

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MİCROSATELLİT (SSR) DNA MARKÖRLERİNİN MERCİMEK GENOM  
HARİTALAMASINDA KULLANILMASI**

**İbrahim VARLI**

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2009**

Yrd. Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN danışmanlığında, İbrahim VARLI'nın hazırladığı “**Microsatellit (SSR) DNA Markörlerinin Mercimek Genom Haritalamasında Kullanılması**” konulu bu çalışma 02/07/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN

Üye : Doç. Dr. Canan CAN

Üye: Yrd.Doç Dr. Mustafa ÖZDEN

**Bu Tezin Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim BOLAT**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma HÜBAK tarafından desteklenmiştir.**

**Proje No: 880**

**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
ÖZ .....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR.....	III
SİMGELER DİZİNİ .....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	5
2.1. Mercimek Bitkisi ( <i>Lens sp.</i> ) .....	5
2.2. Moleküler Markör Teknikleri ve Gen Haritalama .....	6
2.3. Mikrosatellit DNA Markörleri .....	8
2.4. Mikrosatellit markörlerin avantaj ve dezavantajları .....	8
2.5. Mercimek Bitkisi ile Yapılan Genetik Haritalama Çalışmaları .....	9
2.6. Diğer Baklagiller ile Yapılan Haritalama Çalışmaları .....	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	16
3.1. Materyal .....	16
3.2. Yöntem .....	16
3.2.1. DNA izolasyonu protokolu .....	19
3.2.2. DNA saflık analizi .....	20
3.2.3. Mikrosatellit markör analizleri ve PCR protokolu .....	21
3.2.4. PCR protokolu (Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	22
3.2.5. Jel elektroforezi .....	23
3.2.6. Jellerin boyanması .....	23
3.2.7. DNA markörlerinin skorlanması ve genetik haritanın oluşturulması .....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	25
4.1. Mevcut Mercimek Genetik Bağlantı Haritası .....	25
4.2. Ebeveynler arasında SSR primerleri ile polimorfizm testleri .....	25
4.3. Genetik Bağlantı (Linkage) Harita Analizleri.....	29
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	40
KAYNAKLAR .....	42
ÖZGEÇMİŞ .....	46
ÖZET .....	47
SUMMARY .....	48

## ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

### MİKROSATELİT (SSR) DNA MARKÖRLERİNİN MERCİMEK GENOM HARİTALAMASINDA KULLANILMASI

İbrahim VARLI

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN  
Yıl: 2009, Sayfa: 48

Bu çalışmada, mercimek (*Lens culinaris* Medik.) bitkisinin genomuna ait bağlantı (linkaj) haritasına SSR (Simple Sequence Repeats) markörlerinin katılımı amaçlanmıştır. Genom haritası oluşturulmasında WA8649041 ve Precoz ebeveynlerin çaprazlanmasıyla elde edilmiş olan 93 adet rekombinant saf hat (Rekombinant Inbred Lines, RILs) populasyonu kullanılmıştır. Genom haritalamasında SSR markörlerine ilaveten RAPD, AFLP, ISSR ve morfolojik markörler kullanılmıştır. Çalışmada 175 SSR primeri kullanılmış olup, 25 SSR primeri polimorfik, 109 SSR monomorfik, 41 SSR çalışmamıştır. Polimorfik SSR markörleri genetik bağlantı haritasında belirli bir kromozom veya grupta toplanmayıp farklı bağlantı gruplarına dağılmıştır. SSR markörleri kodominant olmaları nedeniyle karşılaştırmalı genom haritalama çalışmalarında büyük öneme sahiptirler. Halihazırda mevcut 123 markörden oluşan genom haritasına (57 AFLP, 48 RAPD, 16 ISSR ve 2 morfolojik markör) bu çalışmayla 13 SSR markör ilave edilerek genom haritasındaki toplam markör sayısı 136 olmuştur. Genom haritası 11 bağlantı (linkaj) grubundan oluşmuş olup, toplam harita uzunluğu 1311.2 cM dir. İki markör arası ortalama uzunluk 9.64 cM dir.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Mercimek, Genetik harita , SSR markörler

## **ABSTRACT**

### **MSc Thesis**

## **USE OF SSR (Microsatellite) MARKERS IN CONSTRUCTION OF GENETIC LINKAGE MAP OF LENTIL**

**İbrahim VARLI**

**Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Field Crops**

**Supervisor: Assist. Yrd. Doç.. Dr. Abdullah KAHRAMAN**

**Year: 2009, Page: 48**

The objective of this study was to integrate the SSR (Simple sequence Repeats) markers in lentil (*Lens culinaris* Medik.) genetic linkage map. To construct the linkage map, an F6 derived Recombinant inbred line (RIL) population with 93 lines developed from the cross of WA8649041 x Precoz lentil lines was used. Linkage map was comprised of RAPD, ISSR, AFLP, SSR and morphological markers. One hundred seventy five (175) SSR markers were used in the study. 25 SSR markers were polymorphic, while 109 SSR markers were monomorphic and 41 SSR markers did not work. SSR markers were distributed in different linkage groups rather than clustering in some linkage groups. Of the 21 SSR markers, 13 of them were mapped in lentil genome and the current genetic linkage map is comprised of 136 markers including 57 AFLP, 48 RAPD, 16 ISSR, 2 morphological and 13 SSR markers. Genetic linkage map is comprised of 11 linkage groups with 1311.2 cM in length and average genetic distance between two markers is 9.64 cM.

**KEY WORDS:** Lentil, Genetic linkage map, SSR markers

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın tüm evresinde bilgi birikiminden faydalandığım tez danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN'a, (Harran Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü) laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Dr. Ufuk DEMİREL'e (Harran Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü), Ziraat Mühendisi Bahtiyar ŐAHİNTER'e ( Harran Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü) ve Ziraat Yüksek Mühendisi Orhan USLUER'e (Harran Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü ) teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
ISSR	Rastlantısal Basit Dizi Tekrarları
RAPD	Rastlantısal Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Kesilmiş Parça Uzunluğu Polimorfizmi
RIL	Rekombinant Saf Hatlar
PCR	Polimerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSR	Basit Dizi Tekrarları
WSU	Washington State Üniversitesi

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 2.1. Moleküler markör teknikleri ve gen haritalama.....	6
Çizelge 2.2. En fazla kullanılan moleküler markörlerin karşılaştırılması.....	7
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan popülasyonu oluşturan ebeveynler ve RIL hatlarına ait kayıt bilgileri .....	21
Çizelge 3.2. PCR (karışım) hazırlama (Bir örnek için hazırlanan reaksiyon içeriği).....	22
Çizelge 3.3. Denemede kullanılan SSR primerlerine ait PCR protokolleri.....	22
Çizelge 4.1. Projede kullanılan SSR primerlerine ait polimorfizm test sonuçları .....	28
Çizelge 4.2. Precoz ve WA8649041 mercimek hatları arasında polimorfizm durumlarını belirlemede kullanılan SSR primerlerine ait dizimleri, baz uzunlukları (bp), bağlanma sıcaklıkları ( $T_m$ ), primerler tarafından çoğaltılan DNA fragment uzunlukları, ve polimorfizm durumları. Dizilimi bilinmeyen primerlere ait ilgili kısımlar boş bırakılmıştır. F= forward primer, R= reverse primer .....	30



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. WA8649041 x Precoz ebeveynlerinin melezlemesinden elde edilen rekombinant saf hat (RIL) popülasyonu kullanarak oluşturulan mercimek genetik bağlantı haritası (Kahraman ve ark., 2004).....	13
Şekil 4.1. SSR primerleri SSR19, GLLC562 ve GLLC559' a ait jel resimleri. İlk iki sıra anne ve baba ebeveynlere ait, takib eden sıralar RIL hatlarına ait DNA lar, ortada 13. sıra DNA Markör (100bp).	26
Şekil 4.2. AFLP, RAPD, ISSR, SSR ve morfolojik markörlerinden oluşan mercimek genetik bağlantı haritası.....	39

## 1. GİRİŞ

Ülkemizde ticari olarak üretimi yapılan baklagillerin başında mercimek, nohut, kuru fasulye ve bakla gelmektedir (Uysal, 2007). 1980'li yıllarda dünya genelinde Türkiye, mercimek üretimi bakımından dış ülkelere satışta ilk sıralarda yer almış ve üretim artışı göstermiştir. 1990'lı yılların sonlarına doğru üretimde azalmanın meydana gelmiş ve buna bağlı olarak ihracatta düşüş hatta ithal etme durumu söz konusu olmaya başlamıştır (Aydoğan, 2003).

Mercimek bitkisi kendine döllen, yıllık, diploid ( $2n=2x=14$ ), özellikle Orta Doğu, Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ve Avustralya'da yetişebilen önemli bir üründür. Mercimek, özellikle insan beslenmesinde ve hayvan yemlerinde zengin bir protein kaynağı olması nedeniyle önem teşkil eden bir üründür (Rubeena ve ark., 2003; Hamwieh ve ark., 2005). Çeşitlere ait önem teşkil eden özelliklerle ilgili markörlerle oluşturulmuş detaylı bir genom haritası, ıslah çalışmalarında verimliliğin artırılması bakımından önemli bir kaynaktır. Günümüzde, tarımsal öneme sahip ve birçok ürüne ait genetik haritalar oluşturulmuş durumdadır. Mercimek genomuna ait ilk haritalama çalışmaları izoenzimler, morfolojik ve sitolojik markörler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki haritalama çalışmalarında DNA markör tekniklerinden yararlanılmıştır. DNA markörlerinin morfolojik ve izoenzim markörlerine göre avantajı yüksek miktarda polimorfizm elde edilebilmesidir. Örneğin, PCR'e dayalı RAPD markör tekniği birçok baklagil türünün genomik haritasının oluşturulmasında kullanılmıştır (Eujayl ve ark., 1997; Rubeena ve ark., 2003). Havey ve Muehlbauer (1989), mercimekle yaptıkları ilk çalışmada az markör yoğunluğuna sahip bir harita elde etmişlerdir. Daha sonra, Eujayl ve ark. (1999), ilk gelişmiş mercimek haritasını oluşturmuşlardır.

Son yıllarda DNA markörlerinin kullanılması ile çeşitli ürünlere ait ıslah çalışmalarında verim artışı sağlanabilmiştir (Baum ve ark., 2000). Elde edilen moleküler haritalar kullanılarak markörlere dayalı seleksiyon yapılabilmekte ve klonlamada yararlanılabilmektedir. Mercimeğe ait ilk genetik haritalar oluşturulurken izoenzim, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve bazı morfolojik markörler gibi genomun küçük bir kısmını kavrayan markörler kullanılmıştır (Havey ve Muehlbauer, 1989). Eujayl ve ark. (1998), 86 rekombinant kendilenmiş hat ile 86 RAPD, 79 AFLP ile çoğunluğu RFLP marköründen oluşan 6 kodominant markör ile mercimek genom haritası oluşturmuşlardır. Rubenna ve ark. (2003) F<sub>2</sub> popülasyonu ile 100 RAPD, 11 ISSR ve 3 RGA markörü ile haritalamayı gerçekleştirmişlerdir. Duran ve ark. (2004), oluşturdukları haritada 62 RAPD, 29 ISSR, 65 AFLP, 4 morfolojik ve 1 mikrosatellit markörü kullanmışlardır.

Araştırması yapılan bir özellikle bağlantılı markörlerin yer aldığı detaylı bir genetik haritanın geliştirilmesi ıslah veriminin arttırılmasında önemli bir araçtır. Tarımsal öneme sahip bir çok ürünün genom haritası oluşturulmuştur (O'Brien, 1993). Mercimeğe ait harita oluşturulurken polimorfizimin arttırılabilmesi için öncelikle interspesifik haritalama popülasyonları kullanılmıştır (Muehlbauer ve ark., 1993).

Üzerinde çalışılan bitkiye ait DNA markörlerinin tanımlanması ve o bitkiye ait genomik haritaların oluşturulması, yeni çeşitlerin kısa sürede geliştirilmesini kolaylaştırarak ve ıslah süresini kısaltarak zamandan kazanç sağlanmasına ve seleksiyonda güvenilirlik ve kolaylık elde edilmesine yardımcı olmuştur. Bu amaçla, bir çok moleküler markör tekniği geliştirilerek bunlardan yararlanılmaya başlanmıştır (Michelmore ve ark., 2006). Son yıllarda, moleküler markör teknikleri ile iki veya daha fazla birey arasındaki spesifik sekans farklılıkları dahil tespit edilebilmektedir. İlk olarak kullanılan DNA bazlı moleküler markör tekniği RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemidir (Lörz ve Wenzel, 2004).

Bu markör tekniklerinden yararlanabilmek için öncelikli olarak hücre içerisindeki kromozomal olayların iyi bilinmesi gerekmektedir. Birçok kromozom

çok sayıda genden meydana gelmektedir. Aynı kromozomda bulunan genler bağlantılı (link) genlerdir ve genetik çaprazlarda bağlantı (linkaj) gösterirler. Mayoz sırasında, aktarım birimi genler değil de kromozomlar olduğu için bağlantılı genler, bağımsız açılım konusunda özgür değildir. Teoride, bir kromozomun bütün bölgelerinde bulunan alleller, gamet oluşumu sırasında bir birim olarak aktarılmalıdır. Ama birçok durumda bu böyle olmaz. Birinci mayotik profaz sırasında homologlar eşleştiğinde (ya da sinapsis durumunda iken), kromozom segmentlerinin (bölümlerinin) karşılıklı (resiprokal) değiş-tokuşu gerçekleşebilir. Krossover adı verilen bu olay, allellerin homologlar arasında yeniden karılması ya da rekombinasyonu ile sonuçlanır. Krossover, günümüzde mayoz sırasında oluşan gerçek bir fiziksel kırılma ve tekrar bir araya gelme olayı şeklinde düşünülmektedir. Kromozom segmentlerindeki bu değiş tokuş herhangi bir birey tarafından oluşturulan gametlerde, genetik çeşitlilik için aşırı derecede fazla potansiyel sağlar. Bu tip varyasyon, bağımsız açılım sonucu oluşan ile birlikte, bütün yavru bireylerin, anne ve babadan gelen allellerin çeşitli karışımlarını içermelerini sağlar. Bir kromozom üzerindeki herhangi iki bölge arasındaki krossover derecesi, aralarındaki uzaklık ile orantılı olup bölgeler arası uzaklık (inter-lokus distance) olarak adlandırılır. Dolayısıyla, hangi bölgenin göz önüne alındığına bağlı olarak rekombinant gametlerin yüzdesi değişir. Bu korelasyon, genlerin kromozom üzerindeki göreceli yerleşimlerini belirten kromozom haritalarının oluşturulmasında bir temel oluşturur (Öner, 2003).

Genetik varyasyonlar 2 şekilde tahmin edilebilir: (1) Fenotipik, (2) Genotipik. Genetik markörler bireyin genotipik ve fenotipik karakteristiklerini tanımlar. Genetik markör tipleri morfolojik, protein (biyokimyasal) ve DNA (moleküler) markörleridir.

Çalışmada, rekombinant kendilenmiş hatlar kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan 93 adet rekombinant hatlar, F2 bireylerinin 6 generasyon kendilenecek tek tohuma dayalı (single seed descent) yöntem ile elde edilmiştir. Bu hatlar, F2 popülasyonlarına nazaran homolog başına iki kat daha fazla rekombinasyona ait bilgi içermektedir. Ayrıca bu hatların bir diğer avantajı çok sayıda birey elde ederek tekrarlamalı çalışmalara izin vermesidir.

Bu çalışmada, daha önceden aynı populasyon kullanılarak oluşturulan genetik haritada kullanılan markörlere ilave olarak SSR markörlerinin kullanılması ve mercimek genomunda haritalanması amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Mercimek Bitkisi (*Lens sp.*)

Mercimek, Fabaceae familyasındandır. Fabaceae çiçekli bitkilerin üçüncü en büyük ailesidir. Örneğin, soya fasülyesi, yer fıstığı, nohut ve mercimek bu familyadandır (Paterson ve ark., 2000).

Yaygın olarak Hindistan'ın belli bölgeleri, Orta Doğu, Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ve Avusturalya'da yetişmektedir. Yüksek oranda protein içermesinden dolayı genellikle insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Genellikle diğer hububatlarla münavebe halinde yetiştirilmektedir. Dünyadaki toplam mercimek ekim alanı (yaklaşık 48 ülkede) 3,8 milyon hektar ve ortalama verim 850 kg<sup>ha</sup><sup>-1</sup> dir. Bu miktarın % 58'i Asya ülkelerinde yetiştirilirken, % 37'si batı Asya ve kuzey Afrika ülkelerinde yetiştirilmektedir (Galasso ve ark., 2001; Rubeena ve ark., 2003; Furman ve Baum, 2006; Muehlbauer ve ark., 2006).

*Lens* grubunda, kültüre alınmış *L.culinaris* medik. *ssp. culinaris*, yabancı *L. culinaris ssp. orientalis* bulunmaktadır. Ayrıca, 5 tane ilave tür daha tanımlanmıştır. Yabancı türler genellikle Akdeniz çevresinde dağılım gösterirken, *L. culinaris ssp. orientalis* doğuda Asya'nın ortalarına kadar uzanmaktadır. ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas)'ın yaptığı açıklamaya göre *Lens* taksonomik olarak *L. culinaris ssp. orientalis*, *L. odemensis*, *L. ervoides* ve *L. nigricans* olarak 4 gruba ayrılmaktadır (Ferguson ve ark., 1998; Ferguson ve Erskine, 2001). Türkiye mercimeğin önemli gen merkezlerinden biridir ve yabancı mercimek türlerinden *L. culinaris* medik. *ssp. culinaris*, *L. culinaris ssp. orientalis*, *L. odemensis*, *L. nigricans*, *L. ervoides* ve *L. tomentosus* bitkileri doğal florada yetişmektedir (Ladizinsky, 1997).

## 2.2. Moleküler Markör Teknikleri ve Gen Haritalama

Moleküler seviyede ilk incelenen markörler izoenzimlerdir. İzoenzimler proteinlerin izo formlarıdır ve aminoasit kompozisyonlarına ve yüklerine göre değişim göstermektedirler. Bu farklılıklarından yararlanılarak elektroforez ile ayrımlanabilmektedirler. Bu ilk kullanılan tekniğin arkasından daha verimli sonuçlar alınabilen ve DNA bazlı moleküler markör teknikleri geliştirilmiştir (Meksem ve Kahl, 2005).

Bağlantı, polimorfik özellikler arasındaki genetik mesafe olarak tanımlanmaktadır. Enzim aktivitesi, kesim parçalarının (restriksiyon fragmentlerinin) uzunlukları veya allelik lokustaki nükleotid sekansları yardımıyla belirlenebilmektedir. Genetik polimorfizmin belirlenmesinde moleküler markör tekniklerinden yararlanılabilmektedir. Moleküler markör tekniklerine örnek olarak AFLP, RFLP, CAPS, DAF, ISSR, SSR, RAPD, SCAR, ve STS verilebilir. (Çizelge 2.1), (Mohan ve ark., 1997).

Çizelge 2.1. Moleküler markör teknikleri (Mohan ve ark., 1997)

Teknikler	İngilizce adı	Açık Adı
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	Kesilmiş parça uzunluğu polimorfizmi
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequences	Bölünerek çoğaltılmış polimorfik diziler
DAF	DNA Amplification Fingerprinting	Çoğaltılmış DNA parmak izi
ISSR	Inter-SSR Amplification	Rastlantısal basit dizi tekrarları
RAPD	Random-Amplified Polymorphic DNA	Rastlantısal çoğaltılmış polimorfik DNA
SSR	Simple Sequence Repeats	Basit dizi tekrarları
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region	Sekansı tanımlanmış çoğaltılmış bölge polimorfizmi
SNP	Single nükleotid polimorfizm	Tek nükleotid polimorfizmi

Markör teknikleri kendi aralarında karşılaştırıldıklarında PCR (Polimerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile yapılabilmeleri, polimorfizm

gösterme kaliteleri, dominant veya ko-dominant markörlerin tespitine izin vermeleri, verimlilik, otomasyon ve maliyet açısından farklılıklar göstermektedirler. En sık kullanılan markör tekniklerinin bu özellikleri Çizelge 2.2.'de verilmiştir (Meksem ve Kahl, 2005).

Çizelge 2.2 En fazla kullanılan moleküler markörlerin karşılaştırılması (Meksem ve Kahl, 2005)

Markör Tekniği	PCR Temelli olması	Polimorfizm	Dominantlık	Verimlilik	Otomasyon	Maliyet
RFLP	Hayır	Düşük/Orta	Kodominant	Yüksek	Düşük	Yüksek
RAPD	Evet	Orta/Yüksek	Dominant	Düşük	Orta	Düşük
SCARS	Evet	Yüksek	Kodominant	Yüksek	Orta	Orta
AFLP	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Orta
SSR	Evet	Yüksek	Kodominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Yüksek
ISSR	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük
STS	Evet	Yüksek	Kodominant/ Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük

Moleküler markör teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda F<sub>2</sub> dölleri, geriye melez populasyonları, yakın isogenik hatlar (near-isogenik lines), doubled haploidler ve rekombinant saf hatlar (recombinant inbred lines, RILs) kullanılmaktadır. Bunlardan RIL populasyonları ile yapılan çalışmalardan iyi sonuçlar elde edilmektedir (Mohan ve ark., 1997).

Rekombinant hatlar kendileme yoluyla elde edilmektedirler. Bu hatlar ayrıca tek tohuma dayalı hatlar olarak da adlandırılmaktadırlar. Yaklaşık 6 generasyon sonunda tamamen homozigot hatlara ulaşılmaktadır. RIL populasyonları, F<sub>2</sub> populasyonlarına göre daha iyi çözünürlük göstermektedirler, bu nedenle çalışmalarda kullanımları daha fazladır. Bitkilerin birçok çeşidine ait RIL hatlarının elde edilmesi mümkün olmaktadır. Örneğin, *Arabidopsis thaliana* ile yapılan genom haritama çalışmasında 300 adet RIL populasyonu kullanılmıştır (Meksem ve Kahl, 2005).



Genetik haritalar bu moleküler veya morfolojik markörlerin doğrusal olarak sıralanarak bağlantı gruplarını oluşturmalarıyla elde edilmektedirler. Bu gruplanma krossover veya rekombinasyon frekanslarına bağlı olarak değişmektedir (Meksem ve Kahl, 2005). Yüksek çözünürlükte haritalar ise, çok sayıda moleküler markörün haritalanması ile elde edilmektedir (Meksem ve Kahl, 2005).

### **2.3. Mikrosatellit DNA Markörleri**

Mikrosatellit veya basit dizi tekrarları (simple sequence repeats = SSR) nisbeten yeni tip DNA markörleri olarak bilinmektedir. Mikrosatellitler, herhangi bir canlı organizma genomunda ardarda dizilmiş (tandem repeats), genellikle 2 ila 5 bp (baz çifti) uzunluğunda oluşmuş DNA tekrarlarıdır. Bu tekrarlar genellikle 10 veya daha fazladır. Mikrosatellit tekrarlamaları tam tekrar, eksik tekrar (tekrarlanan diziler arasında tekrarlanmayan dizilerin bulunması) veya karışık tekrarlar (Hearne ve ark., 1992) olarak bitki genomunda bulunmaktadır (Hughes ve Queller, 1993).

Mikrosatellitler, dizi tekrarlarını kapsayacak şekilde geliştirilen iki primer (ileri ve geri primer) yardımıyla PCR (polimeraz zincir reaksiyon) ile çoğaltılabilir. Herhangi iki bitki veya birey arasındaki farklılık (polimorfizm) dizilerin tekrarlanma sayılarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Her hangi bir mikrosatellit lokusu bir veya birden fazla allele sahip olabilir.

### **2.4. Mikrosatellit Markörlerin Avantaj ve Dezavantajları**

Mikrosatellit markörler kodominant (eşbaskın) kalıtım göstermekte olup, farklı melezlerden oluşturulan genetik haritalar arasında kolaylıkla kullanılabilirler. Buna karşılık dominant (baskın) kalıtım gösteren RAPD gibi markör sistemlerinde her bir melez için ayrı bir genetik harita oluşturma zorunluluğu vardır. Single (tek) lokus markörü olmaları nedeniyle skorlamaların yapılması, genetik analizleri ve gen haritalarının oluşturulması, multi lokus (çok lokuslu) DNA markörlerine (RAPD, AFLP) göre daha kolaydır.

Mikrosatellitler genoma özgü ve yüksek oranda korunduğu için bir bitkinin genomuna ait mikrosatellit markörlerin başka bir bitki genomunun haritalamasında kullanılması sınırlı olmaktadır. Örneğin mercimek için belirlenen mikrosatellit primerlerinin nohut veya bezelye genomunda kullanılması oldukça sınırlı kalmaktadır. Buna karşın RAPD gibi markörler her genom için rahatlıkla kullanılabilir (Moore ve ark., 1991). Mikrosatellitlerin genoma özgü olmaları yanında mikrosatellit bölgelerinin genomda belirlenmesinde başlangıç maliyetinin yüksek olması başlıca dezavantajlarıdır. Bu durum halihazırda genom veritabanlarının araştırılarak mikrosatellitler bulunması yoluyla nisbeten giderilmektedir.

SSR markörler çok geniş bir kullanım alanına sahip olup, yüksek çözünürlükte genetik haritaların geliştirildiği insan, fare (Love ve ark., 1990) ve diğer memeli genomlarında kullanılmaktadır. Bunun yanında önemli kültür bitkilerine ait genetik haritaların oluşturulmasında da yaygın olarak kullanılmaktadır. (mısır: Sharopova ve ark., 2002; fasulye: Blair ve ark., 2003; yer fıstığı: buğday: Somers ve ark., 2004; De Carvalho Moretzsohn ve ark., 2004; soybean: Song ve ark., 2004; Asma: Adam-Blondon ve ark., 2004).

### **2.5. Mercimek Bitkisi ile Yapılan Genetik Haritalama Çalışmaları**

Detaylı bir genetik bağlantı haritası ve araştırılan önemli karakterleri kontrol eden genlerin bitki genomunda lokasyonlarının aydınlatılması ıslah çalışmalarında oldukça önem taşımaktadır. Haritalama çalışmalarında iyi bir bağlantı haritasının oluşturulmasında rekombinant saf hatlar çok iyi bir kaynaktır. Bu haritalama populasyonları, çok yıllık tarla denemelerinde kullanılmaları ve kantitatif karakterlerin haritalanmasında yeterli tohumu sağlamaları nedeniyle kantitatif karakterlerin haritalanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Eujayl ve ark., 1998).

Mercimekte ilk genetik haritalar 90'lı yıllarda oluşturulmaya başlanmış olup genelde izozimler, RFLP ve morfolojik markörler kullanılmış, fakat az sayıda markörden oluşan ve mercimek genomunun az bir kısmını kapsayan haritalar

yapılmıştır (Havey ve Muehlbauer, 1989; Weeden ve ark., 1992; Tahir ve ark., 1994).

Weeden ve ark. (1996), yapmış oldukları çalışmada, (*Lens ervoides* x *L. culinaris*) melez bireyleri üzerinde toplam 64 morfolojik, izoenzim ve DNA markörü kullanmışlar ve 560 cM'lık bağlantı haritası elde etmişlerdir. DNA markörü olarak RFLP tekniğinden yararlanmışlardır.

Eujayl ve ark. (1997), yabani mercimek çeşidi *Lens culinaris* Medik. ile yaptıkları çalışmada morfolojik, izoenzim, RFLP, oligonükleotid ve RAPD markör tekniklerinden yararlanmışlardır. Toplam 390 adet primer denemesinin yapıldığı çalışmada toplam 116 primerden 196 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Haritalama çalışmasında MAPMAKER (version 1.9) kullanılmış ve LOD skoru 3 olarak belirlenmiştir. Sonuçta 28 adet RAPD, 1 adet RFLP, 1 adet morfolojik ve 3 adet oligonükleotid makörü ile 9 adet bağlantı grubu elde edilmiştir.

Eujayl ve ark. (1998), *Lens sp.* türüne ait genetik bağlantı haritasını 177 markör (89 RAPD, 79 AFLP, 6 RFLP ve 3 Morfolojik markör) kullanarak oluşturmuşlardır. Araştırma sonucunda 79 adet polimorfik AFLP parçası tespit edilmiş, toplam 79 AFLP markörü içersinden 21 tanesi bağlantı kurmamıştır. 21 markör %5'den fazla eksik detaya sahip olduğu için kullanılmamıştır. Çalışmada 86 adet rekombinant saf hat kullanmışlardır. Harita, mercimek genomunun 1073 cM'lık kısmını içermiştir. Morfolojik markör olarak, kabuk açılması, tohum kabuk paterni ve çiçek rengi bölgeleri haritalanmıştır. Çalışmada, AFLP markörlerinin RAPD markörlerine göre daha fazla fark sapması gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışmada Mapmaker/Exp 3.0 yazılımı kullanılarak bağlantı analizi yapılmıştır. Markörler gruplandırılırken LOD skoru 4.0 kullanılmış ve maksimum uzaklık 25 cM olarak tespit edilmiştir.

Emami ve Sharma (1999), mercimek bitkisi ile yaptıkları çalışmada 25 melezde 13 monogenik morfolojik markör incelemişler ve bunlardan 3 tanesinin bağlı (linkaj) olduğunu belirlemişlerdir. Bu markörler, Ert (yayılma ve büyüme yeteneğini tetikler), Gs (kahverengi ve yeşil gövde) ve B1 (kahverengi-yeşil yaprak)'dır. B1 ve

Gs arasında %14, B1 ve Ert arasında % 34, Gs ve Ert arasında ise % 38 rekombinasyon frekansı bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçta, B1 geninin Ert ve Gs arasında yer aldığını tespit edilmiştir. Bu çalışmada sadece morfolojik markörlerden yararlanılmıştır.

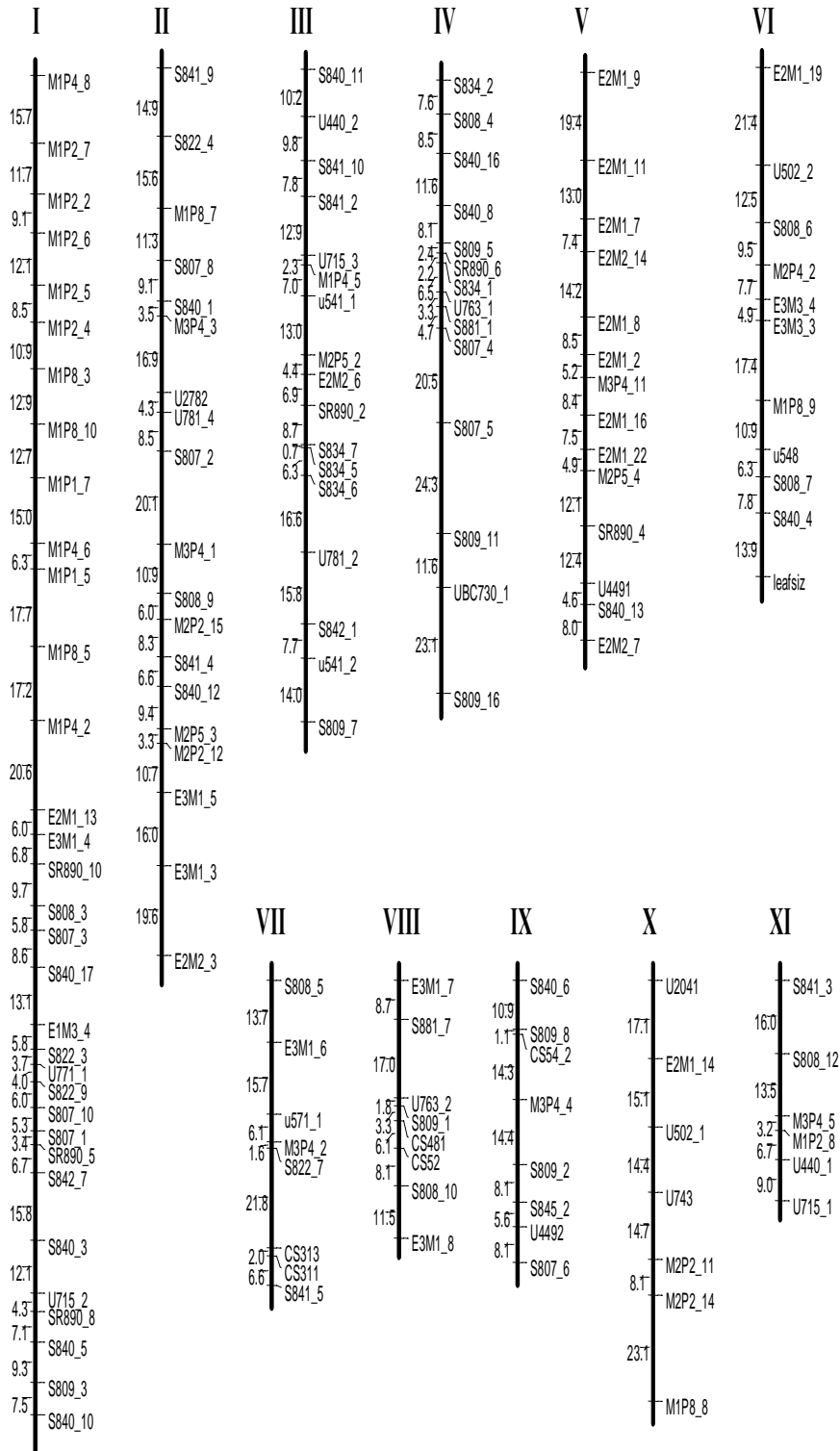
Ford ve ark. (1999)'nın, ILL5588 *Ascochyta lentis*'e dayanıklı bireylerde bulk segregant analizi ile RAPD markörlerden yararlanarak yaptıkları çalışmada, 261 dekanükleotid primer denenmiş ve bunlardan 7 tanesi dirençli lokus içerisinde dağılım gösteren polimorfik markör oluşturmuştur. 7 tane RAPD marköründen 5 tanesinin dirençli lokusun 30 cM'lık kısmında olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile ileriye yönelik klonlama çalışmalarına yardımcı olabilecek sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmanın diğer çalışmalara göre farklılığı Bulk Segregant Analizi'nden yararlanılmış olmasıdır. Çalışmada haritalama için MAPMAKER/QTL version 1.1 yazılımı kullanılmıştır. Three point analizi yapılmış ve LOD skoru 3 seçilmiştir.

Mercimek bitkisine ait ilk intraspesifik bağlantı haritası, *Ascochyta* yanıklığına dirençli olma durumlarına göre değişiklik gösteren ILL5588 ile ILL7537'nin melez kültürlerinden elde edilen F2 populasyonu kullanılarak 114 moleküler markör (100 RAPD, 11 ISSR, 3 RGA) ile gerçekleştirilmiştir (Rubeena ve ark., 2003). Bağlantı analizinde LOD skoru 4 ve maksimum rekombinasyon fraksiyonu 0.25'dir, 6 ve 18 markör arasında kıyaslanan 9 bağlantı grubunu göstermiştir. Intraspesifik haritanın toplam uzunluğu 784.1 cM olarak belirlenmiştir. Çalışmanın devamında *Ascochyta* yanıklığına dirençli bölgelerin belirlenmesine yönelik QTL haritaları oluşturulmuş ve hastalıkla ilgili bölgeler belirlenmiştir. Çalışmada ilave olarak 72 markör (38 RAPD, 30 AFLP, 3 ISSR ve sap pigmentasyonu) kullanılmıştır. LOD skoru 4 olarak belirlenmiş ve 11 adet bağlantı haritası tespit edilmiştir. Toplam 23 markör hastalıkla ilişkili bulunmuştur (Rubeena ve ark., 2006).

Duran ve ark. (2004), *L. c. ssp. culinaris* *L.c. ssp. orientalis* hibriti 113 F2 bitkisi üzerinde 200 markör (71 RAPD, 39 ISSR, 83 AFLP, 2 SSR ve 5 morfolojik) kullanarak yaptıkları çalışmanın sonucunda, en fazla polimorfizimi AFLP markörleri

ile elde etmişlerdir. LOD skorunun 3 olarak seçildiği çalışmada, 161 markör, 2172.4 cM lık bir haritada 10 tane bağlantı grubunda toplanmışlardır. İki markör arasındaki ortalama uzaklık ise 15.87 cM olarak tespit edilmiştir. Haritalama için Mapmaker/exp version 3.0 yazılımı kullanılmıştır. Kahraman (2001), kışa dayanıklılığı kontrol eden genlerin haritalanması amacıyla WA8649090 X Precoz melezinden elde edilen rekombinant saf hat popülasyonu kullanarak 130 markör (27 RAPD, 55 ISSR ve 48 AFLP) dan oluşan 9 gruplu 1192 cM uzunluğunda ve iki markör arası ortalama uzaklığı 9.1 cM olan genetik harita geliştirmiştir (Şekil 2.1).

Mikrosatellit markörleri ile genetik haritalama Hamwieh ve ark. (2005), tarafından yakın zamanda geliştirilmiştir. ILL 5588 ve ILL 692-16-1(s) melezlemesinden elde edilen 86 bireyde 41 mikrosatellit ile 45 AFLP markörü kullanarak haritalama yapmışlardır. Çalışmada, daha önceden elde edilen RAPD markörleri ile birlikte toplam 283 markör haritalanmış 751 cM uzunluğunda harita elde edilmiştir. Mercimek genom haritalama çalışmaları ve mikrosatellit markörlerin kullanımı diğer baklagil bitkileri ve buğdaygillerle karşılaştırıldığında daha sınırlı gözükmektedir. Bunun nedeni de mercimek bitkisinde çalışan araştırmacı sayısının az olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.1. WA8649041 x Precoz ebeveynlerinin melezlemesinden elde edilen rekombinant saf hat (RIL) popülasyonu kullanarak oluşturulan mercimek genetik bağlantı haritası (Kahraman ve ark., 2004 )

### 2.6. Diğer Baklagiller ile Yapılan Haritalama Çalışmaları

Mercimek bitkisinin yanı sıra fasülye, soya fasülyesi, *Medicago truncatula* ve nohut gibi baklagillerin genomunun aydınlatılmasına yönelik genetik çalışmalarda gerçekleştirilmektedir. Örneğin, *Medicago truncatula* ile yapılan bir çalışmada, 124 birey ile çalışılmış ve RAPD, AFLP ve morfolojik markörlerden oluşan toplam 289 markör kullanılarak 8 bağlantı grubundan oluşan 1225 cM'lık bir harita elde edilmiştir (Thoquet ve ark., 2002).

Song ve ark. (2004), soya fasülyesi ile yaptıkları çalışmada, SSR, RFLP, RAPD, AFLP, morfolojik ve izoenzim kullanmışlardır. Sonuçta, 1849 polimorfik bant elde etmişlerdir. Bunlardan 1015'i SSR, 709'u RFLP, 73'ü RAPD, 24'ü morfolojik, 6'sı AFLP ve 10'u izoenzim markörleri ile elde edilmiştir. 20 bağlı (linkaj) grubu elde edilmiştir.

Blair ve ark. (2003), fasülye (*Phaseolus vulgaris*, L.  $2n = 2X = 22$ ) ile yaptıkları çalışmada 150 adet mikrosatellit markör kullanmışlardır. Toplam harita uzunluğu 1720 cM ve iki mikrosatellit markör arası ortalama uzaklık 19.5 cM olarak tespit edilmiştir.

Flandez-Galvez ve ark. (1998), nohut bitkisi ( $2n = 2X = 16$ ) ile yaptıkları çalışmada, 54 STMS, 3 ISSR ve 12 RGA markörü kullanarak, LOD-skorunu 2.0 olarak belirlemiş ve sonuçta maksimum rekombinasyon uzaklığını 20 cM olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen bağlantı grup sayısı 8 olarak belirlenmiştir.

Tekeoğlu ve ark. (2002), nohut bitkisi ile yaptıkları çalışmada 146 adet RIL (*C. arietinum X Cicer reticulatum*) bireyinde 1 adet morfolojik, 9 adet izoenzim, 17 adet ISSR ve 90 RAPD markörü kullanarak 981.6 cM büyüklüğünde, markörler arası uzaklık 8.4 cM olan harita elde etmişlerdir. Elde edilen bağlantı grup sayısı 9 olmuştur.

Tar'an ve ark. (2003), fasülye bitkisi ile yaptıkları çalışmada 49 AFLP, 43 RFLP, 11 SSR, 9 RAPD, 1 morfolojik markör kullanarak çıkardıkları haritada 12 bağlantı gruplu 1717 cM'lık bir harita elde etmişlerdir. Tüm bağlantı grupları ele alındığında markörler arası ortalama uzaklık 15 cM olarak tespit edilmiştir. Maksimum uzaklık 48.6 cM bulunurken, minimum uzaklık 2.2 cM olarak tespit edilmiştir. Mapmaker/Exp 3.0 yazılımı kullanılarak LOD skoru 3 olarak seçilmiştir.

Santra ve ark. (2000), nohut bitkisi ile yaptıkları çalışmada *C. arietinum* (FLIP84-92C, dirençli ebeveyn) ve *C. reticulatum* Lad. (PI 599072 hassas ebeveyn) 800 RAPD ve 100 ISSR primeri kullanmışlardır. Sonuçta 116 adet markör içeren 981.6 cM lık 9 bağlantı grubundan oluşan bir harita elde etmişlerdir. Markörler arası ortalama uzaklık 8.4 cM olarak belirlenmiştir.



**3. MATERYAL ve YÖNTEM****3.1. Materyal**

Çalışma materyali olarak mercimek hattı WA8649041 ile Precoz çeşidinin melezlemesinden elde edilen bireylerin tek tohuma dayalı (single seed descent) metotla 6 generasyon kendileme yapılarak elde edilen 101 adet rekombinant saf hatlardan (RIL, recombinant inbred lines) oluşan populasyon kullanılmıştır. WA8649041 ebeveyni küçük taneli (1000 tane ağırlığı 30g) kışa dayanıklı, kırmızı kotiledonlu ve geç çiçeklenme özelliği gösteren ebeveynidir. Precoz ise orta iri taneli (1000 tane ağırlığı 45g), kışa dayanıksız, yeşil kotiledonlu ve çok erken çiçeklenme özelliğine sahip ebeveynidir. Deneme materyali, Washington State Üniversitesi, Pullman, ABD den temin edilmiştir. Bu hatlar, homozigotlaşmayı sağlamak için 6 generasyon boyunca kendileme yapılarak elde edilmiştir. Çizelge 3.1.'de çalışmada kullanılan RIL hatlarına ait genel kayıt bilgileri verilmiştir.

**3.2. Yöntem**

Tohum çoğaltmak ve DNA analizleri için yaprak örnekleri almak amacıyla ebeveynler ve RIL hatlarının ekimi 2006 yılında Ziraat Fakültesi deneme alanında yapılmıştır. Her hattı temsilen yaklaşık 1-2 g civarında taze yaprak örnekleri çiçeklenme başlangıcında sürgün uçlarından alınarak sıvı azot içerisinde muhafaza edilmiş ve laboratuvara getirilerek -80 °C de muhafaza altına alınmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan popülasyonu oluşturan ebeveynler ve RIL hatlarına ait kayıt bilgileri

RIL ekim sıra no	RIL Kütük No	PEDIGREE	Orijinal kaynak	Notlar	Melez No	Gene rasyon
1	L9RIL-13-001	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-639	WH_RIL	X92L035	F9
2	L9RIL-13-002	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-640	WH_RIL	X92L035	F9
3	L9RIL-13-003	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-641	WH_RIL	X92L035	F9
4	L9RIL-13-004	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-642	WH_RIL	X92L035	F9
5	L9RIL-13-005	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-643	WH_RIL	X92L035	F9
6	L9RIL-13-006	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-644	WH_RIL	X92L035	F9
7	L9RIL-13-007	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-645	WH_RIL	X92L035	F9
8	L9RIL-13-008	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-646	WH_RIL	X92L035	F9
9	L9RIL-13-009	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-647	WH_RIL	X92L035	F9
10	L9RIL-13-010	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-648	WH_RIL	X92L035	F9
11	L9RIL-13-011	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-649	WH_RIL	X92L035	F9
12	L9RIL-13-012	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-650	WH_RIL	X92L035	F9
13	L9RIL-13-013	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-651	WH_RIL	X92L035	F9
14	L9RIL-13-014	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-652	WH_RIL	X92L035	F9
15	L9RIL-13-015	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-653	WH_RIL	X92L035	F9
16	L9RIL-13-016	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-654	WH_RIL	X92L035	F9
17	L9RIL-13-017	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-655	WH_RIL	X92L035	F9
18	L9RIL-13-018	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-656	WH_RIL	X92L035	F9
19	L9RIL-13-019	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-657	WH_RIL	X92L035	F9
20	L9RIL-13-020	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-658	WH_RIL	X92L035	F9
21	L9RIL-13-021	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-659	WH_RIL	X92L035	F9
22	L9RIL-13-022	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-660	WH_RIL	X92L035	F9
23	L9RIL-13-023	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-661	WH_RIL	X92L035	F9
24	L9RIL-13-024	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-662	WH_RIL	X92L035	F9
25	L9RIL-13-025	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-663	WH_RIL	X92L035	F9
26	L9RIL-13-026	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-664	WH_RIL	X92L035	F9
27	L9RIL-13-027	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-665	WH_RIL	X92L035	F9
28	L9RIL-13-028	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-666	WH_RIL	X92L035	F9
29	L9RIL-13-029	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-667	WH_RIL	X92L035	F9
30	L9RIL-13-030	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-668	WH_RIL	X92L035	F9
31	L9RIL-13-031	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-669	WH_RIL	X92L035	F9
32	L9RIL-13-032	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-670	WH_RIL	X92L035	F9
33	L9RIL-13-033	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-671	WH_RIL	X92L035	F9
34	L9RIL-13-034	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-672	WH_RIL	X92L035	F9
35	L9RIL-13-035	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-673	WH_RIL	X92L035	F9
36	L9RIL-13-036	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-674	WH_RIL	X92L035	F9
37	L9RIL-13-037	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-675	WH_RIL	X92L035	F9
38	L9RIL-13-038	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-676	WH_RIL	X92L035	F9
39	L9RIL-13-039	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-677	WH_RIL	X92L035	F9
40	L9RIL-13-040	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-678	WH_RIL	X92L035	F9
41	L9RIL-13-041	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-679	WH_RIL	X92L035	F9
42	L9RIL-13-042	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-680	WH_RIL	X92L035	F9
43	L9RIL-13-043	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-681	WH_RIL	X92L035	F9
44	L9RIL-13-044	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-682	WH_RIL	X92L035	F9
45	L9RIL-13-045	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-683	WH_RIL	X92L035	F9

Çizelge 3.1. (devam)

RIL ekim sıra no	RIL Kütük No	PEDIGREE	Orijinal kaynak	Notlar	Melez No	Gene rasyon
46	L9RIL-13-046	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-684	WH_RIL	X92L035	F9
47	L9RIL-13-047	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-685	WH_RIL	X92L035	F9
48	L9RIL-13-048	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-686	WH_RIL	X92L035	F9
49	L9RIL-13-049	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-687	WH_RIL	X92L035	F9
50	L9RIL-13-050	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-688	WH_RIL	X92L035	F9
51	L9RIL-13-051	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-689	WH_RIL	X92L035	F9
52	L9RIL-13-052	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-690	WH_RIL	X92L035	F9
53	L9RIL-13-053	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-691	WH_RIL	X92L035	F9
54	L9RIL-13-054	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-692	WH_RIL	X92L035	F9
55	L9RIL-13-055	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-693	WH_RIL	X92L035	F9
56	L9RIL-13-056	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-694	WH_RIL	X92L035	F9
57	L9RIL-13-057	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-695	WH_RIL	X92L035	F9
58	L9RIL-13-058	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-696	WH_RIL	X92L035	F9
59	L9RIL-13-059	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-697	WH_RIL	X92L035	F9
60	L9RIL-13-060	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-698	WH_RIL	X92L035	F9
61	L9RIL-13-061	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-699	WH_RIL	X92L035	F9
62	L9RIL-13-062	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-700	WH_RIL	X92L035	F9
63	L9RIL-13-063	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-701	WH_RIL	X92L035	F9
64	L9RIL-13-064	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-702	WH_RIL	X92L035	F9
65	L9RIL-13-065	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-703	WH_RIL	X92L035	F9
66	L9RIL-13-066	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-704	WH_RIL	X92L035	F9
67	L9RIL-13-067	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-705	WH_RIL	X92L035	F9
68	L9RIL-13-068	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-706	WH_RIL	X92L035	F9
69	L9RIL-13-069	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-707	WH_RIL	X92L035	F9
70	L9RIL-13-070	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-708	WH_RIL	X92L035	F9
71	L9RIL-13-071	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-709	WH_RIL	X92L035	F9
72	L9RIL-13-072	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-710	WH_RIL	X92L035	F9
73	L9RIL-13-073	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-711	WH_RIL	X92L035	F9
74	L9RIL-13-074	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-712	WH_RIL	X92L035	F9
75	L9RIL-13-075	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-713	WH_RIL	X92L035	F9
76	L9RIL-13-076	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-714	WH_RIL	X92L035	F9
77	L9RIL-13-077	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-715	WH_RIL	X92L035	F9
78	L9RIL-13-078	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-716	WH_RIL	X92L035	F9
79	L9RIL-13-079	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-717	WH_RIL	X92L035	F9
80	L9RIL-13-080	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-718	WH_RIL	X92L035	F9
81	L9RIL-13-081	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-719	WH_RIL	X92L035	F9
82	L9RIL-13-082	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-720	WH_RIL	X92L035	F9
83	L9RIL-13-083	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-721	WH_RIL	X92L035	F9
84	L9RIL-13-084	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-722	WH_RIL	X92L035	F9
85	L9RIL-13-085	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-723	WH_RIL	X92L035	F9
86	L9RIL-13-086	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-724	WH_RIL	X92L035	F9
87	L9RIL-13-087	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-725	WH_RIL	X92L035	F9
88	L9RIL-13-088	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-726	WH_RIL	X92L035	F9
89	L9RIL-13-089	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-727	WH_RIL	X92L035	F9
90	L9RIL-13-090	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-728	WH_RIL	X92L035	F9

Çizelge 3.1. (devam)

RIL ekim sıra no	RIL Kütük No	PEDIGREE	Orijinal kaynak	Notlar	Melez No	Gene rasyon
91	L9RIL-13-091	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-729	WH_RIL	X92L035	F9
92	L9RIL-13-092	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-730	WH_RIL	X92L035	F9
93	L9RIL-13-093	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-731	WH_RIL	X92L035	F9
94	L9RIL-13-094	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-732	WH_RIL	X92L035	F9
95	L9RIL-13-095	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-733	WH_RIL	X92L035	F9
96	L9RIL-13-096	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-734	WH_RIL	X92L035	F9
97	L9RIL-13-097	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-735	WH_RIL	X92L035	F9
98	L9RIL-13-098	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-736	WH_RIL	X92L035	F9
99	L9RIL-13-099	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-737	WH_RIL	X92L035	F9
100	L9RIL-13-100	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-738	WH_RIL	X92L035	F9
101	L9RIL-13-101	PRECOZ/WA8649041	PUL9769-739	WH_RIL	X92L035	F9
102	Anne Ebeveyn	PRECOZ	Spillman_1997	Parent	-----	--
103	Baba Ebeveyn	WA8649041	Spillman_1997	Parent	-----	--

### 3.2.1. DNA izolasyonu protokolu

DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1990)'nin uyguladığı yönteme göre bazı modifikasyonlar yapılarak sağlanmıştır. DNA izolasyon protokolu aşağıda belirtilen metoda göre yapılmıştır.

1. -80 °C muhafaza edilen yaprak örneklerinden yaklaşık 1 g yaprak alınarak, sıvı azot ilave edilerek havan içinde havan kolu yardımıyla yapraklar toz şekline gelinceye kadar ezilmesi sağlandı.
2. Ezilen yaprak örnekleri 50 ml lik tüplere konularak üzerine buzda bekletilen soğuk DNA ekstraksiyon tamponundan 7.5 ml ilave edilmiş, tüplerin ağzı kapatılıp yavaşça kısa bir süre elde çalkalanmıştır.
3. 7.5 ml parçalama tamponu ve 3 ml % 5 lik sarkosyl ilave edilerek tüpler tekrar hızlı bir şekilde elde çalkalandı.
4. Örnek içeren bu tüpler su banyosunda 65 °C de 20-30 dakika bekletildi.
5. Su banyosundan alınan tüpler çeker ocak içinde bir kaç dakika soğutulduktan sonra Kloroform/Izoamil Alkol (24:1) karışımından 18 ml ilave edilmiştir.
6. Kloroform/Izoamil Alkol ilave edildikten sonra, tüpler santrifüje yerleştirilerek 2200 rpm de 15 dakika santrifüj yapılmıştır.

7. Santrifüjden sonra tüp içinde üstte kalan kısım pipetle alınarak yeni 50 ml lik tüplere aktarıldı ve üzerine tekrar 15 ml Kloroform/İzoamil Alkol karışımı ilave edilerek kısa bir süreliğine elde sallanarak karışımın homojen olması sağlandı.
8. Tüpler tekrar 10 dakika santrifüje (2200 rpm) tabii tutuldu ve tekrar üst kısımdaki karışım pipetle alınarak yeni 50 ml lik tüplere aktarıldı.
9. Steril kabin de tüp içinde bulunan karışımın hacminin 2 katı kadar (yaklaşık 15-18 ml) soğuk etanol ilave edilerek tüpler aşağı yukarı olacak şekilde yavaşça döndürülerek DNA nın tüpün alt kısmında çökeltilmesi sağlandı.
10. Tüp içinde çökelti oluşturan DNA, ucu eğik steril ince bir cam çubuk yardımıyla (glass hook) alınarak yeni tüplere konuldu ve tüp içinde kalan etanolun uçması için tüpler belli bir süre ağzı açık bırakıldı.
11. Kuruyan DNA üzerine 6 ml etanol eklenerek yaklaşık 10-60 dk muamele edilen DNA örneklerine 2 ml ultra saf su eklenerek yine 10 dk ile 1 sa bekletildi. Sonra örnekler santrifüjde (rpm) 5 dk spin edildikten sonra 1 gece kurumaya bırakıldı.
12. DNA örnekleri üzerine 1 ml steril TE çözültisi eklendi. Sonra örnekler 1.5 ml lik tüplere aktarılarak saflık analizleri ve diğer analizlerde kullanmak üzere buzdolabında muhafaza edildi. RNA ihtimali olmasına karşın her bir tüpe 5µl RNaze ilave edildi.

### 3.2.2. DNA saflık analizi

Her bir RIL hattı için izole edilen DNA miktarı PCR çalışmalarına uygun (25 ng/µl) hale getirmek için DNA'lar %1 lik Agarose jel elektroforezi ile ayrıştırıldı ve jeldeki standart markör baz alınarak DNA miktarları belirlendi ve ne kadar seyreltilmesi gerektiği hesaplandı. DNA saflık analizi için 2:8:2 oranına göre (2 µl DNA: 8 µl bromfenol blue: 2 µl ultra saf su karışımı) yükleme yapıldı ve örnekler % 3 lük agaroz jelde 1 saat koşturuldu. Seyreltme denemeleri sonucunda DNA miktarına göre uygun seyreltme oranları kullanıldı. DNA örnekleri mikrosatellit ve diğer markör sistemleri için hazır kullanılabilir durumda +4 °C de buzdolabında muhafazaya alındı.

### 3.2.3. Mikrosatellit markör analizleri ve PCR protokolü

Mercimek için yaklaşık 175 mikrosatellit (SSR) primeri (Duran ve ark., 2004; Hamwieh ve ark., 2005; Rajesh ve ark., 2008) geliştirilmiştir. Bu primerlerden 124 SSR primeri Washington State Üniversitesinde (WSU), 46 SSR primeri ICARDA da ve 5 SSR primeride Duran ve ark. (2004), tarafından geliştirilmiştir. 175 SSR primerinden 35 adedi halihazırda mercimek genetik haritalama çalışmalarında kullanılmıştır (Duran ve ark., 2004; Hamwieh ve ark., 2005). Bu çalışmada ilk önce 35 SSR primeri ve daha sonra da diğer SSR primerleri kullanarak ebeveynler arasındaki genetik farklılıkları belirlenmiş ve ebeveynler arasında polimorfik bulunan markörler ile RIL hatları skorlanarak genetik haritalama oluşturulmuştur. Denemede kullanılan SSR primerlerine ait DNA dizileri, bu primerlerin bağlanma sıcaklık dereceleri ( $T_m$ ), primerlerin polimorfik, monomorfik yada çalışıp çalışmadıkları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PCR karışım hazırlama (Bir örnek için hazırlanan reaksiyon içeriği)

Kullanılan kimyasallar	Çalışma çözeltilerinin konsantrasyonları	Reaksiyon Konsantrasyonu	Reaksiyon hacmi
DNA	5 ng/ $\mu$ l	1,25ng/ $\mu$ l	5 $\mu$ l
Primer (forward ve reverse)	10 pmol	10 pmol	1 $\mu$ l +1 $\mu$ l
dNTP (Adenin/100mM, Guanin/100mM, Sitozin/100mM, Timin/100mM, 4X25 $\mu$ l Fermentas)	2 mM	0,2 $\mu$ M	2 $\mu$ l
10X PCR tamponu + 25mM MgCl <sub>2</sub>	10x	1x	2 + 2 $\mu$ l
Taq DNA polimeraz enzim	5 u/ $\mu$ l	0,05 u/ $\mu$ l	0.2 $\mu$ l
Ultra saf su			6.8 $\mu$ l
Toplam			20 $\mu$ l

### 3.2.4. PCR protokolü (Polimeraz zincir reaksiyonu)

PCR analizleri için 20 µl lik bir karışım hazırlanmış ve bu karışım 15 ng DNA, 10 pmol ileri ve geri primerler, 1X PCR bafer (tampon) ve 1 U Taq DNA polimeraz enziminden oluşmuştur.

PCR için hazır hale getirilen DNA örnekleri sıcaklık döngü cihazında (Thermal Cycler, Biorad Mycycler US) yapıldı. Mikrosatellit primerleri için PCR protokolü aşağıda belirtilen programlara göre Çizelge 3.3.'te yapılmıştır.

Çizelge 3.3. Denemede kullanılan SSR primerlerine ait PCR protokolleri

	Sıcaklık	Hamwiesh ve ark. (2005)*	Rajesh ve ark. (2008)**	Duran ve ark. (2004)***	
1	94 °C denaturasyon (çift sarmal DNA'nın birbirinden ayrılması) 1 tekrar	3 dk	5 dk	1 dk	
2	94 °C (denaturasyon aşaması)	30 s	20 sn	15 sn	2, 3 ve 4. adımlar 35 kez tekrarlanmıştır
3	(49-57 °C) (primer bağlanma aşaması)	35 s	1 dk	15 sn	
4	72 °C (Primerlerin Taq polimeraz enzimi ile uzama aşaması)	60 s	2 dk	1 dk	
5	72 °C	5 dk	8 dk	5 dk	
6	4 °C (PCR ürünlerinin muhafaza edildiği sıcaklık)	∞	∞	∞	

\* ICARDA dan temin edilen SSR primerleri (Hamwiesh ve ark., 2005)

\*\* WSU dan temin edilen SSR primerleri (Rajesh ve ark., 2008)

\*\*\* Duran ve ark. (2004)

### 3.2.5. Jel elektroforezi

PCR işleminden sonra örnekler agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırıldı. DNA örnekleri, 2 ebeveyn + 93 birey + 1 tane markör olmak üzere toplam 96 örnek olup bu örnekler için % 3 lük metaphore agaroz jel kullanılmıştır. Bu amaçla 15 g agaroz 500 ml TBE içinde homojen olarak karıştırılıp mikrodalga fırında 15 dk. kaynatılarak çözüldü ve 60 °C ye kadar soğuması beklendi. Daha sonra agaroz jel, elektroforez kasalarına dökülerek 25 lik taraklarla 100 tane örnek sayısı kadar kuyucuk açılması sağlandı.

Amplifikasyon ürünlerine her örnek için 2 µl Bromfenol mavi boyası ilave edildikten sonra elektroforez kasalarına her örnekten yaklaşık 22 µl alınarak yüklendi ve 100 Voltta serbest akımda yaklaşık olarak 180 dakika sürede ayrışması sağlandı.

### 3.2.6. Jellerin boyanması

Örneklerin jelde yürüme işlemi tamamlandıktan sonra amplifikasyon ürünlerinin boyanması için etidyum bromit (EtBr) boyası kullanılarak konsantrasyon yapılmıştır. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra fazla boyanın uzaklaştırılabilmesi için jeller saf su ile 5-10 dk yıkandı. Boyanan jeller GEL LOGIC ultraviyole jel görüntüleme sistemi ile fotoğrafları görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

### 3.2.7. DNA markörlerinin skorlanması ve genetik haritanın oluşturulması

Kullanılan primerlerin gösterdikleri polimorfizmler A ve B olarak skorlanmıştır. Anne bireyin DNA parçası polimorfizm gösteriyorsa A, baba ebeveynin DNA parçası polimorfizm gösteriyorsa B olarak skorlanmıştır.

Mercimek genetik bağlantı haritasının oluşturulmasında MAPMAKER V.2 (Lander ve ark.,1987) yazılımı kullanılmıştır. Herhangi iki markör arasındaki genetik bağılılığı (linkage) belirlemede LOD = 3 (lower limit of detection, düşük tespit sınırı) skoru (yani herhangi iki markörün bir kromozom üzerinde birlikte bağlantı oluşturması ancak 10 binde 1 olasılıkla yanlış olabilir) alınarak birbirleriyle



bağlantılı olan markörlerin oluşturdukları gruplar yada kromozomlar belirlenmiştir. Bağlantı haritasında markörlerin genom boyunca kapladıkları alan ve birbirine olan uzaklıkları sentimorgan (cM) olarak belirlenmiştir.

Bağlantı grupları set, sequence, map, three point, multipoint, compare ve map komutları kullanılarak oluşturulmuştur. Haritalama için markör uzaklıkları Kosambi (1944) fonksiyonu seçilerek yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Mevcut Mercimek Genetik Bağlantı Haritası

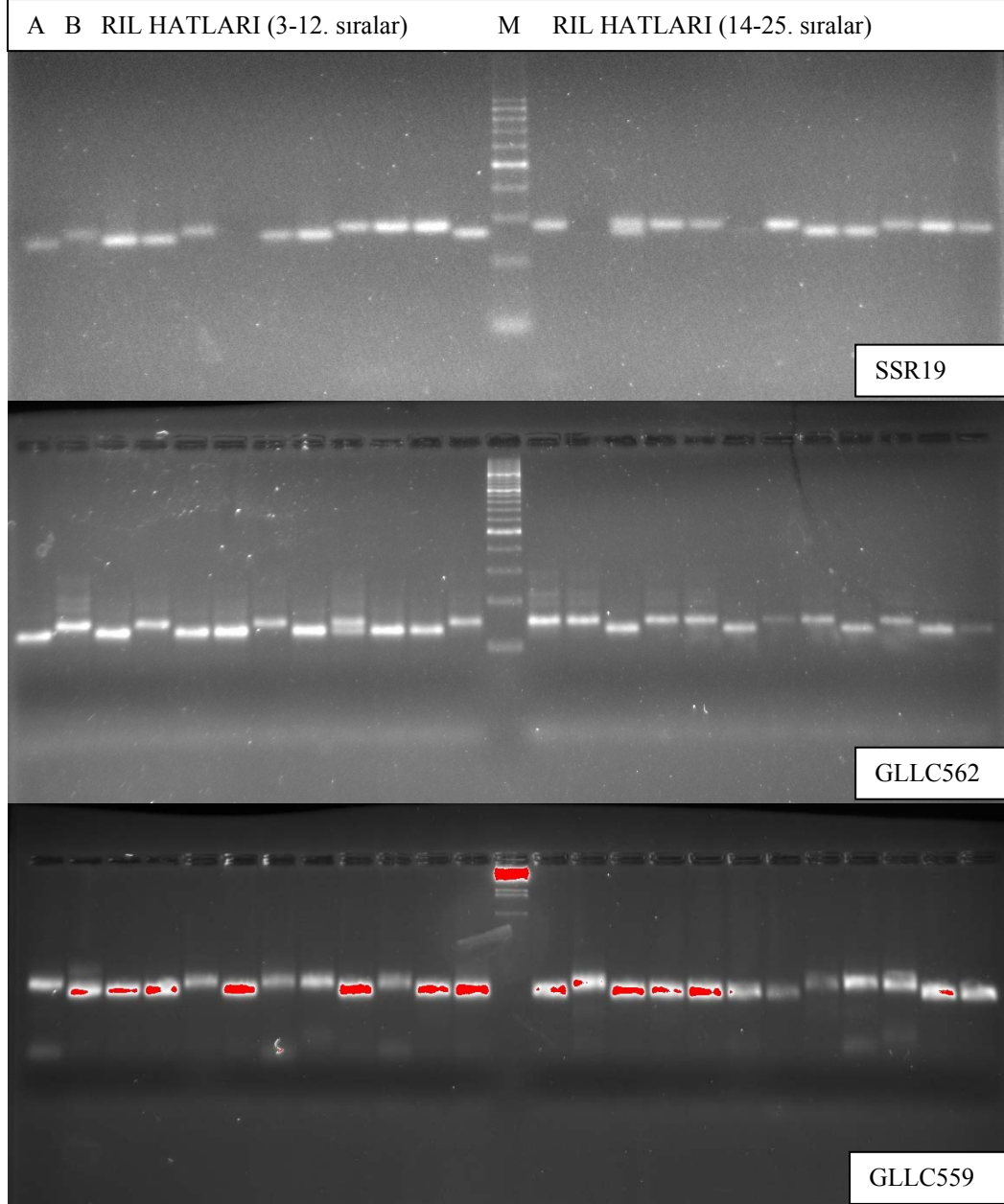
WA8649041 x Precoz melezinden elde edilen RIL populasyonunda halihazırda genetik bağlantı haritası çalışmaları yürütülmekte olup, bu haritada güncel olarak 123 markör (57 AFLP, 48 RAPD, 18 ISSR ve 2 morfolojik) bulunmaktadır. Bu çalışma ile 13 SSR markörü mercimek genomunda haritalanmış olup, güncel mercimek genetik haritası 136 markör ile 1311.2 cM uzunluğunda 11 bağlantı grubundan oluşmaktadır. SSR markörleri ile yapılan çalışmalara ait bulgular aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

### 4.2. Ebeveynler Arasında SSR Primerleri ile Polimorfizm Testleri

Projede kullanılan SSR primerleri ve bu primerlere ait bazı bilgiler Çizelge 4.1'de verilmiştir. ICARDA' dan temin edilen 46 adet SSR primerinin bağlanma sıcaklıkları (annealing temperature) önceden bilindiği için doğrudan ebeveynler arasında polimorfizm testleri yapılmıştır. Washington State Üniversitesinden (WSU) sağlanan 124 SSR primeri için bağlanma sıcaklıkları bilinmediğinden bu primerlerin bağlanma sıcaklığını belirlemek için gradient PCR yapılmıştır. Gradient PCR da her bir primer 49 °C ile 60 °C arasında 8 farklı sıcaklık değerinde denenerek her bir primer için uygun bağlanma sıcaklık derecesi bulunmuştur. Bunun yanında her bir primerin ebeveynler arasında farklılık gösterip göstermediği de belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Polimorfizm testleri sonucunda, ICARDA' dan sağlanan 46 SSR primerinden 16 SSR polimorfik, 19 SSR monomorfik olduğu ve 11 SSR primerinde çalışmadığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.2)'de polimorfik SSR primerleri ile RIL hatları skorlanmış

ve 11 SSR primerinin mono ya da polimorfik oldukları net olarak belirlenemediğinden çalışmayan primerler grubuna dahil edilmiştir.



Şekil 4.1. SSR primerleri SSR19, GLLC562 ve GLLC559' a ait jel resimleri. İlk iki sıra anne ve baba ebeveynlere ait, takip eden sıralar RIL hatlarına ait DNA lar, ortada 13. sıra DNA Markör (100bp).

Washington State Üniversitesinden (WSU) temin edilen 124 SSR primerinden istenilen polimorfizm oranı elde edilememiştir. 124 SSR primerine gradient-PCR uygulamaları sonucu 29 tanesinin polimorfik, 55 SSR primerinin monomorfik ve 30 SSR primerinin de çalışmadığı belirlenmiştir. Ancak ebeveynler arasında polimorfizm gösteren primerlerden çoğunun tekrarlanan çalışmalarda monomorfik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 2 primer (SSR538 ve SSR624) ebeveynler arasında net olarak polimorfizm göstermesine rağmen RIL hatlarında açılma göstermediğinden skorlanamamıştır.

Sonuç olarak 124 SSR primerinden 8 tane SSR primerinin polimorfik olduğu belirlenmiş ve bunlardan 6 tanesi skorlanabilmiş, 86 SSR primeri monomorfik bulunmuş ve 30 tane SSR primeri çalışmamıştır.

Mümkün olduğunca yüksek sayıda SSR primerinin polimorfik olması ve haritada bulunması arzu edildiğinden, her bir primer üzerinde tekrarlamalar fazlasıyla yapılmıştır. Primer dizilimlerinden veya bilinmeyen başka nedenlerden dolayı bazı primerler çalışmamaktadır.

Duran ve ark. (2004), tarafından geliştirilen ve mercimek genom haritalamasında kullanılan 5 SSR primeri (MS1, MS3, MS6, MS11 ve MS5S) çalışmamızda kullanılan ebeveynler arasında polimorfizm testlerinde kullanılmış ve bunlardan sadece MS3 primerinin polimorfik olduğu diğerlerinin monomorfik olduğu belirlenmiştir.

SSR primerleri toplam olarak değerlendirildiğinde, 175 primerden 25 tanesinin polimorfik olduğu, 109 SSR primerinin monomorfik ve 41 SSR primerinin de çalışmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Toplamda 23 SSR primeri skorlanabilmiştir. Polimorfizm oranı düşük (%14.3) gözükmektedir.

Çizelge 4.1. Projede kullanılan SSR primerlerine ait polimorfizm test sonuçları

Primerler	Test edilen	Polimorfik	Monomorfik	Çalışmayan	Skorlanan SSR
Hamwieh ve ark. (2005)	46	16	19	11	16
Rajesh ve ark. (2008)	124	8	86	30	6
Duran ve ark. (20004)	5	1	4	0	1
Toplam	175	25	109	41	23

Polimorfik olduğu tespit edilen SSR primerlerinden, 23 SSR primeri (SSR19, SSR33, SSR66, SSR90, SSR107, SSR113, SSR138, SSR183-1, SSR183-2, SSR204, SSR207-1, SSR207-2, SSR212-1, SSR317-2, SSR323, SSR336, MS1, GLLC537, GLLC557, GLLC559, GLLC562, GLLC565 ve GLLC567), ile RIL hatları skorlanarak genetik haritalama analizlerinde kullanılmıştır.

Mercimek genomunda polimorfizm seviyesinin RAPD, AFLP, ISSR ve SSR gibi markörlerde yüksek olduğu gözlemlenmesine rağmen (Kahraman ve ark., 2004; Hamwieh ve ark., 2005) bu çalışmada SSR primerlerinden beklenen polimorfizm oranı sağlanamamıştır. Duran ve ark. (2004), geliştirdikleri 5 SSR primerinden sadece MS5S SSR primerini kullandıkları F2 populasyonunda haritalarken, Hamwieh ve ark. (2005), geliştirdikleri 30 SSR primerinden 42 polimorfik markör (26 kodominant ve 16 dominant) belirleyerek 39 SSR markörünü mercimek genomunda haritalamışlardır. Polimorfizm oranı ve genetik bağlantı haritasında fazla sayıda SSR markörü haritalanmasının sebebi, SSR primerlerinin çalışmada kullanılan populasyonun ebeveynlerine ait genomik DNA'larından geliştirildiği için olabilir. Diğer yandan Hamwieh ve ark. (2005), tarafından geliştirilen SSR primerleri başka bir mercimek genetik haritalama populasyonunda kullanılmış olup sadece 7 SSR markörü haritalanabilmiştir (Tullu ve ark., 2008). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tullu ve ark. (2008), tarafından elde edilen sonuçlara benzerlik göstermekte olup,

kullanılan populasyonun genetik yapısının SSR primerlerinde polimorfizm oranını etkilediği görülmektedir.

### 4.3. Genetik Bağlantı (Linkage) Harita Analizleri

Bağlantı analizleri sonucunda 23 SSR marköründen 13 SSR değişik bağlantı gruplarında yer alırken (Şekil 4.2) diğer 10 SSR markör hiçbir bağlantı grubunda yer almamıştır (unlink). Mercimek genetik bağlantı haritası 11 bağlantı grubundan oluşmuş olup, LG1, LG3, LG4 ve LG7 grupları dışında diğer bağlantı gruplarında en az 1 SSR markörü bulunmaktadır (Şekil 4.2). Bağlantı gösteren SSR primerlerinden SSR33 ve SSR 66 LG2 grubunda, SSR317-2, SSR336 ve SSR567 LG4 grubunda, LG4 grubunda, SSR565 LG5 grubunda, SSR212-1 LG6 grubunda, SSR 138 LG8, SSR19 LG 10 grubunda ve SSR207-2, SSR323, SSR567 ve MS3 LG 11 grubunda yer almıştır (Şekil 4.2). SSR markörlerinin genomda farklı gruplarda dağılışı göstermesi istenilen bir sonuç olup, mercimekte geliştirilen diğer genetik haritalarla karşılaştırma imkânı sağlaması bakımından önemlidir. Genetik harita toplam uzunluğu 1311.2 cM olup iki markör arası ortalama uzaklık 9.64 cM ve ortalama kromozom uzunluğu 1311.2 cM'dir. SSR markörlerine ait örnek görüntüleri Şekil 4.2.'de mercimek genetik bağlantı haritası görülmektedir.

Çizelge 4.2. Precoz ve WA8649041 mercimek hatları arasında polimorfizm durumlarını belirlemede kullanılan SSR primerlerine ait dizilimleri, baz uzunlukları (bp), bağlanma sıcaklıkları ( $T_m$ ), primerler tarafından çoğaltılan DNA fragment uzunlukları, ve polimorfizm durumları. Dizilimi bilinmeyen primerlere ait ilgili kısımlar boş bırakılmıştır. F= ileri primer, R= geri primer.

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı ( $T_m$ )	Polimorfizm
SSR13-F	GAAACAACACCGAAATACAC		Çalışmadı
SSR13-R	CGAAGTCAGATGAAGTTTG		
SSR 19-F	GACTCATACTTTGTTCTTAGCAG	58 °C	Polimorfik
SSR 19-R	GAACGGAGCGGTCACATTAG		
SSR 28-F	GAGGGCATAAATTCAGATTC	53.5 °C	Polimorfik
SSR 28-R	GGACAACGCACATTTGATG		
SSR 33-F	CAAGCATGACGCCTATGAAG	56 °C	Polimorfik
SSR 33-R	CTTTCACTCACTCAACTCTC		
SSR 34-F	CGGCGGATGAACTAAAG	51 °C	Monomorfik
SSR 34-R	CATTTCCCTTCACAAACCAAC		
SSR 46-F	CACTAAACATGGAAAATAGG	54.5 °C	Monomorfik
SSR 46-R	CTTATCTTTGTTTGAAGCAA		
SSR 48-F	CATGGTGAATAGTGATGGC	57 °C	Monomorfik
SSR 48-R	CTCCATACACCACTCATTAC		
SSR 59-2-F	CCAAATACTGCAACACACCG		Çalışmadı
SSR 59-2-R	GTTCCCATCAGGCAGAAGG		
SSR 66-F	GGTAGTGGTGAGGAATGAC	55,1 °C	Monomorfik
SSR 66-R	GCATCACTGCAACAGACC		
SSR 72-F	CAAACAGTACAAGGAAAGGAG	55,5 °C	Monomorfik
SSR 72-R	CTGACTGAGCTGCTTGAAC		
SSR 80-F	CCATGCATACGTGACTGC	50 °C	Monomorfik
SSR 80-R	GTTGACTGTTGGTGTAAGTG		
SSR 90-F	CCGTGTACACCCCTAC	54,5 °C	Polimorfik
SSR 90-R	CGTCTTAAAGAGAGTGACAC		
SSR 96-F	GTTATCTTCCAGCGTC		Çalışmadı
SSR 96-R	GATATACAATCAGAGATG		
SSR 99-F	GGGAATTTGTGGAGGGAAG	57 °C	Monomorfik
SSR 99-R	CCTCAGAATGTCCCTGTC		
SSR 107-F	GCGGCGAGCAAATAAAT	51 °C	Polimorfik
SSR 107-R	GGAGAATAAGAGTGAAATG		
SSR 113-F	CCGTAAGAATTAGGTGTC	46 °C	Polimorfik
SSR 113-R	GGAAAATAGGGTGGAAAG		
SSR 119-F	GAACTCAGTTTCTCATTG		Çalışmadı
SSR 119-R	GAACATATCCAATTATCATC		
SSR 124-F	GTATGTGACTGTATGCTTC	52 °C	Monomorfik
SSR 124-R	GCATTGCATTTACAAACC		
SSR 130-F	CCACGTATGTGACTGTATG	55 °C	Monomorfik
SSR 130-R	GAAAGAGAGGCTGAACTTG		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
SSR 132-F	CCAGAACAAACGTAAACC	51,4 °C	Monomorfik
SSR 132-R	CTATCGCATATGAGTGAAC		
SSR 138-F	GAAATGGGATAGCAGATAG	53 °C	Polimorfik
SSR 138-R	GAAGACTCTCACCGTCG		
SSR151-F	GGTAGGTGAGATAGTTG	54 °C	Monomorfik
SSR151-R	GGAGCAAGAAGAAGCAG		
SSR 154-F	GGAATTTATCACACTATCTC	51 °C	Monomorfik
SSR 154-R	GACTCCCAACTTGTATG		
SSR 156-F	GTACATTGAACAGCATCATC	53 °C	Monomorfik
SSR 156-R	CAAATGGGCATGAAAGGAG		
SSR 167-F	CACATATGAAGATTGGTCAC		Çalışmadı
SSR 167-R	CATTTATGTCTCACACACAC		
SSR 183-F	GCTCGCATTGGTGAAAC	50.5 °C	Polimorfik
SSR 183-R	CATATATAGCAGACCGTG		
SSR 184-F	CCTAAAGCCTTGGCAGAC		Çalışmadı
SSR 184-R	CTGAAACCACCACATACG		
SSR 191-F	GCAAATTTCTTGGTCTACAC	51 °C	Monomorfik
SSR 191-R	GGGCACAGATTCATAAGG		
SSR 197-F	CACCAATCACCAACACAC	53.5 °C	Monomorfik
SSR 197-R	GAGCTGTGAAGTCTTATCTG		
SSR 199-F	GTGTGCATGGTGTGTG	51 °C	Monomorfik?
SSR 199-R	CCATCCCCCTCTATC		
SSR 202-F	CAACCTCACTTACCTTAC	51 °C	Monomorfik
SSR 202-R	GCTCTTTATCATCATTCTAC		
SSR 204-F	CACGACTATCCCACTTG	52 °C	Polimorfik
SSR 204-R	CTTACTTTCTTAGTGCTATTAC		
SSR 207-F	GAGAGATACGTCAGAGTAG	55.1 °C	Polimorfik
SSR 207-R	GATTGTGCTTCGGTGGTTC		
SSR 212-1-F	GACTCATTGTTGTACCC	44 °C	Polimorfik
SSR 212-1-R	GCGAGAAGAATGGTTG		
SSR 213-F	CACTCGCACCTCTTATG		Çalışmadı
SSR 213-R	GAAATTGTCTCTTAGCAAG		
SSR 215-F	CATTAATATTTCTTTGGTGC		Çalışmadı
SSR 215-R	CTTTTCTTCTCTTCCCC		
SSR 230-F	CCAACAACAATTCACCATAC	53.5 °C	Monomorfik
SSR 230-R	AACATTGTAAGGAGAGGTG		
SSR 233-F	CATTGTGGAATGCTTGTAG		Çalışmadı
SSR 233-R	GCCGCCTACATTATGG		
SSR 253-F	GAAGAAGCATTACGGTG	53.5 °C	Monomorfik
SSR 253-R	GAGGGACTACTATATCAG		



Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
SSR 302-F	CAAGCCACCCATACACC		Çalışmadı
SSR 302-R	GGGCATTAAGTGTGCTGG		
SSR 309-2-F	GTATGTCGTAACTGTCGTG		Çalışmadı
SSR 309-2-R	GAGGAAGGAAGTATTCGTC		
SSR 317-1-F	GTGGGTGTAATTATTGCTAC	48 °C	Monomorfik
SSR 317-1-R	GTATCAAACCTTATGGTGAAATC		
SSR 317-2-F	CACGTAACATCTTGCTTATG	48 °C	Polimorfik
SSR 317-2-R	GTAGCAATAATTACACCCAC		
SSR 323-F	AGTGACAACAAAATGTGAGT	45 °C	Polimorfik
SSR 323-R	GTACCTAGTTTCATCATTG		
SSR 336-F	GTGTAACCCAACTGTTCC	49 °C	Polimorfik
SSR 336-R	GGCCGAGGTTGTAACAC		
MS1-F	TTACGAAAAAGGCAAACATA	50 °C	Monomorfik
MS1-R	ATCTTCTTCTTCTTCTTCTCA		
MS3-F	TTGTGTTTTTCTACCCTTCA	50 °C	Polimorfik
MS3-R	CCATTAGAGAGTTGAGTAGGC		
MS6-F	GAGATTTCCAATACTGAATA	50 °C	Monomorfik
MS6-R	TTCTACTTCTTCTTCTTGA		
MS11-F	ACTCTAGCCTTTTCAACG	50 °C	Monomorfik
MS11-R	TTCTTCTTTTTTCTTCTTCTG		
MS5S-F	TGGTAGCGTAAAAAAGTGTC	50 °C	Monomorfik
MS5S-R	TTTAGTGCTGGTATGATCGC		
SSR501-F	TGGAACCTCCCTCACACAACA	56 °C	Monomorfik
SSR501-R	ATGGGTAAGCAACGACAAGG		
SSR502-F	TTGCTGCACAATCTCAGGTC	56 °C	Monomorfik
SSR502-R	CAGGTTTTGGGAGAGTTTGC		
SSR503-F	TCTTGCGACGGATTATACCC	55 °C	Monomorfik
SSR503-R	TAGGTCGGCCTTGATAACAC		
SSR504-F	ACTACTCAGCCGCCAGTTC	55 °C	Monomorfik
SSR504-R	GCCCCCTCAATTGCCTTTAAT		
SSR505-F	TATCCCCCTCTCCCCATAAA	53 °C	Monomorfik
SSR505-R	AATGCGAGACCCTGTGAAAG		
SSR506-F	ACGACAATCCTCCACCTGAC	56 °C	Monomorfik
SSR506-R	AACAAGGAAGGGGAGAGGAG		
SSR507-F	CACTTCACAAACCCCACTTG	55 °C	Monomorfik
SSR507-R	GGTTTAGGGGATTGGGAGA		
SSR508-F	ACGACAATCCTCCACCTGAC	55 °C	Monomorfik
SSR508-R	ACAAGGAAGGGGAGAGGAAG		
SSR509 -F	TTTCCCAATCCCTTCTTCT	55 °C	Monomorfik
SSR509 -R	CGCGCACTCTCTCTGATA		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
SSR510-F	TTCGGAAATGGGTAAGCAAC	55 °C	Monomorfik
SSR510-R	CTCTTCCAAAGACCCATTCC		
SSR511-F	ATTGAGAGGAGGCGGAGAA	55 °C	Monomorfik
SSR511-R	CGCGTGTCTCTCTCTCAC		
SSR512-F	AATGGATAGCTGCCAAGAGG	55 °C	Monomorfik
SSR512-R	ACCGTATCACACCCACAATG		
SSR513-F	GAATTCTGGCTCTGCGACAT	55 °C	Monomorfik
SSR513-R	TGTGCATTATTACTGTTTATTTTGTT		
SSR514-F	GAATTCTGGCTCTGCGACAT	55 °C	Monomorfik
SSR514-R	GGGTTTTTGCTGCAGTCTTT		
SSR515-F	TTGGCCATGCTGTTTCCT	52 °C	Monomorfik
SSR515-R	TGTGTTGGGTTGCACATCTT		
SSR516-F	CCGATGATTGGTGGGTAAGT	55 °C	Monomorfik
SSR516-R	GCTCTTACATCCTCCGAAA		
GLLC517-F	TGGGCTCACTGAACCAAAAG	55 °C	Monomorfik
GLLC517-R	CCCCCTTCTAAGTGAGATTCCG		
GLLC518-F	CCATCCATCTATCTATCTATCCATC	56 °C	Monomorfik
GLLC518-R	CACACACACACGCAGAGAGA		
GLLC519-F	GTAActCTCTCGCCCCCTCT	53 °C	Monomorfik
GLLC519-R	GTGATTGGGTATGCAAACATCT		
GLLC520-F	TCCGCTCTATGTGTTGAG	55 °C	Monomorfik
GLLC520-R	GGGAATTCTGGCTCTGCTAC		
GLLC521-F	TGGGCTCATTGAACCAAAAG	53 °C	Monomorfik
GLLC521-R	CCCCCTTTAAGTGATTTTCCT		
GLLC522-F	GCATCTCTCTAGCTCATGTTCTG	55 °C	Monomorfik
GLLC522-R	TGTCTCTCCCACCCACTCAT		
GLLC523-F	CCCCCTTTCTAAGTGATTTTCC	55 °C	Monomorfik
GLLC523-R	CGGGGAGAGACAGAAATAA		
GLLC524-F	GTTCTACCGCCATGGAAATG	55 °C	Monomorfik
GLLC524-R	CACTCACACGCCACAAACTT		
GLLC525-F	CGTTTGGAAGTGGTGTGTG	53 °C	Monomorfik
GLLC525-R	GGCCACATAAGGATGCAAGA		
GLLC526-F	GGATGGGTTAGTGAAGAGATCG	55 °C	Monomorfik
GLLC526-R	GAATTCTGGCTCTGCGACAT		
GLLC527-F	GTGGGACGGTTTGAATTTGA	55 °C	Monomorfik
GLLC527-R	GAACATAAAATGGGAGTGCACAA		
GLLC528-F	CGATACATAGGGTGCCACATT	53 °C	Monomorfik
GLLC528-R	GACGGACGTTTGTTCGTT		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
GLLC529-F	CCTGTATCTCCCCGAGAAAA	53 °C	Monomorfik
GLLC529-R	TTGACCGTCCAACCTTTCAA		
GLLC530-F	TGTGCAATGTTCAACCCTCT	53 °C	Monomorfik
GLLC530-R	CACTCCAATAGCCCCTACCA		
GLLC531-F	TCACGTGAGGTGAAAACTTTG	53 °C	Monomorfik
GLLC531-R	TCAAGCTCAGGACCTAAAACC		
GLLC532-F	GAAATCTTCAAAGTGAAGCAAGG	53 °C	Monomorfik
GLLC532-R	TGGTTTTCTCCGCTCGTACT		
GLLC533-F	TGCATATTGTTTTCTGCCACTT	53 °C	Monomorfik
GLLC533-R	AGACGGAAAATGGCTGTAGG		
GLLC534-F	GTCCCCATTGGAATTTAGGG	53 °C	Monomorfik
GLLC534-R	CGCACGGGTGCTCTTTTT		
GLLC535-F	TCCGTGTGTTCTTTTCTCCTG	55 °C	Polimorfik
GLLC535-R	AGTGGACACTCCACCTTCC		
GLLC536-F	CTAGAACCCTTGGCCGTGC	55 °C	Polimorfik
GLLC536-R	AAACAATGAATGAAAGAATGATCG		
GLLC537-F	GATTCGGGAATTCTGGCTCT	55 °C	Monomorfik
GLLC537-R	CTCCTCTTGCTCCTTCCAGA		
GLLC538-F	AAGGGAAGGAAAAGGGAAGT	54 °C	Monomorfik
GLLC538-R	GCACGAAGAGGGTACGTAGG		
GLLC539-F	TTGTGTCCGGTGTCTTTGTCTG	55 °C	Monomorfik
GLLC539-R	CATTTCCACCTGCCATTTTC		
GLLC540-F	AGCTTGGCGTAATCATGGTC	53 °C	Monomorfik
GLLC540-R	TGTCATTATCATAGTAGTAAAGCACCA		
GLLC541-F	TGGGCTCATTGAACCAAAAG	53 °C	Monomorfik
GLLC541-R	CCCCCTTTTAAGTGATTTTCC		
GLLC542-F	GTGTTTGTCTTCGGCGTTTT	53 °C	Monomorfik
GLLC542-R	GTAAACCATTTCGCCACCAT		
GLLC543-F	CCTCCATTACACCCAATGA	53 °C	Monomorfik
GLLC543-R	ACCTCGGTTTTTGGTTAGGG		
GLLC544-F	AACTTGCTCGGAAGAAGACG	53 °C	Monomorfik
GLLC544-R	GGTCCGGAAACACTGAGGT		
GLLC545-F	CTGCGACATGGATCTGAGAC	55 °C	Monomorfik
GLLC545-R	CTTCGCCTTCAACCAGATTC		
GLLC546-F	CAGAGGTGGAGAGGATTTTCG	53 °C	Monomorfik
GLLC546-R	CCTCCCTCGAAAACAACAGT		
GLLC547-F	TTGACGCCTTGAGAAAAGGT	53 °C	Monomorfik
GLLC547-R	TCGCTCGCTCTCTCTCTCTC		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
GLLC548-F	CTGTTGTGGCCAAGAGGATT	55 °C	Monomorfik
GLLC548-R	CCAAAACCCCACTACTTCA		
GLLC549-F	CCCCCAAAGGGCTTATACA	53 °C	Monomorfik
GLLC549-R	CCGAATTTTCCTCCTCTCG		
GLLC550-F	AAGGCCCTTTATCCAGAGA	53 °C	Monomorfik
GLLC550-R	CTGCCTGGCCTCATAAACTT		
GLLC551-F	GTTTATGAGGCAGGCAGGAA	53 °C	Monomorfik
GLLC551-R	GGAAAATTGGCACTGGAAAA		
GLLC552-F	GTAGGGCCCCTTTATCCAGA	53 °C	Monomorfik
GLLC552-R	CTGCCTGGCCTCATAAACTT		
GLLC553-F	TGCGACAGAAATCCTAGGTG	53 °C	Polimorfik
GLLC553-R	CACAGGTCAAGCTCACATGAA		
GLLC554-F	GGGGGAAATCTAGACCCTGA	55 °C	Monomorfik
GLLC554-R	GCCAACTCTAGGTGCAATGG		
GLLC555-F	CTGATCATTTTTAGTGCATTTCA	55 °C	Polimorfik
GLLC555-R	GCTATGCATAAATTTTTGTAAATCAT		
GLLC556-F	TGCATTTGGATGAGAAAGGA	53 °C	Monomorfik
GLLC556-R	GGTTACAAATAACCCGCTTG		
GLLC557-F	GCTCTGCGACATGGATCTTT	55 °C	Monomorfik
GLLC557-R	TGAGAACAAATGAGCAGTGTCTT		
GLLC558-F	TGTGCAATGTTCAACCCTCT	55 °C	Polimorfik
GLLC558-R	CACTCCAATAGCCCCTACCA		
GLLC559-F	CATGGATCCAAATGCAAAAA	53 °C	Monomorfik
GLLC559-R	GCTTCTTCAAGAGCACGTTTC		
GLLC560-F	TGGGCTCATTGAACCAAAAG	53 °C	Monomorfik
GLLC560-R	GGGGTTTTCGTTCATCACTT		
GLLC561-F	TGGGAGTGTCAAAATTTCA	55 °C	Polimorfik
GLLC561-R	TCAAATTCCTCGTTCTTAATTATC		
GLLC562-F	TGTGTAGGCACATCAACAAA	55 °C	Monomorfik
GLLC562-R	GGTGGGCATGAGAGGTGTTA		
GLLC563-F	ATGGGCTCATTGAACAAAAG	55 °C	Polimorfik
GLLC563-R	CCCCCTCTAAGAGATTTTCCTC		
GLLC564-F	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA	53 °C	Monomorfik
GLLC564-R	CCCGCTTGATAAGGGTTTTG		
GLLC565-F	TGCGGTTGAAGTTGTAGGAA	53 °C	Monomorfik
GLLC565-R	TCAATTATATGAAGAGCTCGTAGCA		
GLLC566-F	TTCCCTCCATGCCAACATA	53 °C	Monomorfik
GLLC566-R	TGCATTTTCGTCTGTTTTTG		

Çizelge 4.2. (devam)

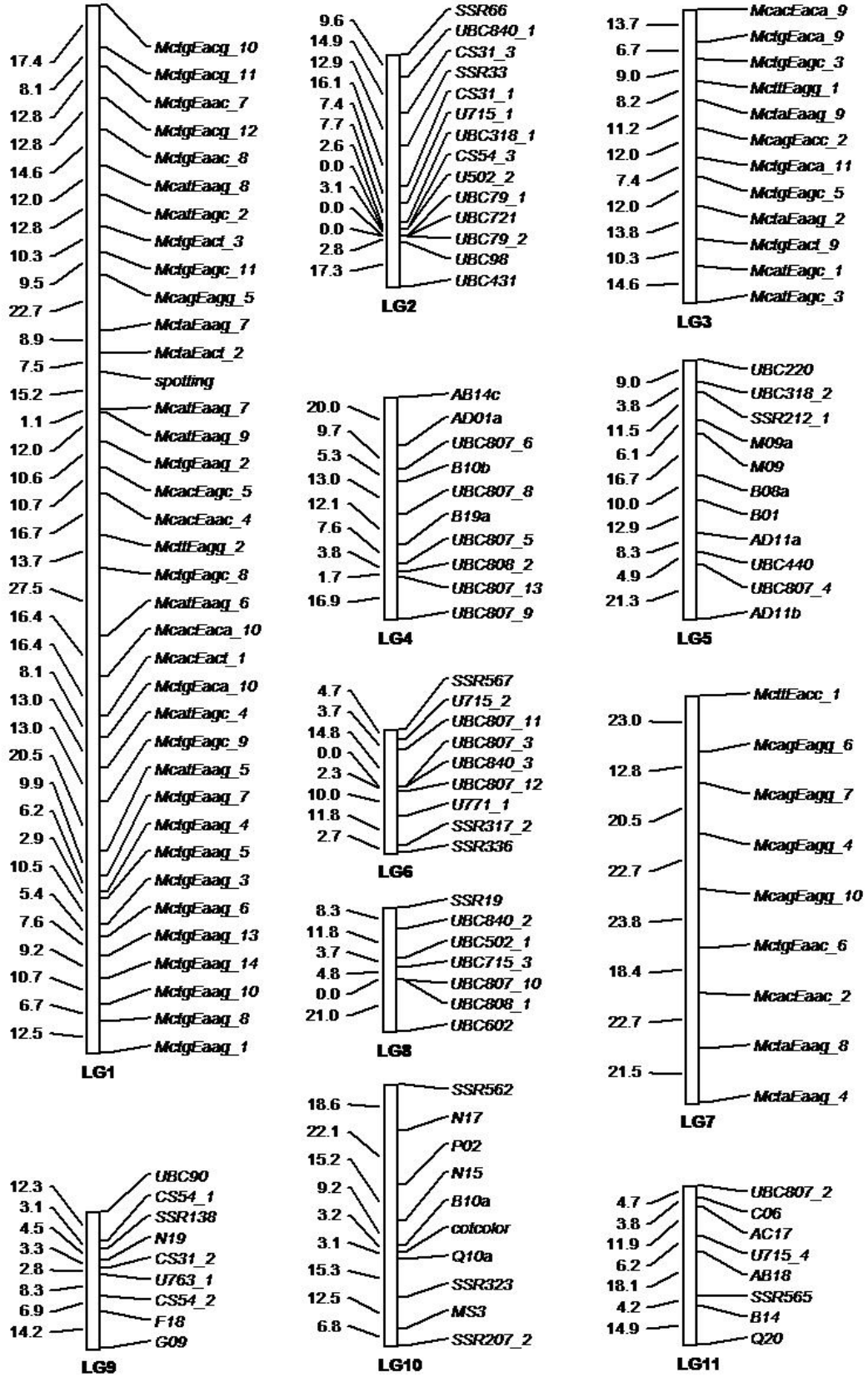
Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
GLLC567-F	TCTCTCTATCAATTTGTCAATCCATC	53 °C	Monomorfik
GLLC567-R	GGTGAAGTGTGTGGAGATAACG		
GLLC568-F	TGTATGCACACCCAATCACTAC	53 °C	Monomorfik
GLLC568-R	CACTCTTTCATTGACTGGCTGA		
GLLC569-F	CCAACTCTTGTAATACCCCGATA	54 °C	Monomorfik
GLLC569-R	TCCTTTATCCCAAATGACTTTC		
GLLC570-F	ATGGGCTCATTGAACCAAAA	55 °C	Monomorfik
GLLC570-R	TCACTCTCTCTCTCTCTCTCTCTC		
GLLC571-F	CCACCAAAGAAACCCAATTTT	53 °C	Monomorfik
GLLC571-R	CCACCAAAGAAACCCAATTTT		
GLLC572-F	GAATTCTGGCTCTGCGACAT	55 °C	Monomorfik
GLLC572-R	TGGCAACAACAGAAAAATCAA		
GLLC573-F	GAATTCTGGCTCTGCGACAT		Çalışmadı
GLLC573-R	CACCCCGTAAATGATATGC		
GLLC574-F	TCCTCACCATGGGAATTAGC		Çalışmadı
GLLC574-R	TTAGAGTGTGAGCATGTGTCCA		
GLLC575-F	TGAGGGAGGAGATGGTAACG		Çalışmadı
GLLC575-R	TCGCTTCCCAAACCTCTCCTA		
GLLC576-F	CAGAGGTGGAGAGGATTTTCG		Çalışmadı
GLLC576-R	CCGTCTCCATCACACTGGTA		
GLLC577-F	AATCCCCACCTTCCTTAACC	51 °C	Monomorfik
GLLC577-R	ATCGTCGGGTGGATTCAATA		
GLLC578-F	CCAGCCTAATTTCCAACGA	51 °C	Monomorfik
GLLC578-R	CTTAAATCCTCCCGGGTTTC		
GLLC579-F	AGTCCCAAACCCCAAATTC	54 °C	Monomorfik
GLLC579-R	CCGAGGATGTGTAACAAAGG		
GLLC580-F	AGGCCGACTTTGGATGGTAT	55 °C	Monomorfik
GLLC580-R	GAATTCTGGCTCTGCGACAT		
GLLC581-F	AGGTTGCTGAAGCAGAATGG		Çalışmadı
GLLC581-R	CCACCTTTCCTCTTCCTCT		
GLLC582-F	AAGCCCAAATCCGAAATACA	55 °C	Monomorfik
GLLC582-R	TTAAGCTAGCCACCCCGAAT		
GLLC583-F	GTGGGATGAATCAGCCAGTC	55 °C	Monomorfik
GLLC583-R	ACCCGTGAGACAGTCGTTCT		
GLLC584-F	CGGACAGACAGACAGACAGAG	55 °C	Monomorfik
GLLC584-R	TTTGTCATCTATCCATCTATTCA		
GLLC585-F	GGAGAGTTGTAACACCCCGATA		Çalışmadı
GLLC585-R	CCGTTCAACTCCTCAATTTCC		
GLLC586-F	GGGGTCAAAGCAAACCTTCA		Çalışmadı
GLLC586-R	CCATTCCAATCCCAAAGA		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
GLLC587-F	GTGGGACGGTTTGAATTTGA		Çalışmadı
GLLC587-R	GAACATAAAATGGGAGTGTACAAA		
GLLC588-F	ACACCCTTCTACCCCAACG		Çalışmadı
GLLC588-R	TTATTTGAATTCCGCTGCAA		
GLLC589-F	GGTAGAAAGATGCATGTACACACA		Çalışmadı
GLLC589-R	TGAATCACTCCACGCTATGC		
GLLC590-F	TGTGTCTTTGTTATTTTCTTTTCG		Çalışmadı
GLLC590-R	AAGGTAATCGCGATGCAAAC		
GLLC591-F	TGTTTGATGTACCTCAGGCTTA		Çalışmadı
GLLC591-R	TGAACTGATGAGGAGGACGTT		
GLLC592-F	GCGACATGGATCCTTACCC	54 °C	Monomorfik
GLLC592-R	TCATTCAAAACAAAACAAAACAAA		
GLLC593-F	TGAATTCTGGCTCTGCGACAT		Çalışmadı
GLLC593-R	TGTGCATTATTACTGTTTATTTTGT		
GLLC594-F	TGGATGCTGAGCTTGTATCTTC	53 °C	Monomorfik
GLLC594-R	GGGAGTGAAGAGGAGAGTTTGA		
GLLC595-F	TTGTCTGGTGGTGTTTTTGG	54 °C	Monomorfik
GLLC595-R	CACAAAGTTTCTCACCTCACG		
GLLC596-F	CAAAGCGTTTTTCTTTTTGGA		Çalışmadı
GLLC596-R	TGATTGTTAAAATGTTCTTTGTGA		
GLLC597-F	GCAAAAATCTCTTTGCAAGC	54 °C	Monomorfik
GLLC597-R	CTCTCTCTCCCTCAACTCAACA		
GLLC598-F	TGGGCTCATTGAACCAAAAG		Çalışmadı
GLLC598-R	CCCCCTTCTAAGTGATTTCC		
GLLC599-F	AATTCTGTGGCCATTCCATC		Çalışmadı
GLLC599-R	TAATTGCGTCGTGGTTGTTG		
GLLC600-F	TCTATTTGTCTCTCTATCAATTTGTCA		Çalışmadı
GLLC600-R	TGGTGAAGTGTGTGAAGATAACG		
GLLC601-F	GACCTGGGTCTGACCTCTTG	54 °C	Monomorfik
GLLC601-R	TCACTTTTATTTTAAACAGCATTACCA		
GLLC602-F	CAGCTGGGGTAAAATTGTC	53 °C	Monomorfik
GLLC602-R	TCGGGAATTCTGGCTCTG		
GLLC603-F	GAATTCTGGCTCTGCGACAT	54 °C	Monomorfik
GLLC603-R	CATTCAAACAAAACAAAACAAAGA		
GLLC604-F	CCCCATGACACAACAAAAGT		Çalışmadı
GLLC604-R	CATTCATTTTCATCCCATCG		

Çizelge 4.2. (devam)

Primer ismi	Primer Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (T <sub>m</sub> )	Polimorfizm
GLLC605-F	TGCCCATCTATCCATCTATTCA		Çalışmadı
GLLC605-R	CAGACAGACAGACAGACAGACAGA		
GLLC606-F	AAATGCGAAGTTCACGTTCA		Çalışmadı
GLLC606-R	GCGACATGCATCTTGTGAC		
GLLC607-F	CTGTTGTGGCCAAGAGGATT	54 °C	Monomorfik
GLLC607-R	CCAAAACCCCCACTACTTCA		
GLLC608-F	AGGAATGTTTTTCGAGGACGA		Çalışmadı
GLLC608-R	TCCATAATCCCCGTCATACC		
GLLC609-F	GCGACATGGAATTGGATTTG		Çalışmadı
GLLC609-R	GCACAAAGTCGAGGAGCCTA		
GLLC610-F	GGAAGGAAAGGGAAGTTTTT	55 °C	Monomorfik
GLLC610-R	TTTTTCATTTTAGTCCCGTATTTT		
GLLC611-F	CCAGGCTCGTGATCTTCTCT	55 °C	Monomorfik
GLLC611-R	GCCGGGATTGAAATATTGAG		
GLLC612-F	TTGTGAGAGGGGGAGAGAGA	55 °C	Monomorfik
GLLC612-R	GTATGCATCCTTCGGGAATC		
GLLC613-F	GGAGGACAAGGTGCACTAGG	55 °C	Monomorfik
GLLC613-R	TTAGTTTCCGGATGGTGGAC		
GLLC614-F	AACCCAGCCAGATCTTACA		Çalışmadı
GLLC614-R	AAGGGTGGTTTTGGTCCTATG		
GLLC615-F	GGAAGACGACAGAGGTGAGG		Çalışmadı
GLLC615-R	ATTCGGTGTGCCAAATTAC		
GLLC616-F	AAAACCATTTTGTGCGTGTG		Çalışmadı
GLLC616-R	TCCACACACCCATTCATACAC		
GLLC617-F	AAGGCCCTTTATCCAGAGA	55 °C	Monomorfik
GLLC617-R	CTGCCTGGCCTCATAAACTT		
GLLC618-F	AGGAGAGGTAGGAGGAGGAAC		Çalışmadı
GLLC618-R	TGACTCGTGATTTTTGTTTTCC		
GLLC619-F	TGGACTGGAGGGAGTTATGG		Çalışmadı
GLLC619-R	CTCTCTACGCCTCCAATC		
GLLC620-F	AACGGAGTGTGAGTTCATGC	55 °C	Polimorfik
GLLC620-R	GAGAGTGTTGGGGTTGAAA		
GLLC621-F	CACCAGAAAACCCAGATGTTG	50 °C	Monomorfik
GLLC621-R	TGTCTGGCCTCATAAACCTG		
GLLC622-F	CCCACCACCCCTCATTTATT	50 °C	Polimorfik
GLLC622-R	GGGGACTGCGATTGAGAAT		
GLLC623-F	TATGGAGGAATGGGGATTGA	50 °C	Monomorfik
GLLC623-R	TCCGCATCCTCCTATGTGAC		
GLLC624-F	TGGACTCATAAGATAGGGGAATC	50 °C	Monomorfik
GLLC624-R	TTACCCTTGCCCTTCACTTG		



Şekil 4.2. AFLP, RAPD, ISSR, SSR ve morfolojik markörlerinden oluşan mercimek genetik bağlantı haritası



## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmada 175 adet SSR primeri kullanılmıştır. Bu primerlerden 25 adeti polimorfik, 109 adeti ise monomorfik olarak belirlenmiştir. 41 SSR primeri ile herhangi bir amplifikasyon elde edilememiştir.

Mümkün olduğunca yüksek sayıda SSR primerinin polimorfik olması ve haritada bulunması arzu edildiğinden her bir primer üzerinde tekrarlamalar fazlasıyla yapılmıştır. Primer dizilimlerinden veya bilinmeyen başka nedenlerden dolayı bazı primerler çalışmamaktadır.

Polimorfik SSR primerleri ile RIL hatları skorlanmış ve 25 polimorfik SSR primerinden 23 kadarı skorlanabilmiş, 2 SSR primeri net olarak skorlanamadığından değerlendirmeye alınmamıştır. Bağlantı analizleri sonucunda 23 SSR marköründen 13 SSR değişik bağlantı gruplarında yer alırken, 10 SSR markör hiçbir bağlantı grubunda yer almamıştır. Mercimek genetik bağlantı haritası 11 gruptan oluşmaktadır.

WSU'dan temin edilen SSR primerlerinde (Rajesh ve ark., 2008) polimorfizm oranının düşük (% 6.45) olduğu belirlenmiştir. Duran ve ark. (2004) ile ICARDA'dan (Hamwieh ve ark., 2005) sağlanan SSR primerlerinin, polimorfizm oranı nispeten yüksek bulunmuştur (sırasıyla, % 20 ve % 34.8). Tüm SSR primerleri toplu olarak değerlendirildiğinde, polimorfizm oranı (%14.3) düşük bulunmuştur.

SSR markörlerinin genomda farklı gruplarda dağılışı göstermesi istenilen bir sonuçtur. Mercimekte geliştirilen diğer genetik haritalarla karşılaştırma imkânı sağlaması bakımından önemlidir.

SSR markörlerinin mercimek genomunda toplu olmaktan ziyade genomda dağılım gösterdikleri belirlenmiştir. Bağlantı grupları 1, 3, 4 ve 7 hariç, diğer bağlantı gruplarında en az 1 SSR markörü haritalanmıştır.

SSR markörleri farklı türlere ve aynı tür içinde geliştirilen farklı genom haritalarının karşılaştırmasına imkan verdiği için önem arz etmektedir. Daha çok SSR markörünün mercimek genomunda haritalanması için mercimekte yeni SSR markörlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- ADAM-BLONDON, A. F., ROUX, C., CLAUX, D., BUTTERLIN, G., MERDINOGLU, D., and THIS, P., 2004. Mapping 245 SSR Markers on the *Vitis Vinifera* Genome: A Tool for Grape Genetics. *Theor Appl Genet* 109:1017–1027.
- AYDOĞAN, A., 2003, Ülkemizde Mercimek Üretimi, Tarla Bitkileri, Merkez Araştırma Enstitüsü.
- BAUM, M., WEEDEN, N. F., MUEHLBAUER, F., KAHL, G., UDUPA, S. M., EUJAYL, I., WEIGAND, F., HARRABI, M., and BOUZNAD, Z., 2000. Marker Technology for Plant Breeding. In: Knight, R (ed) *Linking Research and Marketing Opportunities for Pulses in the 21st Century*. Kluwer, Dordrecht, pp 421–427.
- BLAIR, A.M. W., PEDRAZA, F., BUENDIA, H. F., GAITAN-SOLIS, E., BEEBE, SE., GEPTS, P. and TOHME, J. 2003. Development of A Genome-Wide Anchored Microsatellite Map for Common Bean (*Phaseolus vulgaris* l.). *Theor Appl Genet* 107:1362–1374
- DE CARVALHO MORETZSOHN, M., HOPKINS, M. S., MITCHELL, S. E., KRESOVICH, S., VALLS, J. F. M. and FERREIRA, M. E. 2004. Genetic Diversity of Peanut (*Arachis hypogea* L.) and Its Wild Relatives Based on the Analysis of Hypervariable Regions of the Genome. *BMC Plant Biol* 4:11-12
- DOYLE, J. L, DOYLE J. J ,1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue *Focus* 12:13–15
- DURAN, Y., FRATINI, R., GARCIA, P., and VEGA, M. P., 2004. An Intersubspecific Genetic Map of *Lens*. *Theor Appl Genet*. 108: 1265-1273.
- EMAMI, M. K., and SHARMA, B., 1999. Linkage Between Three Morphological Markers in Lentil, *Plant Breeding*, 118: 579-581.
- EJAYL, I., BAUM, M., ERSKINE, W., PEHU, E., and MUEHLBAUER, F. J., 1997. The Use of RAPD Markers for Lentil Genetic Mapping and the Evaluation of Distorted F2 Segregation. *Euphytica* 96:405-412.
- EJAYL, I., BAUM, M., POWELL, W., ERSKINE, W., and PEHU, E., 1998. A Genetic Linkage Map of Lentil (*Lens sp.*) Based on RAPD and AFLP Markers Using Recombinant Inbred Lines. *Theor. Appl. Genet.* 97: 83-89.
- EJAYL, I., ERSKINE, W., BAUM, M., and PEHU, E., 1999. Inheritance and Linkage Analysis of Frost Injury in Lentil. *Crop Science*, 39: 639-642.
- FERGUSON, M., and ERSKINE, W., 2001. Lentils (*Lens* L.). In Maxted, N. and S.J. Bennett (eds.), *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- FERGUSON, M. E., FORD-LOYD, B. V., ROBERTSON, L. D., MAXTED, N., and NEWBURY, H. J., 1998. Mapping the Geographical Distribution of Genetic Variation in the Genus *Lens* for the Enhanced Conservation of Plant Genetic Diversity. *Molecular Ecology*, 7: 1743-1755.
- FLANDEZ-GALVEZ, H., FORD, R., PANG, E. C. K., and TAYLOR, P. W. J., 1998. An Intraspecific Linkage Map of the Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genome Based on Sequence Tagged Microsatellite Site and Resistance Gene Analog Markers, *Theor Appl Genet.*, 106:1447–1456.

- FORD, R., PANG, E. C. K., and TAYLOR, P. W. J., 1999. Genetics of Resistance to *Ascochyta Blight (Ascochyta lentis)* of Lentil and Identification of Closely Linked RAPD Markers. *Theor. Appl. Genet.*, 108: 1265-1273.
- FURMAN, B. J., and BAUM, M., 2006. Genotyping A Composite Germplasm Set of Lentil, ICARDA Activities Under the Generation Challenge Programme, ([www.icarda.org](http://www.icarda.org)), Syria.
- GALASSO, I., SCHMIDT, T., and PIGNANE, D., 2001, Identification of *Lens culinaris ssp. culinaris* Chromosomes by Physical Mapping of Repetitive DNA Sequences, *Chromosome Research*, 9:199-209.
- HAMWIEH, A., UDUPA, S. M., CHOUMANE, W., SARKER, A., DREYER, F., JUNG, C., and BAUM, M., 2005. A Genetic Linkage Map of *Lens sp.* Based on Microsatellite and AFLP Markers and the Localization of Fusarium Vascular Wilt Resistance. *Theor. Appl. Genet.* 110: 669-677.
- HAVEY, M. H., and MUEHLBAUER, F. J., 1989. Linkages Between Restriction Fragment Length, Isozyme and Morphological Markers in Lentil. *Theor Appl Genet* 77:395-401.
- HEARNE, C. M., GHOSH, S., and TODD, J. A., 1992. Microsatellites for Linkage Analysis of Genetic Traits. *Trends in Genet.* 8:288-294.
- HUGHES, C. R., and QUELLER, D. C., 1993. Detection of Highly Polymorphic Microsatellite Loci in a Species with Little Allozyme Polymorphism. *Mol Ecol* 2:131-137.
- KAHRAMAN, A., 2001. Quantitative Trait Loci Analysis of Winterhardiness and Related Traits in Lentil. . Ph.D. Thesis, Washington State University, Pullman, Washington, U.S.A. 128p.
- KAHRAMAN, A., KUSMENOĞLU, I., AYDIN, N., AYDOĞAN, A., ERKSINE, W. and MUEHLBAUER, F. J., 2004. QTL Mapping of Winter Hardiness Genes in Lentil, *Crop Science*, 13-22.
- KOSAMBI D. D., 1944, The Estimation of map distances from recombination values, *Eugene* 12: 172-175
- LADIZINSKY, G., 1997. A New Species of *Lens* from South-East Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 123: 257-260.
- LANDER E. S., GREEN P., ABRAHAMSON J., BARTOW A., DOLY M. J., LINCOLN S. E, and NEWBURG L., 1987. Map Maker, an Interactive Computer Package for Constructing Primary Genetic Linkage Maps of Experimental and Natural Populations, *Genomics* 1: 174-181
- LOVE, J. M., KNIGHT, A. M., MCALEER, M. A., and TODD, J. A., 1990. Towards Construction of a High-Resolution Map of the Mouse Genome Using PCR-Analysed Microsatellites. *Nucleic Acids Res.* 18:4123-4.
- LÖRZ, H., and WENZEL, G., 2004. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement*, Springer, Germany, 476 p.
- MEKSEM, K., and KAHL, G., 2005. *The Handbook of Plant Genome Mapping, Genetic and Physical Mapping*, Wiley-VCH, Weinheim, 380 p.
- MICHOLMORE, R.W., PARON, I., and KESELLI, R. V., 2006. Identification of Markers Linked to Disease Resistance Genes by Bulked Segregant Analysis: a Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations, *PNAS*, p.6-9.

- MOHAN, M., NAIR, S., BHAGWAT, A., KRISHNA, T.G., YANO, M., BHATIA, C.R. and SASAKI, T., 1997. Genome Mapping Molecular Marker and Marker-Assisted Selection in Crop Plants. *Molecular Breeding*. 3: 87-103.
- MOORE, S. S., SARGEANT, L. L., KING, T. G., MATTICK, J. S., GEORGE, M., and HERTZEL, D. J. S., 1991. Conservation of Dinucleotide Microsatellites Among Mammalian Genomes Allows Use of Heterologous PCR Primer Pairs in Closely Related Species. *Genomics* 10:645-660.
- MUEHLBAUER, F. J., CHO, S., SARKER, A., MCPHEE, K. E., COYNE, C. J., RAJESH, P. N., and FORD, R., 2006. Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica*. 147: 149-165.
- MUEHLBAUER, F. J., TAHIR, M., SIMON, C. J., and 1993. Gene Map of Lentil: a Review. *LENS Newslett* 20:3–10.
- O'BRIEN, S.J., 1993, *Genetic Maps: Locus Maps of Complex Genomes*, 6<sup>th</sup> edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- ÖNER, C., 2003. Ökaryotlarda Gen Bağlantısı (Linkaj), Krossover ve Haritalama, *Genetik Kavramlar*, Palme Yayıncılık, Ankara, 816 p.
- PATERSON, A. H., BOWERS, J. E., BUROW, M. D., DRAYE, X., ELSIK, C. G., JIANG, C. X., KATSAR, C. S., LAN, T. H., LIN, Y. R., MING, R., and WRIGHT, R. J., 2000. Comparative Genomics of Plant Chromosomes *The Plant Cell*. 12: 1523-1539.
- RAJESH, P. N., WHITE, D., SAHA, G., CHEN, W., and MUEHLBAUER, F., 2008. Development and genetic analysis of SSR markers in lentil. *Plant & Animal Genomes XVI Conference*, January 12-16, 2008, Town & Country Convention Center, San Diego, CA
- RUBEENA, R., FORD, P., and TAYLOR, W. J., 2003. Construction of An Intraspecific Linkage Map of Lentil (*Lens culinaris ssp. culinaris*) *Theor. Appl. Genet.*, 107: 910-916.
- RUBEENA, R., TAYLOR, W. J., FORD, P. and ADES, P. K., 2006. QTL Mapping of Resistance in Lentil (*Lens culinaris ssp. culinaris*) to *Ascochyta* Blight (*Ascochyta lentis*), *Plant Breeding* 125, 506-512.
- SANTRA, D. K., TEKEOGLU, M., RATNAPARKHE, M., KAISER, W. J., and MUEHLBAUER, F. J., 2000. Identification and Mapping of QTLs Conferring Resistance to *Ascochyta Blight* in Chickpea. *Crop Sci*. 40:1606–1612.
- SHAROPOVA, N., MCMULLEN, M. D., SCHULTZ, L, SCHROEDER, S., VILLEDA, H. S., GARDINER, J., BERGSTROM, D., HOUCHINS, K., HANCOCK, S. M., MUSKET, T., POLACCO, N. D. M., EDWARDS, K., RUFF, T., REGISTER, J. C., BROUWER, C., THOMPSON, R., VELASCO, R., CHIN, E., LEE, M., WOODMAN-CLIKEMAN, W., LONG, M. J., LISCUM, E., CONE, K., DAVIS, G., and COE, E. H., 2002. Development and Mapping of SSR Markers for Maize. *Plant Mol Biol* 48:463–481.
- SOMERS, D. J., ISAAC, P., and EDWARDS, K., 2004. A High Density Microsatellite Consensus Map for Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor Appl Genet*. 109:1105–1114.
- SONG, Q. J., MAREK, L. F., SHOEMAKER, R., LARK, K. G., CONCIBIDO, V. C., DELANNAY, X., SPECHT, J. E., and CREGAN, P. B., 2004. A New Integrated Genetic Linkage Map of the Soybean. *Theor Appl Genet*. 109:122–128.

- TAHIR, M., ERKSINE, W., HUSSAIN, A., BAKSH, A., ELLIS, R. H., SUMMERFIELD, R. J., and ROBERTS, E. H., 1994. Field Evaluation of a Model of Photothermal Flowering Responses in a World Lentil Collection. *Theor. Appl. Genet* 88: 423-428
- TAR'AN B., WARKENTIN T., SOMERS, D. J., MIRANDA, D., VANDENBERG, A., BLADE, S., WOODS, S., BING, D., XUE, A., DEKOYEER, D., and PENNER, G., 2003. Quantitative Trait Loci for Lodging Resistance, Plant Height and Partial Resistance to *Mycosphaerella* Blight in Field Pea (*Pisum sativum* L.). *Theor Appl Genet.* 107:1482–1491.
- TEKEOGLU, M., RAJESH, P. N., and MUEHLBAUER, F. J., 2002. Integration of Sequence Tagged Microsatellite Sites to the Chickpea Genetic Map. *Theor Appl Genet.* 105:847–854.
- THOQUET, P., GHENARDI, M., JOURNET, E. P., KERESZT, A., ANE, J. M., PROSPERI, J. M., and HUGUET, T., 2002. The Molecular Genetic Linkage Map of the Model Legume *Medicago Truncatula*: An Essential Tool for Comparative Legume Genomics and the Isolation of Agronomically Important Genes. *BMC Plant Biology.* 2:1, 1-13.
- TULLU, A., TAR'AN, B., WARKENTIN, T., and VANDENBERG, A., 2008. Construction of an Intraspecific Linkage Map and QTL Analysis for Earliness and Plant Height in Lentil. *Crop Sci* 48:2254-2264.
- UYSAL, Ş., 2007. Manisa Tarım İl Müdürlüğü, [www.manisatarim.gov.tr](http://www.manisatarim.gov.tr).
- WEEDEN, N. F., GU, W. K., WALLACE, D. H., and SINGH, S. P., 1996. Mapping the Second Photoperiod Gene, Hr, with the Assistance of A Molecular Marker in Common Bean. *Annu Rpt. Bean Improv. Coop.* 39: 215-21.
- WEEDEN, N. F., MUEHLBAUER, F. J., and LADIZINSKY, G., 1992. Extensive Conservation of Linkage Relationships Between Pea and Lentil Genetic Maps. *Journal of Heredity.* 83: 123-129.

## ÖZGEÇMİŞ

05/02/1978 Yılında Şanlıurfa'nın Viranşehir İlçesinin Kınalıtepe Köyünün Doğanentepe Mezrasında doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Viranşehir'de tamamladıktan sonra 1997 yılında Gaziantep İsmet Paşa Lisesi Fen bölümünden mezun oldum. 2000 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim bölümünde lisans eğitimine başladım. 2004 yılında Tarla Bitkileri bölümünden mezun oldum. 2006 yılı Eylül dönemi Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım. 2007 yılı şubat ayında Tarım Bakanlığında ziraat mühendisi kadrosuyla yerleştim. Halen bakanlık bünyesinde çalışmaktayım.

## ÖZET

Bu çalışmada, SSR markörlerinin mercimek (*Lens culinaris* Medik) genomuna ait bağlantı haritasında kullanılması amaçlanmıştır. Çalışma materyali olarak mercimek hattı WA8649041 ile Precoz çeşidinin melezlemesinden elde edilen bireylerin tek tohuma dayalı (single seed descent) metotla 6 generasyon kendileme yapılarak elde edilen 93 adet rekombinant saf hatlardan (RIL, recombinant inbred lines) oluşan populasyon kullanılmıştır. Deneme materyali, Washington State Üniversitesi, Pullman, ABD den temin edilmiştir. Genom haritalamasında SSR markörlerine ilaveten RAPD, AFLP, ISSR ve morfolojik markörler kullanılmıştır. Çalışmada 175 SSR primeri kullanılmış olup, 25 SSR primeri polimorfik, 109 SSR monomorfik ve 41 SSR çalışmamıştır. Polimorfik SSR markörleri genetik bağlantı haritasında belirli bir kromozom veya grupta toplanmayıp farklı bağlantı gruplarına dağılmıştır. Halihazırda mevcut 123 markörden oluşan genom haritasına (57 AFLP, 48 RAPD, 16 ISSR ve 2 morfolojik markör) bu çalışmayla 13 SSR markör ilave edilerek genom haritasındaki toplam markör sayısı 136 olmuştur. Genom haritası 11 bağlantı (linkaj) grubundan oluşmuş olup, toplam harita uzunluğu 1311.2 cM dir. WSU' dan temin edilen SSR primerlerinde (Rajesh ve ark., 2008) polimorfizm oranı düşük (% 6.45) olduğu belirlenmiştir. Duran ve ark. (2004) ile ICARDA' dan sağlanan SSR primerlerinin (Hamwieh ve ark., 2005) polimorfizm oranı nispeten yüksek bulunmuştur (sırasıyla, % 20 ve % 34.8). Tüm SSR primerleri toplu olarak değerlendirildiğinde, polimorfizm oranı %14.3 gibi düşük bulunmuştur. Bağlantı grupları 1, 3, 4 ve 7 hariç, diğer bağlantı gruplarında en az 1 SSR markörü haritalanmıştır.



## SUMMARY

The objective of this study was to integrate the SSR (Simple sequence Repeats) markers in lentil genetic linkage map. To construct the linkage map, an F6 derived Recombinant inbred line (RIL) population with 93 lines developed from the cross of WA8649041 x Precoz lentil lines was used. Linkage map was comprised of RAPD, ISSR, AFLP, SSR and morphological markers. One hundred seventy five (175) SSR markers were used in the study. 25 SSR markers were found polymorphic, while 109 SSR markers were monomorphic and 41 SSR markers did not work. SSR markers were distributed in different linkage groups rather than clustering in some linkage groups. Of the 25 SSR markers, 13 of them were mapped in lentil genome and the current genetic linkage map is comprised of 136 markers including 57 AFLP, 48 RAPD, 16 ISSR, 2 morphological and 13 SSR markers. Genetic linkage map is comprised of 11 linkage groups with 1311.2 cM in length and average genetic distance between two markers is 9.64 cM. Polymorphism rate of SSR primers provided from Washington State University) was low (6.45%). Polymorphism rate of SSR primers obtained from ICARDA and Duran et al. (2004) were relatively higher (34.8 and 20 %, respectively). Almost in each linkage group had at least one SSR marker except 4 linkage groups (LG1, LG3, LG 4 and LG7)