1020	0,0922	0,0966	4,6743
149.	827-18	100	0,4174	0,1465	0,649	0,2705
150.	827-19	100	0,2367	0,1857	0,2156	1,8195
151.	827-20	100	0,3899	0,2292	0,4120	0,7135
152.	827-21	100	0,3919	0,1050	0,7322	0,1829
153.	827-22	100	0,3558	0,2370	0,3340	0,9968
154.	827-23	100	0,0727	0,0644	0,1147	3,8605

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
156.	829-1	100	0,0871	0,0688	0,2105	1,8754
157.	829-2	100	0,1044	0,0895	0,1424	3,0114
158.	829-3	100	0,0915	0,0839	0,0834	5,4949
159.	829-4	100	0,3141	0,2698	0,1412	3,0412
160.	829-5	100	0,3101	0,2762	0,1094	4,0723
161.	829-6	100	0,2507	0,2261	0,0982	4,5896
162.	829-7	100	0,1024	0,0917	0,1042	4,2971
163.	829-8	100	0,0815	0,0748	0,0821	5,5894
164.	829-9	100	0,0408	0,0384	0,0592	7,9402
165.	829-10	100	0,1329	0,1168	0,1208	3,6387
166.	829-11	100	0,1218	0,1098	0,0986	4,5730
167.	829-12	100	0,2835	0,2580	0,0901	5,0477
168.	829-13	100	0,2577	0,2361	0,0839	5,4581
169.	829-14	100	0,3648	0,2000	0,4517	0,6070
170.	829-15	100	0,1322	0,0976	0,2616	1,4115
171.	829-16	100	0,2755	0,2100	0,2376	1,6040
172.	829-17	100	0,1320	0,1179	0,1064	4,1998
173.	829-18	100	0,4083	0,1282	0,686	0,2289
174.	829-19	100	0,3272	0,1279	0,609	0,3211
175.	829-20	100	0,3759	0,1981	0,4730	0,5570
176.	829-21	100	0,3198	0,2403	0,2485	1,5120
177.	829-22	100	0,2779	0,1065	0,6166	0,3108
178.	829-23	100	0,1225	0,0689	0,4374	0,6432
179.	<b>829-24</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	****	****
180.	835-1	100	0,2547	0,2004	0,2134	1,8425
181.	835-2	100	0,0730	0,0641	0,1214	3,6177
182.	835-3	100	0,0420	0,0371	0,1176	3,7510
183.	835-4	100	0,1541	0,1318	0,1448	2,9531
184.	835-5	100	0,1588	0,1261	0,2062	1,9252
185.	835-6	100	0,1206	0,1110	0,0795	5,7911
186.	835-7	100	0,0909	0,0846	0,0693	6,7180
187.	835-8	100	0,0805	0,076	0,0552	8,5551
188.	835-9	100	0,1542	0,1317	0,1461	2,9231
189.	835-10	100	0,1508	0,1357	0,0998	4,5125
190.	835-11	100	0,2146	0,1755	0,1819	2,2485
191.	835-12	100	0,0203	0,0195	0,0415	11,5543
192.	835-13	100	0,1421	0,1260	0,1136	3,9017
193.	835-14	100	0,0608	0,0572	0,0583	8,0797

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
194.	835-15	100	0,1212	0,1103	0,0899	5,0611
195.	835-16	100	0,1306	0,1195	0,0853	5,3642
196.	835-17	100	0,1199	0,1119	0,0666	7,0119
197.	835-18	100	0,1032	0,0909	0,1192	3,6944
198.	835-19	100	0,2717	0,2157	0,2060	1,9276
199.	835-20	100	0,1509	0,1355	0,1021	4,3958
200.	835-21	100	0,3935	0,2216	0,4368	0,6447
201.	835-22	100	0,0815	0,0748	0,0821	5,5894
202.	835-23	100	0,2492	0,1882	0,2446	1,5440
203.	829-17	100	0,1320	0,1179	0,1064	4,1998
204.	829-18	100	0,4083	0,1282	0,6860	0,2289
205.	829-19	100	0,3272	0,1279	0,6090	0,3211
206.	835-24	100	0,1743	0,1471	0,1560	2,7048
207.	835-25	100	0,2374	0,1647	0,3063	1,1322
208.	835-26	100	0,1696	0,1529	0,0989	4,5543
209.	835-27	100	0,0815	0,0748	0,0821	5,5894
210.	<b>842-1</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	****	****
211.	<b>842-2</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	****	****
212.	842-3	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
213.	842-4	100	0,0203	0,0195	0,0415	11,5543
214.	842-5	100	0,0901	0,0654	0,2748	1,31970
215.	<b>842-6</b>	100	0,0303	0,0292	0,0365	<b>13,2049</b>
216.	842-7	100	0,0309	0,0286	0,0733	6,3225
217.	842-8	100	0,0408	0,0384	0,0592	7,9402
218.	842-9	100	0,0420	0,0371	0,1176	3,7510
219.	842-10	100	0,0815	0,0748	0,0821	5,5894
220.	842-11	100	0,0309	0,0286	0,0733	6,3225
221.	842-12	100	0,0735	0,0635	0,1359	3,1789
222.	842-13	100	0,0632	0,0547	0,1351	3,2014
223.	842-14	100	0,2623	0,1695	0,3537	0,9137
224.	842-15	100	0,1306	0,1195	0,0853	5,3642
225.	842-16	100	0,1608	0,1436	0,1073	4,1610
226.	842-17	100	0,2866	0,2532	0,1165	3,7910
227.	842-18	100	0,3166	0,2257	0,2872	1,2412
228.	842-19	100	0,4251	0,3469	0,1840	2,2170
229.	842-20	100	0,1725	0,1494	0,1339	3,2331
230.	842-21	100	0,3182	0,283	0,1106	4,0193
231.	842-22	100	0,3768	0,3163	0,1605	2,6146
232.	842-23	100	0,4137	0,2153	0,4795	0,5427
233.	842-24	100	0,4373	0,1341	0,6933	0,2212
234.	842-25	100	0,3025	0,2285	0,2446	1,5441
235.	842-26	100	0,2473	0,1909	0,2282	1,6912

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
236.	842-27	100	0,0408	0,0384	0,0592	7,9402
237.	853-1	100	0,0321	0,0273	0,1494	2,8457
238.	853-2	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
239.	853-3	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
240.	853-4	100	0,0321	0,0273	0,1494	2,8457
241.	853-8	100	0,0203	0,0195	0,0415	11,5543
242.	853-9	100	0,1142	0,0985	0,1375	3,1372
243.	853-10	100	0,0735	0,0635	0,1359	3,1789
244.	853-11	100	0,3255	0,1507	0,5369	0,4313
245.	853-12	100	0,1111	0,1019	0,0830	5,5225
246.	853-13	100	0,0810	0,0754	0,0688	6,7722
247.	853-14	100	0,1981	0,1770	0,1066	4,1923
248.	853-15	100	0,2491	0,2284	0,0832	5,5115
249.	853-16	100	0,1653	0,1581	0,0436	10,9664
250.	853-17	100	0,3037	0,2266	0,2538	1,4703
251.	853-18	100	0,2049	0,1882	0,0813	5,6538
252.	853-19	100	0,3987	0,3102	0,2220	1,7518
253.	853-20	100	0,3927	0,3032	0,2281	1,6921
254.	853-21	100	0,3719	0,3261	0,1230	3,5639
255.	853-22	100	0,3349	0,2946	0,1206	3,6472
256.	853-23	100	0,3763	0,2173	0,4224	0,6836
257.	853-24	100	0,4256	0,2858	0,3285	1,0220
258.	853-25	100	0,2693	0,1793	0,3344	0,9953
259.	853-26	100	0,3010	0,2109	0,2995	1,1694
260.	853-27	100	0,0321	0,0273	0,1494	2,8457
261.	858-1	100	0,2093	0,1025	0,5101	0,4802
262.	<b>858-2</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	****	****
263.	858-3	100	0,0511	0,0475	0,0706	6,5851
264.	858-4	100	0,0735	0,0635	0,1359	3,1789
265.	858-5	100	0,1146	0,0980	0,1451	2,9459
266.	858-6	100	0,0952	0,0798	0,1620	2,5873
267.	858-7	100	0,1619	0,1423	0,1211	3,6290
268.	858-8	100	0,1281	0,1024	0,2002	1,9971
269.	858-9	100	0,1206	0,1110	0,0795	5,7911
270.	858-10	100	0,1123	0,1006	0,1038	4,3170
271.	858-11	100	0,2591	0,2342	0,0962	4,6973
272.	858-12	100	0,1020	0,0922	0,0966	4,6743
273.	858-13	100	0,1097	0,1035	0,0573	8,2294
274.	858-14	100	0,1440	0,1238	0,1397	3,0790

Çizelge E6.1. Devamı

SN	Lokus	N	$H_t$	$H_s$	$G_{st}$	$N_m^*$
275.	858-15	100	0,2007	0,1737	0,1344	3,2211
276.	858-16	100	0,1006	0,0937	0,0686	6,7889
277.	858-17	100	0,2085	0,1836	0,1194	3,6880
278.	858-18	100	0,1265	0,1043	0,1751	2,3550
279.	858-19	100	0,1526	0,1336	0,1244	3,5185
280.	858-20	100	0,1842	0,1547	0,1604	2,6177
281.	858-21	100	0,2303	0,1944	0,1558	2,7094
282.	858-22	100	0,2182	0,1707	0,2174	1,7994
283.	858-23	100	0,2828	0,2191	0,2253	1,7189
284.	858-24	100	0,2707	0,2373	0,1234	3,5534
285.	858-25	100	0,1808	0,1391	0,2306	1,6678
286.	858-26	100	0,0830	0,0733	0,1167	3,7837
287.	858-27	100	0,0102	0,0097	0,0464	10,2705
<b>Ortalama</b>		<b>100</b>	<b>0,2161</b>	<b>0,149</b>	<b>0,3106</b>	<b>1,1096</b>

N: Örnek sayısı

### EK-7. Pearson Korelasyon Katsayısı Verileri

**Çizelge E.5.3.** Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan *Pearson* korelasyon katsayısı verileri (2013 ve 2014 verilerine göre)

		$n_a$	$n_{ea}$	$h$
2013-SICAKLIK	$r_P$	0,263	0,198	0,216
	$p$	0,462	0,583	0,549
2014-SICAKLIK	$r_P$	0,257	0,209	0,221
	$p$	0,474	0,563	0,540
2013-YAGIS	$r_P$	-0,270	-0,282	-0,284
	$p$	0,450	0,430	0,427
2014-YAGIS	$r_P$	-0,040	-0,051	-0,050
	$p$	0,913	0,890	0,891
2013-RUZGAR	$r_P$	0,322	0,308	0,321
	$p$	0,364	0,386	0,366
2014-RUZGAR	$r_P$	0,121	0,126	0,133
	$p$	0,739	0,728	0,715
2013-NEM	$r_P$	0,060	0,112	0,104
	$p$	0,870	0,758	0,776
2014-NEM	$r_P$	0,178	0,211	0,207
	$p$	0,623	0,559	0,566
YUKSEKLIK	$r_P$	-0,117	-0,111	-0,111
	$p$	0,747	0,760	0,760
BOYLAM	$r_P$	-0,591	-0,521	-0,542
	$p$	0,072	0,122	0,105
ENLEM	$r_P$	-0,217	-0,222	-0,223
	$p$	0,547	0,538	0,536
	N	10	10	10



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : KÜYÜK BABAYİĞİT, Funda  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri :11.11.1983-Çorum  
 Medeni hali : Evli  
 e-mail : fundakuyuk@gmail.com.tr

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi/Fen Edebiyat Fakültesi /Biyoloji	2014
Önlisans	19 Mayıs Üniversitesi/ S.H.M.Y.O/Tıbbi Laboratuvar	2002
Lise	Mimar Sinan Lisesi	2000

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2003-2005	Özel Sağlık Polikliniği	Laboratuvar Teknikeri
2005-2006	Özel Sürücü Kursu	İlk Yardım Dersi Eğitimliği
2006-2007	Atatürk Üniversitesi	Genel Sekreterlik/ Özel Kalem
2007-Halen	Sağlık Bakanlığı	KETEM Birimi/Lab. Teknikeri

### Sertifikalar

Tüberküloz Laboratuvarı Çalışma ve Usul ve Esasları Eğitim Sertifikası 2007

Yabancı Dil: İngilizce

**Yayınlar**

1. Ozbek, O., Kuyuk, F., Arslan, M., 2017. Genetic Diversity in populations of *Carthamus* L. From Southeastern Anatolia in Turkey Revealed by ISSR Analysis. Molecular Marcers. Green Biotechnology Congress. İstanbul, Türkiye. Poster sunumu.

