

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI  
MEŞE GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD-PCR  
TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

**Özgür ÇELİK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2016**



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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI  
MEŞE GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD-PCR  
TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

**Özgür ÇELİK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2016**

Doç.Dr. Tijen DEMİRAL SERT danışmanlığında, Özgür ÇELİK' in hazırladığı “Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Meşe Genotiplerinde Genetik Çeşitliliğin RAPD-PCR Tekniği İle Belirlenmesi” konulu bu çalışma 21/04/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Doç.Dr. Tijen DEMİRAL SERT

.....  
.....

Üye : Prof.Dr. Canan CAN

.....  
.....

Üye : Yrd.Doç.Dr. Ebru SAKAR

.....  
.....

**Bu tezin Biyoloji Anabilim Dalında yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına göre düzenlediğini onaylarım.**

**Prof. Dr. Recep GÜNDOĞAN**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No: 14174**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1. Meşe ( <i>Quercus</i> L.) .....	4
2.1.1. <i>Quercus infectoria</i> Oliv. Subsp. <i>Boissieri</i> (Reuter) O. Schwarz (Mazı Meşesi) .....	5
2.1.2. <i>Quercus coccifera</i> L. (Kermes Meşesi) .....	7
2.1.3. <i>Quercus brantii</i> Lindl. (Kara Meşe) .....	8
2.2. Genetik Markörler .....	10
2.2.1. Morfolojik (Fenotipik) markörler .....	10
2.2.2. Biyokimyasal markörler .....	10
2.2.3. Moleküler(DNA) markörler .....	11
2.2.4. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) .....	15
2.3. RAPD ve Diğer Moleküler Yöntemlerle Yapılmış Olan Çalışmalar .....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	21
3.1. Materyal .....	21
3.1.1. Bitki materyali .....	21
3.1.2. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu için kullanılan çözeltiler .....	23
3.2. Yöntem .....	24
3.2.1. DNA izolasyonu .....	24
3.2.2. DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi .....	27
3.2.3. RAPD-PCR Analizi .....	28
3.2.4. Elektroforez .....	30
3.2.5. DNA bantlarının değerlendirilmesi .....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	32
4.1. DNA İzolasyonu .....	32
4.2. RAPD-PCR Analizleri .....	33
4.3. Benzerlik İndeksi ve Dendrogram .....	40
4.4. Tartışma .....	42
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	46
KAYNAKLAR .....	49
ÖZGEÇMİŞ .....	54

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI MEŞE GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD-PCR TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Özgür ÇELİK

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Tijen DEMİRAL SERT  
Yıl: 2016, Sayfa: 55

Bu çalışmada, DNA markörlerinden RAPD markörü kullanılarak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yayılış gösteren meşe genotipinin (*Quercus brantii*, *Quercus infectoria* subsp. *boissieri* ve *Quercus coccifera*), 7 farklı lokasyondan örneklenen popülasyonları arasındaki genetik akrabalık ilişkileri belirlenmiştir. RAPD-PCR analizi için dizayn edilen 56 primerden amplifikasyon durumuna göre 53 primer kullanılmıştır. 53 primerden toplam 627 bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 616'sı polimorfik bant olarak belirlenmiştir. Polimorfizm oranı % 98,25 olarak tespit edilmiştir. Primerler değerlendirilmeye alındığında en fazla sayıda DNA bantları OPH-19 primerinden (21 bant), en az sayıda DNA bantları ise 4 bant ile OPH-20 ve OPJ-06 primerlerinden elde edilmiştir. En yüksek genetik benzerlik 0,450 ile Diyarbakır-Çermik ve Şanlıurfa-Siverek'ten toplanan mazı meşesi (*Quercus infectoria* subsp. *boissieri*) popülasyonları arasında gözlenmiştir. En düşük genetik benzerlik ise 0,102 ile Adıyaman-Palanlı'dan toplanan kermes meşesi (*Quercus coccifera*) ve Şanlıurfa-Siverek'ten toplanan mazı meşesi (*Quercus infectoria* subsp. *boissieri*) genotipleri arasında belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Meşe, *Quercus brantii*, *Quercus infectoria* subsp. *boissieri*, *Quercus coccifera*, RAPD-PCR, genetik çeşitlilik

## ABSTRACT

MSc Thesis

### DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY OF SOME OAK GENOTYPES FROM SOUTHEASTERN ANATOLIA REGION BY RAPD-PCR TECHNIQUE

Özgür ÇELİK

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tijen DEMİRAL SERT  
Year: 2016, Page: 55

Genetic kinship among populations of oak genotypes (*Quercus brantii*, *Quercus infectoria* subsp. *boissieri* and *Quercus coccifera*) sampled from 7 different locations in Southeastern Anatolia region was investigated by using RAPD marker of DNA markers in this study. Based on RAPD-PCR analyses, 53 primers out of 56 were found polymorphic. Polymorphic primers detected 627 DNA bands and 616 (98.25 %) of them were found polymorphic. The highest number of bands (21 DNA bands) were obtained from the primer OPH-19 whereas the smallest number of bands (4 DNA bands) were attained from the primers OPH-20 and OPJ-06. The highest genetic similarity (0.450) was found between *Quercus infectoria* subsp. *boissieri* populations sampled from Diyarbakır-Çermik and Şanlıurfa-Siverek. However, the lowest genetic similarity (0.102) was detected between the genotypes *Quercus coccifera* sampled from Adıyaman-Palanlı and *Quercus infectoria* subsp. *boissieri* sampled from Şanlıurfa-Siverek.

**KEY WORDS:** Oak, *Quercus brantii*, *Quercus infectoria* subsp. *boissieri*, *Quercus coccifera*, RAPD-PCR, genetic diversity

## TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek Lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca beni her konuda yönlendiren, destekleyen ve bana gerekli imkan ve koşulları sağlayan, her koşulda yanımda olan Danışman Hocam Doç. Dr. Tijen DEMİRAL SERT'e, Yüksek Lisans'a beraber başladığımız günden beri maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan ve araştırmanın her aşamasında desteğini esirgemeyen sevgili dostum Semra ALMAS'a, İstanbul Kültür Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarı'nda, moleküler analizlerin ve istatistiksel hesaplamaların yapılmasında yardımcı olan Sayın Hocam Doç. Dr. Özge ÇELİK'e ve öğrencisi Enes Yağız AKTAŞ'a, zorlu arazi koşullarında deneysel materyallerin toplanmasında yol boyunca bize eşlik eden ve manevi desteğini esirgemeyen Öğretim Gör. Mustafa SERT'e, laboratuvar çalışmalarında emekleri geçen Hocam Öğretim Gör. Hatice Tosyagülü ÇELİK'e, ve değerli arkadaşım Ayşegül Çiftçi'ye, DNA kalite ve miktar tespitlerinde laboratuvarlarındaki ekipmanları kullanmamızda yardımcı olan Prof. Dr. Nihat DİLSİZ'e, görüntüleme sistemleri ile jellerin görüntülenmesine yardımcı olan Doç. Dr. Lokman VARIŞLI'ya, bitki materyallerinin toplanmasında yardımcı olan Şanlıurfa Orman Bölge Müdürlüğü Şanlıurfa Orman İşletme Şefi Hakan DEMİRBAĞ'a, Adıyaman Orman İşletme Şefi Mehmet GÜRKAYNAK'a ve ekip arkadaşlarına, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü'ne (HÜBAK) teşekkür ederim.

Eğitim hayatım süresince sabırlarını, maddi ve manevi olarak desteklerini benden esirgemeyen başta rahmetli abim ve babam'a, en büyük dayanağım olan annem'e ve tüm aileme teşekkür ederim.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 2.1.	Türkiye'de doğal olarak yetişen meşe türlerinin konumları.....	6
Şekil 2.2.	Quercus infectoria Olive Subsp. boissieri (Mazı Meşesi)'nin Türkiye haritasında yayılışı .....	7
Şekil 2.3.	Quercus coccifera L. (Kermes Meşesi)'nin Türkiye haritasında yayılışı .....	8
Şekil 2.4.	Quercus brantii Lindl. (Kara Meşe)'nin Türkiye haritasında yayılışı .....	9
Şekil 2.5.	RAPD Reaksiyonunun şematik gösterimi RAPD1 ve RAPD2 Reaksiyonları için bir çift primer ve iki tane farklı kalıp DNA kullanılmıştır. Oklar reaksiyona katılmış olan aynı diziyeye sahip primerin kopyalarıdır. Okların yönü DNA sentez yönünü belirlemektedir. Sayılar kalıp DNA'da primerlerin bağlanma bölgelerini göstermektedir .....	17
Şekil 3.1.	Çalışma materyali olarak kullanılan meşe genotiplerine ait genç yapraklar.....	22
Şekil 3.2.	DNA izolasyonu işlem basamakları. A. Örneklerin havanda ezilmesi işlemi; B. CTAB tamponunun eklenmesi;C. 65 °C'de inkübasyon; D. Kloroform:İzoamilalkol eklenmesi; E. Üst fazın gözlemlenmesi; F. Üst fazın yeni ependorfa aktarılması; G. Santrifüj aşaması; H. DNA'ların kurutulması;I. DNA'ların çözünmesi için TE Buffer'ın eklenmesi; J. RNase A'nın eklenmesi. ....	26
Şekil 3.3.	Meşe yapraklarından izole edilen DNA konsantrasyonunun belirlenmesi .....	27
Şekil 3.4.	Meşe yapraklarından izole edilen gDNA'ların % 1'lik agaroz jelde yürütülmesi .....	27
Şekil 3.5.	A. PCR reaksiyon karışımının hazırlanması; B. PCR işlemi .....	29
Şekil 3.6.	PCR ürünlerinin elektroforez tankındaki jele yüklenmesi .....	30
Şekil 3.7.	Çalışmada kullanılan DNA markörü (1 kb DNA Ladder, Fermentas). ....	30
Şekil 4.1.	Meşe genotiplerine ait gDNA'ların % 1'lik agaroz jeldeki görüntüsü .....	33
Şekil 4.2.	OPH-01 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	35
Şekil 4.3.	OPH-02 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	36
Şekil 4.4.	OPH-05 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	36
Şekil 4.5.	OPH-17 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	37
Şekil 4.6.	OPK-01 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	37
Şekil 4.7.	OPK-07 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	38
Şekil 4.8.	OPK-08 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü.....	38
Şekil 4.9.	OPB-04 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü .....	39
Şekil 4.10.	OPB-09 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü .....	39
Şekil 4.11.	OPB-13 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü .....	40
Şekil 4.12.	RAPD markör analizi sonucu NTSYS pc version 2.1 programı ile elde edilen dendrogram.....	41

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 2.1. Meşe türlerinin sınıflandırılması ile türlere ait genel özellikler .....	5
Çizelge 2.2. Yaygın olarak kullanılan DNA markör yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması .....	14
Çizelge 3.1. Çalışmada toplanmış olan meşe genotipleri ve bu genotiplerin toplandığı lokasyon bilgileri .....	21
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan meşe türlerinin genel özellikleri .....	23
Çizelge 3.3. DNA izolasyonunda kullanılan ekstraksiyon tamponu çözeltisinin içeriği .....	24
Çizelge 3.4. PCR bileşenlerinin konsantrasyonları ve kullanım miktarları .....	28
Çizelge 3.5. PCR reaksiyon koşulları .....	28
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan primerler ile bu primerlere ait baz dizileri.....	29
Çizelge 4.1. DNA örneklerinin nanodrop spektrometrik ölçüm değerleri .....	32
Çizelge 4.2. Çalışma içerisinde kullanılan primerlere ait monomorfik, polimorfik ve toplam bant sayısı ile polimorfizm oranı .....	34
Çizelge 4.3. Meşe genotiplerinde Jaccard'a göre benzerlik matrisi .....	41

## SİMGELER DİZİNİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)
bç	: Baz çifti
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler)
CTAB	: Setil trimetil amonyum bromür
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: deoksिनुकлеотидтрифосфат
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
gDNA	: Genomik Deoksiribo Nükleik Asit
gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat (Basit Sekanslar Arası Tekrarlar)
kb	: kilobaz
L	: Litre
LiCl	: Lithium chloride
M	: Molar
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
ng	: Nanogram
NTSYS-pc version 2.1	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System ( Sayısal Taksonomi ve Değişkenli Analiz Sistemi)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVP	: Polivinilpirolidon
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rasgele Çoğaltılmış DNA polimorfizmi)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RNase A	: Ribonükleik asiti parçalayan enzim
rpm	: revolution per minute (Dakikadaki döngü)
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions (Amplifiye Edilmiş Karakterize Dizi Bölgesi)
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism ( Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm)
SSR	: Simple Sequence Repeat (Basit Sekans Tekrarları)
STS	: Sequence Tagged Site (Dizisi Etiketlenmiş Bölge)
TAE	: Tris/Asetik Asit/EDTA (tampon çözeltisi)
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TE	: Tris-EDTA (Buffer)
Tm	: Erime sıcaklığı
Tris-HCl	: Tris hidroklorür
U/μL	: Ünite/mikrolitre
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average (Ölçülmemiş Grupların Aritmetik Ortalaması)
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

## 1. GİRİŞ

Türkiye ormanlık alan olarak zengin bir ülke değildir. Ülkemizin % 27.2'si ormanlarla kaplıdır ve bu yüzdeler oran 21 188 747 hektarlık alana tekabül etmektedir (Anonim, 2006a). Ormanlık alanların % 61'ini (13 220 721 ha) iğne yapraklı (ibrelili) ormanlar (Karaçam, Sarıçam, Kızılcı, Sedir, Ladin, Gökna, gibi ağaç türleri), % 39'unu (8 447 413 ha) ise yapraklı ormanlar (Kestane, Meşe, Kızılağaç, Kayın ve Gürgen gibi ağaç türleri) kaplamaktadır. Ormanlarda en fazla kızılcı (5 854 673 ha) yayılış göstermekte ve bunu alansal büyüklük sıralamasına göre meşe türleri (5 152 562 ha) takip etmektedir (OGM 2012).

Ormanlarımız; işletme şekilleri bakımından, kuru ve baltalık ormanlar diye ikiye ayrılırlar. Kuru ormanları tohumdan yetişmiş veya yetiştirilmiş, baltalık ormanları ise kök ve kütük sürgünlerinden oluşan ormanlardır. Ülkemizin ormanlık alanının % 73'ü kuru ormanlarından, % 27'si ise baltalık ormanlarından oluşmaktadır. Ormanlık alanımızın % 50'si bozuk vasıftadır. Bozuk orman alanlarımızın büyük bir bölümü meşe, kayın, gürgen, kızılağaç, kestane, dişbudak, akçaağaç gibi yapraklı ağaç türleri ile kaplıdır (Anonim, 2006a).

Ülkemizin orman alanlarının 10.5 milyon hektarı, yaklaşık olarak % 50'lik bir bölümü, verimsiz orman alanlarından oluşmaktadır. Verimsiz orman alanlarının % 40'ı olan 4.0 milyon hektarlık alan, meşe ağırlıklı olmak üzere geniş yapraklı ağaç türlerinden oluşan sürgünden yetişmiş (baltalık) verimsiz ormanlar ile kaplıdır (Anonim, 2006b).

Günümüzde Türkiye'de meşe ormanlarının kapladığı genel alan 6.5 milyon hektardır. Bunun yaklaşık, 5 750 000 ha'ı baltalık, bozuk baltalık ve çalılık ormandır, geriye kalan 750 000 ha'ı alanı ise korudur (Soykan,1969). Kuzey Yarıküre'nin çeşitli bölgelerinde dağılmış olan yaklaşık 450 meşe türü bulunmaktadır. Eski bir Angiosperm cinsi olan meşe, Magnoliaceae ve Lauraceae türleri ile birlikte ikinci zamanın son bölümünde (Kretas) çok miktarda bulunmaktaydı (Kasaplıgil, 1992).

Meşeler çoğunlukla ağaç veya boylu çalı halinde bulunan, kışın yaprağını döken veya herdem yeşil olup bir cinsli bir evcikli odunsu bitkilerdir. Çoğunlukla tepe tomurcuğunun altında, kısa internodlarla birkaç tomurcuk olması, meşelerin karakteristiğidir. Yaprakların kenarları dişli, loplu ve ender olarak tamdır. Yapraklar değişik boyutta olup, kısa veya uzun saplıdır. Meyveleri fişek biçimindedir. Çoğunlukla bir yılda olgunlaşır. Bazı taksonlarında ise iki yılda olgunlaşır (Özer ve Bul, 1998). Tür zenginliği, kapladığı alan, odun ve yan ürünlerinin kullanma yerinin çeşitliliği bakımından ülkemiz için son derecede değerli olan meşe türlerinin, yetiştirme ve kullanma amaçları yönünden teşhisi de büyük bir önem taşımaktadır (Yaltırık, 1984).

Türler uzun yıllarda meydana gelen değişikliklere ve olumsuzluklara adaptasyonunu genetik çeşitlilik ile sağlamaktadır. Genetik çeşitlilik, türlerin evrimleşmesinin temelini oluşturmaktadır. Türlerin genetik çeşitliliklerinin yapısının ve miktarının belirlenmesi, gen kaynaklarının etkili korunması açısından önemli olduğundan popülasyon genetiği ilkeleri ile birlikte diğer biyolojik bilgilerin bu popülasyonların işletim ve yönetiminde kullanılması gerekmektedir (Tayanç ve ark., 2012). Bitki genetik kaynakları, genetik çeşitlilik için önemli olup bitki türünün gen havuzundaki kalıtsal bilginin zenginliğini ve çeşitliliğini içermektedir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonu, asıl olarak tohum örnekleri veya popülasyonlardaki genetik varyasyonun dağılım ve miktarının ortaya konması amacıyla yapılır. Bu amaçla genetik kaynakların toplanması, kullanımı ve korunmasına ilişkin çalışmalar ayrı bir önem arz etmektedir. Bitkisel gen kaynaklarının ıslah programlarında daha etkin biçimde kullanılmasında ve korunmasında son yıllarda rekombinant DNA teknolojisi, moleküler genetik ve doku kültürü gibi konuları kapsayan tekniklerle yeni olanaklar sağlanmıştır (Özgen ve ark., 2009).

Gen kaynaklarının korunmasında gerekli olan stratejileri oluşturmada ilk basamak olan genetik çeşitliliğin belirlenmesi için moleküler markör önemli bir kaynaktır. Moleküler markörler genomda yer alan herhangi bir gen bölgesini veya gen bölgesini ilgilendiren DNA parçasını temsil ederler. Polimer Zincir Reaksiyonunun (PCR) keşfedilmesinden sonra Basit Dizi Tekrarları (SSR), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm (AFLP), Dizi İlişkili Çoğaltılmış

Polimorfizm (SRAP), Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) ve Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) gibi yaygın bir şekilde kullanılan birçok moleküler markör yöntemleri geliştirilmiş olup bu moleküler markör yöntemleri filogenetik çalışmalar, gen keşfinde ve etiketlemede, fiziksel haritalamada, genetik çeşitlilik ve evrimsel genetik çalışmaları gibi birçok alanda kullanılmaktadırlar (Filiz ve Koç, 2011).

Bitkilerde genetik çeşitliliği tahmin etmek için RAPD ve ISSR gibi farklı genomlar boyunca çoklu lokuslu örnekler verebilen dominant markörler (seçiciler) kullanılmaktadır (Albertson ve ark., 1999; El-Rabey ve ark., 2002). Bu yüzden, filogenetik akrabalıkları çözmek için dominant markörlerin kullanım başarısında ISSR (Joshi ve ark., 2000; Wolfe ve Randle, 2001) ve RAPD (Bowditch ve ark., 1993; Spooner ve ark., 1996) yaygın biçimde kullanılan yöntemlerdir. RAPD yöntemi, 9-10 baz uzunluğunda rastgele seçilen sentetik DNA'ların kalıp DNA'da bulunan iki iplikçikte, birbirine karşı olan iki ayrı nokta da tamamlayıcılarını bulup, bu ara bölgeyi çoğaltan nükleotid dizi polimorfizminden oluşmaktadır (Welsh ve McClelland, 1990; Williams ve ark., 1990; Ergül, 2000).

Türlerin teşhisinde kullanılan morfolojik markörler çevre ile etkileşimlerinden dolayı türler arasındaki genetik akrabalıkları her zaman yansıtmamaktadır. Fakat DNA markörleri genetik akrabalık çalışmalarında ideal belirteçler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada, DNA markörlerinden RAPD markörü kullanılarak, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yayılış gösteren meşe cinsine ait bazı türler arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Meşe (*Quercus* L.)

*Quercus* L. (meşe) cinsi Kuzey Yarımkürenin ılıman bölgelerinin ve tropik bölgelerinin yüksek dağlık kısımlarda 200'den fazla tür, fazla sayıda alt tür, varyete ve doğal hibritleriyle geniş ormanlar olarak bulunmaktadır. Dünya' da 450 türü bulunmakta ve Türkiye'de 4 tanesi endemik olup, doğal yayılış gösteren 18 *Quercus* türünden 6 tanesinin 11 alt türü bulunmaktadır (Hedge ve Yaltırık, 1982; Yaltırık, 1984).

Bunlardan; Kasnak Meşesi (*Quercus vulcanica*), İspir Meşesi (*Quercus macranthera* subsp. *sympirensis*), Boz Pırnal Meşesi (*Quercus aucheri*) ve Sapsız Meşe (*Quercus petraea*) endemik olan meşe türlerimizdir. Doğu Karadeniz Meşesi (*Quercus pontica*) ise relikt olan meşe türümüzdür (Genç, 2009).

Meşeler; çoğunlukla ağaç bazen de ağaççık, boylu çalı görünümünde, kışın yapraklarını döken veya herdem yeşil, bir cinsli, bir evcikli (monoik), rüzgarla tozlaşan (anemogam) ve Türkiye florasında önemli yere sahip olan odunsu bitkilerdir (Yaltırık, 1988). Meşe bitkilerin kökleri derinlere kadar iner. Yapraklar, değişik boyutta olup kenarları dişli, loplu, ender olarak da tam, uzun veya kısa saplıdırlar. Erkek çiçekler dihyazyum halinde değildir. Dişi çiçeklerde dihyazyumun yalnız orta çiçeği gelişmiştir. Ovaryum 3, ender olarak 4-5 gözlüdür (Yaltırık, 1988). Meyveler silindir, fişek veya yumurta biçiminde olup, alt bölümü bir kadehçik (kupula) içine oturmuştur. Kadehin dış yüzü sık kadeh pulları ile örtülmüştür. Pulların sık veya gevşek, uzun veya kısa şekilli olması bazı taksonlar için tanı özelliği taşımaktadır (Yaltırık, 1988).

Meşe cinsinin yetişme ortamları; genel olarak ortalama yağışın 350 mm üzerinde olup, su tutma kapasitesinin fazla olduğu ve yeteri kadar kil içeren topraklardır (Yaltırık, 1988). Türkiye'de yetişen meşeler; yaprak ve kabuk özelliklerine, meyvelerinin olgunlaşma süresine ve odunlarının anatomik yapılarına

göre Akmeşeler, Kırmızı meşeler ve Herdem Yeşil Meşeler olarak 3 gruba ayrılırlar (Yaltırık, 1988). Bu meşeler genel özellikleri ile Çizelge 2.1. de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Meşe türlerinin sınıflandırılması ile türlere ait genel özellikler (Öztürk, 2013)

MEŞELER		
1. AK MEŞELER	2. KIRMIZI MEŞELER	3. HERDEM YEŞİL MEŞELER
Bu gruba giren meşe taksonlarının yapraklarında yaprak lobları veya dişler, Kırmızı meşelerde olduğunun aksine kılçıksı-dikensi bir yapıya sahip değildir ( <i>Q. pontica</i> hariç). Meyve (palamut) olgunlaşması 1 yılda tamamlanır. Çoğunlukla meyvenin iç yüzü çıplak ve tohumlar daha az tanenli olup tatlıdır.	Öz odunları Ak meşelere nazaran daha koyu kırmızımsı kahverengi renktedir. Bu gruba dahil meşe taksonlarının yaprak lobları ucunda kılçıksı-dikenli çıkıntılar bulunur. Çoğunlukla meyve (palamut) 2 yılda olgunlaşır. Meyvenin iç yüzü genellikle tüylüdür ve tohumları acı lezzettedir.	Yaprak, tam kenarlı veya kenarları dişli-sert dikenli ve deri gibi serttir. Meyve (palamut) 1 ya da iki yılda olgunlaşır.
<i>Q. robur</i> subsp. <i>robur</i> <i>Q. robur</i> subsp. <i>pedunculiflora</i> <i>Q. petraea</i> subsp. <i>petraea</i> <i>Q. petraea</i> subsp. <i>iberica</i> <i>Q. petraea</i> subsp. <i>pinnatiloba</i> <i>Q. hartwisiana</i> , <i>Q. frainetto</i> <i>Q. vulcanica</i> , <i>Q. pontica</i> , <i>Q. pubescens</i> <i>Q. infectoria</i> subsp. <i>infectoria</i> <i>Q. infectoria</i> subsp. <i>boissieri</i> <i>Q. virgiliana</i> <i>Q. macranthera</i> subsp. <i>syspirensis</i>	<i>Q. libani</i> <i>Q. trojana</i> subsp. <i>trojana</i> <i>Q. trojana</i> subsp. <i>yaltirikii</i> <i>Q. cerris</i> var. <i>cerris</i> <i>Q. cerris</i> var. <i>austriaca</i> <i>Q. brantii</i> <i>Q. ithaburensis</i> subsp. <i>macrolepis</i> (syn. <i>Q. aegilops</i> )	<i>Q. aucheri</i> <i>Q. coccifera</i> <i>Q. ilex</i>

Türkiye’de doğal olarak yetişen meşe türlerinin konumları ise Şekil 2.1. de gösterilmiştir.

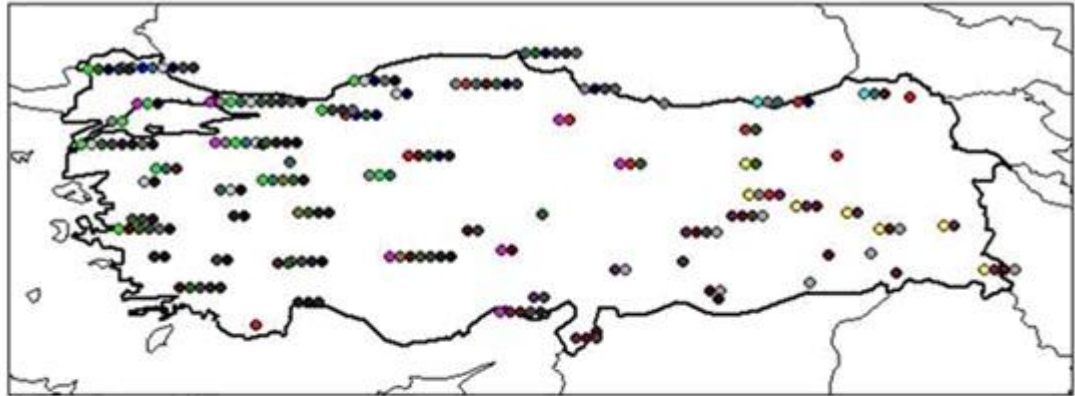
### 2.1.1. *Quercus infectoria* Oliv. Subsp. *Boissieri* (Reuter) O. Schwarz (Mazi Meşesi)

2-20 m’ye kadar boy ve 80 cm’ye kadar çap yapabilen geniş tepeli, yarı daimi ve yeşil çalı ya da ufak ağaçtır. Genç sürgünler sarımtırak veya kırmızımtırak kahverengindedir. İnce tüylü olan görünümü daha sonralarda çıplaklaşır. Tomurcukları kestane kırmızısı renğinde olup, pulların kenarı kirpiklidir. Mazi meşesinin genel yayılış alanı Güney Avrupa’dan İran ve Suriye’ye kadar



uzanmaktadır. Türkiye'deki en geniş yayılış alanı Batı, Güney ve Güneydoğu Anadolu'da olan bu meşe taksonuna Marmara ve Batı Karadeniz Bölgelerinde de rastlanılmaktadır (Yaltırık, 1984).

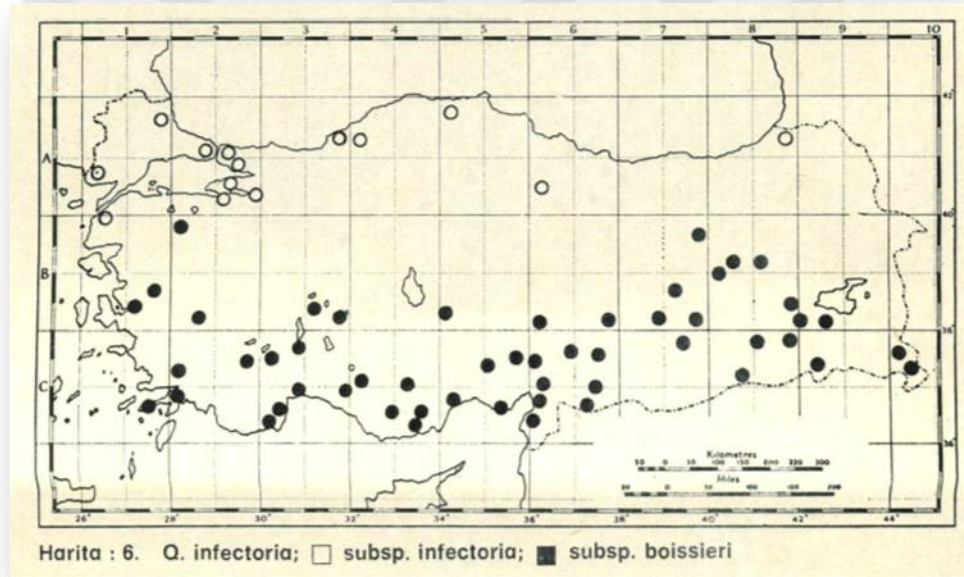
Bu alt tür; Batı, İç Doğu, Güney ve Güneydoğu Anadolu'da (Bilecik, Ankara, Kalecik, Kastamonu Tosya, Çoruh Borçka, İzmir Bornova, Balıkesir Dursunbey, Konya Ilgın, Niğde Aksaray, Hasan Dağı, Malatya Darende, Elazığ Hazar Gölü, Bingöl, Kemah-Yolçatı, Bitlis Baykan, Muğla Datça, Burdur Bucak, İçel; Adana Karataş, Urfa Siverek, Siirt-Diyarbakır, Mardin; Cudi Dağı, Hakkari Yüksekova-Şemdinli) 200-1850 metre yükseltiler arasında, saf buk ve ormanlar kurduğu gibi diğer meşe taksonları ile *Paliurus*, *Pinus brutia* ile karışıklığa girer veya maki ve antropojen step vejetasyonu içerisinde yer alır. Subsp. *boissieri*'nin yaprakları çoğunlukla mavimtrak-yeşil renklidir. Güneydoğu Anadolu'da yetişen ağaçların yaprakları oldukça büyüktür (Yaltırık, 1984). *Quercus infectoria* Olive Subsp. *boissieri* (Mazı Meşesi)'nin Türkiye haritasındaki yayılışı Şekil 2.2. de bulunmaktadır.



- |  |  |
|--|--|
| ● <i>Quercus robur</i> alttür <i>robur</i>             | ● <i>Quercus pubescens</i>                             |
| ● <i>Quercus robur</i> alttür <i>pedunculiflora</i>    | ● <i>Quercus virgiliana</i>                            |
| ● <i>Quercus hartwissiana</i>                          | ● <i>Quercus cerris</i> varyete <i>cerris</i>          |
| ● <i>Quercus macranthera</i> alttür <i>svspirensis</i> | ● <i>Quercus cerris</i> varyete <i>austhaca</i>        |
| ● <i>Quercus frainetto</i>                             | ● <i>Quercus ithaburensis</i> alttür <i>macrolepis</i> |
| ● <i>Quercus petraea</i> alttür <i>petraea</i>         | ● <i>Quercus brantii</i>                               |
| ● <i>Quercus petraea</i> alttür <i>iberica</i>         | ● <i>Quercus libani</i>                                |
| ● <i>Quercus petraea</i> alttür <i>pinnatiloba</i>     | ● <i>Quercus trojana</i>                               |
| ● <i>Quercus vulcanica</i>                             | ● <i>Quercus ilex</i>                                  |
| ● <i>Quercus infectoria</i> alttür <i>infectoria</i>   | ● <i>Quercus aucheri</i>                               |
| ● <i>Quercus infectoria</i> alttür <i>boissieri</i>    | ● <i>Quercus coccifera</i>                             |

Şekil 2.1. Türkiye'de doğal olarak yetişen meşe türlerinin konumları (Akkurt, 2016)

Mazı meşesi denilmesinin sebebi patolojik bir oluşum olan mazıların (gallae) en fazla bu meşe taksonu üzerinde görülmesinden ileri gelmektedir (Yaltırık, 1984). Mazı meşesi türüne ismini veren mazılar, mazı arılarının tomurcukların üzerine yumurtalarını bırakması sonucu oluşmaktadır. Bırakmış oldukları yumurtaların etrafı şekerli, proteinli ve yağlı bir tabakadan oluşmakta ve bu tabakanın dışı ise bol tanen içeren bir dış tabakadan oluşmaktadır. Arı krizalitle larva dönemlerini mazının içerisinde geçirirler. Olgunlaşınca da mazıyı delip dışarı çıkarlar. Yüksek oranda tanen bulunduran mazılar eski zamandan beri boyacılıkta, dericilikte ve ilaç olarak da kullanılmıştır. Bu mazı arıları diğer meşelere de yumurta bırakırlar ancak en fazla mazı meşesini tercih ederler (Öztürk, 2013).



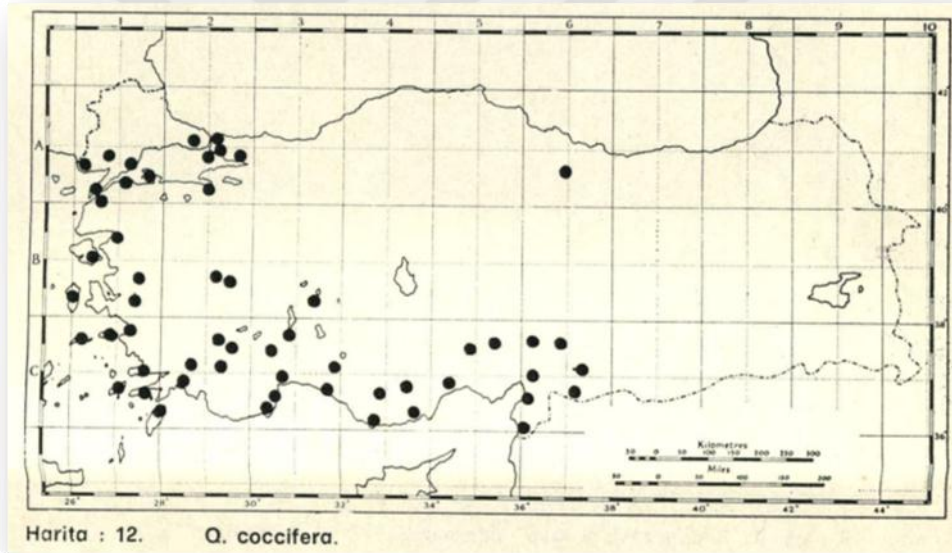
Şekil 2.2. *Quercus infectoria* Olive Subsp. *boissieri* (Mazı Meşesi)'nin Türkiye haritasında yayılışı (Yaltırık, 1984)

### 2.1.2. *Quercus coccifera* L. (Kermes Meşesi)

Her zaman yeşil, sık dallı çoğunlukla 2-3 metre boylanabilen çalı ya da ender olarak 8-10 metreye kadar boylanabilen küçük bir ağaçtır. 2-5 cm boylu, 1-3 cm genişliği ile deri gibi sert olan eliptik yaprakların kenarları sert, sivri, dişli ve baticıdır. Alt yüz mat, üst yüz parlak yeşildir. Her iki yüzü çıplak ve çok kısa saplıdır. Yaprak ayası dalgalı veya düz olabilir. Taze yaprakları bazen koyu kırmızı-

pembe renktedir. Çoğunlukla tek bir gövde yapmazlar ancak yaptığında ise 40-50 cm çapa kadar ulaşabilirler. Gövde kabuğu kahverengi-gri ve pullu, dikey çatlaklıdır. Dişi çiçek ve erkek çiçek aynı ağaç üzerinde yer alırlar. Dişi çiçekler kırmızı renkli olup boyu 1-1.5 mm'dir. Erkek çiçekler sarı-kırmızı renkte olup 3-4 cm boyunda yatay veya sarkık kurullar oluşturur (Mamıkoğlu, 2012).

Kermes Meşesi Akdeniz Bölgesi'nin tipik bir bitkisidir. Ülkemizde Marmara, Ege, Akdeniz bölgelerindeki maki, frigana vejetasyonları ile kızılçam (*Pinus brutia*) ve fıstık çamı (*Pinus pinea*) ormanlarının egemen (dominant) elemanıdır. Karadeniz bölgesinde ise örneğin; Zonguldak, Giresun'un batısı, Tokat Niksar gibi yer yer lokal olarak bulunur. Bu meşe türü ülkemizde en yaygın olanıdır (Yaltırık, 1984). Türün Türkiye haritasındaki yayılışı Şekil 2.3. de verilmiştir.



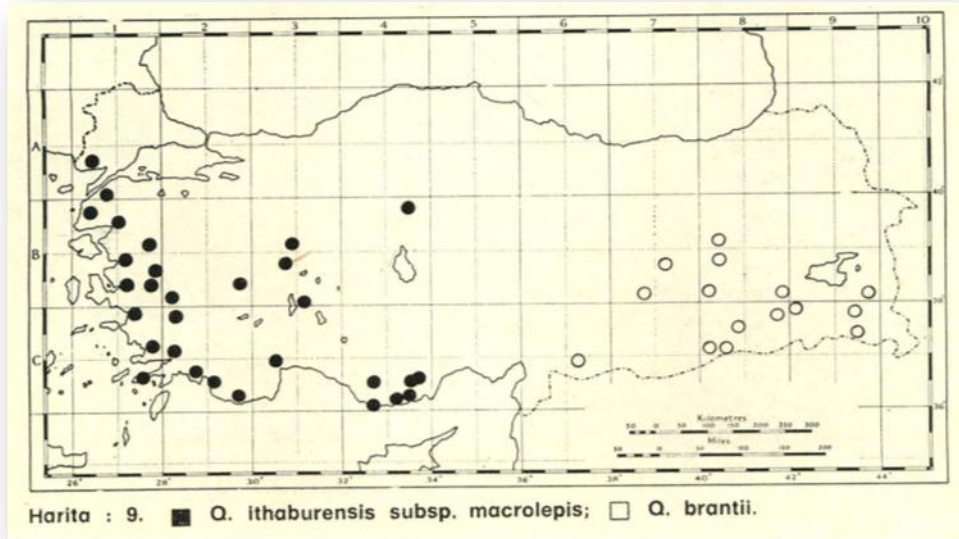
Şekil 2.3. *Quercus coccifera* L. (Kermes Meşesi)'nin Türkiye haritasında yayılışı (Yaltırık, 1984)

### 2.1.3. *Quercus brantii* Lindl. (Kara Meşe)

Kışın yaprağını döken geniş tepeli, kalın dallı bir ağaçtır. 10 metreye kadar boylanabilir. Pek çok özelliği bakımından Anadolu Palamut Meşesi'ne benzer (Yaltırık, 1984). Kahverengi, gri gövdesi genç yaşlarda çatlaksız ve parlaktır. İleri yaşlarda çatlaklaşır. 6-19 cm boyunda 3-6 cm genişliğinde yumurta ya da elips

biçimindeki yaprakların kenarları dişlidir. Dişlerin uç kısmı sivri ve kılıksıdır. Kalın ve deri gibi sert olan yaprağın alt yüzü açık gri renkte yıldız tüylü, üst yüzü ise donuk gri yeşil tüsüzdür. Yaprak sapı 5-20 mm uzunluğundadır. Dişi ve erkek çiçekler aynı ağaç üzerinde yer alır. Erkek çiçeklerin rengi açık sarı-yeşil renktedir ve ince bir eksen üzerinde sarkık kurullar oluşturur. Dişi çiçekler ise açık yeşil-sarı-pembe renkte ve 1-1.5 mm boyundadırlar. Taze filiz ve yapraklar gibi ince tüylerle kaplı olup 2.5-3 cm çaplı kadeh palamudun 3'te 1'ini örter. Kısa kalın ve tüylü saplıdır. 2 yılda olgunlaşır (Mamıkoğlu, 2012).

Coğrafik yayılış alanları Türkiye, Kuzey Irak, Kuzey Suriye, Batı ve Güney İran'dır. Türkiye'de ise Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da doğal yayılış gösterir (Şekil 2.4.). Malatya, Elazığ, Siirt, Şanlıurfa, Bitlis, Diyarbakır, Mardin, Hakkâri ve Kahramanmaraş İran Palamut Meşesi'nin yetiştiği illerdir. Malatya Darende-Akçadağ, Elazığ, Hazar Gölü, Siirt Baykan, Bitlis, Maraş Göksun, Yemiş Dağı, Urfa, Karacadağ, Siverek, Diyarbakır, Mardin Mazıdağı, Hakkâri Çukurca, Cilo Dağı gibi yörelerde 350-1700 metre yükseltiler arasında saf bükler veya çalılıklar oluşturduğu gibi diğer meşe türleri, kızılçam, *Pistacia eurycarpa*, *Pyrus* spp. ile karışıklığa girer ve çoğunlukla ana taşı kalkerli yerlerde görülür (Yaltırık, 1984).



Şekil 2.4. *Quercus brantii* Lindl. (Kara Meşe)'nin Türkiye haritasında yayılışı (Yaltırık, 1984)

## 2.2. Genetik Markörler

Kalıtım şekilleri morfolojik (meyve kabuğu gibi fenotipik), biyokimyasal (tohum kabuğu proteinleri gibi) ve DNA seviyesinde (moleküler belirteçler) izlenen karakterlere genetik markör denir. Bu karakterlerin markör olarak adlandırılmasının sebebi, çalışılan organizmadaki ilgilenilen bazı özelliklerin genetiği hakkında dolaylı olarak bilgi vermeleridir (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Genetik markörler; morfolojik (fenotipik), biyokimyasal ve moleküler markörler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

### 2.2.1. Morfolojik (Fenotipik) markörler

Bitki popülasyonu içerisinde bir bitkiyi (yaprak şekli, meyve kabuğu, çiçek rengi, ağaç özellikleri vs.) diğer bitkilerden ayıran belirleyici özellik, o genotipi diğer genotiplerden ayırt eden markör olarak değerlendirilebilir (Gülşen ve Mutlu, 2005). Ancak bu markörlerin sayısının az oluşu, çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmeleri sebebiyle günümüzde pek fazla kullanılmazlar. Bunun yanı sıra birbirine yakın akraba olan genotipler arasında sınırlı seviyede polimorfizmin görülmesi ve bunların dominant olmasından dolayı sadece dominant fenotipin (AA ve Aa) resesif fenotipten (aa) ayırmada kullanılabilmesi morfolojik markörün diğer bir dezavantajıdır (Tzitzikas ve ark., 2009).

Bu özellikteki markörler, genetik düzeyde uzak akraba olan bitki topluluğu arasında etkin bir şekilde kullanılmasına rağmen, yakın akraba olan bitki topluluğu için ayırt edici olarak kullanılan bir markör değildir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

### 2.2.2. Biyokimyasal markörler

Tohum kabuğu proteinleri, yapraklarda bulunan kimyasallar, sekonder metabolitler ve izoenzimler, biyokimyasal markörler grubuna girer. Ancak bu grupta en fazla kullanılan komponentler tohum proteinleri ile izoenzimlerdir. Bu markörlerin maliyeti moleküler markörlere göre daha düşük olup ve daha az iş gücü ile elde edilirler. Ancak bitki türlerinde biyokimyasal markörler bugüne kadar

yeterince üretilememiştir. Bu markörlerdeki varyasyonlar ise translasyon sonrası (post-translational) protein modifikasyonlarından veya kodlayıcı DNA bölgelerindeki benzer olmayan değişikliklerden kaynaklanır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Morfolojik markörlere göre çok daha yaygın kullanılmasıyla birlikte, izoenzimlerin veya proteinlerin azlığı, çevre koşulları, hastalık, stres koşulları gibi faktörlerden etkilenmeleri ve mevsimsel değişimlere, kullanılan dokuya göre farklılık göstermesi bu markörlerin kullanımını sınırlandıran dezavantajlardır (Thomas ve ark., 1993; Aka-Kaçar, 2001).

Bu markörlerin en önemli dezavantajlarından biri çalışma yapılabilinen lokus sayısının az olmasıdır (Gepts, 1990). Diğer bir dezavantajı ise, enzimlerde translasyondan sonra oluşan yapısal değişikliklerdir (Staub ve ark., 1982).

### 2.2.3. Moleküler (DNA) markörler

Moleküler markör DNA'nın aktif bölgesinden ya da herhangi bir genetik bilgiyi kodlamaya sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Tek bir bazın yer değiştirerek bir enzimin kesim noktasını değiştirmesi, DNA parçasının uzunluğunu değiştirerek ilgili gözlem metodunda direkt olarak bir bireyin genotipini temsil eden farklı bir markör ortaya çıkarır. PCR metodunu temel alan gözlemlerde PCR primerinin bağlanacağı bölgedeki bir bazdaki değişiklik de aynı şekilde bir etkiye sahiptir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Moleküler markörlerin, bitki türlerinde genetik çeşitliliği belirlemede iyi birer yöntem oldukları belirtilmiştir (Karp ve ark., 1998). Moleküler markörün kaynağı üretildiği bitkinin DNA'sıdır. Bundan dolayı popülasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin ya da bitki popülasyonundaki çeşitlilik tespitinde % 100'e yakın güvenilirlikle sonuç verirler (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Sistemik çalışmalarda en fazla kullanılan moleküler markörler çeşitli avantajlara sahiptirler. Bunlar; çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomları ayrı ayrı çalışılabilirler, çevre faktörlerinden

etkilenmezler, her bir ebeveynden gelen farklı karakterler tespit edilebildiği için bitkilerin genetik orijini tespit edilebilirler ve genetik değişiklikleri daha fazla yansıtırlar. Moleküler markörlerin diğer avantajları, DNA'yı elde etmek için az miktarda bitki dokusunun kullanması, stabil olması, sonsuz sayıda moleküler markör elde edilebilmesi şeklinde ifade edilmektedir (Williams ve ark., 1990; Gülşen ve Mutlu, 2005). Bu nedenlerle ıslah çalışmalarında bitki materyallerinin seleksiyonu için kullanılan en iyi araçlardan biri DNA markörleridir (Ovesna ve ark., 2002). Moleküler markörler; bitki ıslahında seleksiyon, genetik haritaların oluşturulması, çeşitlerin tanımlanması, akrabalığın belirlenmesi çalışmalarında, filogenetik akrabalıklar ve soyağacı analizlerinde de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Aka-Kaçar, 2003; Canlı, 2008).

Temelde iki farklı DNA markör tekniği vardır. Bunlardan birincisi DNA hibridizasyonuna dayalı RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), ikincisi ise PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı olan DNA markör tekniğidir. PCR tekniği RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length polymorphism) ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) ve SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) tekniklerini içermektedir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Farklı DNA markörlerinin geliştirilmesi türlerin biyolojik özelliklerinden, laboratuvar ve maddi imkân farklılıklarından, teknolojik ihtiyaçlardan ve genetik markörlerin genomda fazla sayıda bulunabilmesinden kaynaklanmaktadır (Powell ve ark., 1996). Markör seçimi bu kriterler göz önünde bulundurularak, amaca uygun bir şekilde yapılır (Gülşen ve Mutlu, 2005). Moleküler markör teknikleri birbirleri ile kıyaslandığında bazı üstün ve zayıf yönler gözlenebilmektedir. Birçok bitki türünde çeşitler arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için hangi moleküler DNA yönteminin en uygun olduğunu belirlemede RFLP, RAPD, AFLP, ISSR ve SSR DNA markör yöntemleri karşılaştırılmış ve polimorfizm açısından AFLP ve SSR yöntemlerini, maliyet açısından ISSR ve RAPD yöntemlerini, tekrarlanabilirlik açısından AFLP, ISSR, SSR ve RFLP DNA yöntemlerinin avantajlı oldukları bildirilmiştir (Powell ve ark., 1996). Çalışılacak laboratuvar olanaklarına göre ISSR

ve RAPD yöntemlerinde radyoaktif maddenin kullanılmadığı ve sınırlı koşulların bulunduğu laboratuvarlarda rahatlıkla kullanılabilceği bildirilmiştir (Powell ve ark.,1996; Russell ve ark.,1997; Pigic ve ark.,1998). Moleküler markör yöntemleri arasında yaygın olarak kullanılanların avantajlarının ve dezavantajlarının karşılaştırılması Çizelge 2.2. de verilmektedir (Budak ve ark., 2004).





Çizelge 2.2. Yaygın olarak kullanılan DNA markör yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması

Markör tipi	Avantajları	Dezavantajları
Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)  Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi	1-Yüksek genetik bilgi 2-Kodominant markörler 3-Yüksek tekrarlanabilirlik 4-Filtreler çok kez kullanılabilir 5-Genomu iyi ifade eder 6-Türler arası kullanılabilir 7-Dizi bilgisi gerektirmez 8-Bitkilerde güvenilir bir şekilde kullanılabilir 9-Klonlama haritası için gereklidir	1-Yüksek miktarda kaliteli DNA gerektirir 2-RAPD'e göre zordur 3-Otomasyona geçmesi zordur 4-Radyoaktif etiketleme gerektirir 5-Probun tanımlanmasını ve klonlanmasını gerektirir
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)  Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA	1-Yüksek genetik bilgi 2-Genomu iyi ifade ederler 3- Orta kalitede az DNA gerektirir 4-Otomasyon için uygun 5- Dizi bilgisi gerektirmez 6-Radyoaktif işaretleme yoktur 7-Nispeten daha kolaydır	1-Dominant markörler 2-Tekrar kopyalanamaz 3-Çok iyi bir test değildir
Simple Sequence Repeat (SSR)  Basit Dizi Tekrarı	1-Yüksek genetik bilgi verir 2-Yüksek tekrarlanabilirlik 3-Genomu çok iyi ifade eder 4-Yüksek polimorfizm 5-Radyoaktif işaretleme yok 6-Otomasyonu kolay 7-Çoklu allellerle çalışılabilir	1-DNA dizi bilgisi gerektirir 2-Çok güvenli değil 3-Bütün türlerde uygulanamaz
Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)  Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi	1-Yüksek genetik bilgi verir 2-Dizi bilgisine ihtiyaç yoktur 3-Türler arası kullanılabilir 4-Yüksek polimorfizm gösterir 5-Yakın haritaları hazırlamada faydalıdır	1-Kullanılan materyallere göre bantların değişimi çok hassastır 2-Kararlı haritalar oluşturamaz 3-Çok iyi primer gerektirir
Sequence Tagged Site (STS)  Dizisi Etiketlenmiş Bölge	1-Kontig haritalarını hazırlamada faydalıdır 2-Radyoaktif işaretlemeler yok 3-Genomu iyi ifade eder 4-Yüksek polimorfizm 5-Filtreler tekrar tekrar kullanılabilir	1-Zor bir tekniktir 2- Dizi bilgisi gerektirir 3- Hedef bölgelerdeki mutasyonu belirleyemez 4-Probun tanımlanmasını ve klonlanmasını gerektirir
Izo Enzimler	1-İzolasyon işlemi DNA izolasyonundan daha kolaydır 2-Türleri karşılaştırmada kullanılabilir 3-Radyoaktif işaretleme yok 4-Dizi bilgisi gerektirmez	1-Uygulaması zor 2-Polimorfizm sınırlıdır 3-Pahalıdır 4-Dokunun alınan yeri bilinmek zorunda 5-Otomasyonu kolay değildir

Moleküler markörlerin yararlılığını morfolojik markörlerden ayrı kılan beş özellik bulunmaktadır (Khan ve Spor, 2001).

1. Pek çok morfolojik markörün fenotipi, yalnızca tüm bitki seviyesinde teşhis edilebilir. Oysa moleküler lokuslar, tüm bitki, doku ve hücre seviyesinde denenebilirler.
2. Alel frekansı, morfolojik markörlerle karşılaştırıldığında moleküler lokuslarda daha yüksek olma eğilimindedir.
3. Morfolojik mutantlar, istenilmeyen fenolojik etkilerle bir arada olmaya meyillidirler.
4. Morfolojik lokustaki alleller, heterozigot genotiplerin tanımlanmasını sınırlayan bir dominant –resesif tarzında birbirini etkiler.
5. Moleküler lokuslar, bir açılım popülasyonundaki bireylerin genotiplerinin belirlenmesine izin veren ko-dominant bir tarz sergilerler. Tek bir moleküler markör, bütün bu ihtiyaçları karşılayamamaktadır. Çeşitli moleküler markörler DNA seviyesinde polimorfizmi ortaya çıkartmaya elverişlidirler.

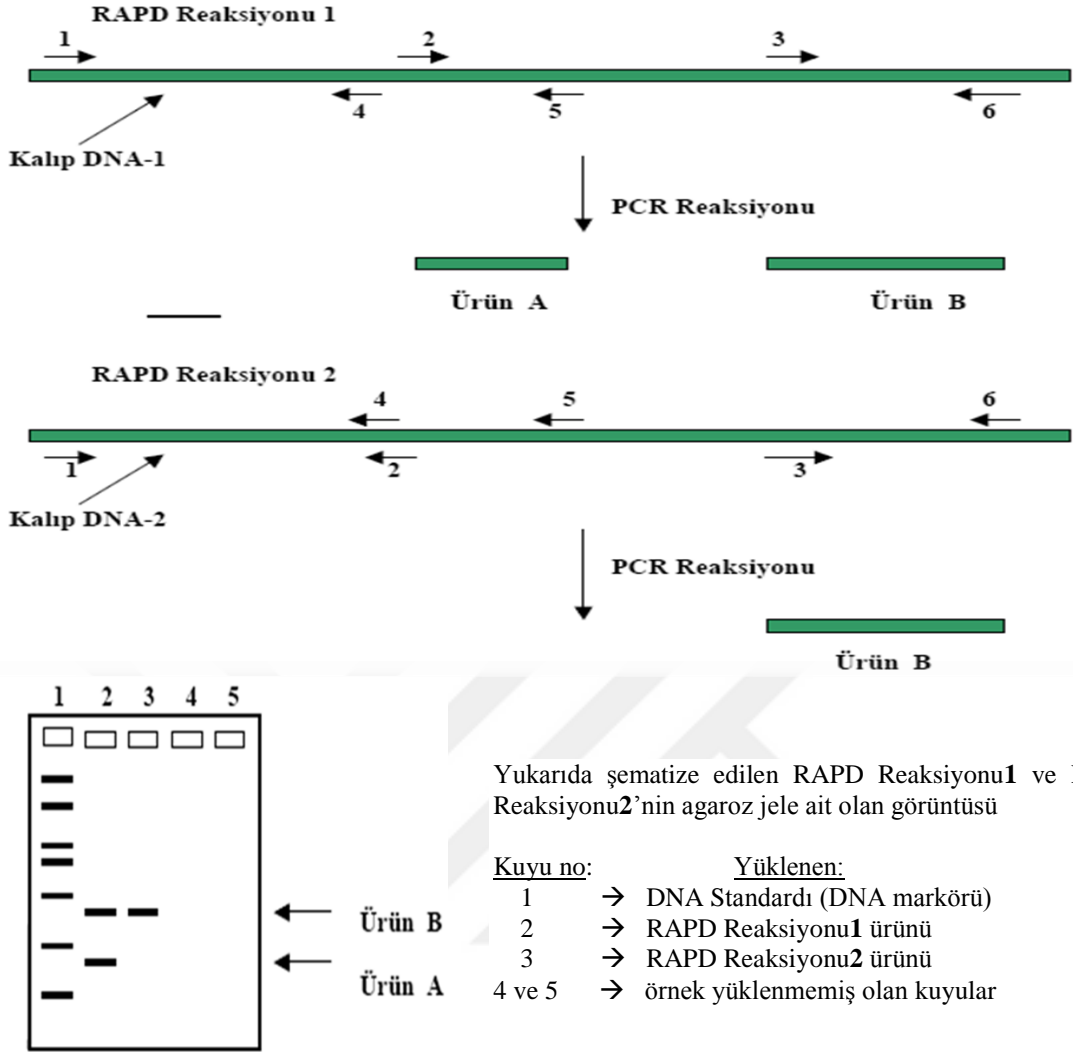
#### **2.2.4. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

RAPD tekniğini ilk kez Williams ve ark. (1990), rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA olarak tanımlamış ve genetik polimorfizmi belirleyen, yeni bir teknik olarak ortaya koymuşlardır. PCR (Polimeraz Zincir reaksiyonu) metoduna dayalı olan teknikte; rastgele dizilimdeki kısa oligonükleotid primerler kullanılarak genomik DNA üzerinde belirlenen parçacıklar çoğaltılmakta olup reaksiyonun gerçekleşmesi için araştırılan genomun baz dizilimi hakkında herhangi bir ön bilgiye ihtiyaç yoktur (Bowditch ve ark., 1993).

RAPD’de bant oluşumu, primerin karşıt iplikçilerinde yaklaşık 200-2000 bp’lik uzunluğundaki iki noktada tamamlayıcılarını bulması ile gerçekleşmektedir (Tingey ve Del Tufa, 1993). Primerin bağlandığı DNA bölgesinde oluşacak genetik değişiklikler bant oluşumunu engelleyecek veya bant yapısını değiştirecektir (Rafalski ve ark., 1991; Waugh ve Powell, 1992). RAPD de 10 bazlık primerlerin seçiminde; G+C içeriğinin % 50-80 olması, 6 bazdan uzun palindrom dizi

içermemeleri ve primerin 3' ucunun komplementer olmaması en önemli faktörler olduğu belirlenmiştir (Williams ve ark., 1993; Rafalski ve ark., 1994).

RAPD tekniği kullanılarak belirlenen DNA polimorfizmi; agaroz jelde RAPD bantlarının varlığı veya yokluğu ile kendini göstermekte ve genomda şekillenen delesyon, insersiyon veya primerlenme bölgelerinde ya da bölgeler arasındaki nükleotid dizilim farkını yansıtmaktadır (Clark ve Lanigan, 1993). RAPD tekniğinin temel prensibi, çalışılacak türe ait olan genomik DNA'da rastgele seçilen 9-10 bp uzunluğundaki oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığıyla DNA'ya tesadüfen bağlanıp PCR işlemi ile çoğaltılmasıdır. Çoğaltılan ürün radyoaktif olmayan jel elektroforezine yüklenir ve çoğaltılan ürüne ait olan bantlar görüntüleme cihazlarında gözlemlenir. Bantların varlığıyla ya da yokluğuyla sonuçların hesaplaması ile değerlendirilmeler yapılmaktadır (Welsh ve McClelland, 1990; Williams ve ark., 1990). DNA ürünleri agaroz jel işlemine tabi tutulduktan sonra PCR örneklerinin hepsinde RAPD bant oluşumu gözlemleniyor ise monomorfik, bazı bireylerde bant gözlemlenmiyor ise polimorfik olarak değerlendirilir (Devrim ve Kaya, 2006). RAPD reaksiyonu şematik olarak Şekil 2.5. de gösterilmektedir.



**Şekil 2.5.** RAPD Reaksiyonunun şematik gösterimi (Özaydın, 2004) RAPD1 ve RAPD2 Reaksiyonları için bir çift primer ve iki tane farklı kalıp DNA kullanılmıştır. Oklar reaksiyona katılmış olan aynı diziyeye sahip primerin kopyalarıdır. Okların yönü DNA sentez yönünü belirlemektedir. Sayılar kalıp DNA'da primerlerin bağlanma bölgelerini göstermektedir (Özaydın, 2004)

1. RAPD reaksiyonunda 2 ve 5 pozisyonlarına bağlanan primerler arasındaki DNA dizisinin çoğaltılmasıyla ürün A oluşurken, 3 ve 6 pozisyonlarına bağlanan primerler arasındaki DNA dizisinin çoğaltılmasıyla ürün B oluşmaktadır. 2. RAPD reaksiyonunda sadece 3 ve 6 pozisyonları arasındaki bölgede bağlanan primerle DNA dizisinin çoğaltılmasıyla ürün B oluşmaktadır (Özaydın, 2004). Reaksiyon 1 ve reaksiyon 2'ye eklenen primerlerin tümünden PCR sonucunda bant elde edilemezken, elde edilebilen bantlar agaroz jelde görüntülenmektedir (Özaydın, 2004). Devrim ve Kaya (2006)'nın belirttiği gibi eğer primerlerden iki tanesi

karşılıklı olarak bulunan iplikçiklerdeki kalıba uygun olan bölgede ve çoğalabilecek uzunlukta (yaklaşık olarak 2500 bp ya da daha az) bağlanma gerçekleştirirse farklı bir parçacığın çoğalması gözlemlenebilir.

RAPD yönteminin güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği birçok farklı çoğaltma değişkenine bağlıdır (Welsh ve McClelland, 1990; Williams ve ark., 1990; Rafalski ve ark., 1994). Bu değişkenlerden en önemlisi hedef DNA'dır. RAPD yöntemini etkileyen diğer değişkenlerse MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu, başlangıç denatürasyonu, Tag DNA polimeraz konsantrasyonu, dNTP konsantrasyonu, primer bağlanması, primer konsantrasyonu, primer karışımları şeklinde sayılabilir. Ayrıca PCR işleminden sonra ortaya çıkan çelişkili sonuçlardan, yabancı DNA ile oluşan kontaminasyona ek olarak kullanılan doku kaynağı, DNA izolasyonundaki varyasyonlar, PCR koşulları ile PCR cihazının tipi de sorumlu olabilirler (Özaydın, 2004).

RAPD yönteminin en büyük avantajları arasında, ucuz olması, çabuk sonuç vermesi, az miktarda DNA kullanılması, yüksek kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulmaması, az sayıda ekipmana gereksinim olması, radyoaktiviteye, Southern transferlere veya DNA hibridizasyonuna gerek duyulmaması şeklinde sayılabilir (Williams ve ark., 1990; Özaydın 2004). Bununla beraber; markörlerinin dominant olması ve heterozigotları teşhis etmenin güç olması, çalışmalar sonucu bulunan verilerin tekrarlanabilirliğinin reaksiyona giren bütün değişkene bağlı olacağından düşük olması gibi bazı dezavantajları da vardır (Tingey ve Del Tufa, 1993; Gupta ve ark., 1999; Özaydın 2004).

RAPD yöntemi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasında, atasal türlerin saptanması, filogenetik ilişkilerin araştırılması, bireysel parmak izi analizinde, çeşitlerin tanımlanması, tür içi ile türler arasında genetik değişkenliğin tespit edilmesi, germplazm koleksiyonlarının genetik yapılarının ortaya çıkarılması ve bu konulardaki bazı ikilemlerin giderilmesi, hastalık ve zararlılara karşı dirençlik genlerinin işaretlenmesi ve popülasyon genetik yapısının analizi gibi alanlarda kullanılmaktadır (Özaydın, 2004).

### 2.3. RAPD ve Diğer Moleküler Yöntemlerle Yapılmış Olan Çalışmalar

Bartolozzi ve ark. (1998), 17 badem genotipi ile 1 şeftali çeşidi arasındaki akrabalık ilişkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 37 adet RAPD markörü kullanmışlardır. Bademin kendiyile uyumsuz olması ve yabancı bademlerle tozlaşmasına karşılık bademde genetik çeşitliliğin sınırlı olduğuna ilişkin bulgular elde etmişlerdir. Benzerlik indeksi, bireylerin aynı bantı taşımasına göre hesaplanmıştır ve badem genotiplerinin en düşük 0,75 oranında benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Badem genotipleri ile şeftali arasında ise 0,42 oranında benzerlik düzeyi olduğunu belirtmişlerdir.

Malvolti ve ark. (2001), Chandler 1036 ve Lara 480 çeşitleri arasında yaptıkları tür içinde melezleme araştırmasında 82 tane bitki elde ederek genetik haritalama çalışmasında kullanmışlardır. Araştırmada RAPD ve izoenzim yöntemlerini kullanarak, RAPD analizinde 400 tane primer taranmışlar ve 100 tane primerin tekrarlanabilir olduğu ve güçlü bantlar verdiği belirtilmiştir. 100 tane RAPD primerinden toplam 193 bant elde etmişler. İzoenzim analizleri için 12 tane enzim sistemi kullanmışlar, bunlardan da sadece 4 tane açılım gösteren markörün olduğu belirlemiştir. Genetik haritanın oluşturulmasında 193 tane RAPD primeriyle 4 izoenzim markörünü birlikte kullanmışlardır.

Küden ve ark. (2004), ülkemizden seçilen erken ve geç çiçeklenme özellikleri gösteren bazı badem genotiplerinde RAPD markörlerini kullanarak genetik tanımlama yapmışlardır. Kullanılan 11 adet primerden 107 bant elde eden araştırmacılar, 94 adedinin polimorfik olduğunu belirtmişlerdir.

Hou ve ark. (2005), Batı Çin kökenli olan 46 arpa hattı arasında genetik benzerliği araştırmak için ISSR ve RAPD markörlerini kullandıkları çalışmada; her iki moleküler markör de yüksek oranda polimorfizm gözlendiğini, ortalama polimorfizm sonucunun ISSR için 0,631 olduğu RAPD için ise 0,574 olduğunu belirtmişlerdir. RAPD analizi sonucunda bantların % 77'si polimorfik olduğu, RAPD tabanlı genetik benzerliğin de 0,864 ortalama ile 0,753 ve 0,980 aralığında değer almış olduğunu, ISSR tabanlı genetik benzerliğin ise 0,674 ortalama ile 0,212 ve 0,931 aralığında değişim gösterdiğini bildirmişler. Ayrıca arpa hatlarının moleküler

analizlerle tanımlanmasında ISSR ve RAPD markörlerinin kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

Thimmappaiah ve ark. (2009), 100 kaşu cevizi aksesyonunda RAPD ve ISSR markörlerini kullanarak genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Seçilen 10 ISSR primerinde toplam 67 bant olduğu ve bunlardan 58 tanesinin (% 86,6) polimorfik bant olduğu belirlenmiştir. Uygulanan markörlerin germ plazm kaynaklarının yönetiminde oldukça kullanışlı olduğu bildirilmiştir.

Wang ve ark. (2009), Çin'in Tibet bölgesinden 45 yakın akraba yabancı arpa ile Orta Doğu'nun farklı ülkelerinden alınan 45 yabancı arpa türlerini SSR ve ISSR markörleri ile çalışmıştır. 10 ISSR primerinden toplamda 93 bant oluşmuştur. Bant uzunlukları 200 ila 2000 bp arasında değişmektedir. Tibet'teki yabancı arparın genetik çeşitliliğinin Orta Doğu'daki arpalardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan analizlerin sonucunda kültüre alınmış arpanın gen merkezinin Tibet Platosu olduğu belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

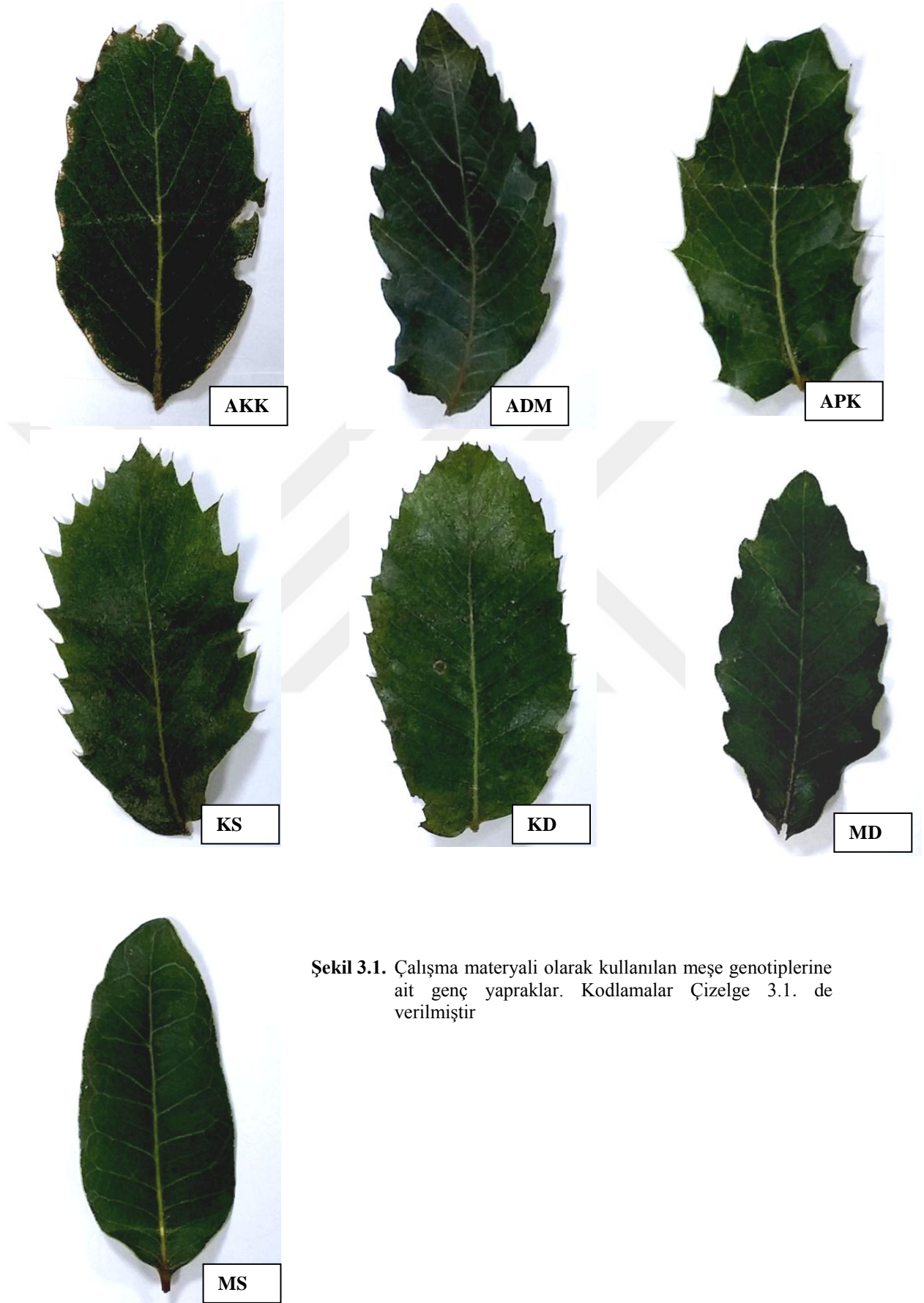
##### 3.1.1. Bitki materyali

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yaygın yayılış gösteren meşe (*Quercus*) cinsine ait türler Şanlıurfa/Siverek, Diyarbakır/Çermik ve Adıyaman yörelerinden toplanmıştır. Toplanmış olduğumuz genotiplerin lokasyon bilgileri Çizelge 3.1. de verilmiştir. Çalışma materyali olarak kullanılan meşe genotiplerine ait genç yapraklar Şekil 3.1. de belirtilmiştir. Genomik DNA'nın izolasyonu ve saflaştırılması çalışmaları Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Büyütme Laboratuvarı'nda, diğer moleküler analizler ise İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Çalışmada toplanmış olan meşe genotipleri ve bu genotiplerin toplandığı lokasyon bilgileri

TAKSON	LOKASYON	KOD	ENLEM	BOYLAM	RAKIM/BAKI
Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	Adıyaman (Kömür Beldesi)	AKK	37°50'54"	38°25'18"	780/Güney
Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria</i> subsp. <i>boissieri</i> )	Adıyaman (Dağ Kuyucak)	ADM	37°51'39"	38°19'54"	950/Kuzey
Kermes Meşesi ( <i>Quercus coccifera</i> )	Adıyaman (Palanlı)	APK	37°50'18"	38°18'58"	860/Güney
Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria</i> subsp. <i>boissieri</i> )	Diyarbakır (Çermik)	MD	38°00'13"	39°22'54"	810/Güneydoğu
Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria</i> subsp. <i>boissieri</i> )	Şanlıurfa (Siverek)	MS	37°55'02"	39°18'56"	790/Doğu
Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	Diyarbakır (Çermik)	KD	38°00'13"	39°22'54"	800/Doğu
Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	Şanlıurfa (Siverek)	KS	37°55'02"	39°18'56"	800/Kuzeydoğu





Şekil 3.1. Çalışma materyali olarak kullanılan meşe genotiplerine ait genç yapraklar. Kodlamalar Çizelge 3.1. de verilmiştir

Çalışma kapsamında kullanılan meşe türlerinin genel özellikleri Çizelge 3.2. de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan meşe türlerinin genel özellikleri (Öztürk, 2013)

Örnek Adı	Morfolojik Özellikleri	Ek Bilgiler	Türkiye’de Doğal Yaşam Alanları
<b>Kara Meşe</b> ( <i>Quercus brantii</i> LINDLEY)	Kalın ve deri gibi sert olan yaprağın üst yüzü esmer ve sık yıldız tüylerle örtülmüştür. Kahverengi-gri gövde genç yaşlarda çatlaksız ve parlak olup ilerleyen yaşlarda çatlaklanır.	Park, bahçe ağacı ve hayvan yemi olarak kullanılır.	Türkiye’de Doğu ve G. Doğu Anadolu’da yayılış gösterir.
<b>Mazı Meşesi</b> ( <i>Quercus infectoria</i> OLIVIER subsp. <i>boissieri</i> (REUTER) O. SCHWARZ)	Yaprakları deri gibi kalın, ters yumurtamsı, uzun oval en fazla 10 cm boyunda ve kenarları dilimli sivri dişli veya tam kenarlıdır. Gri renkli gövde ileri yaşlarda çatlaklıdır.	Bu türe ismini veren mazılar, mazı arısının tomurcukların üzerine yumurta bırakmasıyla oluşmaktadır. Çok yüksek miktarda tanen içeren mazılar, eski zamanlardan beri boyacılıkta, dericilik ve bitkisel ürün olarak kullanılmıştır.	Yurdumuzun Batı Karadeniz, Ege, Akdeniz, Marmara, İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri’nde geniş ve lokal olarak yayılış gösterir.
<b>Kermes Meşesi</b> ( <i>Quercus coccifera</i> L.)	Deri gibi sert olan yaprakları geniş eliptik ya da geniş yumurta biçiminde olup, kenarları dikensi dişlidir. Gövde kabuğu kahverengi-gri, pullu, dikey çatlaklı olup tanence zengindir.	Yapraklarında oluşan <i>Kermes ilicis</i> isimli böcekten eski zamanlarda soylu insanlar elbiselerini kırmızı rengine boyarlardı ve kralların kermese katılması sebebiyle bu ismi almıştır.	Ülkemizde Güneybatı, Marmara Bölgeleri’nde yerli ve yaygın olarak bulunur.

### 3.1.2. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu için kullanılan çözeltiler

Meşe yapraklarından gDNA izolasyonu amacıyla kullanılan ekstraksiyon tamponu çözeltilisinin içeriği Çizelge 3.3. de belirtilmiştir. Ayrıca DNA izolasyonu aşamalarında bu çözeltiliye ek olarak, kloroform:izoamilalkol (24:1), RNase A (10 mg/mL) solüsyonu,  $\beta$ -merkaptotanol, Tris-EDTA (Tris 1M, pH: 8.0, EDTA 0.5 M pH: 8.0), LiCl (1 M), izopropanol ve etanol (% 70) de kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. DNA izolasyonunda kullanılan ekstraksiyon tamponu çözeltisinin içeriği

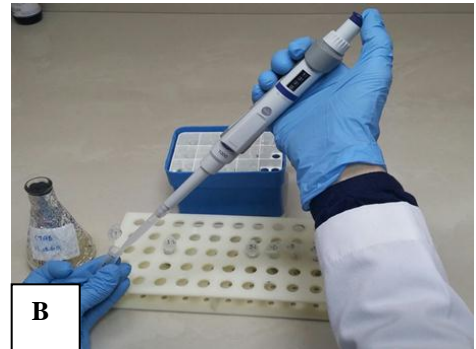
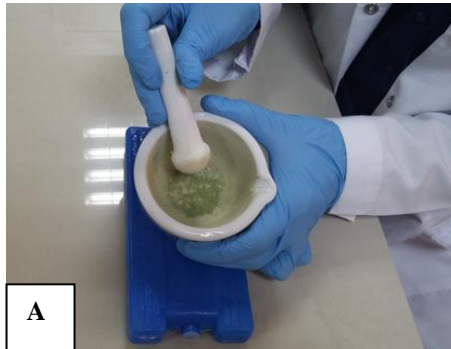
Solüsyon	Konsantrasyon (100 mL)
% 1 CTAB	1 gr CTAB
0,7 M NaCl	17,5 mL NaCl (4 M)
20 mM EDTA.Na <sub>2</sub> pH: 8.0	4 mL EDTA.Na <sub>2</sub> (0,5 M) pH: 8.0
50 mM TRIS-HCl pH: 8.0	5 mL TRIS-HCl (1 M) pH: 8.0
% 1 PVP	1 gr PVP
% 2 SDS	2 gr SDS
460 mM LiCl	40 mL LiCl (1 M)

### 3.2. Yöntem

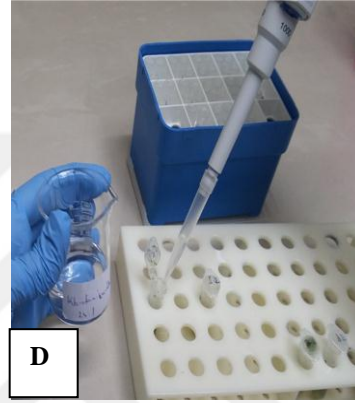
Meşe (*Quercus*) genotiplerinden gDNA materyalini izole etmek amacıyla bitkilerin genç yaprakları ilkbahar döneminde Çizelge 3.1. de belirtilen lokasyonlardan toplanmıştır. Bitkilerden toplanan yapraklar kuru buz içerisinde laboratuara getirilerek hemen sıvı azotta dondurulmuş ve DNA izolasyonu işlemine kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklanmıştır.

#### 3.2.1. DNA izolasyonu

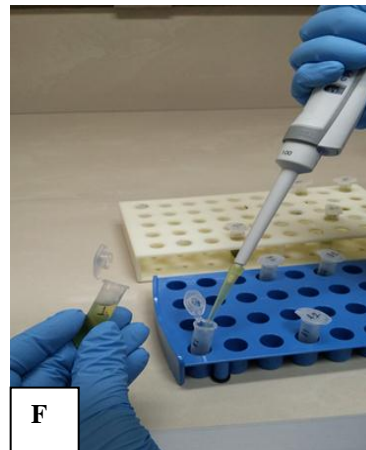
1. Yaprak örneklerinden genomik DNA izolasyonu, Lefort ve Douglas (1999) protokolüne uygun olarak yapılmıştır.
2. Örneklerin taze yapraklarından 0,1 gr tartılarak sıvı azotla porselen havan içerisinde öğütüldükten sonra 2 mL’lik ependorf tüpleri içerisine aktarılmıştır.
3. Her bir örneğin içerisine 65 °C’de ısıtılmış olan ekstraksiyon tamponu çözeltisinden 1000 µL eklenmiştir (Çizelge 3.3.).



4. Ardından tüm örneklerin üzerine 10  $\mu$ L  $\beta$ -merkaptoetanol eklenerek, 5 saniye vorteks yapılmıştır.
5. Ependorf tüpler 65 °C 'ye ayarlı su banyosunda 15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre zarfında tüpler birkaç defa baş-aşağı çevrilerek karıştırılmıştır.
6. İnkübasyondan sonra 500  $\mu$ L kloroform:izoamilalkol (24:1) eklenmiş ve tüpler ters-düz çevrilerek karıştırılmıştır.

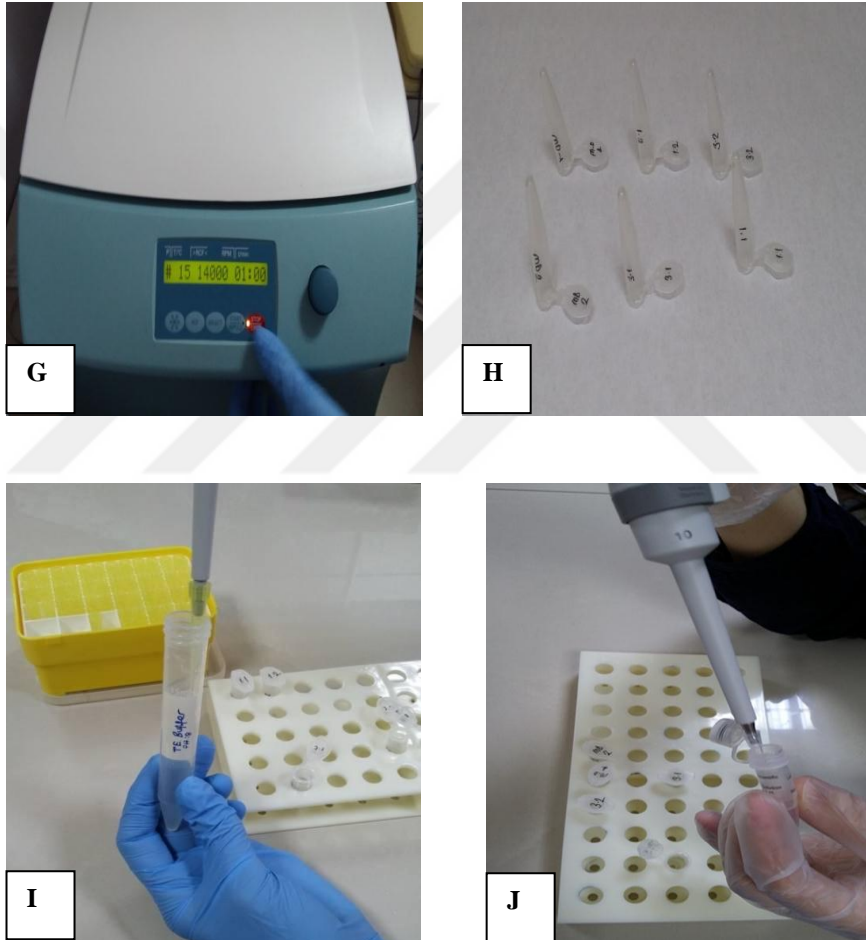


7. Ependorf tüpler 14.000 rpm'de 15 °C'de 5 dk santrifüj edilmiş ve oluşan üst faz, alttaki faza hiç dokunmadan yeni ependorflara aktarılmıştır.
8. 14.000 rpm'de 15 °C'de 1 dk daha santrifüj yapılmıştır.
9. Pellet oluşumu var ise üst faz yeniden temiz ependorflara aktarılmıştır. Yeni ependorflara aktarılan süpernatant hacmiyle eşit hacimde izopropanol eklenmiştir.
10. Tüpler ters-düz şeklinde birkaç kez çevrilerek karıştırıldıktan sonra 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.



11. Süpernatant dikkatli bir şekilde döküldükten sonra pellete 1 mL EtOH (% 70) eklenerek 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir.
12. Santrifüj işleminden sonra süpernatant dikkatlice boşaltılıp pelletin kuruması için tüpler ters çevrilerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir.
13. Kuruyan pellete 50 µL TE (Tris-EDTA) tamponu eklenmiştir. Her bir tüpe 1 µL RNase A eklenip tüpler 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.

Elde edilen genomik DNA (gDNA)'lar -20 °C'de saklanmıştır.



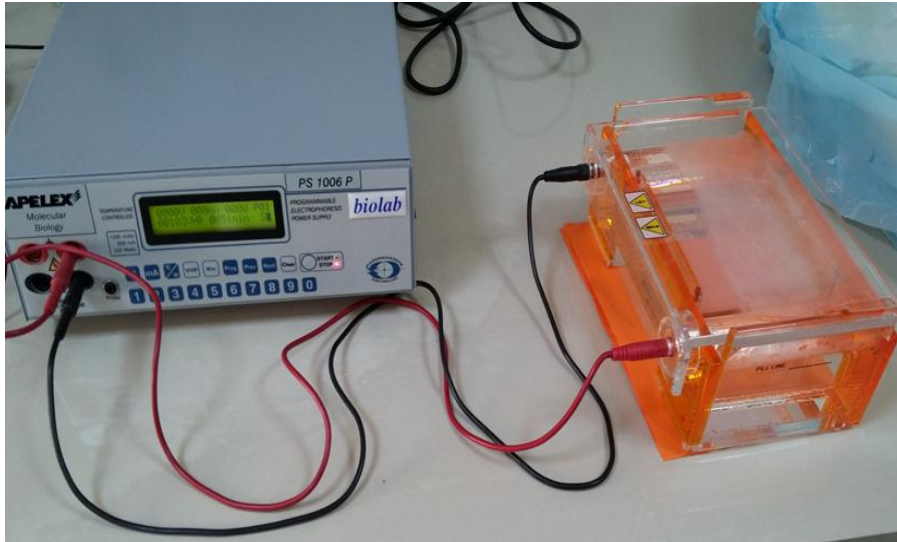
**Şekil 3.2.** DNA izolasyonu işlem basamakları. **A.** Örneklerin havanda ezilmesi işlemi; **B.** CTAB tamponunun eklenmesi; **C.** 65 °C'de inkübasyon; **D.** Kloroform:İzoamilalkol eklenmesi; **E.** Üst fazın gözlemlenmesi; **F.** Üst fazın yeni ependorfa aktarılması; **G.** Santrifüj aşaması; **H.** DNA'ların kurutulması; **I.** DNA'ların çözünmesi için TE Buffer'ın eklenmesi; **J.** RNase A'nın eklenmesi

### 3.2.2. DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi

Ekstrakte edilen gDNA'ların konsantrasyonu ile saflık değerleri 'NanoPhotometer® Pearl (Denville®, MA USA)' cihazında tespit edilmiş (Şekil 3.3.) ve % 1'lik agaroz jelde yürütülerek gDNA'nın kalitesi kontrol edilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.3. Meşe yapraklarından izole edilen DNA konsantrasyonunun belirlenmesi



Şekil 3.4. Meşe yapraklarından izole edilen gDNA'ların % 1'lik agaroz jelde yürütülmesi

### 3.2.3. RAPD-PCR Analizi

RAPD analizinde kullanılan PCR reaksiyonu karışımı Çizelge 3.4. de belirtilen hacimlerde ve konsantrasyonlardaki PCR bileşenleri ile hazırlanmıştır. PCR reaksiyon koşulları ise Şekil 3.5. de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.4.** PCR bileşenlerinin konsantrasyonları ve kullanım miktarları (Atak ve ark., 2011)

PCR Bileşenleri	Final Konsantrasyon	Kullanılan Miktar ( $\mu$ L)
milli-Q H <sub>2</sub> O		14,3
25 mM MgCl <sub>2</sub> (Promega)	2,5 mM	2,5
5X Buffer (Promega)	1X	5
10 mM dNTP (Promega)	0,4 mM	1
10 $\mu$ M Primer (IDT, USA)	0,4 $\mu$ M	1
gDNA	30 ng	1
5U/ $\mu$ L Taq DNA Polimeraz (Promega)	1U/ $\mu$ L	0,2
<b>Toplam hacim</b>		<b>25</b>

Hazırlanan PCR reaksiyon karışımı Çizelge 3.5.'deki reaksiyon koşullarına ayarlanan PCR (Thermal Cycler, BioRad, USA) cihazına yerleştirilmiştir.

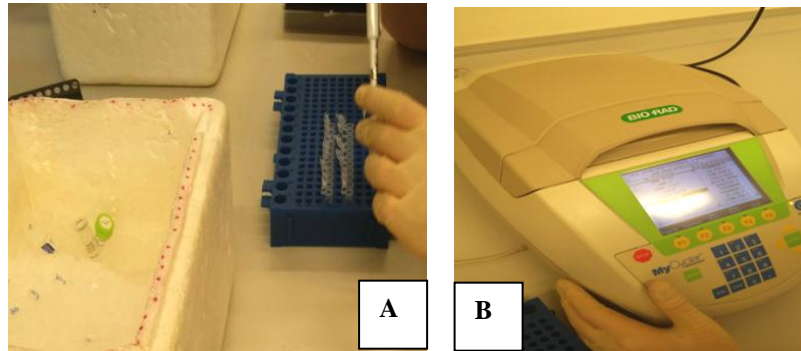
**Çizelge 3.5.** PCR reaksiyon koşulları (Atak ve ark., 2011)

	PCR Koşulları		
	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Döngü Sayısı
<b>Ön Denatürasyon</b>	95	5	1
<b>Denatürasyon</b>	95	1	45
<b>Bağlanma</b>	35	1	
<b>Uzama</b>	72	1	
<b>Son Uzatma</b>	72	10	1
	4	Bekleme	

Çalışmada, IDT (USA) firmasından sentezletmiş olduğumuz 56 adet RAPD primerleri kullanılmıştır. Çizelge 3.6. da çalışmada kullanılan primerler ile bu primerlere ait baz dizileri gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan primerler ile bu primerlere ait baz dizileri

No	Primer Adı	Primerlerin Baz Dizileri (5'-3')	No	Primer Adı	Primerlerin Baz Dizileri (5'-3')
1	OPA-05	AGGGGTCTTG	29	OPJ-03	TCTCCGCTTG
2	OPB-01	GTTTCGCTCC	30	OPJ-04	CCGAACACGG
3	OPB-02	TGATCCCTGG	31	OPJ-05	CTCCATGGGG
4	OPB-03	CATCCCCCTG	32	OPJ-06	TCGTTCCGCA
5	OPB-04	GGACTGGAGT	33	OPJ-07	CCTCTCGACA
6	OPB-07	GGTGACGCAG	34	OPJ-10	AAGCCCGAGG
7	OPB-08	GTCCACACGG	35	OPJ-11	ACTCCTGCGA
8	OPB-09	TGGGGGACTC	36	OPJ-14	CACCCGGATG
9	OPB-10	CTGCTGGGAC	37	OPJ-15	TGTAGCAGGG
10	OPB-11	GTAGACCCGT	38	OPJ-16	CTGCTTAGGG
11	OPB-12	CCTTGACGCA	39	OPJ-18	TGGTCGCAGA
12	OPB-13	TCCCCCGCT	40	OPJ-19	GGACACCACT
13	OPH-01	GGTCGGAGAA	41	OPJ-20	AAGCGGCCTC
14	OPH-02	TCGGACGTGA	42	OPK-01	CATTCGAGCC
15	OPH-03	AGACGTCCAC	43	OPK-02	GTCTCCGCAA
16	OPH-04	GGAAGTCGCC	44	OPK-03	CCAGCTTAGG
17	OPH-05	AGTCGTCCCC	45	OPK-04	CCGCCCAAAC
18	OPH-06	ACGCATCGCA	46	OPK-06	CACCTTCCC
19	OPH-07	CTGCATCGTG	47	OPK-07	AGCGAGCAAG
20	OPH-08	GAAACACCCC	48	OPK-08	GAACACTGGG
21	OPH-10	CCTACGTCAG	49	OPK-09	CCCTACCGAC
22	OPH-16	TCTCAGCTGG	50	OPK-10	GTGCAACGTG
23	OPH-17	CACTCTCCTC	51	OPK-11	AATGCCCCAG
24	OPH-18	GAATCGGCCA	52	OPK-12	TGGCCCTCAC
25	OPH-19	CTGACCAGCC	53	OPK-13	GGTTGTACCC
26	OPH-20	GGGAGACATC	54	OPK-14	CCCCTACAC
27	OPJ-01	CCCGGCATAA	55	OPK-15	CTCCTGCCAA
28	OPJ-02	CCCGTTGGGA	56	OPK-16	GAGCGTCGAA

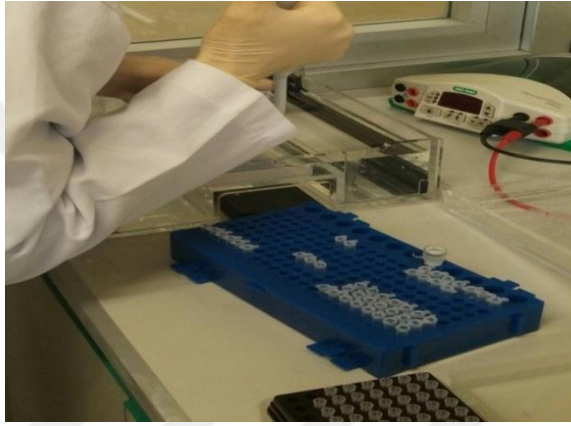


Şekil 3.5. A. PCR reaksiyon karışımının hazırlanması; B. PCR işlemi



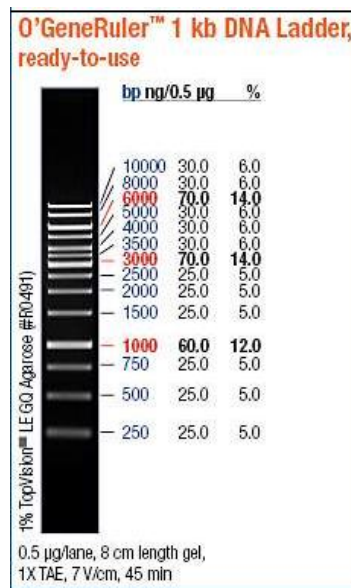
### 3.2.4. Elektroforez

PCR ürünlerinin elektroforezi için % 2'lik agaroz jel 5X TAE tampon kullanılarak hazırlanmıştır. DNA'nın boyanması için etidyum bromür (10 mg/mL) kullanılmıştır. Elektroforez tankına yerleştirilen jel üzerine PCR reaksiyon karışımı yüklenmiş ve 100 voltta ortalama 90 dakika yürütülmüştür (Şekil 3.6.). Elektroforez işleminden sonra jeller 'Gel Doc™ XR System, Biorad' görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.



Şekil 3.6. PCR ürünlerinin elektroforez tankındaki jele yüklenmesi

Elektroforez işlemi sonucunda oluşan bantların büyüklüklerini belirlemek için 1 kb'lık DNA markörü (Lader, Fermentas) de jele yüklenmiştir (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan DNA markörü (1 kb DNA Ladder, Fermentas)

### 3.2.5. DNA bantlarının değerlendirilmesi

Elektroforez işleminden sonra elde edilen jelde görüntüleme işlemi yapılan bantların polimorfik olup olmasına göre 1 (var) veya 0 (yok) olarak sınıflandırıldıktan sonra matriks oluşturulup türlerin genetik akrabalık düzeyleri Jaccard (1908)'in hesaplama programına göre yapılmıştır. Oluşturulan veri matrisi ile genetik ilişkiyi gösteren dendrogram ise NTSYS-pc version 2.1 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Rohlf, 1998) istatistik paket programında UPGMA (Unweighted pair-group method arithmetic average) gruplandırmasına göre incelenmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

## 4.1. DNA İzolasyonu

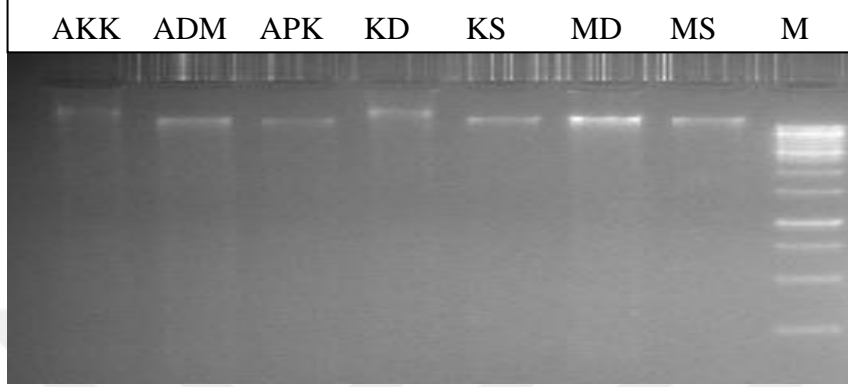
Çalışmada kullanmış olduğumuz meşe genotiplerinin taze yaprak örneklerinden genomik DNA izolasyonu, Lefort ve Douglas (1999) protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Ekstrakte edilen DNA'ların miktarı ve saflık değerleri 'NanoPhotometer® Pearl (Denville®, MA USA)' ile tespit edilmiş olup ölçüm değerleri Çizelge 4.1. de verilmiştir.

% 1'lik agaroz jelde yürütülen DNA'ların jel görüntüsü ise Şekil 4.1. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. DNA örneklerinin nanodrop spektrometrik ölçüm değerleri

Bitki örnekleri	Kodlama	DNA Miktarı ng/µL	Saflık Değeri A260/A280
Adıyaman/Kömür Beldesi Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	AKK	287	1.812
Adıyaman /Dağ Kuyucak Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria subsp.boissieri</i> )	ADM	651	1.839
Adıyaman/Palanlı Kermes Meşesi ( <i>Quercus coccifera</i> )	APK	144	1.450
Diyarbakır/Çermik Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria subsp.boissieri</i> )	MD	681	1.910
Şanlıurfa /Siverek Mazı Meşesi ( <i>Quercus infectoria subsp.boissieri</i> )	MS	337	1.838
Diyarbakır/Çermik Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	KD	307	1.879
Şanlıurfa /Siverek Kara Meşe ( <i>Quercus brantii</i> )	KS	300	1.729

DNA miktarları 681 ng/µL (MD) ile 144 ng/µL (APK) arasında değişmiştir. Diğer genotiplere ait DNA miktarları da bu aralıklar arasında değişim göstermiştir. DNA saflık değeri (A260/A280) ise 1.91-1.45 aralığındadır. Bu DNA miktarı ve saflık değerlerinin RAPD-PCR analizi için uygunluğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.1. Meşe genotiplerine ait gDNA'ların % 1'lik agaroz jeldeki görüntüsü

#### 4.2. RAPD-PCR Analizleri

Genotiplere ait gDNA örneklerine IDT (USA) firmasından sentezletmiş olduğumuz 56 adet RAPD primerleri kullanılarak PCR uygulaması yapılmıştır. RAPD analizinde kullanılan primerler ile primerlere ait baz dizileri (5'-3') Çizelge 3.6. da verilmiştir.

RAPD analizi için kullanılan 56 primerin amplifikasyon durumuna bakıldığında 53 primerde amplifikasyon gözlemlenirken 3 primerde (OPH-02, OPH-06 ve OPH-10) amplifikasyon gerçekleşmemiştir. Bu üç primer çalışma içerisinde değerlendirilmeye alınmamıştır. Çalışma içerisinde kullanılan 53 primere ait monomorfik, polimorfik ve toplam bant sayısı ile polimorfizm oranları Çizelge 4.2. de belirtilmiştir. Değerlendirilmeye alınan 53 primerde toplam 627 DNA bantı belirlenmiştir. Toplam 627 banttın, 616'sı polimorfik, 11'i ise monomorfik bant göstermiştir. Polimorfizm % 98,25'lik bir oranla belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı ise OPH-17 primerinde % 77,8 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Primerler değerlendirilmeye alındığında en fazla bant OPH-19 primerinde (21 bant) elde edilirken, en az bant sayısı 4 bant ile OPH-20 ve OPJ-06 primerlerinde

elde edilmiştir. En fazla monomorfik bant OPB-11 ve OPH-17 primerlerinde belirlenmiştir. En fazla polimorfik bant OPH-19 primerinde elde edilirken, en az polimorfik bant sayısı OPH-20 ve OPJ-06 primerlerinde elde edilmiştir. Elde edilen bantlardan en düşük bant büyüklüğü yaklaşık olarak 100 bç ile OPJ-18 ve OPH-18 primerlerinde gözlenirken, en büyük bant büyüklüğü 3000 bç ile OPJ-04 primerinde gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan bazı primerlere ait bant görüntüleri Şekil 4.2.- Şekil 4.11. de verilmiştir.

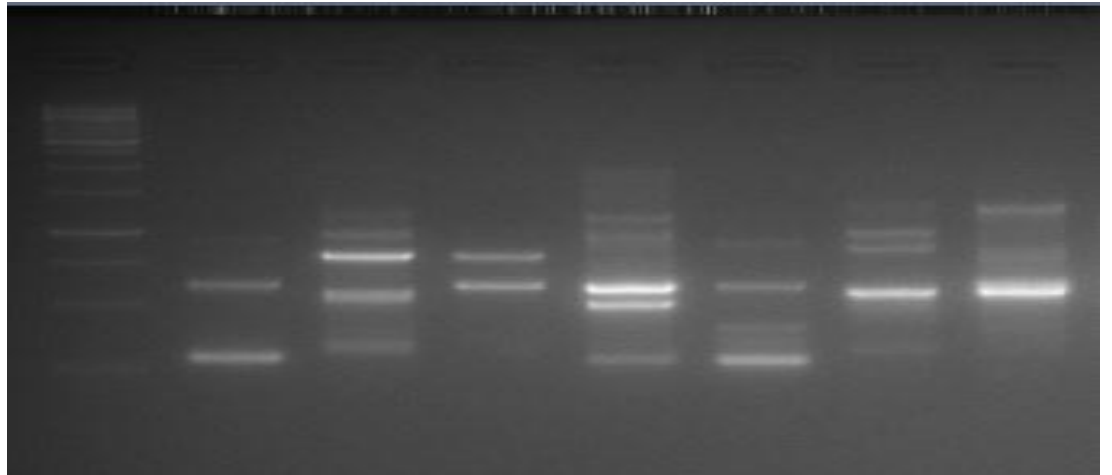
**Çizelge 4.2.** Çalışma içerisinde kullanılan primerlere ait monomorfik, polimorfik ve toplam bant sayısı ile polimorfizm oranı

Primer No	Primer Adı	Monomorfik Bant Sayısı (n)	Polimorfik Bant Sayısı (n)	Toplam Elde Edilen Bant Sayısı (n)	Polimorfizm Oranı (%)
1	OPA-05	0	12	12	100,0
2	OPB-01	0	7	7	100,0
3	OPB-02	0	9	9	100,0
4	OPB-03	0	7	7	100,0
5	OPB-04	0	9	9	100,0
6	OPB-07	0	13	13	100,0
7	OPB-08	0	6	6	100,0
8	OPB-09	1	10	11	90,9
9	OPB-10	0	16	16	100,0
10	OPB-11	2	11	13	84,6
11	OPB-12	1	11	12	91,7
12	OPB-13	0	18	18	100,0
13	OPH-01	0	10	10	100,0
14	OPH-02	0	14	14	100,0
15	OPH-03	0	17	17	100,0
16	OPH-04	0	19	19	100,0
17	OPH-05	0	10	10	100,0
18	OPH-07	1	8	9	88,9
19	OPH-08	0	14	14	100,0
20	OPH-16	0	9	9	100,0
21	OPH-17	2	7	9	77,8
22	OPH-18	0	17	17	100,0
23	OPH-19	0	21	21	100,0
24	OPH-20	0	4	4	100,0
25	OPJ-01	0	13	13	100,0
26	OPJ-03	0	10	10	100,0
27	OPJ-04	0	10	10	100,0
28	OPJ-05	0	15	15	100,0
29	OPJ-06	0	4	4	100,0
30	OPJ-07	0	8	8	100,0

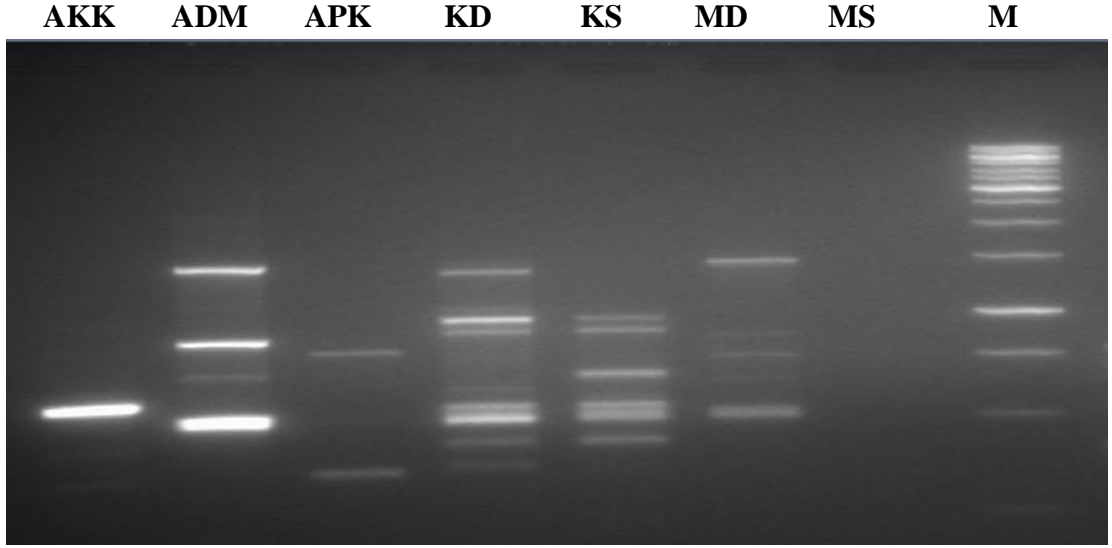
Çizelge 4.2. (Devam) Çalışma içerisinde kullanılan primerlere ait monomorfik, polimorfik ve toplam bant sayısı ile polimorfizm oranı

31	OPJ-10	1	5	6	83,3
32	OPJ-11	0	10	10	100,0
33	OPJ-14	0	12	12	100,0
34	OPJ-15	0	11	11	100,0
35	OPJ-16	0	6	6	100,0
36	OPJ-18	0	14	14	100,0
37	OPJ-19	0	14	14	100,0
38	OPJ-20	0	20	20	100,0
39	OPK-01	1	17	18	94,4
40	OPK-02	0	17	17	100,0
41	OPK-03	0	17	17	100,0
42	OPK-04	0	10	10	100,0
43	OPK-06	0	17	17	100,0
44	OPK-07	0	16	16	100,0
45	OPK-08	1	12	13	92,3
46	OPK-09	1	5	6	83,3
47	OPK-10	0	7	7	100,0
48	OPK-11	0	10	10	100,0
49	OPK-12	0	11	11	100,0
50	OPK-13	0	9	9	100,0
51	OPK-14	0	11	11	100,0
52	OPK-15	0	14	14	100,0
53	OPK-16	0	12	12	100,0
	<b>Toplam</b>	<b>11</b>	<b>616</b>	<b>627</b>	<b>98,25</b>

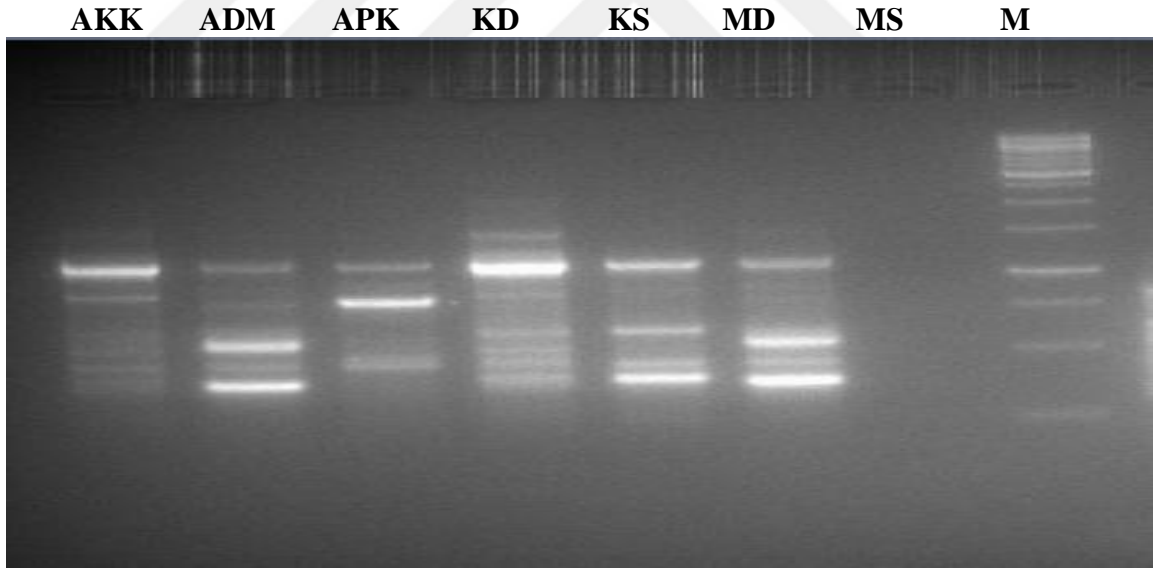
M      AKK      ADM      APK      KD      KS      MD      MS



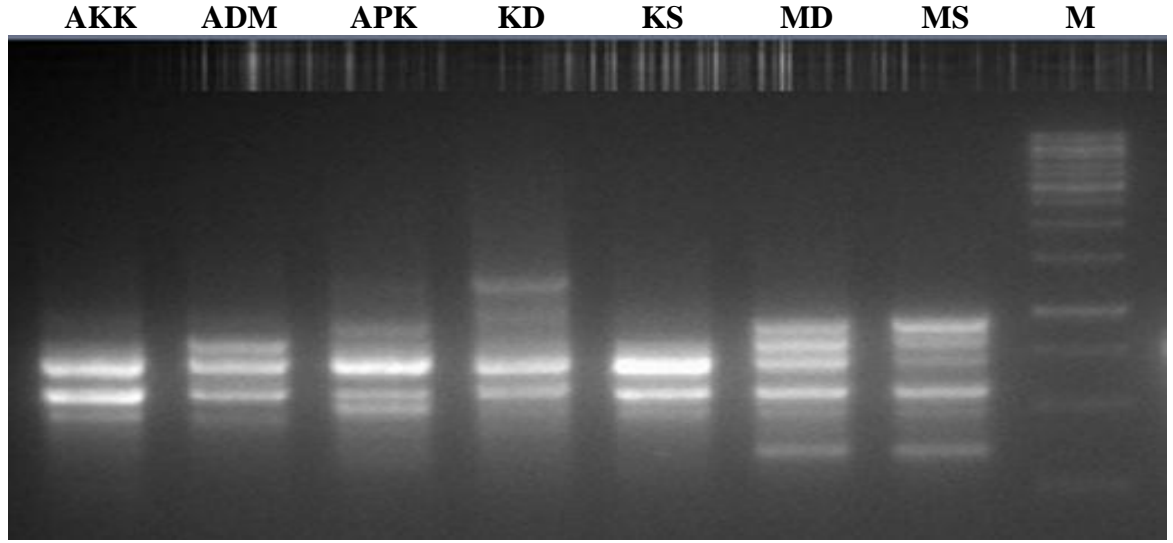
Şekil 4.2. OPH-01 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



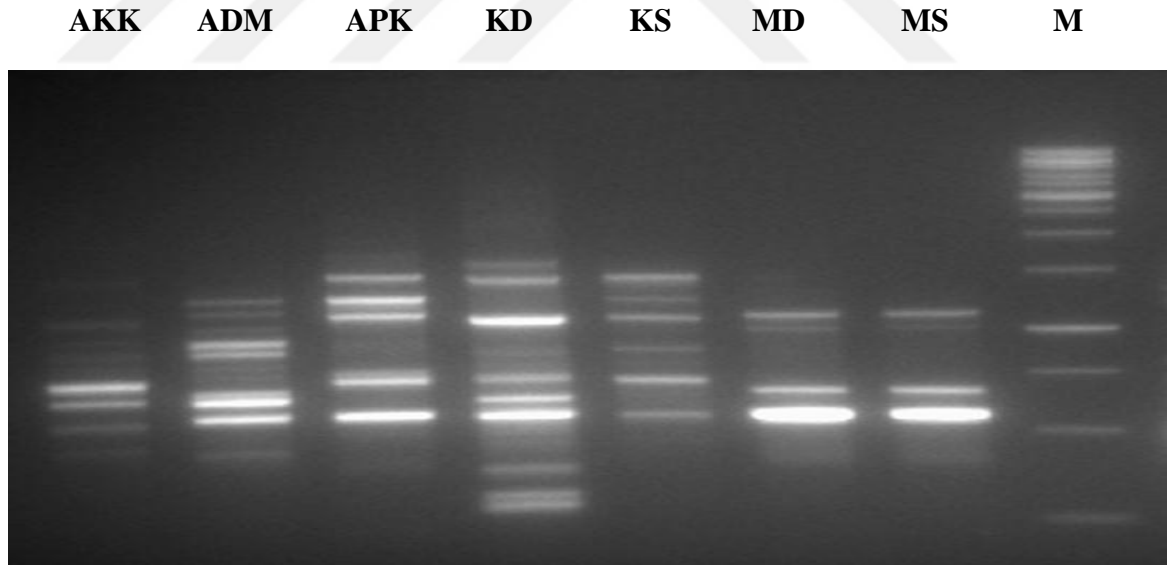
**Şekil 4.3.** OPH-02 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD:Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



**Şekil 4.4.** OPH-05 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD:Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)

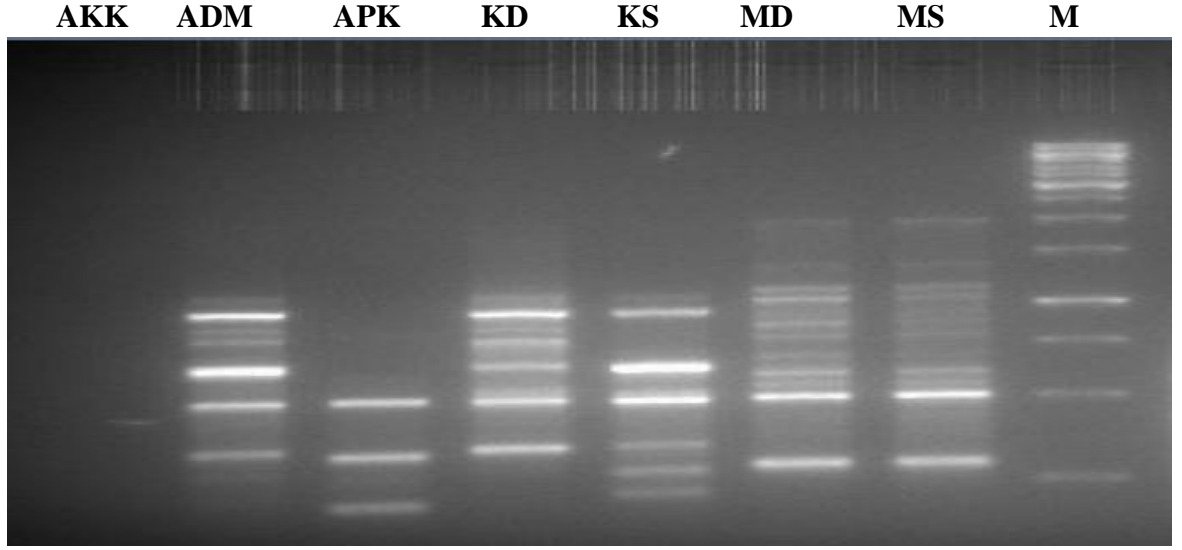


**Şekil 4.5.** OPH-17 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD:Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)

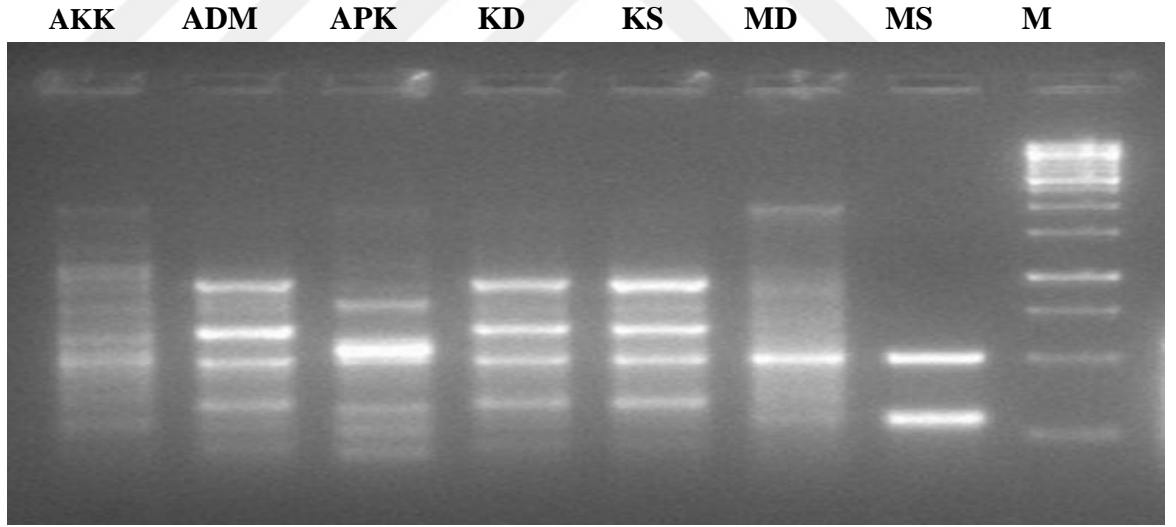


**Şekil 4.6.** OPK-01 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)

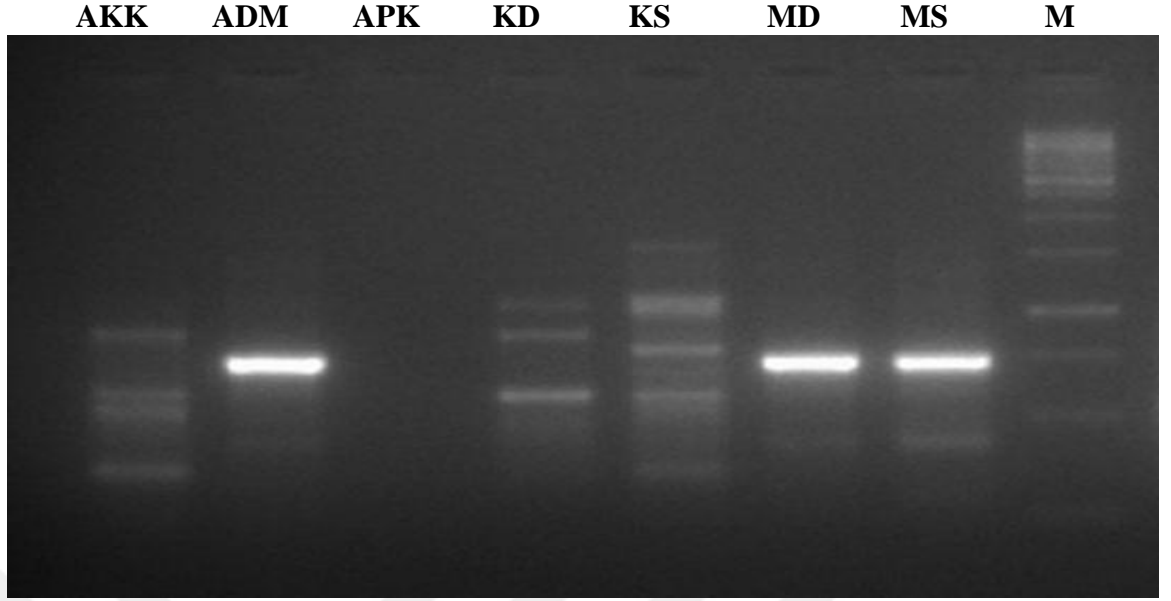




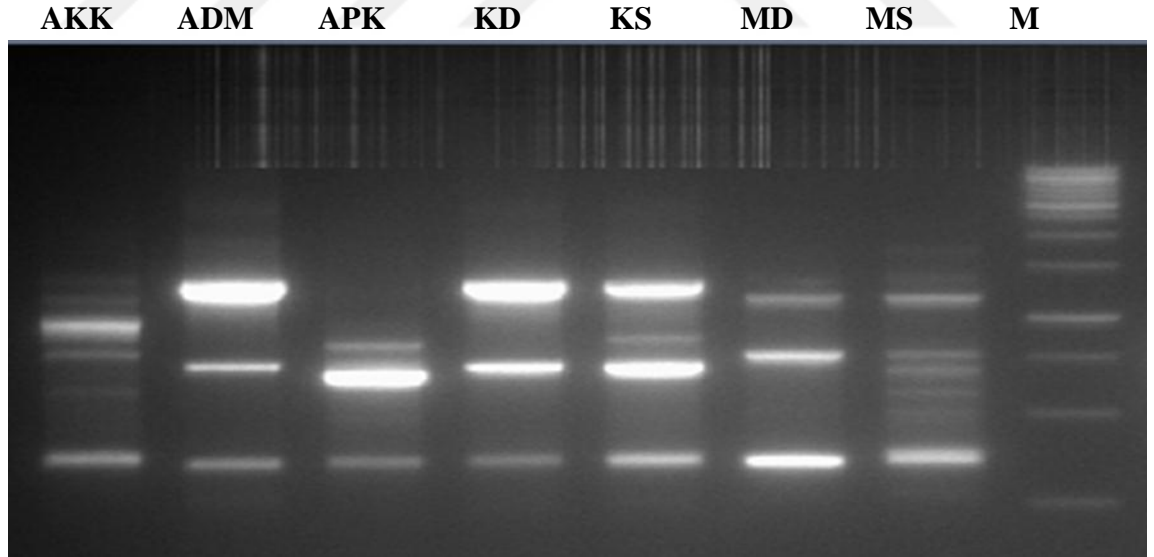
**Şekil 4.7.** OPK-07 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



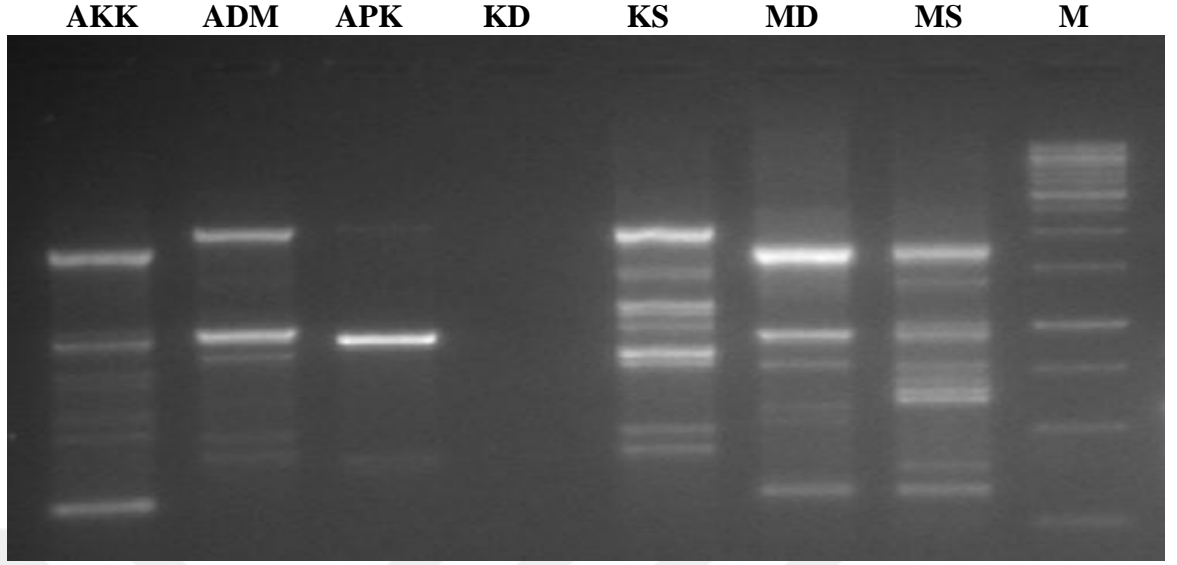
**Şekil 4.8.** OPK-08 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



**Şekil 4.9.** OPB-04 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



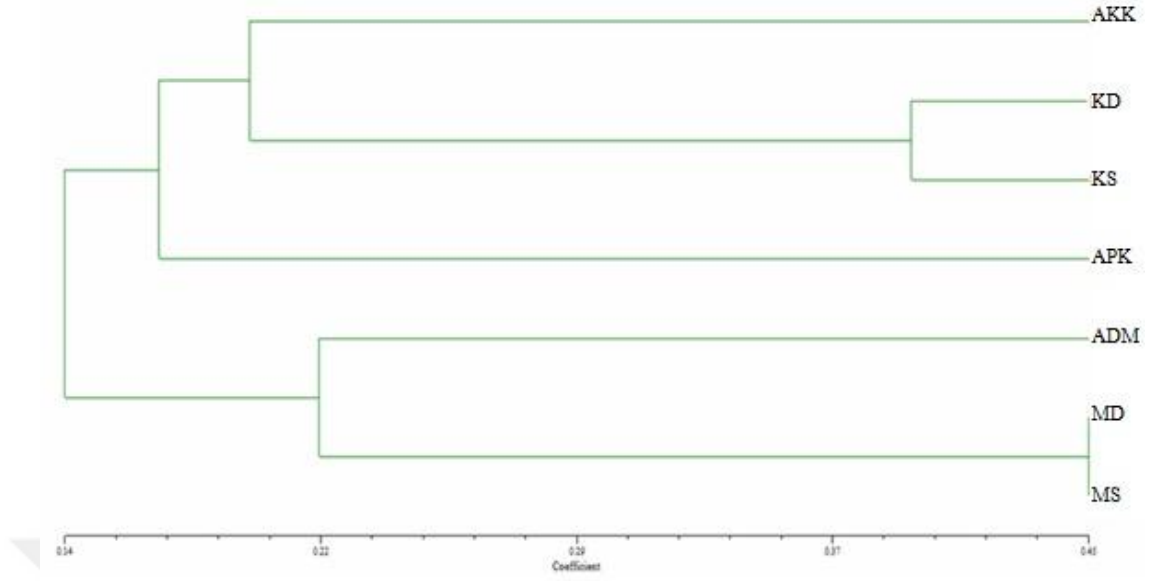
**Şekil 4.10.** OPB-09 primeri ile PCR'da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)



**Şekil 4.11.** OPB-13 primeri ile PCR’da oluşan bantların görünümü (M: markör; AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa /Siverek/Mazı Meşesi)

### 4.3. Benzerlik İndeksi ve Dendrogram

Meşe genotiplerinin birbirleriyle olan genetik akrabalık düzeyi Jaccard (1908)’e göre hesaplanmıştır (Çizelge 4.3.). Çizelge incelendiğinde en yüksek genetik benzerlik 0,450 ile MD ve MS genotipleri arasında belirlenmiştir. Diğer en yüksek benzerlik ise 0,396 ile KD ve KS genotipleri arasında belirlenmiştir. En düşük genetik benzerlik 0,102 ile APK ve MS genotipleri arasında belirlenmiştir. Bu genotipler arasındaki yakınlık ilişkisi NTSYS-pc version 2.1 programı ile elde etmiş olduğumuz dendrogramda da görülmektedir (Şekil 4.12.).



**Şekil 4.12.** RAPD markör analizi sonucu NTSYS pc version 2.1 programı ile elde edilen dendrogram (AKK: Adıyaman/Kömür Beldesi/ Kara meşe; ADM: Adıyaman/Dağ Kuyucak/Mazı meşe, APK: Adıyaman/Palanlı/ Kermes meşe, KD: Diyarbakır/Çermik/Kara Meşe, KS: Şanlıurfa /Siverek/Kara Meşe, MD: Diyarbakır/Çermik/Mazı Meşesi, MS: Şanlıurfa / Siverek/Mazı Meşesi)

Dendrogram incelendiğinde 7 farklı lokasyondan örneklenen meşe genotipleri (*Quercus brantii*, *Quercus infectoria* subsp. *boissieri* ve *Quercus coccifera*) 2 ana grup altında toplanmıştır. Birinci ana grup iki alt gruptan oluşmuştur. Birinci alt grup kendi içinde dallanmakta olup 1. alt dalda aynı meşe türüne ait (kara meşe) AKK, KD ve KS genotipleri yer alırken, 2. alt dalda farklı bir meşe türü olan (kermes meşesi) APK genotipi yer almıştır. İkinci ana grupta ise aynı meşe türüne ait (mazı meşesi) ADM, MD ve MS genotipleri yer almıştır. Şekil 4.12. de yer alan dendrogram incelendiğinde birbirlerine en yakın olan genotiplerin MD ve MS genotipleri olduğu gözlenmiştir.

**Çizelge 4.3.** Meşe genotiplerinde Jaccard'a göre benzerlik matrisi

	AKK	ADM	APK	KD	KS	MD	MS
AKK	1.000000						
ADM	0.1354467	1.000000					
APK	0.1606426	0.1357616	1.000000				
KD	0.2100313	0.1924119	0.1672474	1.000000			
KS	0.1788079	0.1815562	0.1730769	0.3958333	1.000000		
MD	0.1079545	0.2197802	0.1042345	0.1473684	0.1404494	1.000000	
MS	0.1314103	0.2113095	<b>0.1021898</b>	0.1432665	0.1388889	<b>0.4496403</b>	1.000000

#### 4.4. Tartisma

Gelişen moleküler tekniklerle kalıtımın temeli olan DNA ve DNA ürünü olan protein analizlerinin yapılması mümkün olmuştur. Taksonomide kullanılan karakterlerin güvenilir, tutarlı ve her koşul da değişmeyen özellikte olmaları istenir. Bu nedenle birçok farklı durumda kullanılması en uygun olan karakter kalıtım materyalinin kendisi olan DNA molekülüdür. Bitki sistematigi çalışmalarında kullanılan değişik DNA tabanlı analiz yöntemleri bulunmaktadır (Özaydın, 2004).

RAPD-PCR yöntemi moleküler sistematik yöntemlerinden DNA temelli olarak belirlenen yöntemlerden birisidir. Değişik familyalarda yer alan ve farklı özelliklere sahip bitki türlerin genetik akrabalığı ve türlerin belirlenmesi için yapılan birçok RAPD çalışmaları bulunmaktadır (Özaydın, 2004). Örneğin Labiatae familyasında bulunan farklı *Mentha* türlerinin, türler arasında farklılığını belirlemek için RAPD yönteminin uygun bir yöntem olduğunu, türlerin RAPD yöntemiyle belirlenebildiği açıklanmıştır (Khanuja ve ark., 2000).

Kaliforniya Üniversitesi'nde yapılan ıslah çalışmalarıyla ortaya çıkan yeni çeşitler ve ebeveyn olarak kullanılan 19 tane ceviz (*J. regia*) çeşit ve genotipinin RAPD yöntemi ile karakterizasyonu ve genotipler arası genetik ilişkileri belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan 72 primerin tümünde bant gözlenmiştir. Polimorfizm bakımından 18 primerde bir ile iki bant arasında polimorfizm gözlenirken toplamda 23 tane polimorfik band elde edilmişlerdir. Bant büyüklükleri 250-1700 bp arasında olduğu belirlenmiştir. Bütün genotiplerin arasında polimorfizm gözlenmiş ve soyağacını belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda, RAPD yönteminin ceviz ıslah programında, genotiplerin arasındaki genetik benzerliği ortaya çıkartmada, yeni ceviz çeşitlerinin tanımlanmasında ve ebeveyn seçimi için kullanışlı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (Nicese ve ark., 1998).

Çalışmamızda meşe genotipinde kullanılan 56 primerden 53 primerin amplifikasyon göstermesi ve polimorfizm oranının % 98,25 olarak yüksek bir oranda gözlenmesi RAPD tekniğinin meşe genotiplerinde kullanılabilirliğini göstermiştir. Çalışmada çok farklı bir tür olarak yer alan kermes meşesinin elde edilen

dendrogramda kara meşeye yakın olması dikkat çekmiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile RAPD tekniğinin meşe genotiplerinde genetik benzerliğin belirlenmesinde, genotiplerin gruplandırılmasında ve karakterize edilebilmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir.

Cao ve ark. (1999), RAPD moleküler markörlerini morfolojik yöntemlerle sınıflandırmasının yanlış yapıldığı şüphelenilen 12 adet *T. spelta* veya *T. macha* genotipiyle kontrol olarak da birer tane *T. monococcum*, *T. dicoccoides* ve *T. Timopheevii* türlerini kullanıp analiz yapmışlardır. Kümeleme analizleri sonucunda 6 genotipin *T. monococcum* grubunda, 1 genotipin *T. timopheevii* ve 5 genotipin de *T. dicoccoides* grubunda olduklarını belirlemişlerdir. Bu analiz sonuçlarının sitolojik araştırmalarla desteklendiğini ve çalışmada 1 adet RAPD markörünün D genomunda spesifik bulunduğunu ve *Triticum*'un alt türlerini ayırt etmede RAPD tekniğinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Dakir ve ark. (2002), Fas'ta toplanmış olunan bazı arpa genotiplerinde genetik farklılığı değerlendirmek için RAPD ve tohum depo proteinlerini kullanarak yapmış oldukları araştırmada; 31 tane yerel olarak bulunan arpa popülasyonundan 6 tanesini RAPD yöntemi ile incelediklerini, 21 tane RAPD primeri kullandıklarını, 21 primerden 100 polimorfik bant elde eddiklerini ve genetik çeşitliliği belirlemede RAPD yönteminin depo proteinlerinden daha etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Maric ve ark. (2004), 14 Hırvatistan ekmeçlik buğday hattında genetik benzerliği belirlemek için RAPD yöntemini, morfolojik özellikler, çeşitlerin pedigri kayıtlarını kullanarak yapmış oldukları çalışmada 36 adet RAPD primerlerini test etmişler. Bu 36 adet RAPD primerinden 14 tanesinde polimorfizm gözlendiğini, 14 tane RAPD primerinden 341 polimorfik bant gözlendiğini, morfolojik analizde 12 özellik kullandıklarını, pedigri veri analizinde geriye dönük ebebeynleri karşılaştırdıklarını bildirmişlerdir. Ekmeçlik buğday çeşit ve hatlarında genetik benzerliği belirlemede RAPD yönteminin yüksek polimorfizm oranı gösterdiğini ve test ettikleri metodlar arasında da istatistiksel olarak pek farkın olmadığını belirtmişlerdir.

Silva ve ark. (2006), gen bankasında bulunan Brezilya'nın 3 ayrı bölgesinden toplanmış olan karpuzlarda morfolojik ile moleküler karakterizasyon analizlerini yapmışlardır. Çalışmada kullanılan 43 karpuz genotipi arasında Crimson Sweet çeşidini kontrol grubu olarak kullanmışlardır. RAPD yöntemiyle 6 tane primer kullanılmıştır. Bu RAPD primerlerinde elde ettikleri toplam 64 banttan, 31 bant polimorfik olduğu bildirilmiştir. Kümeleme (Cluster) analiziyle 28 grupta yer alan karpuzların 24'ü tek bir genotipten oluşmuştur. Elde edilen sonuçlara göre RAPD yönteminin polimorfizmi iyi bir şekilde açıklayabildiğini ve gen bankasında bulunan karpuz genotiplerinin karakterizasyon çalışmalarında kullanılabileceğini bildirilmiştir.

Yang ve ark. (2009), Çin'de yetiştirilen 18 badem çeşidinde 7 RAPD primeri kullanarak genetik farklılıklarını test etmişlerdir. Elde edilen toplam 54 banttan 30 tanesinin (% 55,6) polimorfik bant olduğunu bulmuşlardır. RAPD verilerine göre, incelenen 18 badem çeşidi 2 ana grupta yer almıştır. Yapılan moleküler sınıflandırma sonuçları, morfolojik sınıflandırma ile uyumluluk göstermiştir.

Ertürk ve Dalkılıç (2011), sekiz ceviz genotipi arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için RAPD metodunu kullanmışlardır. Kullanmış oldukları 45 primerden ve 37 primer ile sonuç alınmışlardır. Bu primerlerden büyüklükleri 200-5000 bp arasında belirlenen 340'ı polimorfizm olan toplam 513 bant elde edilmiştir. RAPD markörleri ile elde edilen dendrogramda, 8 ceviz genotipinin 3 ana grupta toplandığı belirlenirken, en yüksek benzerlik indeksi (0,779) NO-2 ve No-8 genotipleri arasında bulunmuştur. Sonuç olarak RAPD markörlerinin ceviz genotiplerinin karakterize edilmesinde ve gruplandırma kullanılabileceği belirlenmiştir.

Yılmaz ve ark. (2013), Türkiye'deki meşelerin moleküler çeşitliliğini belirlemek için RAPD yöntemini kullanmışlardır. Çalışmada 26 populasyonda 3 meşe türü (*Q. coccifera* 16 populasyon, *Q. ilex* ve *Q. aucheri* 5 populasyon) kullanılmıştır. 10 RAPD primerinde 217 polimorfik bant elde edilmiştir ve bant büyüklükleri 150-1600 bp olarak belirlenmiştir. En yüksek genetik benzerlik C1-C2 ve A1-A5 populasyonları arasında belirlenmiştir.

Meşe türlerinin morfolojik markörler ile birbirinde ayırt edilmesinde yaşanan sorunlarla moleküler markörlerin kullanımı ile önüne geçilebilmektedir. Morfolojik olarak yüksek oranda benzerlik gösteren türlerin RAPD tekniğinin dışında diğer moleküler markörlerin kullanımıyla da türler arasındaki akrabalık ilişkisi belirlenebilir.





## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Meşeler kıymetli yapacak ve yakacak odun veren ağaçlardır. Büyük bir yaşama kudretine sahiptirler. Bu nedendir ki, çok genç yaşlarda bile, kök ve kütükten sürgün verebilmektedirler. Kökleri çok derinlere giden meşeler, topraktan kökleri sökülmedikçe, en ağır hayvan otlatmalarına, en ağır müdahalelere karşı kendilerini yenileme gücüne sahiptirler (Yaltırık, 1984). Tür zenginliği, kapladığı alan, odun ve yan ürünlerinin kullanma yerinin çeşitliliği bakımından Ülkemiz için son derecede değerli olan meşe türlerinin, yetiştirme ve kullanma amaçları yönünden teşhisi de büyük bir önem taşımaktadır (Yaltırık, 1984).

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden, Adıyaman, Şanlıurfa ve Diyarbakır yörelerinden toplamış olduğumuz [Kara Meşe (*Quercus brantii*), Kermes Meşesi (*Quercus coccifera*), Mazı Meşesi (*Quercus infectoria* subsp. *boissieri*)] 7 farklı lokasyona ait meşe genotiplerinde RAPD analizi yapılmıştır. Lefort ve Douglas (1999) protokolüne uygun olarak yapmış olduğumuz DNA izolasyonunda en yüksek DNA miktarı Diyarbakır/Mazı meşesi (MD) 681 ng/μL, en düşük DNA miktarı Adıyaman/Kermes meşesi (APK) 144 ng/μL olarak belirlenmiştir. Diğer genotiplere ait DNA miktarları da bu aralıklar arasında değişim göstermiştir. DNA saflık değeri (A260/A280) ise 1.91-1.45 aralığındadır. Elde ettiğimiz DNA miktar ve saflık değerleri sonuçlarının RAPD-PCR analiz işlemi için uygunluğuna karar verilmiştir.

RAPD-PCR analizi için kullanılan 56 primerden 53 primerde amplifikasyon gözlemlenirken 3 primerde (OPH-02, OPH-06 ve OPH-10) amplifikasyon gerçekleşmemiştir. 53 primerde toplam 627 banttandır, 616'sı polimorfik, 11'i ise monomorfik bant göstermiştir. Polimorfizm oranı % 98,25 olarak belirlenmiş olup en düşük polimorfizm oranı ise OPH-17 primerinde % 77,8 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Değerlendirilmeye alınan primerlerde en fazla bant 21 bant ile OPH-19 primerinde elde edilirken, en az bant sayısı OPH-20 ve OPJ-06 primerlerinde elde edilmiştir. En fazla polimorfik bant OPH-19 primerinde elde edilirken, en az

polimorfik bant sayısı OPH-20 ve OPJ-06 primerlerinde elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 100-3000 bp olarak belirlenmiştir.

Jaccard (1908)'e göre hesaplanmış olunan genetik akrabalık düzeyinde en yüksek genetik benzerlik 0,450 olarak Diyarbakır/Mazı meşesi (MD) ve Şanlıurfa/Mazı meşesi (MS) genotipleri arasında belirlenmiştir. En düşük genetik benzerlik 0,102 olarak Adıyaman/Kermes meşesi (APK) ve Şanlıurfa/Mazı meşesi (MS) genotipleri arasında belirlenmiştir.

Dendrogram incelendiğinde meşe genotipleri 2 ana grup altında toplanmıştır. Birinci ana grup iki alt gruptan oluşmuştur. Birinci alt grup da kendi içinde dallanmakta olup 1. alt dalda Adıyaman/Kara meşe(AKK), Diyarbakır/Kara meşe(KD) ve Şanlıurfa/Kara meşe(KS) genotipleri yer alırken, 2. alt dalda farklı bir meşe türü olan Adıyaman/Kermes meşe (APK) genotipi yer almıştır. İkinci ana grupta ise Adıyaman/Mazı meşe(ADM), Diyarbakır/Mazı meşe(MD) ve Şanlıurfa/Mazı meşe(MS) genotipleri yer almıştır.

RAPD yöntemi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasında, atasal türlerin saptanması, filogenetik ilişkilerin araştırılması, bireysel parmak izi analizinde, çeşitlerin tanımlanması, türler içi ve türler arasında genetik değişkenliğin tespit edilmesi, germplazm koleksiyonlarının genetik yapılarının ortaya çıkarılması ve bu konulardaki bazı ikilemlerin giderilmesi, hastalık ve zararlılara karşı dirençlilik genlerinin işaretlenmesi, ve popülasyon genetik yapısının analizi gibi alanlarda kullanılmaktadır (Özaydın, 2004).

Bu çalışmada meşe genotipleri arasında RAPD tekniğinin kullanım alanlarından biri olan tür içi ve türler arası genetik değişikliği, Güneydoğu Bölgesinde belirlenen 7 lokasyona ait meşe genotipleri üzerinde tespit edilmeye çalışılmıştır. Sadece bir bölgedeki meşe genotiplerinde oldukça yüksek oranda polimorfizm oranının (% 98,25) tespit edilmiş olması, bu çalışmanın sonuçlarının ıslah çalışmaları açısından büyük önem arz ettiğini göstermektedir.

RAPD tekniği kullanılarak yapılan bu çalışma, diğer moleküler teknikler kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Ayrıca tek bir bölgeye ait meşe genotiplerinde yapılan bu çalışma daha fazla bölgede toplanan meşe türleri arasında moleküler ve morfolojik yöntemlerin beraber kullanılmasıyla da yapılabilir.



## KAYNAKLAR

- AKA-KAÇAR, Y., 2001. Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kod No: 640, Adana, Türkiye.
- AKA-KAÇAR, Y., 2003. Bitkilerde DNA İzolasyonu. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2: 1-3.
- AKKURT, S., 2016. Türkiye’de doğal olarak bulunan meşeler–*Quercus* subsp. [https://www.academia.edu/2900919/T% C3% BCrkiye\\_Me% C5% 9Feleri](https://www.academia.edu/2900919/T%C3%BCrkiye_Me%C5%9Feleri) (Erişim tarihi: 15 Şubat 2016).
- ALBERTSON, R.C., MARKERT, J.A., DANLEY, P.D., and KOCHER, T.D., 1999. Phylogeny of a rapidly evolving clade: The cichlid fishes of Lake Malawi, East Africa. East Africa. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 96: 5107–5110.
- ANONİM, 2006a. Baltalık Ormanlarının Koruya Dönüştürülmesi Eylem Planı (2006-2015), T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Ankara, 24s.
- ANONİM, 2006b. Meşe Ormanlarının Rehabilitasyonu Eylem Planı (2006-2015), T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Ankara, 24s.
- ATAK, Ç., ÇELİK, Ö., and AÇIK, L., 2011. Genetic analysis of rhododendron mutants using random amplified polymorphic DNA (RAPD). Pak. J. Bot., 43(2): 1173-1182.
- BARTOLOZZI, F., WALBURTON, M.L., ARULSEKAR, S., and GRADZIEL, T.M., 1998. Genetic Characterization and Relatedness Among California Almond Cultivars and Breeding Lines Detected by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 123(3): 381-387.
- BOWDITCH, B.M., ALBRIGHT, D.G., WILLIAMS, J.G., and BRAUN M.J., 1993. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genome studies. Methods Enzymol., 224: 294–309.
- BUDAK, H., BÖLEK, Y., DOKUYUCU, T., and AKKAYA, A., 2004. Potential Uses of Molecular Markers in Crop Improvement. KSU, J. Science and Engineering, 7(1):75–79.
- CANLI, A.F., 2008. Progress in Genetic Mapping of *Prunus* Species. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24 (1-2): 414-424.
- CAO, W., SCOLES, G., HUCL, P., and CHIBBAR, R.N., 1999. The Use of RAPD Analysis to Classify Triticum Accessions. Theor. Appl. Genet., 98: 602-607.
- CLARK, A.G., and LANIGAN, C.M.S., 1993. Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. Mol Biol Evol., 10: 1096-1111.
- DAKIR, E.H., RUIZ, M.L., GARCIA, P., and PEREZ DE LA VEGA, M., 2002. Genetic Variability Evaluation in A Moroccan Collection of Barley, *Hordeum vulgare* L., by Means of Storage Proteins and RAPDs. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 619-631.
- DEVİRİM, A.K., ve KAYA, N., 2006. RAPD tekniği ve biyokimya alanında kullanımı. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 12: 97-101.

- EL-RABEY H.A., BADR, A., SCHAFER-PREGL, R., MARTIN, W., and SALAMINI, F., 2002. Speciation and species separation in *Hordeum* L. (Poaceae) resolved by discontinuous molecular markers. *Plant Biol.*, 4: 567–575.
- ERGÜL, A., 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L.) Genomik DNA Parmak İzi Analizi İle Moleküler Karakterizasyon. (Doktora Tezi) A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 86 s., Ankara.
- ERTÜRK, U., ve DALKILIÇ, Z., 2011. Determination of genetic relationship among some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes and their early-bearing progenies using RAPD markers. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(1): 5944-5952.
- FİLİZ, E., ve KOÇ, İ., 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 207-214.
- GENÇ, M., 2009. Asli Ağaç Türlerimizin Silvikültürü “Meşeler”. <http://ormanweb.sdu.edu.tr/dersler/mgenc/asli/asli11.pdf>
- GEPTS, P., 1990. Genetic Diversity of Seed Storage Proteins in Plants. *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetics Resources* (A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A. L. Kahler, and B.S. Weir, eds.), Sinauer, Sunderland, Massachusetts, p: 64-68.
- GUPTA, PK., VARSHNEY, R.K., SHARMA, P.C., and RAMESH, B., 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.
- GÜLŞEN, O., ve MUTLU, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları alatarım, 4 (2): 27-37.
- HEDGE, I.C., and YALTIRIK, F., 1982. ‘*Quercus* L.’ Flora of Turkey and East Aegean Islands Vol. 7, Davis, P. H. (Ed.), University Press, Edinburg
- HOU, Y.-C., YAN, Z.-H., WEI, Y.-M., and ZHENG, Y.-L., 2005. Genetic Diversity in Barley from West China Based on RAPD and ISSR Analysis. *Barley Genetics Newsletter*, 35: 9-22.
- JACCARD, P., 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bul. Soc. Vaudoise Sci. Nat.*, 44: 223–270
- JOSHI, S.P., GUPTA, V.S., AGGARWAL, R.K., RANJEKAR, P.K., and BRAR, D.S., 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 1311–1320.
- KARP, A., ISSAR, P.G., and INGRAM, D.S., 1998. Molecular tools for screening biodiversity. Chapman & Hall, London.
- KASAPLIGİL, B., 1992. Türkiye’nin Geçmişteki ve Bugünkü Meşe Türleri, OGM Yayınları, Yayın No:675, Ankara, 64s.
- KHAN, S., and SPOR, W., 2001. Use of molecular and morfolojik markers as a quality control in plant tissue culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(4): 479-482.
- KHANUJA, S.P.S., SHASANY, A.K., SRIVASTAVA, A., and KUMAR, S., 2000. Assessment of Genetic Relationships İn *Mentha* Species. *Euphytica*, 111: 121-125.
- KÜDEN, A.B., KAÇAR, Y.A., KÜDEN, A., BAYAZİT, S., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S., and DEMİR, T., 2004. Analysis of Molecular Molecular Polymorphism in Several Turkish Almond. *Acta Horticulturae*, 663: 33-40.

- LEFORT, F., and DOUGLAS, G.C., 1999. An Efficient Micro-Method of DNA Isolation from Mature Leaves of Four Hardwood Tree Species Acer, Fraxinus, Prunus and Quercus. *Annals of Forest Sciences*, 56: 259-263.
- MALVOLTIMALVOLI, M.E., FORNARIFORNARI, B., MACCAGLIA MACCAGLIA E., and CANNATA, F., 2001. Genetic Linkage Mapping in an Intraspecific Cross of Walnut (*Juglans regia* L.) Using Molecular Markers. *Acta Horticulturae*, 544: 179-185.
- MAMIKOĞLU, N.G., 2012. Türkiye'nin Ağaçları ve Çalıkları. NTV Yayınları, İstanbul.
- MARIC, S., BOLARIC, S., MARTINCIC, J., PEJIC, I., and KOZUMPLIK, V., 2004. Genetic Diversity of Hexaploid Wheat Cultivars Estimated by RAPD Markers, Morphological Traits and Coefficients of Parentage. *Plant Breeding*, 123: 366-369.
- NICESE, F.P., HORMAZA, J.I., and MCGRANAHAN, G.H., 1998. Molecular Characterization and Genetic Relatedness among Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Based on RAPD Markers. *Euphytica*, 101: 199-206.
- OGM, 2012. Türkiye Orman Varlığı. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Orman İdaresi ve Planlama Dairesi Başkanlığı, Yayın No:85, Ankara.
- OVESNA, J., POLAKOVA, K., and LEISOVA, L., 2002. DNA analyses and their applications in Plant Breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 38 (1): 29-40.
- ÖZAYDIN, S., 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematigi. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Sayı:6., 113-130.
- ÖZER, A.E., ve BUL, M., 1998. Meşe ve Meşe Ağaçlandırması, Lebib Yalkın Yayınları ve Basım İşleri Baskı Evi, İstanbul, 38s
- ÖZGEN, M., GÜNES, M., AKÇA, Y., TÜREMİS, N., ILGIN, M., KIZILCI, G., ERDOĞAN, Ü., and SERÇE, S., 2009. Morphological characterization of several *Morus* sp. from Turkey. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 50(1): 9-15.
- ÖZTÜRK, S., 2013. Türkiye Meşeleri Teşhis ve Tanı Kılavuzu. Terzioğlu, S. (Ed.), T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Orman Zararlılarıyla Mücadele Dairesi Başkanlığı. ISBN 978-605-4610-24-2.
- PIGIC ,E., TARAMINO, G., and MOTTO, M., 1998. Comparative Analysis of Genetic Similarity Among Maize Inbred Lines Detected by RFLPs, RAPDs, AFLPs. *Theoretical Appl. Genet.*, 97: 1248-1255
- POWELL W., MORGANTE M., ANDRE C., HANAFEY, M., VOGEL, J., TINGEY, S., and RAFALSKI, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 2: 225-238.
- RAFALSKI, J.A, HANAFEY, M.K., TINGEY, S.V., and WILLIAMS, J.G.K., 1994. Technology For Molecular Breeding: Rapd Marker, Microsatellites And Machines. In: Gresshoff, P.M. (Eds) : *Plant Genom Analysis*, P. 19-27, USA.
- RAFALSKI, J.A., TINGEY, S.V., and WILLIAMS, J.G.K., 1991. Rapd Markers- a New Technology For Genetic Mapping and Plant Breeding. *Ag. Biotech. News And Information*, 3(4): 645-648.
- ROHLF, F.J., 1998. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0, User's Guide. New York: Exeter Software.

- RUSSELL, J.D. FULLER, M., AND MACAULAY, B.G., 1997. Efficiency of different marker systems for genotype fingerprinting and for genetic diversity studies in barley (*Hordeum vulgare* L.). South African Journal of Botany, 73: 143-48.
- SILVA, M.L., QUEIROZ, M.A., FERREIRA, M.A.J., and BUSO, G.S.C., 2006. Morphological and Molecular Characterization of Watermelon. Horticultura Brasileira, 24 (4): 405-409.
- SOYKAN, B. 1969. 1963 yılında geçerli olan Orman Amenajmanı Planlarına göre Orman Varlığımız. Orman Enstitüsü Yayınları; Teknik Bülten, Seri No:32,Ankara
- SPOONER, D.M., TIVANG, J., NIENHUIS, J., MILLER, J.T., DOUCHES, D.S., and CONTRERAS, M.A., 1996. Comparison of four molecular markers in measuring relationships among the wild potato relatives *Solanum* section *Etuberosum* (subgenus *Potatoe*). Theor. Appl. Genet., 92: 532–540
- STAUB, J.E., KUHNS, J.J., MAY, B., and GRUN, P., 1982. Stability of Potato Tuber Isozymes Under Different Storage Regimes. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107: 405-408
- TAYANÇ, A., KANDEMİR, G., ÇENGEL, B., ve VELİOĞLU, E., 2012. Türkiye’de yayılış gösteren göknar (*Abies* spp.) populasyonlarının genetik çeşitliliği ve filogenetik sınıflandırılması. Teknik bülten, No:33
- THIMMAPPAIAH, SANTHOSH, W.G., SHOBHA, D., and MELWYN, G.S., 2009. Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. Scientia Horticulturae, 120: 411-417.
- THOMAS, M.R., MATSUMUTO, S., CAIN, P., and SCOTT, N.S., 1993. Repetitive DNA of Grapevine: Classes Present And Sequences Suitable For Cultivar Identification. Theor. Appl. Genet., 86: 173-180.
- TINGEY, S.V., and DEL TUFA, J.P., 1993. Genetic Analysis with Random Amplified Polimorphic DNA Markers. Plant Physiol., 101: 349-352.
- TZITZIKAS, E.N., MONFORTE, A.J., FATIHI, A., KYPRIOTAKIS, Z., IACOVIDES, T.A., IOANNIDES, I.M., and KALAITZIS, P., 2009. Genetic Diversity and Population Structure of Traditional Greek and Cypriot Melon Cultigens (*Cucumis melo* L.) Based on Simple Sequence Repeat Variability. HortScience, 44(7): 1820-1824.
- WANG, H.Z., WU, Z.X., LU, J.J., SHI, N.N., ZHAO, Y., ZHANG Z.T., and LIU J.J., 2009. Molecular diversity and relationships among *Cymbidium goeringii* cultivars based on inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Genetica, 136: 391–399.
- WAUGH, R. and POWELL, W., 1992. Using Rapd Markers For Crop Improvement. Focus, 10, 186-191.
- WELSH, J., and MCCLELLAND, M., 1990. Fingerprinting Genomes Using Pcr. With Arbitrary Primers. Nucleic Acids Res., 18: 7213-7218.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., and TINGEY, S.V., 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. Nucleic Acids Res., 18: 6531-6535.
- WILLIAMS, J.G.K., HANAFEY, M.K., RAFALSKI, J.A., and TINGEY, S.V., 1993. Genetic Analysis Using Rrandom Amplified DNA Markers. In: Wu, R .(eds): Methods in Enzymology, Recombinat DNA, Part I, 218, 704-740.

- WOLFE, A.D., and RANDLE, C.P., 2001. Relationships within and among species of the holoparasitic genus *Hyobanche* (Orobanchaceae) inferred from ISSR banding patterns and nucleotide sequences. *Syst. Bot.*, 26: 120–130.
- YALTIRIK, F., 1984. “Türkiye Meşeleri Teşhis Kılavuzu”. Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayını, Yenilik Basımevi, İstanbul.
- YALTIRIK, F., 1988. “Dendroloji Ders Kitabı, Angiospermae (Kapalı Tohumlular)”. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Taş Matbaası
- YANG, B., GONG, P., CHE, YU-HONG, and LI-MING, L., 2009. RAPD Analysis of Local and Introduced Almond Varieties in Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2009-01
- YILMAZ A., USLU E., BABAÇ M.T. 2013. Molecular diversity among Turkish oaks (*QUERCUS*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African Journal of Biotechnology* 12(45): 6358-6365.
- YILDIRIM, A., ve KANDEMİR, N., 2001. Genetik Markırlar ve Analiz Metotları. Bitki Biyoteknolojisi (Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları). ÖZCAN, S., GÜREL, E., BABAĞLU, M., (Editörler) 2: 334-363.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Özgür ÇELİK  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Şanlıurfa/ 24.05.1988  
**Telefon** : 0553 137 57 59  
**Faks** :  
**e-mail** : ozgr\_clk@hotmail.com

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Yılı
Lise	: Şanlıurfa (Yabancı Dil Ağırlıklı) Lisesi (Şanlıurfa)	2002-2006
Üniversite	: Çukurova Üniversitesi (Adana) Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2007-2009
Üniversite	: Harran Üniversitesi (Şanlıurfa) Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2009-2013
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi (Şanlıurfa) Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D. Tezli Yüksek Lisans	2013-2016

**UZMANLIK ALANI:** Bitki Biyoteknolojisi

**YABANCI DİLLER:** İngilizce

### YAYINLAR:

T. Demiral, Ö. F. Kaya, S. Almas, **Ö. Çelik**, M. Hamurcu "Assesment of heavy metal accumulation on some ecological features of *Ranunculus*

*sphaerospermus* living in puddle (Turkey)". 5<sup>th</sup> Aquatic Biodiversity International Conference 2015, Sibiu/Transylvania/Romania/European Union, 7-10 October 2015.

M. Hamurcu, T. Demiral, M. Calik, Z.Z. Avsaroglu, **Ö. Celik**, E.E. Hakki, A. Topal, S. Gezgin, R.W. Bell "Effect of Nitric Oxide on the Tolerance Mechanism of Bread Wheat Genotypes under Drought Stress". European Biotechnology Congress 2014, Lecce, ITALY. 15-18 May 2014. Journal of Biotechnology 1855 (2014) S18-S36, S33

