

T.C.  
HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İÇ ANADOLU BÖLGESİNDE YETİŞEN *Isatis glauca.*'nın  
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN MOLEKÜLER  
İŞARETLEYİCİLERLE KARAKTERİZASYONU**

**Elçin GÖRGÜLÜ**

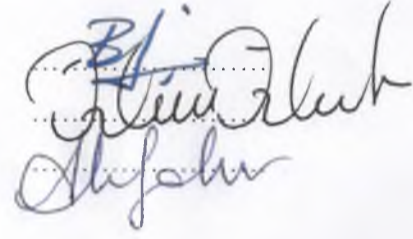
**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

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

**HAZİRAN 2012  
ÇORUM**

Elçin GÖRGÜLÜ tarafından hazırlanan "iç Anadolu bölgesinde Yetişen *Isatis glauca*'nın Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu" adlı tez çalışması ~~2012/02~~ <sup>26.06.2012</sup> tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliğiyle ~~oy çokluğu~~ ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

YRD. DOÇ. DR. BELGİN GÖÇMEN TAŞKIN\*  
YRD. DOÇ. DR. ÖZLEM ÖZBEK\*\*  
YRD. DOÇ. DR. ALİ SALUR



Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~23.07.2012~~ <sup>23.07.2012</sup> tarih ve ~~2012/02~~ <sup>2012/02</sup> sayılı kararı ile Elçin GÖRGÜLÜ'nün Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans/~~Doktora~~ derecesi alması onanmıştır.



PROF.DR. ALİ KILIÇARSLAN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

\* JÜRI BAŞKANI  
\*\* TEZ DANIŞMANI

## TEZ BEYANI

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



Elçin GÖRGÜLÜ

# İÇ ANADOLU BÖLGESİNDE YETİŞEN *Isatis glauca*'nın GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLERLE KARAKTERİZASYONU

Elçin GÖRGÜLÜ

HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Haziran 2012

## ÖZET

Bu çalışmada İç Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *Isatis glauca* Aucher ex Boiss'nın dört alttürüne [*I. glauca* subsp. *glauca*, subsp. *galatica* Yıldırımli, subsp. *iconia* (Boiss. et Heldr.) Davis, subsp. *sivasica* (Davis) Yıldırımli] ait 67 aksesyondan oluşan dokuz popülasyonda genetik çeşitliliğin karakterizasyonu çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) yöntemiyle yapıldı. Çalışmada kullanılan sekiz farklı *EcoRI-MseI* primer kombinasyonu 793'ü (%98,5) polimorfik olmak üzere toplam 805 lokus üretti. AFLP ile elde edilen veriler GDA (Genetik veri analiz) yazılım programı ile analiz edildi. Ortalama polimorfik lokus oranı, ortalama etkili alel sayısı ve ortalama genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla  $P= 0,59$ ,  $A= 1,59$  ve  $H_e= 0,23$  olarak tespit edildi. Popülasyonlar arasında genetik farklılaşma  $\Theta_P= 0,24$  olarak hesaplandı. Pearson'a göre genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasında herhangi bir korelasyon gözlenmezken çoklu regresyon analizine göre bütün eko-coğrafik faktörler bir araya geldiğinde genetik verilerin üzerine etkilerinin dikkate değer oranda yüksek olduğu gözlemlendi. Temel bileşenler analizi ile elde edilen üç bileşen genetik çeşitliliğin %85,61'ini açıkladı. Genetik uzaklık değerlerine göre UPGMA yöntemiyle oluşturulan dendogramda örnek grupları iki ana gruba ayrıldı. Dokuz *I. glauca* popülasyonu dal sayısı, bitki uzunluğu, bitki bazal kısım çapı, bitki median kısım çapı, bitki apikal kısım çapı, meyve genişliği ve uzunluğu, meyve sap uzunluğu, meyve şekli, meyve bazal kısım şekli, meyve apikal kısım şekli, lokulus, ondülleme, meyve rengi ve apikal durum gibi morfolojik karakterlerdeki varyasyon bakımından da karakterize edildi. Meyve uzunluğu en az varyasyon gösteren karakter ( $VK = 0,08-0,17$ ) olarak gözlenirken, dal sayısı en fazla varyasyon gösteren karakter

(VK= 0,22-0,86) olarak gözlemlendi. Pearson korelasyonu, çoklu regresyon ve temel bileşenler analizi (TBA) sonuçları eko-coğrafik faktörlerin morfolojik varyasyon üzerine önemli etkisinin olduğu gösterdi. Temel koordinatlar analizi örnek gruplarının uzaysal dağılımını gösterdi. Sonuç olarak *I. glauca* alttürleri arasında morfolojik varyasyonun ve genetik çeşitliliğin yüksek düzeyde olduğu ve AFLP yönteminin doğal popülasyonların genetik yapılarının karakterizasyonu ve genetik çeşitlilik düzeyinin tespit edilmesinde etkili bir yöntem olduğu belirlendi. Morfolojik karakterizasyon sonuçları oldukça bilgi verici olmasına rağmen doğal bitki türlerinin morfolojik karakterizasyonu bir ön çalışma olarak yapılabilir ve moleküler teknikler gibi yöntemler tamamlayıcı yöntemler olarak kullanılabilir.

Bilim kodu : 203.1.104

Anahtar kelimeler : AFLP, genetik çeşitlilik, *Isatis glauca* alttürleri, subsp. *galatica*, subsp. *glauca*, subsp. *iconia*, subsp. *sivasica*, morfolojik çeşitlilik

Sayfa adedi : 93

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek

**CHARACTERIZATION OF GENETIC DIVERSITY of  
*Isatis glauca* CULTIVATED in CENTRAL ANATOLIA  
REGION BASED ON  
MOLECULAR MARKERS**

Elçin GÖRGÜLÜ

HİTİT UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE  
June 2012

**ABSTRACT**

In this study, characterization of genetic diversity in four subspecies [*Isatis glauca* subsp. *glauca*, subsp. *glalatica* Yıldırımli, subsp. *sivasica* (Davis) Yıldırımli, subsp. *iconia* (Boiss. et Heldr.) Davis] of *Isatis glauca* Aucher ex Boiss. distributed widely in the Central Anatolia Region was analysed by Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). Four subspecies represented by 67 accessions, which formed nine different populations. In AFLP analysis, eight different *EcoRI-MseI* primer combinations were used and 805 AFLP loci produced, 793 of which (98.5%) were polymorphic. Data obtained through AFLP method was computed by using GDA (Genetic Data Analysis) a software program. The average proportion of polymorphic locus, average number allele and average number of allele per polymorphic locus, and average gene diversity values were found as  $P= 0.59$   $A= 1.59$ ,  $A_p= 2.00$  and  $H_e= 0.23$  respectively. Genetic differentiation among the populations were detected as  $\Theta_p= 0.24$ . According to Pearson correlation analysis, there was not any correlation between the genetic data and the eco-geographical factors. It was observed that when all the eco-geographical factors combined, they had significant effect on genetic indices according to multiple regression analysis. The principal component analysis explained 85.61% of the genetic variation by extracted three components. According to the genetic distance matrix between populations using UPGMA method a dendrogram was constructed, in which populations were clustered into two main clusters. Nine *Isatis glauca* subspecies populations were also characterized in terms of variation in morphological characters, which were number of branch, plant height,

diameter of stem base, diameter of middle stem, diameter of apical stem, width and length of fruit, length of fruit stalk, fruit shape, fruit base shape, fruit apices shape, loculus, ondulation, fruit color and apical process of fruit. Number of branch was the most variable (CV = 0.22-0.86) character, while fruit length was the least variable (CV = 0.08-0.17) character. According to Pearson's correlation, multiple regression and principal component analysis (PCA) analysis eco-geographical factors had substantial effect on morphological variation. Principal coordinate analysis (PCoA) showed genetic distances between populations on a screen plot. Consequently, *Isatis glauca* L. subspecies had higher level of morphological variation and genetic diversity, and AFLP, which revealed high polymorphism and differentiated populations can be used conveniently for population genetic studies. We also determined that eco-geographical factors had significant effect on morphological variation of *Isatis glauca* subspecies. Although result are quite informative, morphological characterization of natural plant species could be performed as a preliminary study and used complementary with other methods such as molecular marker techniques.

**Scientific code** : 203.1.104

**Keywords** : AFLP, genetic variation, *Isatis glauca* subspecies, subsp. *galatica*, subsp. *glauca*, subsp. *iconia*, subsp. *sivasica*, morphological variation

**Number of page** : 93

**Advisor** : Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerini destekleme birimi tarafından FEF03.11.001 numaralı Proje kapsamında desteklenmiştir. BAP birimine ve Rektörlük makamına teşekkür ederim.

Bu araştırma konusunun seçiminde ve yürütülmesinde tecrübeleri ve önerileri ile beni yönlendiren değerli danışmanım Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem ÖZBEK'e, bitkilerin toplanması ve teşhisinde bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan ikinci danışmanım Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Şinasi YILDIRIMLI'ya, AFLP çalışmaları sırasında laboratuvar imkânlarını sunan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hakan ÖZKAN'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Uzman Dr. Aykut YILMAZ'a, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik laboratuvarında çalışmalarım sırasında ilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Enver Ersoy ANDEDEN, Esra ÇAKIR, Muazzez DERYA ve Faheem BALOOCH'a, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşım Ayşegül İLİKER'e, desteklerinden ve yardımlarından dolayı bölüm arkadaşlarım Aslı KARA ve Betül GIDİK'a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleri ile hep yanımda olan aileme ve eşim Önder GÖRGÜLÜ'ye teşekkür ederim

Elçin GÖRGÜLÜ



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜR .....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
HARİTALAR DİZİNİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xvi
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem .....	21
3.2.1. Morfolojik karakterizasyon .....	21
3.2.2. Moleküler Analizler .....	23
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA .....	35
4.1. <i>Isatis glauca</i> Aucher ex Boiss. Alttürlerinin Teşhisi .....	35
4.2. Morfolojik Analiz Sonuçları .....	42
4.3. AFLP analizi Sonuçları .....	55
4. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	63
KAYNAKLAR.....	66
EKLER .....	73
EK-1 .....	74

**Sayfa**

EK-2 .....	76
EK-3 .....	78
EK-4 .....	83
EK-5 .....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	93

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. <i>I. glauca</i> subsp. <i>glauca</i> , subsp. <i>galatica</i> , subsp. <i>iconia</i> , subsp. <i>sivasica</i> alttürlerine ait genel bilgiler .....	4
Çizelge 3.1. <i>Isatis glauca</i> alt türlerine ait popülasyonların toplandıkları lokasyonların coğrafik bilgileri .....	19
Çizelge 3.2. <i>Isatis glauca</i> alt türlerine ait popülasyonların toplandıkları bölgelerin yıllık toplam ortalama meteorolojik verileri .....	21
Çizelge 3.3. <i>I. glauca</i> alttürlerini teşhis etmek ve morfolojik çeşitliliği tanımlamak için kullanılan morfolojik karakterler .....	22
Çizelge 3.4. Bu çalışmada kullanılan primer ve adaptörlerin dizileri .....	26
Çizelge 3.5. Önseçici çoğaltım döngü koşulları .....	28
Çizelge 3.6. Bu çalışmada kullanılan FAM ve VIC floresan boyalarla işaretli <i>EcoRI</i> ve işaretsiz <i>MseI</i> primer kombinasyonları .....	29
Çizelge 3.7. Seçici çoğaltım döngü koşulları .....	29
Çizelge 4.1. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunda bitki uzunluğu ve bitki başına düşen dal sayısı .....	42
Çizelge 4.2. Ortalama morfolojik değerler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki Pearson korelasyon katsayıları .....	44
Çizelge 4.3. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunda gövde bazal çap (GBÇ) ve gövde median çap (GMÇ) değerleri .....	45
Çizelge 4.4. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunda gövde apikal çap (GAÇ) ile meyve uzunluğu (MU) ilişkisi .....	47
Çizelge 4.5. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunda meyve genişliği (MG) ve meyve sap uzunluğu (MSU) ilişkisi .....	48
Çizelge 4.6. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunda morfolojik karakterler arasındaki ilişkiyi gösteren Pearson korelasyon analizi değerleri .....	50
Çizelge 4.7. <i>Isatis glauca</i> popülasyonlarının regresyon analizi .....	51
Çizelge 4.8. Morfolojik karakterlerin bilgisayar ölçümleri ile TBA tarafından elde edilen Eigen değeri , çeşitlilik (%) kümülatif (katlanmış) çeşitlilik (%) değerleri .....	52
Çizelge 4.9. Temel bileşenler faktörlerine değişkenlerin katkı oranları .....	52

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.10. Dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonunun yedi morfolojik karakterinden elde edilen benzemezlik matrisi ile hesaplanan TKA tarafından elde edilen Eigen değeri, çeşitlilik (%) ve kümülatif çeşitlilik (%) ..... 54	54
Çizelge 4.11. Örnek grupları düzeyinde genetik çeşitlilik verileri..... 56	56
Çizelge 4.12. Nei (1978)'e göre populasyonlar arasında hesaplanan genetik uzaklık değerleri ..... 57	57
Çizelge 4.13. Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan Pearson korelasyon katsayısı verileri ..... 59	59
Çizelge 4.14. Eko-coğrafik faktörlerin genetik verilerin varyasyonundaki etkilerinin regresyon analizi ile gösterilmesi ..... 59	59
Çizelge 4.15. TBA Eigen değerleri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon..... 60	60
Çizelge 4.16. Temel bileşenlere katkısı olan değişkenlerin matris değer tablosu .... 60	60
Çizelge 4.17. TKA faktörlerinin Eigen değeri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon (%) değerleri..... 62	62

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. <i>I. glauca</i> alttürlerinin genel görünümü.....	3
Şekil 1.2. <i>I. glauca</i> 'da farklı meyve şekilleri .....	5
Şekil 1.3. AFLP kesitlerinin oluşturulması .....	11
Şekil 4.1. Temel bileşenler analizine göre populasyonların uzaysal dağılımı .....	53
Şekil 4.2. Benzemezlik matrisine göre heaplanan TKA'ya göre popülasyonların F1 ve F2 eksenlerinde uzaysal dağılımı.....	53
Şekil 4.3. İç Anadolu bölgesinden toplanan dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonu arasındaki filogenetik ilişkiyi morfolojik verilerin benzemezlik matrisine göre oluşturularak gösteren dendrogram .....	55
Şekil 4.4. AFLP analizleri sonuçlarıyla Nei (1978)'nin genetik uzaklığına göre hesaplanarak UPGMA yöntemiyle oluşturulan ve dokuz <i>Isatis glauca</i> popülasyonu arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendrogram .....	58
Şekil 4.5. TBA'ya göre populasyonların uzaysal dağılım grafiği .....	61
Şekil 4.6. TKA'ya göre popülasyonların uzaysal dağılım grafiği .....	61

## RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. <i>Isatis glauca</i> subsp. <i>exauriculata</i> 'da kulakçiksız subsp. <i>glauca</i> 'da kulakçıklı yaprak görüntüsü .....	20
Resim 3.2. İzole edilip seyreltilmiş olan <i>I. glauca</i> DNA örneklerinin %0,8'lik agaroz jelde UV ışığı altındaki görüntüsü .....	25
Resim 3.3. %1,5'lik agaroz jelde koşan, kesme/birleştirme reaksiyonu ürünlerinin UV ışığı altındaki görüntüsü .....	27
Resim 3.4. E01 ve M01 primer kombinasyonları kullanılarak yapılan önseçici PCR ürünlerinin UV ışığı altındaki görüntüsü .....	28
Resim 3.5. Kapiller elektroforez işlemi sırasında <i>I. glauca</i> alttürlerinin dokuz popülasyonuna ait 67 örneğin seyreltilmiş seçici çoğaltım ürünlerinin haznelere yüklenmesi, denatüre edilmesi ve ABI cihazına yüklenmesi aşamaları .....	30
Resim 3.6. Standart AFLP yönteminde VIC Floresan boya ile işaretli E36-M35 primer kombinasyonu ile Sivas popülasyonuna ( <i>Isatis glauca</i> subsp. <i>sivasica</i> ) ait dört örneğin seçici PCR çoğaltımının kapiller elektroforezi sonucu oluşan bantların piklerine ait elektroforegram .....	31
Resim 4.1. 2010 ve 2011 yıllarında Ankara/Ayaş lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	35
Resim 4.2. 2011 yılında Ankara/Polatlı lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	36
Resim 4.3. 2010 ve 2011 yıllarında Ankara/Gölbaşı lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	37
Resim 4.4. 2011 yılında Ankara/Beytepe lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	38
Resim 4.5. 2011 yılında Ankara/İncek lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	38
Resim 4.6. 2010 ve 2011 yılında Konya lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	39
Resim 4.7. 2011 yılında Eskişehir lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	40
Resim 4.8. 2010 ve 2011 yıllarında Sivas lokasyonundan toplanan <i>Isatis glauca</i> örnekleri .....	41

**HARİTALAR DİZİNİ**

<b>Harita</b>	<b>Sayfa</b>
Harita 1.1. <i>Isatis glauca</i> alttürlerinin Türkiye'deki genel dağılımı .....	2
Harita 3.1. İç Anadolu Bölgesindeki <i>I. glauca</i> alttürlerine ait dokuz popülasyonun toplandığı lokasyonlar.....	18

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur:

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$A$	Her bir lokustaki ortalama alel sayısı
$A_p$	Her bir polimorfik lokustaki ortalama alel sayısı
$D$	Jost'a göre genetik farklılaşmayı ifade eden sembol
$F_{STn}$	Wright'a göre genetik farklılaşmayı ifade eden sembol
$G_{ST}$	Nei'ye göre genetik farklılaşmayı ifade eden sembol
$H_e$	Genetik çeşitlilik
ng	Nanogram
$P$	Tüm lokuslardaki polimorfik lokus oranı
pmol	Pikamol
$r$	Korelasyon katsayısı
rho	Spearman korelasyon katsayısı
$r_p$	Pearson korelasyon katsayısı
$\sigma_G$	Popülasyon içi varyasyon değerleri
$\sigma_P$	Popülasyonlar arası varyasyon değerleri
$\Theta_P$	Popülasyonlar arası genetik farklılaşma
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi
ALP	Amplikon Uzunluğu Polimorfizmi
AP-PCR	Rastgele Primerlenmiş PCR
BAÇ	Bitki Apikal Çap
BBÇ	Bitki Bazal Çap
BD	Bağımlı Değişken



<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
BMÇ	Bitki Median Çap
BO	Boylam
BZD	Bağımsız Değişken
BU	Bitki Uzunluğu
ÇR	Çoklu Regresyon
DAF	Çoğaltılmış DNA Parmak İzi
DS	Dal Sayısı
EN	Enlem
<i>GU</i>	Genetik Uzaklık
ISA	Basit Dizi Tekrarı Çoğaltımı
L	Lokasyon
LO	Lokulus
MAD	Meyve Apikal Durum
MAŞ	Meyve Apeks Şekli
MBŞ	Meyve Bazal Şekli
MG	Meyve Genişliği
MR	Meyve Rengi
MSU	Meyve Sap Uzunluğu
MŞ	Meyve Şekli
MU	Meyve Uzunluğu
NM	Nispi Nem
O	Ondüllenme
Ort	Ortalama
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PK	Populasyon Kodu
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi
SAMPL	Seçimli Çoğaltılmış Mikrosatelit Polimorfik lokus
SI	Sıcaklık
SN	Sıra Numarası

**Kısaltmalar****Açıklama**

SNP

Tek Nükleotit Polimorfizmi

SS

Standart Sapma

SSR

Basit Dizi Tekrarları

TBA

Temel Bileşenler Analizi

TKA

Temel Koordinantlar Analizi

UPGMA

Ortalama Ağırlıksız Çiftli-Gruplama

VK

Varyasyon katsayısı

YA

Yağış

YÜ

Yükseklik

## 1. GİRİŞ

Doğal mavi boya maddesi olan indigonun üretiminde kullanılan *Isatis* L. (çivitotu) bitkisinin tarihi Avrupa'da Romalılar'a kadar dayanmaktadır. *Isatis tintoria* L. İtalya'ya Romalılar tarafından getirilmiş ve buradan da Avrupa'nın diğer kısımlarına yayılmış olan bir bitkidir (Spataro ve Negri, 2008). Linne, Bauhinia, Tourne ve Fort gibi araştırmacılar eserlerinde *I. tinctoria*'dan bahsetmişlerdir (Bonnier, 1911; Hegi, 1917). Hatta Anadolu'lu ünlü bilgin Discorides ilk kez *Isatis* adını kullanmıştır. Linne "*Species Plantarum*" adlı eserinde Türkiye'de *Isatis* cinsine ait olduğu bilinen *I. tinctoria*, *I. lusitanica*, *I. armena* ve *I. aegyptica* L. türlerinin varlığından söz etmiştir. Linne'den sonra *Isatis* cinsi üzerine yapılan çalışmalarla tür sayısı ve çeşitliliğinde değişiklikler olmuştur. Çünkü *Isatis* cinsi sistematığı oldukça karmaşık ve problemlili olan bir bitki grubudur. Bu nedenle de sistematik konusunda çalışmalar devam etmektedir (Yıldırım, 1988).

Türkiye'de yaygın olarak görülen türlerden birisi de çoğunlukla İç Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *Isatis glauca* Aucher ex Boiss. Yıldırım (1988)'ya göre dört alttür ile temsil edilmektedir. Bunlar *I. glauca* subsp. *glauca*, subsp. *galatica* Yıldırım, subsp. *iconia* (Boiss. et Heldr.) Davis, subsp. *sivasica* (Davis) Yıldırım. Yıldırım (1988) Batı, İç ve Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki *Isatis* türlerinin revizyonunda *I. glauca* ssp. *galatica* alttürünü Nallıhan'dan keşfederek bilim dünyasına tanıttı; subsp. *sivasica* türünü *I. glauca* türüne alttür olarak bağladı; *I. glauca*'nın bir alttürü olarak belirtilen subsp. *exauriculata* (Bornm.) Davis'yı (Davis, 1965) subsp. *glauca*'nın sinonimi yaptı. Ancak bu alttürler arasında geçiş formları mevcut olup polimorfizm oranı çok yüksektir. *I. glauca* türünün özellikle ilk dağılıma merkezi olduğu tahmin edilen Ankara çevresinde, oldukça yüksek morfolojik çeşitlilik gözlenmektedir. Dolayısıyla bu türün alttürlerinin morfolojik olarak tam bir taksonomik sınıflandırmasını yapmak zordur.

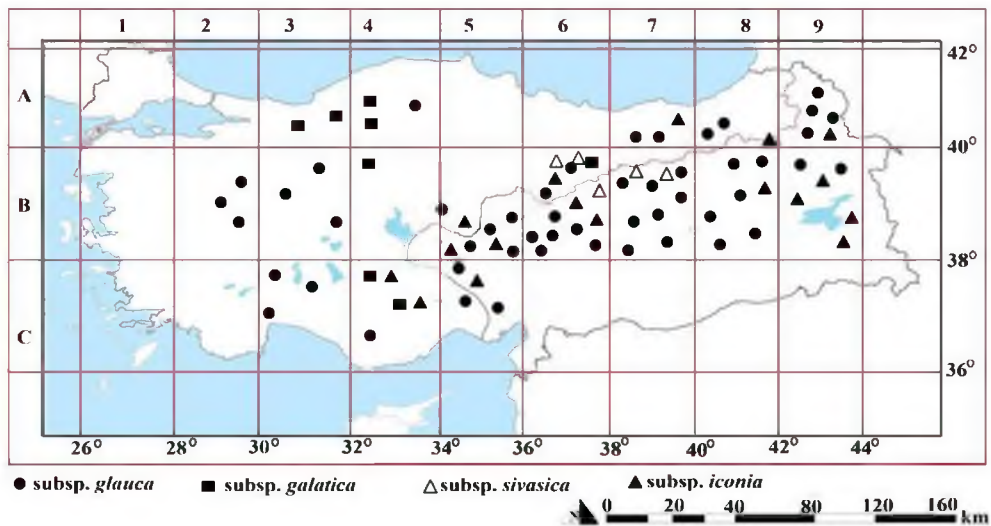
*Isatis* cinsi (*Brassicaceae/Cruciferae*) tek, iki veya çok yıllık otsu bir bitkidir. Habitat olarak bozkır ve nadaslı araziler, yol ve tarla kıyıları gibi alanları tercih eder. Buğdaygillerin (*Poaceae*), özellikle buğday, arpa, çavdar gibi ekili tarlalarının içinde

de yetişir. Türkiye’de 0-3100 m yükseklikte *Isatis* türlerine rastlanabilir. *I. glauca* alttürlerinin Türkiye’deki genel dağılımı Harita 1.1’de verildi.

İlk kez Boissier (1867) “*Flora orientalis*” adlı eserinde Anadolu’daki *Isatis* türleri hakkında ayrıntılı bilgi vermiştir. Sözü ettiği 28 türden 15’i Türkiye’denir ve tüm bu türleri *Samerarioides*, *Isatis* ve *Apterolobus* seksiyonları altında toplamıştır (Yıldırım, 1988).

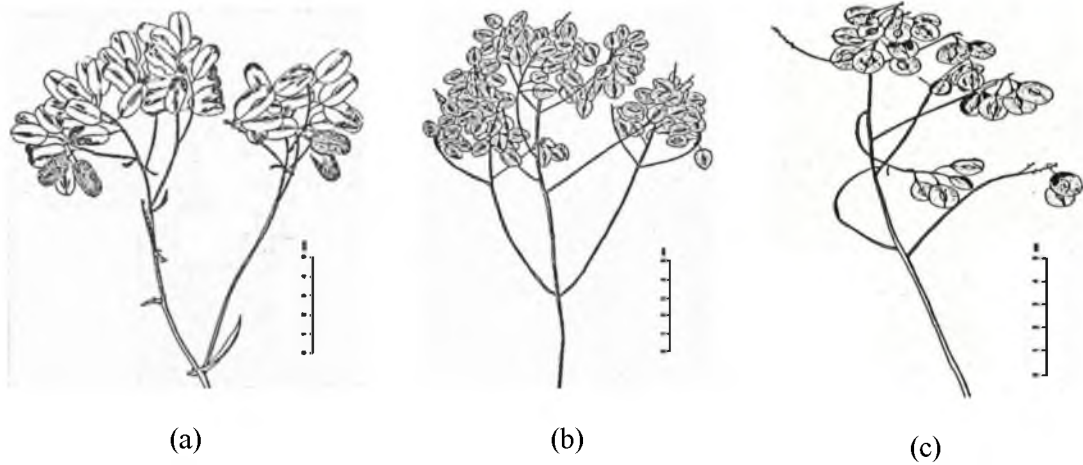
Linne’den beri 1975 yılına kadar 164 *Isatis* türü tanımlanmıştır. Daha sonra bu türlerin bir kısmı başka bir türün sinonimi olmuş veya kombinasyon ve/veya statüsü değiştirilmiştir (Yıldırım, 1988). Günümüzde *Isatis* cinsi dünyada 79 tür ile temsil edilmektedir (Al-Shehbaz ve ark., 2006).

Türkiye’deki familyalar arasında dördüncü sırada olan *Brassicaceae* 88 cins ve 575 tür, bir doğallaşmış tür, 52 alttür, 25 varyete olmak üzere 653 takson içermektedir. Bunlardan 86 cins, 565 tür doğal, 2 cins, 10 tür yetiştirme, 1 tür doğallaşmıştır. Doğal türlere göre endemizm oranı %43,5’tir (246 endemik tür, 8 endemik alttür, 7 endemik varyete). *Brassicaceae* familyasının en büyük 5. cinsi olan *Isatis* 32 tür, 11 alttür, 21 endemik tür ve 3 endemik alttür ile temsil edilir (Yıldırım, 2001).



**Harita 1.1.** *Isatis glauca* alttürlerinin Türkiye’deki genel dağılımı. Haritada çapraz çizginin sağ tarafında gösterilen alttürler Mısırdalı (1985) tarafından, çizginin sol tarafındaki alttürler Yıldırım (1988) tarafından incelenen alttürlerdir.

*Isatis glauca* Aucher ex Boiss. in Ann. Sci. Nat., 17: 201 (1842) (Şekil 1.1) iki, çok yıllık otsu. Gövde 45-140 cm, enine kesitinde köşeli ya da çembersi, yeşil, morumsu, tüylü ya da tüysüz, *bazen* alt kısım tüylü, üst kısım tüysüz. Yapraklar derimsi, kalın, yeşil-sarımsı, düz kıyılı, nadiren aralıklı dişli, genellikle tüysüz ya da tüylü özellikle orta damar ve kıyısı, bazen asimetrik; dip yapraklar 7-38 x 0,8-6 cm, saplı, oblanseyolat; orta gövde yaprakları 4-25 x 0,5-4 cm, lanseyolat, oblanseyolat, eliptik, genellikle tüysüz ya da tüylü özellikle orta damar ve kıyısı, sapsız, 0-10 mm ve sivri ya da küt kulakçıklı ya da kulakçiksiz, meyve olgunlaştığında dip yapraklar ve gövde yaprakları dökülür. Salkım çiçeklenme durumu. Çiçekler y. 3-4 mm, sarı, tüysüz. Sepal ve petal sırasıyla 1,5-3 mm ve 2,5-4 mm'dir. Alttürler arasında iklim koşullarından dolayı çiçeklenme ve meyve verme dönemleri bakımından farklılık görülür. Meyve 8-32 x 4-12 mm, çembersi, üçgensel, obovat, oblong-obovat, kordat, geniş ovat, eliptik, tüylü ya da tüysüz, sarımsı ya da morumsu karışık; göbek (lokulus) ince, zarsı, şişkin, yuvarlak veya eliptik, kanat ince, ağsı (Yıldırım, 1988). *I. glauca* subsp. *glauca*, subsp. *galatica*, subsp. *iconia*, subsp. *sivasica* alttürlerine ait genel bilgiler Çizelge 1.1'de verildi.

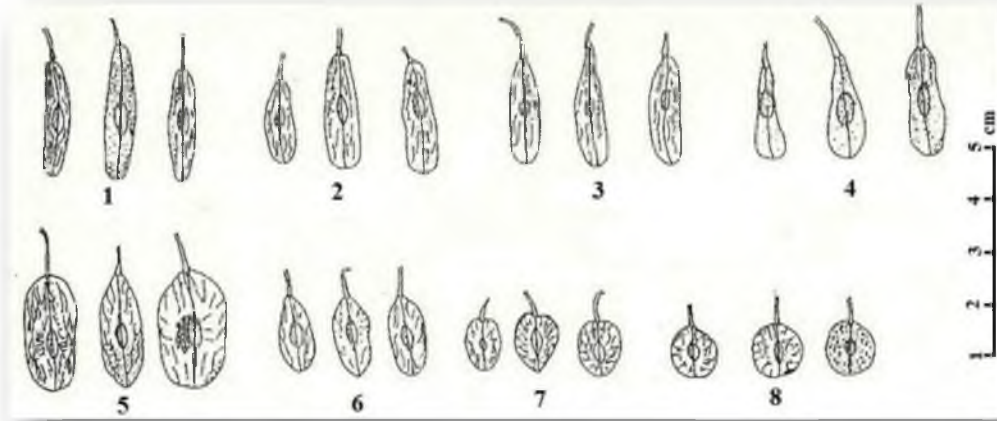


**Şekil 1.1.** *I. glauca* alttürlerinin genel görünümü (a) *I. glauca* subsp. *galatica*, (b) subsp. *sivasica* (c) subsp. *iconia* (Yıldırım, 1988)

**Çizelge 1.1.** *I. glauca* subsp. *glauca*, subsp. *galatica*, subsp. *iconia*, subsp. *sivasica* alttürlerine ait genel bilgiler: sinonim/varyete, çiçeklenme zamanı, meyve verme zamanı, yükseklik, kromozom sayısı, lokasyon, endemizm ve lokal adlar (Yıldırım, 1988).

	<i>I. glauca</i> subsp. <i>glauca</i>	<i>I. glauca</i> subsp. <i>galatica</i>	<i>I. glauca</i> subsp. <i>sivasica</i>	<i>I. glauca</i> subsp. <i>iconia</i>
Sinonim/varyete	<i>I. collina</i> Boiss. <i>I. glauca</i> var. <i>collina</i> Boiss. <i>I. lanceolata</i> Stapf <i>I. grossheimi</i> N.Busch <i>I. exauriculata</i> Bornm. <i>I. glauca</i> ssp. <i>exauriculata</i> (Bornm.) Davis			
Çiçeklenme zamanı	<i>I. sevangensis</i> N. Busch Haziran-Temmuz	Mayıs-Haziran	Haziran	Haziran
Meyve zamanı	Temmuz-Ağustos	Haziran-Temmuz	Temmuz	Temmuz
Yükseklik	850-1.600 m	550-1.350 m	1.200-1.550 m	100-1.500 m
Kromozom sayısı	2n= 28	2n= 28	2n= 28	2n= 28
Lokasyonlar	Afyon, Ankara, Antalya, Burdur, Denizli, Erzurum, Eskişehir, Çankırı, Gümüşhane, Isparta, Kırşehir, Konya, Kütahya, Sivas, Niğde/İçel Bolkar Dağları	Ankara, Sivas, Konya	Sivas, İç Anadolu	Gümüşhane, Sivas, Nevşehir, Konya
Endemizm	İç Anadolu endemik	İç Anadolu endemik	Sivas endemik	Endemik
Lokal adlar	Gıvşak, Yılangelmez, Soğukot, Galdirek, Çatlağan Otu, Gerdirmek			

*Isatis* türlerinde olduğu gibi *I. glauca* alttürlerinin de teşhisinde en önemli ayırıcı karakter meyvedir. Bununla birlikte meyveler aynı türün bireyleri arasında bile çok fazla değişkenlik göstermektedir. Bunun nedeninin dimorfizm ve polimorfizm olduğu düşünülmektedir. Olgunlaşmamış meyvelerde gelişmenin ne yönde olacağını tam olarak anlamak zordur. Bu yüzden tür teşhisi için olgun meyveye ihtiyaç duyulmaktadır. Meyve biçimi daireselden lineere kadar değişir (Şekil 1.2). Meyvenin taban ve tepe kısımları da değişkenlik gösterir. Tüylü veya tüysüz meyvelere sahip olan *I. glauca*'da dimorfizm nedeni ile aynı türün bireyleri arasında hem tüylü hem tüysüz formlara rastlanabilir. Göbek meyvenin ortasında, üst kısmında veya altında yer alabilir (Yıldırım, 1988).



**Şekil 1.2.** *I. glauca*'da farklı meyve şekilleri: (1-4) subsp. *glauca*, (5-6) subsp. *galatica*, (7) subsp. *sivasica*, (8) subsp. *iconia* (Yıldırım, 1988)

Alt türleri tanımlamak için kullanılan karakterler bitkiler arasında korelasyon göstermemektedir. Dolayısıyla gövde rengi, kulakçık uzunluğu, bitki boyu ve meyve ağırlığı gibi karakterler farklı genlerin kontrolü altındadır (Yıldırım, 1988).

Türkiye'de *Isatis* türlerinin kromozom sayısı bakımından değerlendirilmesi ilk kez Mısırdalı (1985) tarafından yapılmıştır. Birçok yabancı araştırmacı da *Isatis* türlerinin kromozom sayılarını belirlemiştir. Sonuç olarak bu güne kadar çalışılmış olan *Isatis* türlerinin kromozom sayısı ( $2n=28$ ) olarak bildirilmiştir (Yıldırım, 1988).

*Isatis* cinsinin sınıflandırılmasında bu güne kadar Boissier tarafından ileri sürülen seksiyonal sınıflandırma kullanılmıştır. Bu sınıflandırmada meyve kanadının

lokulusa göre eni ve dokusu temel alınmıştır. Bu sınıflandırma doğal değildir ancak teşhiste kolaylık sağlar. Örneğin subsp. *glauca*, *Isatis* seksiyonuna dahil edilirken subsp. *iconia* ve subsp. *galatica*, *Samerarioides* seksiyonuna dahil edilir (Yıldırım, 1988).

“Sinopsis (Yıldırım, 1988) Batı, İç ve Kuzeydoğu Anadolu için

1. *I. cappadocica* Desv.
  - a. subsp. *cappadocica*
  - b. subsp. *alyssifolia* (Boiss.) Davis
  - c. subsp. *subradiata* (Rupr.) Davis
  - d. subsp. *gudrunensis* (Boiss.) Yıldırım
  - e. subsp. *macrocarpa* (Jaub. et Spach) Davis
2. *I. frigida* Boiss. et Kotschy
3. *I. kozlowskyi* Grossh.
4. *I. takhtajanii* Avetisian
5. *I. steveniana* Trautv.
6. *I. nummularia* Trautv.
7. *I. pinatiloba* Davis
8. *I. candolleana* Boiss.
9. *I. glauca* Aucher ex Boiss.
  - a. subsp. *glauca*
  - b. subsp. *galatica* Yıldırım
  - c. subsp. *sivasica* (Davis) Yıldırım
  - d. subsp. *iconia* (Boiss.) Davis
10. *I. ermenekensis* Yıldırım
11. *I. tinctoria* L. s.l.
12. *I. buschiana* Schischkin
13. *I. floribunda* Boiss. ex Bornm.
14. *I. kotschyana* Boiss. et Hohen.”

*Isatis* cinsi dünyada doğal boyamacılıkta mavi renk eldesinde kullanılması ile ünlüdür. *Isatis* cinsine ait türler içinde yapılan fitokimyasal çalışmalar genelde *I. tinctoria* türüne aittir (Yıldırım, 1988). *Isatis* türleri yapraklarında indoksil formunda indigo öncülü olan üç madde ihtiva eder: indikan, isatan A, isatan B (Oberthür ve ark., 2004; Gilbert ve Cooke 2001). Bunlar havayla temas ettikleri zaman mavi renge dönüşürler (Epstein ve ark., 1967). Mavi renk doğal boyamacılıkta kullanılan nadir renklerden biridir (Kızıl, 2000). *I. tinctoria* boyacılık tarihinde önemli bir yere sahiptir (Spataro ve Negri, 2008). Eskiden geniş çaplı üretimde kullanılmamasına rağmen *I. glauca* da indigo eldesi için kullanılabilir ve ticari olarak yararlanılabilir (Gilbert ve ark., 2002).



Çivitotu boyama pigmenti için yetiştirilen ilk bitkilerden biri olup tarih öncesi çağlardan beri en önemli mavi boyarmadde kaynağıdır. Eski Mısır'da asalet simgesi olarak kabul edilen mavi renk imparator elbiselerinin boyanmasında kullanılmıştır (Kızıl, 2000). Çivitotu, Sümerler döneminde ZA-GİN-GA olarak isimlendirilirdi. Mezopotamya'da mavi ile boyanmış yünler ve elbiseler oldukça popülerdi. Qalporun'da gümüş, altın, kalay, at, inek, koyun, keten ve mavi yün vergi olarak listelenen mallar arasında idi. (Martin, 1959; Kızıl, 2000).

Çivitotu İtalya ve pek çok Avrupa şehrinde tedavi amaçlı olarak da kullanıldı. Fransa'nın Toulouse şehri ve Almanya'nın Erfurt şehirleri üretiminin ve ticaretinin yapıldığı en önemli iki şehirdi (Gilbert ve Cooke, 2001).

Birçok Avrupa ülkesinde ortaçağdan 17. yy'a kadar geniş ölçüde çivitotu tarımı yapılmıştır (Brunello, 1973; Kızıl ve Arslan, 2001). Bu durum 1600'lü yıllarda Hindistan'dan indigonun getirilmesine kadar devam etmiştir. İndigo da, 1878 yılından sonra yerini sentetik indigoya devretmiştir. Günümüzde doğal boyalar ve doğal ürünlere dönüş yeniden popüler hale gelmiştir, bu nedenle halen dünya genelinde az da olsa tarımı yapılmaktadır (Dölen, 1992; Kızıl ve Arslan, 2001).

Türklerin tarihinde boyacılık çok eski ve köklü bir uygulamadır. Birçok el sanatı ürün bitkilerden temin edilen boylarla renklendirildi (Harmancıoğlu, 1951; Kızıl, 2000). Boyamacılık geleneği doğudan getirilen bilgilerle, Anadolu'da bulunan ve İsa'dan önceki yüzyıllara dayanan bilgilerin sentezinden oluşmuştur (Enez, 1987; Kızıl, 2000). Sentetik boyaların ülkemize girmesi 1882'den itibaren başlar (Harmancıoğlu, 1951; Kızıl, 2000).

Sentetik boyar maddelerinin doğal boyalara tercih edilmesinin nedeni kullanım kolaylığı, standart renk kalitesi ve düşük maliyet iken, bitkisel boyar maddelerin çoğunun haslığı (yıkama ve güneş ışığına dayanıklılığı) çok daha yüksek olup ürünleri daha değerli ve uzun ömürlüdür (Akar, 2006).

Sentetik boyaların çoğu benzen ve benzen türevi olan aromatik hidrokarbonlardır. Bu bileşikler kanserojendir ve fazla miktarları canlıda ve çevrede birikim yapmaktadır.

Bu nedenle insan sağlığı ve ekolojik evre açısından tehlike oluşturmaktadır (Paksoy, 1983: Kızıl 200).

*I. tinctoria*, yapraklarında (Galletti ve ark., 2006; Oberthür ve ark., 2005; Hamburger, 2002), köklerinde (Chen ve ark., 2002) ve tohumlarında (Fré Chad ve ark., 2001) indol türevleri (glukozinolat) ihtiva etmesinden dolayı, anti-inflamatuar ve anti-tumoral özelliklere sahiptir. Ayrıca tohumlarında yumuşatıcı ve nemlendirici özellikleri olan esansiyel yağlar içerir. Bu özelliklerinden dolayı sabun ve vücut kremi gibi kozmetiklerin yapımında kullanılırlar (Spataro ve Negri, 2008).

Günümüzde ilaç, gıda ve kozmetik hammaddelerinin hazırlanmasında sentetik boya bileşiklerinin yerine doğal kaynaklardan elde edilen bileşikler kullanılmaya başlanmıştır. Sentetik maddelerin insan sağlığı için zararlı olmaları, kumaşların doğrudan cilde teması sonucunda alerjiye neden olmalarının yanısıra, suda paralanmamaları, atık suların çevreyi kirletmeleri ve kullanılan maddeleri depolama güçlükleri gibi evre için zararlı etkilerinin olması bu yönelmenin en önemli nedenlerindedir. Artık dünya çapında ciddi olarak bu sorun üzerinde durulmaya başlanmıştır (Kırıcı, 1998: Akar, 2006).

Ülkemizde endüstriyel amaçlı boya bitkileri yetiştiriciliğinin artması ülke ekonomisi bakımından çok önemlidir. Sentetik boyaların zararları dikkate alındığında özellikle gıda, tekstil, sanayi, kozmetik, yöresel halı ve kilim dokumacılığında doğal boyarmaddelerin kullanımı faydalı olacaktır (Akar, 2006). Ekolojik ve ekonomik olarak doğru ve uygun yetiştiricilik yöntemleri, etkin ve düşük maliyetle boya elde etme metotları geliştirilmelidir (Kızıl ve Arslan, 2001). Uğur (1988), Özellikle halılarımızın doğal boyalar kullanılarak imal edilmesinin sanat değerlerinin artmasını sağlayacağını böylece bu halıların dış ülkelere ihracını arttırıp sentetik boya ithalatını azaltarak ülke ekonomisine katkısının sağlanacağını bildirmiştir (Kızıl, 2000).

Son yıllarda yapılan çalışmalar indigo üretim kapasitesinin bitkiden bitkiye büyük ölçüde değiştiğini göstermiştir. Farklı popülasyonlar farklı fenotipik özelliğe sahiptir ve dolayısıyla içerdikleri indigo öncülü miktarları da farklıdır (Hill, 1992; Stoker ve ark., 1998). Genetik düzeyde popülasyon içi ve popülasyonlar arası çeşitliliğin

karakterizasyonu için DNA parmak izi teknikleri kullanılabilir (Spataro ve Negri, 2008).

Son yıllarda çok çeşitli DNA parmak izi teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerin çoğunda özgül DNA kesitlerinin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanır. Bunlar Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD: Randomly Amplified Polimorphic DNA; Williams ve ark., 1990), Rastgele Primerlenmiş PCR (AP-PCR: Arbitrary Primed PCR; Welsh ve McClelland, 1990), Çoğaltılmış DNA Parmak İzi (DAF: DNA Amplification Fingerprinting; Caetano-Anolles ve ark., 1991) ve Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP: Amplified Fragment Length Polimorphism; Zabeau ve Vos 1993; Vos ve ark., 1995) analizleridir. AFLP çok sayıdaki lokusta polimorfizmi algılama kapasitesine sahiptir (Clerc ve ark., 1998; Barker ve ark., 1999; Garcia-Mas ve ark., 2000).

İdeal bir DNA markörü yüksek düzeyde polimorfik olmalı, kodominant kalıtım göstermeli (diploit organizmalarda homozigot ve heterozigot durumları tespit edebilmek için), genomda sıklıkla bulunmalı, seçici nötr davranışları olmalı (Organizmanın DNA sekansının çevre koşullarından veya düzenleme etkinliklerinden etkilenmemesi için), kolay elde edilebilir ve hızlı analiz edilebilir olmalı, yüksek düzeyde tekrarlanabilir sonuçlar vermeli, laboratuvarlar arasında kolay veri aktarımı yapılabilmesi. Tüm bu özellikleri taşıyan bir markör bulmak zor olsa da yapılacak çalışmanın türüne göre bu özelliklerden birkaç tanesini taşıyan bir markör seçilerek verimli sonuçlar alınabilir (Özbek, 2006).

Moleküler markörler (Özbek, 2006):

1. Melezlemeye bağlı markörler: Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) ve oligonükleotit parmak izi.
2. PCR'a dayalı DNA markörleri: RAPD, Basit Dizi Tekrarları (SSR: Simple Sequence Repeats) veya Mikrosatellitler, İşaretli-Dizi Bölgeleri (STS: Sequence-Tagged Sites), AFLP, Basit Diziler Arasındaki Tekrar Bölgeleri Çoğaltımı (ISA: Inter-Simple Sequence Repeat Amplification), Kesilerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler (CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic

Sequences), Amplikon Uzunluğu Polimorfizmi (ALP: Amplicon Length Polymorphism).

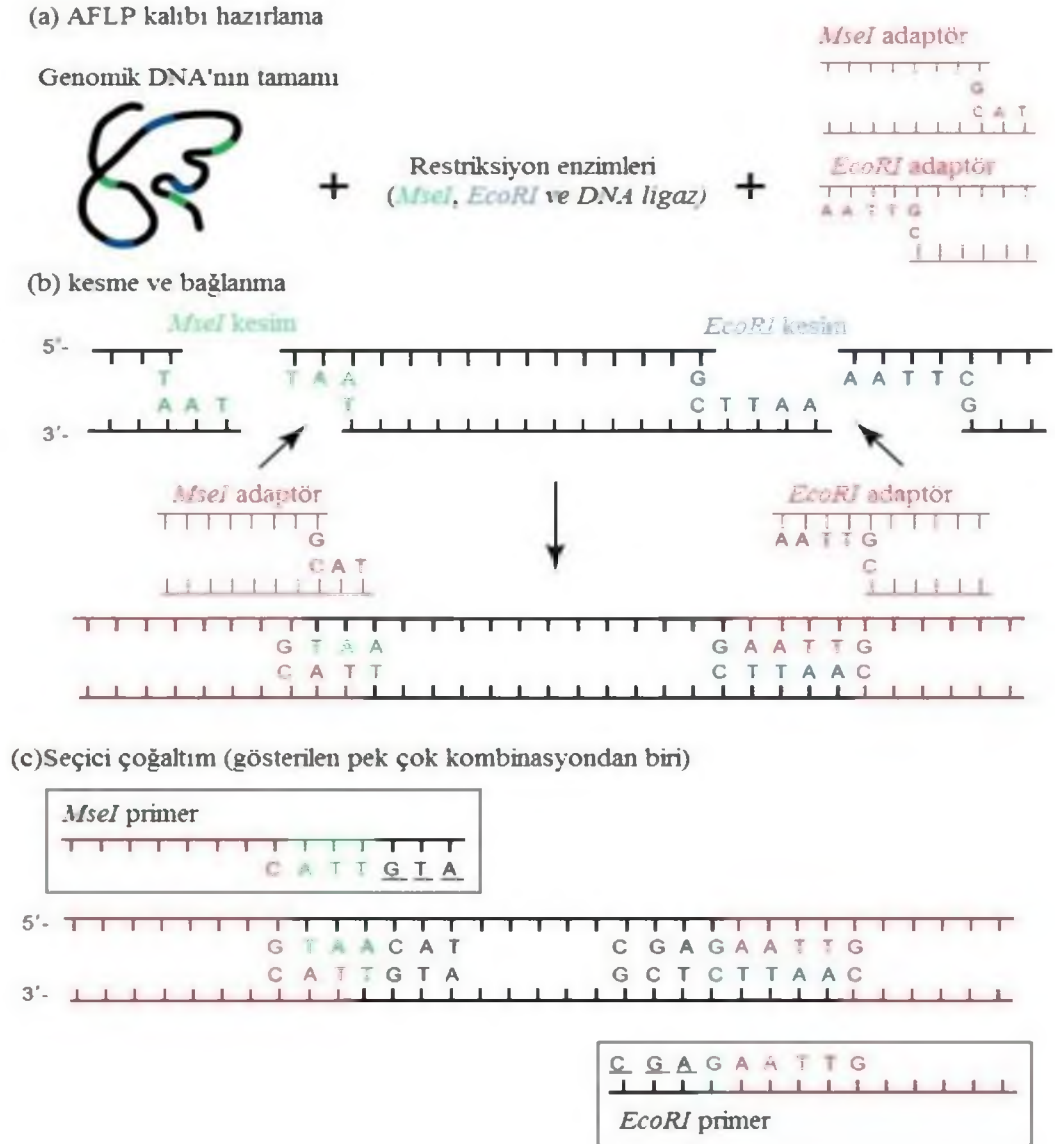
3. DNA yonga (çip) ve dizilemeye bağlı DNA markörleri: Tek Nükleotit Polimorfizmi (SNP: Single Nucleotide Polymorphisms).

AFLP tekniği kökenine ve karmaşıklığına bakılmaksızın (Vos ve ark., 1995) herhangi bir DNA'dan parmak izi üretebilecek hem güçlü hem tekrarlanabilir bir tekniktir (Erschadi ve ark., 2000). AFLP analizleri önceden bilinen dizilere ihtiyaç duymaz. Bununla birlikte RAPD'le tespit edilen lokuslardan 10 kat daha fazla lokus tespit edebilir (Karp ve ark., 1996; Maughan ve ark., 1996). AFLP analizleri çok sayıda lokusu tespit edebildiği ve tek bir tahlilde genomun büyük bir oranını etkin bir şekilde taradığı ve tekrar edilebilir olduğu için (Karp ve Edwards., 1997) tercih edilen bir tekniktir (Gilbert ve ark., 2002).

AFLP markörleri olarak çözülmüş olan DNA kullanılabilir fakat iyice saflaştırılmış olmalı ve PCR inhibitörü içermemelidir. AFLP markörlerinin oluşturulmasını gösteren diagram Şekil 1.3'de verildi: DNA'nın oldukça küçük miktarları (50 ng) iki enzim (nadir noktalardan kesen) tarafından kesilir (a) ve sonlanma bölgelerine AFLP adaptörleri bağlanır (b). Adaptör bağlanması işlemi herhangi iki DNA kesiti arasındaki bağlantıyı çabucak kesen restriksiyon enzimlerinin varlığında gerçekleşir. Adaptörler kesite bağlandıktan sonra tekrar enzimin tanıyıp kesim yaptığı bir dizi bölgesi oluşturmayacak şekilde tasarlanır. Her adapte kesitin adaptör dizilerinden oluşan sonlanma dizileri kırmızı ve kesim dizilerinin geriye kalan bölümü mavi ve yeşille gösterilmiştir. Bu bilinen sonlanma dizileri AFLP-PCR için başlangıç bölgesi oluşturur (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999).

Seçici çoğaltımda genom boyutuna bağlı olarak kesme bağlanma işlemi ile binlerce kesit üretilir. Elektroforez işlemi yapıldıktan sonra görüntüleme işlemi için bu kesitlerin sadece bir kısmı çoğaltılır. Bu kesitlerin bir kısmının seçici çoğaltımını yapabilmek için primerler kesitlerin bilinmeyen kısmına doğru uzatılır (altı çizili baz çiftleri), genellikle kesim bölgesinin ilerisinde rastgele bir, iki ya da üç baz çifti seçilir. Bu bazlardaki primerlerin bir, iki veya üç baz şeklinde uzaması çoğaltılmış kesit sayısını sırasıyla 4, 16 ve 64'ün katsayıları şeklinde azaltır. Hata oranını en aza

indirmek için çoğu protokolda iki çoğaltım işlemi yapılır. İlki bir baz çifti uzantısı ile gerçekleştirilir bunu birden üçe kadar baz çifti uzaması sağlayan daha seçici primerler takip eder gösterilmiştir. Bu bilinen sonlanma dizileri AFLP-PCR için başlangıç bölgesi oluşturur (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999).



**Şekil 1.3.** AFLP kesitlerinin oluşturulması (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999).

Yüksek seçiciliği nedeniyle, AFLP uzamasında farklı primerler kesitlerin bir kısmını çoğaltır. İdeal uzama uzunluğu genom büyüklüğü ile değişir ve çok sayıda ürün

(bant) oluşturup smeara (çözünme) neden olmayacak şekilde optimum sayıda bant çoğalması ile veya elektroforezde yüksek düzeyde birlikte hareket eden bantla sonuçlanır, fakat uygun ve yeterli bilgiyi sağlar. Farklı uzantılı primer kombinasyonlarını kullanarak bir seri AFLP çoğaltımı genomun belli bir kısmını temsili olarak görüntüleyebilir (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999).

AFLP'ler dominant, çok lokuslu işaretleyicilerdir ve var ya da yok şeklinde skorlanır. Hatalı bir çoğaltım ya da bir fragmentin çoğaltılamaması AFLP'nin güvenilirliğini azaltır. Hatadan dolayı bir bandın varlığı veya yokluğu muhtemelen kesme/birleştirme basamağından kaynaklanır. Bu basamak kesilmemiş kesitlerin daha sonra çoğaltılmasını önlemek için tam bir kesme işleminin güvencesi olarak çok önemlidir. Tam bir kesme işlemi yüksek kaliteli DNA ve fazla miktarda restriksiyon enzimi ile başarılıdır. DNA metilasyonuna karşı hassas olan enzimler tam olmayan kesme işlemine neden olabilir. PCR hataları yüksek bağlanma sıcaklığı kullanılarak uzun AFLP primerlerinin bağlanmasına olanak sağlar. Yüksek sıcaklık primerlerin mükemmel bir şekilde doğru eşleşmesini güvence altına alır ve hatalı çoğaltımı önler. Deneysel olarak, örneklerin duplike testinin AFLP skorlarının analizi ortalama %0-2 oranında hatayı açıklar (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999).

AFLP-PCR ürünleri değişik teknikler ile ayrıştırılıp skorlanabilir. Bunlar basit agaroz jel elektroforezinden otomatik genotiplemeye değişen aralıklardadır. Poliakrilamid jel elektroforez (el ile veya otomatik dizileme ile) tekniğinde AFLP bantlarının tek nükleotit uzunluğu uzunluk polimorfizminde maksimum düzeyde AFLP bant modelinin çözülümünü sağlarken kesit uzunluğu 10 nükleotitten az olan kesitleri agaroz jelde skorlamak zordur. Agaroz jeller en düşük düzeyde çözülme sağlamasına rağmen, kullanışlı, ucuz ve en az ekipmanı gerektiren yöntemdir (Jones ve ark., 1997; Arens ve ark., 1998; Winfield ve ark., 1998; Mueller ve Wolfenbarger, 1999). Separasyon tekniklerinde yeni bir girişim olan kapiller elektroforez tekniği ise duyarlılığı, test materyalinin düşüklüğü, otomasyona uygunluğu ve test çeşitliliği gibi avantajlara sahip olması nedeniyle kullanıcılar tarafından tercih edilebilecek bir tekniktir (Anonim, 2006).

Bu çalışmanın amacı AFLP tekniği kullanılarak İç Anadolu Bölgesi'nde yayılış gösteren *Isatis glauca* türüne ait dört alttür (*Isatis glauca* subsp. *glauca*, subsp. *iconia*, subsp. *galatica*, subsp. *sivasica*) arasında genetik çeşitliliğin ve popülasyonların genetik yapısının karakterizasyonunun yapılmasıdır. Çalışmada bu alttürleri temsil eden dokuz popülasyon, moleküler yöntemlerle genetik çeşitliliğinin karakterizasyonunun yanı sıra morfolojik özelliklerinin varyasyonu bakımından da analiz edildiler.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Mısırdalı (1985), floristik-sistemik yayınlar ile 1982 ve 1984 yılları içinde topladığı ve çeşitli herbaryumlarda inceleme olanağı bulduğu tüm *Isatis* örneklerine dayanarak Türkiye sınırları içerisinde Doğu, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgelerinde bu cinse ait birçok tür tespit etti. Ayrıca *I. cappadocica*, *I. arenaria* Azn., *I. tinctoria*, *I. lusitanica* L., *I. boissieriana* ve *I. jacutensis* N. Busch'in kromozom sayıları üzerinde çalıştı ve bu cinslerin kromozom sayılarını  $2n= 28$  olarak buldu.

Yıldırım (1989), 1983-85 yıllarında Batı ve Orta Anadolu'daki *Isatis* türlerinin revizyonunu yaptığı çalışmasında bu cinsin 6 türüne ait 12 farklı yerel ad rapor etti. Bu yerel adlar *I. glauca*-Yılangelmez (Bucak-Burdur), *I. glauca*-Soğukot (Avdan köyü-Korkuteli-Antalya), *I. glauca*-Galdirek (Küçükköy-Korkuteli-Antalya), *I. glauca*-Gıvışayak (Sapanlı Köy-Güdül-Ankara, Mucur-Kırşehir), *I. glauca*-Çatlağanotu (Şarkikarağaç-Isparta), *I. glauca*-Gerdimek (Sütçüler-Isparta), *I. bushiana* Schischkin-Cıvşak (Mut-İçel), *I. arenaria*-Kelebekotu (Durusu-İstanbul), *I. aleppica* Scop.-Delitürp (Finike-Antalya), *I. floribunda* Boiss. ex Bornm.-Delizgün (Karaman-Konya), *I. tinctoria*-Kızlargöbeği (Çukurbağ Köyü-Tarsus-İçel), *I. tinctoria*-Devemercimeği (Kazancı-Ermenek-Konya), *I. tinctoria*-Köygöçüren (Ermenek-Konya).

Kızıl ve Arslan (2000) iki *Isatis* (*I. tinctoria* L. ve *I. constricta* Davis) türünün uygun ekim sıklığı, boyar madde miktarı (indican) ve boyama sonucunda elde edilen renklerin ışık, sürtünme, su damlası ve yıkama haslıklarını belirledi. Boya hammaddesi olarak çiviotunun tek yıllık yetiştirilmesi gerektiğini (iki yıllık üretim ile hem yaprak verimi azalmakta hem de ikinci bir yaprak hasadı yapılamamaktadır), ekimin dar sıra aralıklarında (40 x 10 ve 40 x 20 cm) tercih edilmesi gerektiğini (birim alandan daha fazla yaprak verimi alındığından) bildirdiler. Çiviotu tarımının, doğal yağışların yeterli olduğu veya sulama imkânı olan bütün bölgelerde kolaylıkla yapılabileceğini ve özellikle doğal boyamacılığın yaygın olduğu yörelerde kültür çalışmalarının başlatılabileceğini belirttiler.



Kızıl ve Arslan (2001), boyacılık tarihinde önemli bir yere sahip olan çivitotunun *I. tinctoria* türü ile Doğu Anadolu bölgesinde endemik, başka bir çivitotu türü olan ve boyacılıkta kullanıldığına dair bir bilgi bulunamayan *I. constricta*'dan boyama sonucu elde edilen renklerin ışık, sürtünme, su damlası ve yıkama haslıklarının incelenmesi amacıyla bu iki farklı çivitotu türü ile toplam 54 adet boyama yaptı. Her iki çivitotu türünde de ışık haslıkları 2-5, sürtünme haslıkları 2-3 ile 4, su damlası haslıkları sırasıyla yaş 4-5 ile 5, kuru 5, yıkama haslıkları solma değerleri 1-3, akma değerleri sırasıyla yüne 4-5 ile 5, pamuğa 3-5 arasında değişti ve birbirine benzer sonuçlar elde ettiler. Ekonomik açıdan önemli boya bitkilerinin tespit edilerek bu bitkilerin kültüre alınması ve belirli standartlarda üretilmesi ile unutulmaya yüz tutmuş eski bir tarımsal faaliyet alanını yeniden güncelleştirerek, yöresel olarak yapılan el sanatları ve özellikle ihraç değeri yüksek olan halı ve kilimlerin boyanmaları için hammadde temin edilmiş olacağını, bu durumun da, turistik açıdan önemli bir potansiyele sahip olan doğal boyalarla boyanmış halı, kilim ve diğer çeşitli el sanatı ürünlerimize uluslararası ticarete yeniden önem kazandıracağını ve ülke ekonomisine daha fazla döviz girdisi sağlayacağını belirttiler.

Gilbert ve ark. (2002), *I. tinctoria*'nın 5 popülasyonu (üç Alman: Tübingen, Potsdam ve Erfurt, bir İsveç ve bir İngiliz), *I. indigotica* Fort.'nın beş genotipi, ve *I. glauca*'nın beş genotipinin toplamı olan 38 genotipte genetik çeşitliliği AFLP analizi kullanarak araştırdılar. Elde ettikleri 502 AFLP kesitinin 436 (%86,9)'sı polimorfik olacak şekilde sonuç elde ettiler. Her bir türdeki polimorfizm düzeylerini sırasıyla *I. indigotica* için %29,8, *I. tinctoria* için %86,9 ve *I. glauca* için %35,8 olarak kaydettiler. *I. tinctoria*'daki genetik çeşitliliğin *I. glauca* ve *I. indigotica*'dakinden daha büyük olduğunu gözlemlediler.

Kızıl (2006) *I. tinctoria*, *I. constricta* Davis, *I. glauca*, *I. cochlearis* Boiss., *I. aucheri* Boiss. ve *I. demirzana* Mısırdalı'yı 2002-2003 ve 2003-2004 sezonlarında farklı boya yüzdeliklerini etkileyen farklı tarımsal karakterler yönünden inceledi. Doğal ortamından toplanan *I. constricta*, *I. cochlearis*, *I. aucheri* ve *I. demirzana*'nın kültüre edilmiş *I. tinctoria* ve *I. glauca* ile karşılaştırıldığında geniş çeşitlilik gösterdiğini, diğer türlerle karşılaştırıldığında *I. tinctoria*'nın erken emergens gösterdiğini (36 gün) ve *I. glauca*'nın geç çiçeklenen bir tür (512 gün) olduğunu tespit etti. *Isatis*

türleri arasında *I. glauca*'nın maksimum bitki uzunluğu (113,4 cm), kök çapı (10,84 mm), bitki başına tohum verimi (103,0 g) sergilediğini, bununla birlikte *I. tinctoria*'nın bitki başına maksimum dal sayısı (16,8 bitki<sup>-1</sup>) ve maksimum tohum sayısı (17918) verdiğini gösterdi. Uygun büyüme koşulları ve tekniklerinin bitki ağırlığı, kök çapı, dal sayısı gibi özellikleri etkiyebileceğini ve ileriki çalışmalarda değişik büyüme koşullarında *Isatis* türlerinin yüksek boya içeriklerinin belirlenmesi gerektiğini ifade etti.

Spataro ve ark. (2006) Avrupa ve Orta Asya'dan gelen doğal *I. tinctoria* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği ve benzerlikleri değerlendirmek amacıyla AFLP ve SAMPL (Selective Amplified Microsatellite Polymorphic Locus) moleküler işaretleyicilerini kullanarak 50 popülasyon üzerinde analizler gerçekleştirdiler. Sonuçlar bitkinin doğu merkez kökenli olduğunu ve orjinalinden farklılaşp artan bir gen havuzu oluşturarak batıya doğru göç ettiği hipotezi ile uyumluluk gösterdi. Daha detaylı genetik karakterizasyon elde etmek için ve türlerin filogenisi ile ilgili daha kesin bilgi edinmek için daha düzgün toplanmış örnekleri dikkate almanın ve ko-dominant moleküler markörleri (örn. SSR) geliştirmenin yararlı olacağını belirttiler.

Akar ve Karaman (2006), Kahramanmaraş'ta doğal olarak yayılış gösteren ve farklı lokasyonlardan toplanan *I. glauca* ssp. *glauca* ve *I. candollena* Boiss. ile Çukurova Üniversitesi'nden temin edilen *I. tinctoria* bitkilerinin tohumlarını Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Avşar kampüsünde bulunan deneme bahçesinde yetiştirerek morfolojik özelliklerini incelediler ve boyama özellikleri ile taze yapraklardaki indikan içeriğini araştırdılar. *Isatis* türlerinin kültüre alınması üzerine doğadan toplanan *I. candolleana* ve *I. glauca* ssp. *glauca*'da bazı morfolojik özelliklerin (bitki boyu, gövde ağırlığı, dallanma sayısı, kuru yaprak ağırlığı, meyve boyu, meyve eni, yaprak boyu, yaprak eni ve meyve bin dane ağırlığı) doğal ortamda kültür ortamından daha yüksek bulunduğunu bildirdiler.

Spataro ve Negri (2007), 15 bireyden oluşan bir koleksiyonla iki yıl çalıştılar. 380-1700 m yükseklik oranlarında bitki performansını değerlendirmek için 4 lokasyonda deney yürüttüler. İkinci bir deneyde örneklerin birtakım tarımsal performanslarıyla ilgili davranışlarının morfo-fizyolojik çeşitliliğini değerlendirdiler. Üçüncü bir

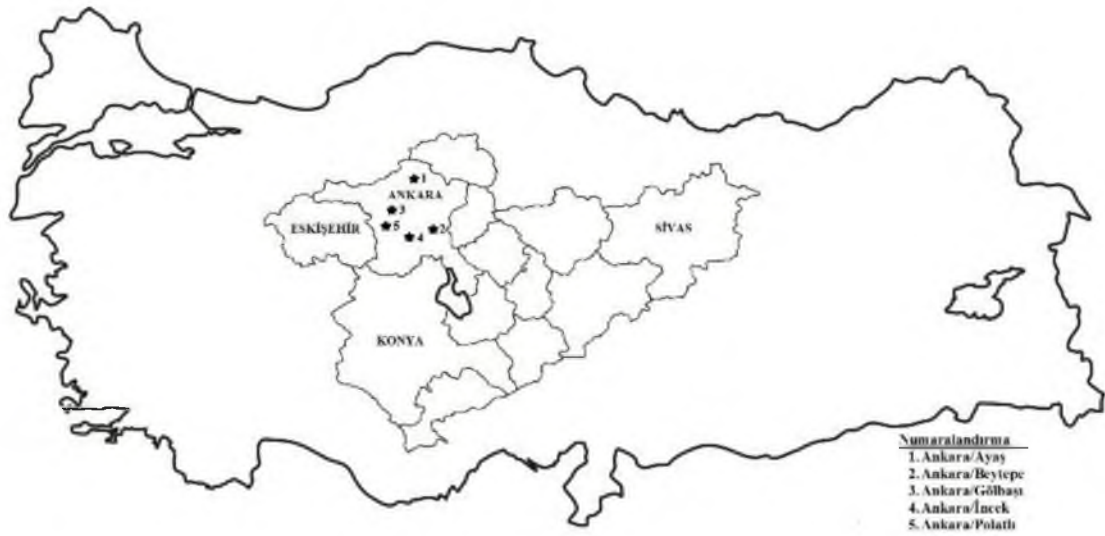
deneyde sekiz AFLP ve sekiz SAMPL işaretleyici kullanarak örneklerin genetik özelliklerini karakterize ettiler. Türlerin farklı dağ koşullarında geniş adaptasyon sergilediğini ve popülasyonların kökenlerine göre farklı düzeylerde yüksek morfolojik ve genetik çeşitlilik gösterdiklerini tespit ettiler. Hem morfolojik hem de moleküler karakterizasyon sonuçları, örneklerin Avrupa ve Asya grubu olarak ikiye ayrılmasını sağladı.

Spataro ve Negri (2007), *I. tinctoria*'da kendi kendine ve çapraz tozlaşmanın tozlaşma gücüne etkisini değerlendirdiler. Sonuçlar *I. tinctoria*'da dış döllenme olduğunu gösterdi. Kontrollü çaprazlama koşullarında bir farklılık olmamasına rağmen kendi kendine döllenmeye zorlanan bitkilerin, çaprazlananlardan (sırasıyla bitki başına 44,1 g; 8,0 mg; % 46,0) daha az meyve verdiğini (bitki başına 7,1 g), daha düşük ağırlıkta olduklarını (6,0 mg) ve daha düşük tohum verimi (% 8,2) verdiğini tespit ettiler. Ayrıca kendi kendine dölenen bitkilerin genel olarak çapraz dölenenlerden daha güçsüz olduklarını belirlediler. Sonuçların dışarıdan çiftleştirme (outbreeding) üreme sistemi ile tutarlılık gösterdiğini ve böylece ıslah programlarının çapraz dölenen bir bitki olan *I. tinctoria*'ya uygulanabileceğini belirttiler.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM:

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada genellikle, İç Anadolu Bölgesinde yoğunlaşmış olan *I. glauca* örnekleri (Yıldırım, 1988) özellikle tarla kenarları, yol kıyıları gibi çok yoğun güneş alan yerlerde tespit edildi. Çalışmada 2011 Mayıs-Ağustos aylarında Ankara/Ayaş, Ankara/Beytepe, Ankara/İncek, Ankara/Gölbaşı, Eskişehir, Konya, Sivas illerinden Prof. Dr. Şinasi Yıldırım ve Elçin Görgülü tarafından toplanan örnekler kullanılarak dokuz popülasyon oluşturuldu. İç Anadolu bölgesindeki *I. glauca* alttürlerine ait dokuz popülasyonun toplandığı lokasyonlar Harita 3.1.'de gösterildi. Popülasyonlar oluşturulurken Hacettepe Üniversitesi, Botanik Anabilim Dalı'na bağlı Herbaryumda bulunan örneklerden de yararlandı. Örneklerin teşhisi Prof. Dr. Şinasi Yıldırım ile birlikte yapıldı. İç Anadolu Bölgesi'ndeki diğer illerde *I. glauca* alttürlerine rastlanmadı.



**Harita 3.1.** İç Anadolu bölgesindeki *I. glauca* alttürlerine ait dokuz popülasyonun toplandığı lokasyonlar

*I. glauca* alt türlerine ait popülasyonların toplandıkları lokasyonların coğrafik bilgileri Çizelge 3.1.'de verildi. Bazı örnekler preslenerek Hacettepe Üniversitesi, Botanik Anabilim Dalı'na bağlı Herbaryumda müze materyali olarak saklandı. Bu çalışmada kullanılan örnek gruplarına popülasyon kodu verildi ve bundan sonraki metinde bu kodlar kullanıldı.

**Çizelge 3.1.** *Isatis glauca* alt türlerine ait popülasyonların toplandıkları lokasyonların coğrafik bilgileri (Kısaltmalar: SN Sıra numarası, PK Popülasyon kodu, L lokasyon yerinin adı, N1 Morfometrik ölçümlerde kullanılan örnek (aksesyon) sayısı, N2 AFLP analizlerinde kullanılan örnek sayısı, YÜ Yükseklik, EN Enlem, BO Boylam) (Kaynak: Google earth)

SN	PK	L	Alttürler	N1	N2	YÜ (m)	EN	BO
1	AA	Ankara/Ayaş	subsp. <i>galatica</i>	10	8	1.074	40° 5'16.93"K	32°23'28.99"E
2	AB	Ankara/Beytepe	subsp. <i>glauca</i>	10	8	1.049	39°52'3.25"K	32°44'29.59"E
3	AG1	Ankara/Gölbaşı	subsp. <i>glauca</i>	10	8	1.120	39°31'21.97"K	32°51'53.92"E
4	AG2	Ankara/Gölbaşı	subsp. <i>galatica</i>	10	8	1.120	39°31'21.97"K	32°51'53.92"E
5	AI	Ankara/İncek	subsp. <i>exauriculata</i>	9	6	1.159	39°48'57.65"K	32°43'14.47"E
6	AP	Ankara/Polatlı	subsp. <i>galatica</i>	10	7	781	39°44'45.46"K	32°25'12.27"E
7	E	Eskişehir	subsp. <i>galatica</i>	7	5	1.009	39°27'41.15"K	31°22'41.40"E
8	K	Konya	subsp. <i>galatica</i>	10	9	1.027	39°27'41.15"K	31°22'41.40"E
9	S	Sivas	subsp. <i>sivasica</i>	10	8	1.420	39°48'47.82"K	37° 8'0.04"E
Total				86	67			

Alttürler teşhis edilirken aşağıdaki tanı anahtarından yararlanıldı (Yıldırım, 1988).

“Alttür tanı anahtarı:

1. Gövde yeşil; meyvenin boyu eninin üç katından çok, obovat, linear- oblong, linear-eliptik, 9-32 x 3-7 mm; göbek kanattan geniş veya eşit nadiren dar.....1.subsp. *glauca*
1. Gövde yeşil veya mor; meyvenin boyu eninin 1-2,5 katı, dairesel, üçgensel, yüreksi, genişçe ovat, oblong, eliptik, 7-22 x 6-12 mm; göbek kanattan çok dar
  2. Dip yapraklar düz ya da geniş aralıklı dişli; meyvenin boyu eninin 1,5- 2,5 katı, 12-22 x 6-12 mm, genişçe oblong, eliptik.....2. subsp. *galatica*
  2. Dip yapraklar düz kenarlı; meyvenin boyu eninin 1-1,5 katı, 7-13 x 6-12 mm, dairesel üçgensel, yüreksi
    3. Meyvenin boyu eninin 1-1,5 katı, 8-11 x 6-10 mm, üçgensel, yüreksi, genişçe ovat; kulakçıklar 5-10 mm, küt .....3. subsp. *sivasica*
    3. Meyvenin boyu eni kadar, 7-13 x 7-12 mm, dairesel; kulakçıklar 4-6 mm, sivri.....4. subsp. *iconia*”

Tür teşhisi esnasında alttürler arasında tip örneğine en yakın benzerlik teşkil edecek bireyler arasından popülasyonlar oluşturuldu. Polimorfizm, dimorfizm nedeniyle geçiş formu olarak kabul edebileceğimiz bireyler tespit edildi ve bunlar ayrı popülasyon olarak değerlendirildi.

*I. glauca* subsp. *exauriculata*, subsp. *glauca*' dan gövde yapraklarında kulakçıklarının olmaması ya da kısa olması ile ayrılır (Resim 3.1). Arazide subsp. *glauca* alttürünün çok yoğun olduğu lokasyonlarda seyrek olarak subsp. *exauriculata* alttürünü temsil eden kulakçiksız bireylere de rastlandı. Ancak bunlar yeterli olmadığı için popülasyon olarak değerlendirilmedi. Yalnızca tek bir lokasyonda (İncek-Ankara) popülasyon oluşturabilecek *I. glauca* subsp. *exauriculata* tip örneğine benzeyen örnekler tespit edildi. *I. glauca* alttürlerine ait popülasyonların toplandıkları bölgelerin yıllık toplam ortalama meteorolojik verileri Çizelge 3.2'de verildi.



**Resim 3.1.** (a) *Isatis glauca* subsp. *exauriculata*'da kulakçiksız



**Resim 3.1.** (b) subsp. *glauca*'da kulakçıklı yaprak görüntüsü (Elçin Görgülü, Gölbaşı-Ankara, 2012).

*I. glauca* subsp. *iconia* literatürde Konya'ya endemik (Yıldırım, 1988) bir alttür olarak geçmekle birlikte arazi çalışması esnasında tip örneğine yakın morfolojik özellikler gösteren bireylere nadiren rastlandı. Ancak bunlar popülasyon olarak değerlendirilmedi.

**Çizelge 3.2.** *Isatis glauca* alt türlerine ait popülasyonların toplandıkları bölgelerin yıllık toplam ortalama meteorolojik verileri (Kısaltmalar: SN Sıra numarası, PK Popülasyon kodu, L lokasyon yerinin adı, N1 Morfometrik ölçümlerde kullanılan örnek sayısı, SI Sıcaklık, NM Nispi nem, YA Yağış) (Kaynak: Meteoroloji Gen. Müd., 2010)

SN	PK	L	Alttürler	N1	SI (°C)	NM (%)	YA (mm)
1	AA	Ankara/Ayaş	subsp. <i>galatica</i>	10	23,65	61,58	36,37
2	AB	Ankara/Beytepe	subsp. <i>glauca</i>	10	23,65	61,58	34,11
3	AG1	Ankara/Gölbaşı	subsp. <i>glauca</i>	10	21,61	63,61	36,37
4	AG2	Ankara/Gölbaşı	subsp. <i>galatica</i>	10	21,61	63,61	36,37
5	AI	Ankara/İncek	subsp. <i>exauriculata</i>	9	21,61	63,61	36,37
6	AP	Ankara/Polatlı	subsp. <i>galatica</i>	10	23,68	62,79	30,99
7	E	Eskişehir	subsp. <i>galatica</i>	7	23,77	62,68	30,14
8	K	Konya	subsp. <i>galatica</i>	10	24,38	44,8	34,45
9	S	Sivas	subsp. <i>sivastica</i>	10	22,63	61,91	40,14
Total				86			

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Morfolojik karakterizasyon

##### Morfometrik ölçümler:

Arazide kurumuş halde veya kurumak üzere olan bitkiler en dip kısımlarından bahçe makası ile kesilerek alındı. Morfolojik varyasyon çalışması için 15 morfolojik karakter tespit edildi. Bunlar: dal sayısı (DS), bitki uzunluğu (BU), gövde bazal çap (GBÇ), gövde median çap (GMÇ), gövde apikal çap (GAÇ) ile birlikte meyve uzunluğu (MU), meyve genişliği (MG), meyve sap uzunluğu (MSU), meyve şekli (MŞ), meyve bazal kısım şekli (MBSŞ), meyve apikal kısım şekli (MAŞ), lokulus (LO), ondülleme (O), meyve rengi (MR) ve meyvenin apikal durumu (MAD). Meyve şekli ile ilgili olan karakterler tür teşhisinde kullanılırken, istatistiksel değerlendirmelerde sadece metrik karakterler kullanıldı.

Bu çalışmada *I. glauca* alttürlerine ait dokuz popülasyon analiz edildi. Her popülasyondan rastgele 10 bitki seçilirken, E (Eskişehir) ve AI (Ankara/İncek) popülasyonu için sırasıyla 7 ve 9 bitki seçildi. Meyve morfolojik karakterlerinin ölçümü için her bireyden rastgele 10 meyve seçildi ve toplam 860 meyve üzerinde ölçüm ve gözlem yapıldı. *I. glauca* alttürlerini teşhis etmek ve morfolojik çeşitliliği tanımlamak için kullanılan morfolojik karakterler Çizelge 3.3’de verildi.

**Çizelge 3.3.** *I. glauca* alttürlerini teşhis etmek ve morfolojik çeşitliliği tanımlamak için kullanılan morfolojik karakterler

No	Karakter	Tanım
1	Ana dalların sayısı (DS)	Bitki gövdesi üzerindeki ana dallar sayıldı.
2	Bitki uzunluğu (BU)	Bitki uzunluğu gövde tabanından uca kadar mm olarak ölçüldü.
3	Gövde bazal çap (GBÇ)	Bitkinin bazal kısım çapı mm olarak ölçüldü.
4	Gövde median çap (GMÇ)	Gövdenin orta kısmı mm olarak ölçüldü.
5	Gövde apikal çap (GAÇ)	Gövdenin apikal kısmı mm olarak ölçüldü.
6	Meyve uzunluğu (MU)	Meyve uzunluğu sap tabanına kadar mm olarak ölçüldü.
7	Meyve genişliği (MG)	Meyve genişliği mm olarak ölçüldü.
8	Meyve sap uzunluğu (MSU)	Meyve sap uzunluğu gövdeye bağlandığı noktadan itibaren mm olarak ölçüldü.
9	Meyve şekli (MŞ)	Kategorik karakterler 1 = Oblong, 2 = Dar oblong, 3 = Ovat, 4 = Kordat/kordiform, 5 = Eliptik, 6 = g, 7 = Geniş eliptik, 8 = Obovat, 9 = Oblanseolat ve 10 = Trullat olarak kodlandı.
10	Meyve bazal kısım şekli (MBŞ)	Kategorik karakterler, 1 = Yuvarlak, 2 = Trunkat, 3 = Obtüs, 4 = Kordat ve 5 = Reniform olarak kodlandı.
11	Meyve apikal kısım şekli (MAŞ)	Categorical character, coded by 1 = Rounded, 2 = Truncate, 3 = Obtuse, 4 = Acute, 5 = Retuse ve 6 = Emarginate olarak kodlandı.
12	Lokulus (LO)	Kategorik karakterler, 1 = Tüysüz ve 2 = Tüylü olarak kodlandı.
13	Meyve rengi (MR)	Kategorik karakterler, 1 = Renklenme yok ve 2 = Renklenme var olarak kodlandı.
14	Ondüllenme (O)	Kategorik karakterler 1 = No ondüllenme var ve 2 = Ondüllenme yok olarak kodlandı.
15	Meyve apikal durum (MAD)	Kategorik karakterler 1 = Düz ve 2 = Mukronulat olarak kodlandı.

BU ölçümü için metre kullanıldı. GBÇ, GMÇ, GAÇ, MU, MG ve MSU ölçümleri kumpas kullanılarak yapıldı. MŞ, MBŞ, MAŞ ve MAD değerlendirmeleri Michael G. Simpson (1953)'ın "*Bitki Sistematiği*" kitabı referans alınarak yapıldı. Metrik ölçüm yapılamayan morfolojik karakterler için kategorik bir kod verildi. Meyve ekstra renklenme göstermiyorsa (1), gösteriyorsa (2) olarak kodlandı. Meyve şekli 1-10 arasında kodlanarak karakterize edildi. Bunlar sırasıyla oblong, dar oblong, ovat, kordat/kordiform, eliptik, geniş eliptik, dar eliptik, obovat, oblanseolat ve trullat. Lokulusun tüysüz oluşu (1), tüylü oluşu (2) olarak kodlandı. Meyve ondüllenme göstermiyorsa (1), gösteriyorsa (2) olarak kodlandı. Meyve bazal kısım şekli yuvarlak (1), trunkat (2), obtüs (3), kordat (4), ve reniform (5) olarak kodlanırken meyve apikal kısım şekli yuvarlak (1), trunkat (2), obtüs (3), akut (4), retuse (5) ve emarjant (6) olarak kodlandı.



### 3.2.2. Moleküler analizler

#### DNA izolasyon basamakları

##### *İzolasyonda kullanılacak olan yaprakların elde edilmesi*

Tohumların çimlendirileceği petri kaplarına iki kat kurutma kâğıdı yerleştirilip saf su ile nemlendirildi. Pens yardımı ile meyvelerden çıkarılan tohumlar her bireyden 20-30 tohum olacak şekilde petri kaplarına yerleştirildi. Petri kapları üzerine kod numaraları yazılıp gölgede, nemli tutularak bekletildi. 3-5 gün içerisinde çimlenen tohumlar, içinde çiçek toprağı (torf) bulunan saksılara ekildi. Kök ucu 1 mm'yi geçen tohumlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Yapraklar 1-2 aylık süre sonunda DNA izolasyonu için yeterli olgunluğa ulaştı.

##### *Yaprakların öğütülmesi*

DNA izolasyonu için kullanılacak olan yapraklar temiz bir makasla kesilerek doğrudan sıvı azotla soğutulmuş havana konuldu. Üzerine bir miktar daha sıvı azot eklendikten sonra yapraklar öğütülerek toz haline getirildi. Üzerine kod numarası yazılmış olan plastik tüp, kapağı açılarak sıvı azot içerisine batırıldı. Tüp yeterince soğuduğunda toz halindeki yapraklar hızlı bir şekilde tüpe alındı. Bu şekilde öğütülüp tüpe konulmuş olan çiviotu yaprakları hiç bekletmeden -20 °C'ta derin dondurucuda muhafaza edildi.

##### *DNA izolasyonu*

DNA izolasyonu Kidwell ve ark. (1984)'nın protokolüne göre yapıldı. DNA izolasyon çözeltisi hazırlandıktan sonra, -20 °C'taki yaprak tozlarının bulunduğu tüpler içi buz dolu küvete yerleştirildi. Tüplerin her birine 5 mL (yaklaşık 5 mg yaprak için) DNA izolasyon çözeltisi eklenip, donmuş olan yaprak tozlarının çözünmesi için iyice çalkalandı. Tüpler spora yerleştirilip 65°C'ta karıştırıcılı inkübatörde (GFL 3031) yan yatırılarak 1,5 saat inkübasyona bırakıldı. Santrifüj makinesi (Kubota 5500) +4°C'a ayarlandı. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra tüplere 5 mL kloroform-izoamil (24:1) alkol eklendi. Tüplerin kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra üzerine bir başka spor yerleştirilip paket lastiği ile birbirine

tutturuldu. Tüpler yavaş yavaş ters yüz edilerek 15 dakika çalkalandı. Çalkalama işlemi DNA ipliklerinin kırılmaması için nazik bir şekilde yapıldı. Eşit ağırlıklı tüpler karşılıklı gelecek şekilde santrifüje (Kubota 5500) yerleştirildi. Örnekler +4 °C'ta, 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.

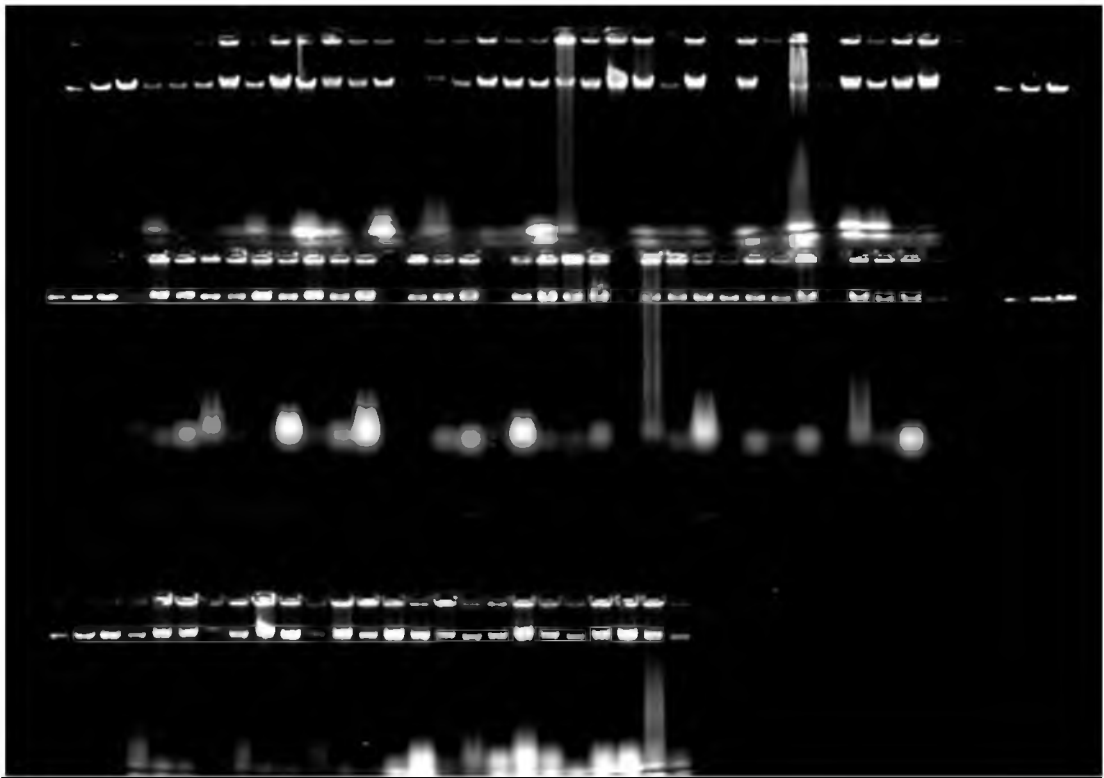
Tüpler içindeki fazlar birbirine karışmadan dikkatli bir şekilde spora yerleştirildi. Temiz 50 mL'lik kapaklı plastik tüplerin üstüne kod numaraları yazılıp, içine 5 mL izopropil alkol konularak önceden hazırlandı. Santrifüjden alınan tüplerin üzerindeki berrak sıvı kısım plastik pastör pipeti yardımıyla alınıp, izopropil alkol bulunan tüplerin üzerine eklendi. Birkaç dakika içinde DNA ipliklerinin yoğunlaşarak çökeldiği gözlemlendi. DNA'nın kırılmadan tüpten kolaylıkla dışarı çıkarılabilmesi için tüpler izopropil alkol içinde -20 °C'ta, 10 dakika bekletildi (10 dakikadan 1 geceye kadar bekletilebilir).

DNA cam pastör pipeti yardımıyla kırılmadan dışarı çıkarılıp her tüpün içindeki izopropil alkol boşaltıldı aynı tüpün içine 5 mL alkol (%70) eklendi ve DNA tekrar tüpteki alkolün içine konuldu. Aynı işlemler her tüpe uygulandıktan sonra tüpler +4 °C'ta bir gece bekletildi.

Ertesi gün buzdolabında +4 °C'ta bir gece bekletilen tüpler dışarı çıkarıldı ve DNA cam pastör pipeti ile kırılmadan avlanarak, temiz ve yumuşak bir kâğıt peçetenin üstüne konuldu ve nazikçe üzerine bastırılıp yuvarlanarak fazla sıvının kâğıt tarafından emilimi sağlandı. DNA daha önceden hazırlanmış olan 2 µL'lik temiz ependorf tüplere konuldu ve 10-30 dakika oda sıcaklığında açık havada kurumaya bırakıldı. Bu şekilde alkol tamamen uzaklaştıktan sonra ependorf tüplere 200 µL 1xTE çözeltisi eklendi. DNA'nın miktarına bağlı olarak 1xTE çözeltisinden daha fazla da eklenebilir. Tüpler bir sporun içine yerleştirildikten sonra 65 °C sıcaklıkta bulunan karıştırıcı inkübatörde 30 dakika inkübasyona bırakılarak iyice çözümleri sağlandı. Tamamen çözünen tüpler +4 °C'ta buzdolabında muhafaza edildi (3-6 ay). Tamamen çözünmemiş olan tüpler oda sıcaklığında birkaç gün daha bırakıldı.

### *DNA'nın yoğunluğunun ve kalitesinin belirlenmesi*

DNA'nın yoğunluğunun ve kalitesinin belirlenmesi için %0,8'lik agaroz jel hazırlandı. 6 XLB çözeltisi saf su veya 1XTE çözeltisi kullanılarak altı kez seyreltilmiş olan boyadan 18  $\mu\text{L}$ , DNA'dan 2 $\mu\text{L}$  karışım hazırlanıp vortekslendi. Vortekslenen tüplere birkaç saniye kısa santrifüj (Sigma 1-14) yapıldı. Jel kalıbı elektroforez (Thermo EC340) tankına yerleştirildi ve tank 0,5 X TBE çözeltisi ile jelin üzerini örtecek seviyeye kadar dolduruldu. Jelin ilk üç kuyucuğuna ve son üç kuyucuğuna yoğunluğu bilinen  $\lambda$  DNA'dan (50 ng/ $\mu\text{L}$ ) 20  $\mu\text{L}$ , diğer kuyucuklara ise 20  $\mu\text{L}$  çiviotu DNA'larından (seyreltilmiş) yüklendi. Elektroforez işlemi 50 mA, 100 V'ta 30 dakika sürede gerçekleştirildi. Daha sonra UV ışığı altında jelin fotoğrafı jel görüntüleme sistemi ile çekildi. Bu şekilde DNA'ların miktarları ve kalitesi belirlendi (Resim 3.2).



**Resim 3.2.** İzole edilip seyreltilmiş olan *I. glauca* DNA örneklerinin %0,8'lik agaroz jelde UV ışığı altındaki görüntüsü (Vilber Lourmat jel görüntüleme sistemi, Çukurova Üniversitesi, Adana).

### AFLP uygulama aşamaları

AFLP analizi Vos ve ark.'nın (1995) protokolüne göre Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Moleküler Genetik Laboratuvarında gerçekleştirildi. Bu çalışmada kullanılan primer ve adaptörlerin dizilerini gösteren liste Çizelge 3.4'de verildi.

#### *Kesme/birleştirme (restriction/ligation) reaksiyonu*

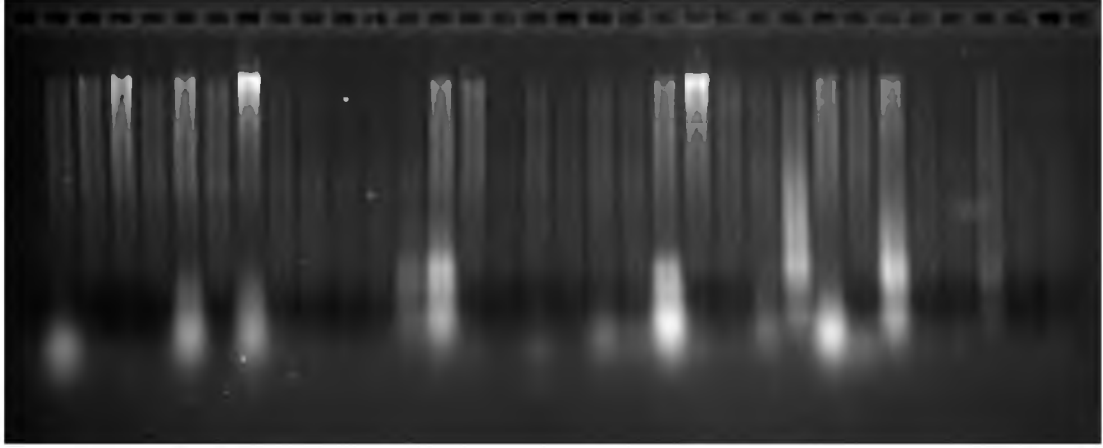
Kesme birleştirme reaksiyon karışımı içerisinde birim başına 1,1 µL T4 DNA ligaz buffer (10X), 1,1 µL NaCl (0,5 M), 0,55 µL (1 mg/µL) BSA (Sığır Serum Albumini), 1 µL (5 pmol) *EcoRI* adaptör, 1µL (50 pmol) *MseI* adaptör, 0,5 µL (10 µ/µL) *EcoRI* enzim, 0,1 µL (10 µ/µL) *MseI* enzim ve 0,2 µL (5µ/µL) T4 DNA ligaz enzimi eklendi. Hazırlanan karışım örnek haznelere (plate) her birine 5,55 µL olacak şekilde dağıtıldı. 5,5 µL (50 ng) genomik DNA örnek haznelere eklendi. Örnek hazneleri vorteks ve kısa santrifüj (Sigma 1-14) işlemlerinden sonra 37 °C'ta 6 saat inkübasyona (Techne TC-412) bırakıldı.

**Çizelge 3.4.** Bu çalışmada kullanılan primer ve adaptörlerin dizileri (Üç adet *EcoRI* ileri primer, yedi adet *MseI* geri primer kullanılmıştır)

	Primer/adaptör adı	Baz dizilimi
Adaptörler	<i>EcoRI</i> adaptör-1	5'-CTC GTA GAC TGC GTA CC-3' 3'-CAT CTG ACG CAT GG-5'
	<i>MseI</i> adaptör-1	5'-GAC GAT GAG TCC TGA G-3' 3'-TA CTC AGG ACT C-5'
Önseçici primerler	<i>EcoRI</i> +A (E01)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CA-3'
	<i>MseI</i> +A (M01)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AA-3'
	<i>EcoRI</i> +AAG (E33)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAA G-3'
	<i>EcoRI</i> +ACC (E36)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAC C-3'
	<i>EcoRI</i> +AGA (E39)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAG A-3'
	<i>MseI</i> +AAC (M32)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AC-3'
	<i>MseI</i> +AAG (M33)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AG-3'
Seçici primerler	<i>MseI</i> +AAT (M34)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AT-3'
	<i>MseI</i> +ACA (M35)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA CA-3'
	<i>MseI</i> +ACT (M38)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA CT-3'
	<i>MseI</i> +AGC (M40)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA GC-3'
	<i>MseI</i> +AGG (M41)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA GG-3'

Kesme/birleştirme reaksiyonu sonuçlarını görüntülemek amacıyla 5 µL ürün alınıp, 2 µL boya eklenerek %1,5'lik agaroz jelde koşturuldu ve UV ışığı altında fotoğrafı çekildi (Resim 3.3). Başka bir tüpe kesme/birleştirme reaksiyonu ürünlerinden 5 µL

alındı ve üzerine 94,5  $\mu\text{L}$  TE Buffer (1XTE) eklendi (20 kez seyreltilmiş oldu). Seyreltilmiş ürün önseçici çoğaltım (pre-selective PCR)'da kullanıldı.



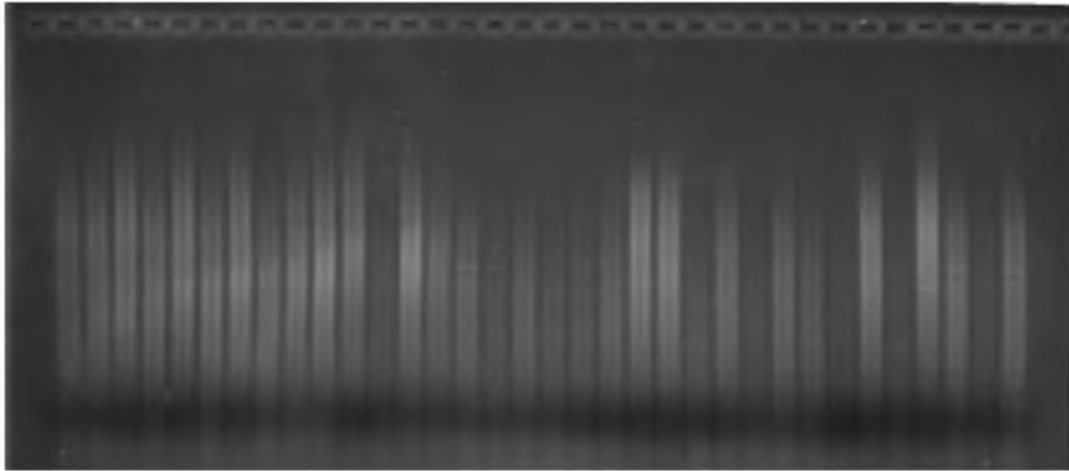
**Resim 3.3.** %1,5'lik agaroz jelde koşan, kesme/birleştirme reaksiyonu ürünlerinin UV ışığı altındaki görüntüsü (Vilber Lourmat jel görüntüleme sistemi, Çukurova Üniversitesi, Adana).

#### *Önseçici çoğaltım (Preselective amplification)*

Önseçici çoğaltım 3' ucunda bir tane fazla nükleotit taşıyan *EcoRI* ve *MseI* adaptörlerine homolog primerler kullanılarak yapıldı. Böylece ilgili kalıp DNA'nın miktarı ve özgüllüğü artırıldı. Ön seçici PCR reaksiyonu için 2 $\mu\text{L}$  (10X) PCR buffer, 1,6  $\mu\text{L}$  (2mM)  $\text{MgCl}_2$ , 1,2  $\mu\text{L}$  (2,5 mM) dNTP, 1  $\mu\text{L}$  (5 pmol) *EcoRI* primer, 1  $\mu\text{L}$  (5 pmol) *MseI* primer, 0,2  $\mu\text{L}$  (1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) Taq polimeraz enzim, 9  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O karışımı hazırlandı. Kesme/birleştirme reaksiyonu ürününden 4  $\mu\text{L}$  eklenerek toplam hacim 20  $\mu\text{L}$ 'ye ayarlandı. Önseçici çoğaltım döngü koşulları Çizelge 3.5'de verildi. Önseçici reaksiyon sonucunun görüntülenmesi için 10  $\mu\text{L}$  örnek temiz bir tüpe alındı. Üzerine 3  $\mu\text{L}$  boya eklenerek %1,5'lik agaroz jelde koşturulup UV ışığı altında görüntülendi (Resim 3.4). Çoğaltma reaksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini gördükten sonra kalan 10  $\mu\text{L}$  önseçici PCR ürününe 190  $\mu\text{L}$  TE buffer eklenerek 20 kez seyreltildi. Seyreltilen önseçici PCR ürünleri -20 °C'ta muhafaza edildi.

**Çizelge 3.5.** Önseçici çoğaltım döngü koşulları (Techne TC-412)

PCR aşamaları	Sıcaklık	Süre	Döngüler
1 Başlangıç denatürasyon	72 °C	2 dk	
2 Denatürasyon	94 °C	30 sn	20 kez 2. Basamağa Git
3 Annealing	56 °C	30 sn	
4 Uzama safhası	72 °C	2 dk	
5 Son uzama safhası	60 °C	30 dk	
6 Son bekleme	10 °C	-	

**Resim 3.4.** E01 ve M01 primer kombinasyonları kullanılarak yapılan önseçici PCR ürünlerinin UV ışığı altındaki görüntüsü (Vilber Lourmat jel görüntüleme sistemi, Çukurova Üniversitesi, Adana).*Seçici çoğaltım (selective amplification)*

Seçici çoğaltım, FAM ve VIC floresan boyalarla işaretli üç seçici nükleotit taşıyan 4 adet *EcoRI* primer ve üç seçici nükleotit taşıyan işaretsiz *MseI* primerleri ile yapılan 8 primer kombinasyonu ile gerçekleştirildi. Bu çalışmada kullanılan primer kombinasyonlarının adları Çizelge 3.6'da gösterildi.

**Çizelge 3.6.** Bu çalışmada kullanılan FAM ve VIC floresan boya larla işaretli *EcoRI* ve işaretli *MseI* primer kombinasyonları

Primer kombinasyonları	Floresan boya çeşidi
E39-M40	FAM
E36-M34	FAM
E39-M41	FAM
E36-M32	FAM
E33-M38	VIC
E36-M33	VIC
E33-M40	VIC
E36-M35	VIC

Seçici çoğaltım reaksiyonu için örnek başına 2µL PCR (10X) buffer, 1,6 µL (25 mM) MgCl<sub>2</sub>, 1,2 µL dNTP, 0,1 µL (5 pmol) *EcoRI*+3 primeri, 0,1 µL (5pmol) *MseI* primeri, 0,2 µL (1 µ/µL) Taq polimeraz, 10,8 µL ddH<sub>2</sub>O karışımı hazırlandı. Seyreltilmiş ön seçici çoğaltım ürününden 4µl eklenerek karışım 20 µL'ye tamamlandı. Seçici çoğaltım döngü koşulları Çizelge 3.7'de verildi.

**Çizelge 3.7.** Seçici çoğaltım döngü koşulları (Techne TC-412)

SN	PCR aşamaları	Sıcaklık	Süre	Döngüler
1	Başlangıç denatürasyon	94 °C	2 dk	
2	Denatürasyon	94 °C	45 sn	← 56 °C'a kadar 1° azalarak → 10 kez 2. Basamağa git
3	Annealing	66 °C	45 sn	
4	Uzama safhası	72 °C	2 dk	
5	Denatürasyon	94 °C	45 sn	← 56 °C'a kadar 1° azalarak → 10 kez 5. Basamağa git
6	Annealing	56 °C	45 sn	
7	Uzama safhası	72 °C	2 dk	
8	Son uzama safhası	60 °C	30 dk	
9	Son bekleme	4 °C	-	

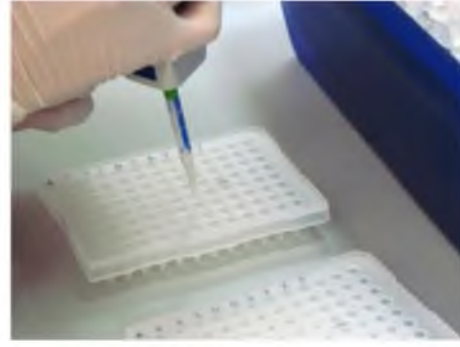
#### *AFLP analizinde kapiller elektroforez koşulları ve kullanılan primerler*

Kapiller elektroforez işlemi ABI3130xl [(Applied Biosystems inc., Foster City, Calif, (ABI)] genetik analizör cihazı kullanılarak yapıldı. PCR işlemi sonrası, her bir örnek için 1 µL seçici çoğaltım ürünü alınıp 9,8 µL Hi-Di formamit ve 0,2 µL LIZ-500 size standart ile birlikte kuyucuklara yüklendi. 95 °C'ta 5 dk bekletilerek denatüre edildi. Denatürasyon sonrası 5 dk buzda bekletilerek DNA'nın kalıcı denatüre ve tek iplikçik haline gelmesi sağlandı. Tek iplikli hale getirilen ürünler ABI cihazına

yüklendi (Resim 3.5). Bu çalışmada kullanılan kimyasal malzemelerin listesi Ek-1’de çözeltilerin hazırlanışı Ek-2’de verildi.



**Resim 3.5. (a)** Hi-Di formamit ve LIZ-500 size standart karışımının hazırlanması



**Resim 3.5. (b)** karışımın haznelere dağıtılması



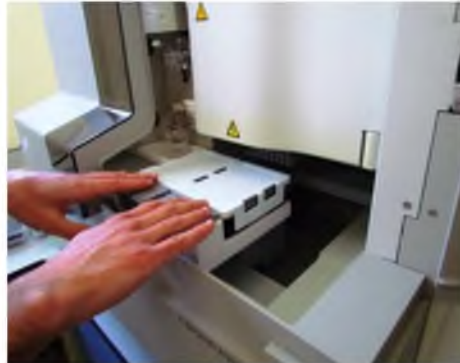
**Resim 3.5. (c)** örneklerin haznelere dağıtılması



**Resim 3.5. (d)** kısa santrifüj işlemi



**Resim 3.5. (e)** denatürasyon

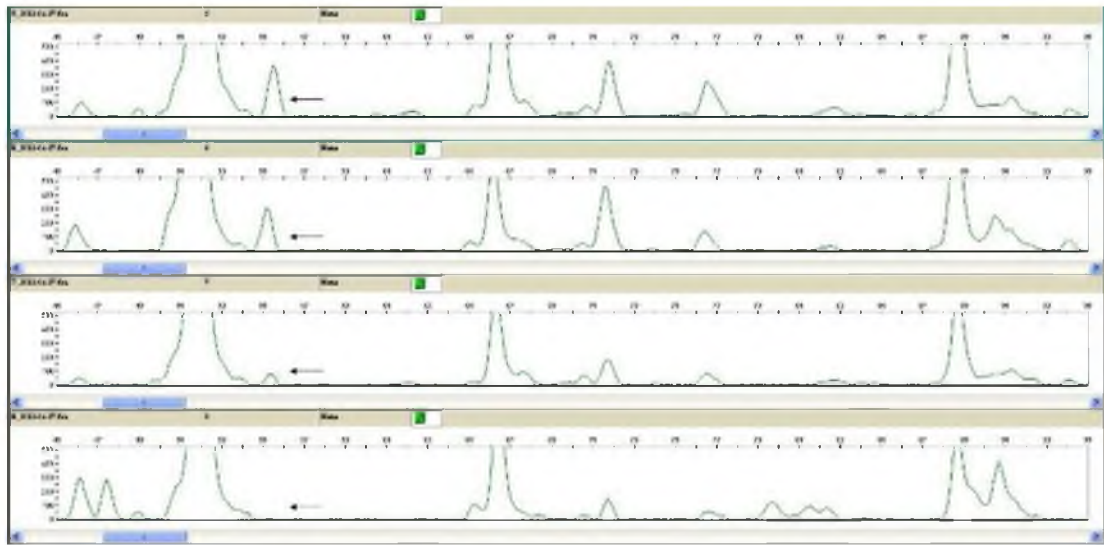


**Resim 3.5. (f)** ABI cihazına örneklerin yüklenmesi

**Resim 3.5.** Kapiller elektroforez işlemi sırasında *I. glauca* alttürlerinin dokuz popülasyonuna ait 67 örneğin seyreltilmiş seçici çoğaltım ürünlerinin haznelere yüklenmesi, denatüre edilmesi ve ABI cihazına yüklenmesi aşamaları. (Elçin Görgülü, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji ABD Merkez Laboratuvarı, 2012)



Elektroforez işlemi sonunda çoğaltım ürünleri, AFLP kesitlerinin varlığı (1) ya da yokluğu (0) şeklinde GeneMapper 4.0 bilgisayar paket programı kullanılarak skorlandı. Standart AFLP yönteminde VIC Floresan boya ile işaretli E36-M35 primer kombinasyonu ile Sivas popülasyonuna (*Isatis glauca* subsp. *sivasica*) ait dört örneğin seçici PCR çoğaltımının kapiller elektroforezi sonucu oluşan bantların piklerine ait elektroforegram Resim 3.6'da verildi. Elde edilen veriler GDA (Genetic Data Analysis) paket programı ile analiz edildi.



**Resim 3.6.** Standart AFLP yönteminde VIC Floresan boya ile işaretli E36-M35 primer kombinasyonu ile Sivas popülasyonuna (*Isatis glauca* subsp. *sivasica*) ait dört örneğin seçici PCR çoğaltımının kapiller elektroforezi sonucu oluşan bantların piklerine ait elektroforegram (Oklar 55. lokusa ait polimorfik bantları göstermektedir).

### İstatistiksel veri analizi

*I. glauca* örnek gruplarında morfolojik ve genetik çalışmalardan elde edilen verilere istatistiksel analiz uygulandı. Genetik çeşitlilik için AFLP ile elde edilen veriler ilk önce popülasyon genetiği analizlerinde kullanılan Genetik Veri Analizi (GDA: Genetic Data Analysis) yazılım paket programı kullanılarak analiz edildi. Analizde popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği değerlendirmek için çeşitli parametreler kullanıldı.

Çalışılan popülasyonlardaki, tüm lokuslara ait polimorfik lokus oranı ( $P$ ), her bir lokustaki ortalama alel sayısı ( $A$ ), her bir polimorfik lokustaki ortalama alel sayısı ( $A_p$ ) ve genetik çeşitlilik ( $H_e$ ) değerleri hesaplandı.

Örnek gruplarının gen havuzlarında ortak paylaştıkları alel sayısı azaldıkça genetik farklılaşma düzeyleri de artmaktadır. Doğal popülasyon formlarının genetik yapılarının tespit edilmesi popülasyon genetiğinin önemli konularından biridir ve sonuçlarının uygulandığı çeşitli alanlar vardır. Bunlar evrimsel biyoloji, koruma, forensik, bitki ve hayvan ıslahı alanlardır. Popülasyon genetik yapısının araştırılmasında sıklıkla kullanılan yöntem  $F_{ST}$  (Wright, 1951) idi. Wright F istatistiklerini (inbreeding coefficient) kendileşme katsayısı olarak kullandı ve birleşen iki gamet arasındaki korelasyon olarak tanımladı. O dönemde izoenzim ve diğer moleküler markerler olmadığından Wright her bir lokusu bialelik yani iki alelli kabul etti.  $F_{ST}$ 'yi hesaplamayı da iki alelli lokuslar üzerine kurdu. Ancak günümüzdeki marker yöntemleri çok alelli olduğundan bu yöntem tercih edilmiyor. Onun yerine Nei (1973)  $G_{ST}$ , Weir ve Cockerham (1984)  $\theta_p$  veya Jost (2008)  $D$  kullanılmaktadır. Bu çalışmada popülasyonlar arasında genetik farklılaşma ( $\theta_p$ ) değerleri Weir ve Cockerham (1984)'a göre hesaplandı.

Korelasyon iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi ve bunun önemlilik derecesini saptamaya yönelik yapılan istatistiksel bir yöntemdir. Bilimsel çalışmaların sonuçlarının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılır. En çok kullanılanlar Pearson korelasyon katsayısı ( $r_p$ ) ve Spearman korelasyon ( $\rho$ ) katsayılarıdır. İki değişken arasında korelasyon saptanırken bunlardan biri bağımlı diğeri bağımsız değişken olarak belirlenir. Korelasyon katsayısı bağımlı değişken ile bağımsız değişken arasındaki ilişki düzeyini hesaplayan ve yönünü gösteren sayısal bir değerdir. Korelasyon katsayısı  $r$  ile gösterilir ve değeri -1,0 ile +1,0 arasında değişir. Bu çalışmada genetik çeşitlilik değerleri ( $H_e$ ,  $P$ ,  $A$  ve  $A_p$ ) ile iklimsel (sıcaklık, yağış ve nispi nem) ve coğrafik veriler (yükseklik, enlem ve boylam) arasındaki ilişki Pearson'un korelasyon katsayısı ( $r_p$ ) hesaplandı.

Temel bileşenler analizi (TBA) (PCA: Principal Component Analysis) orijinal  $p$  değişkeninin varyans yapısını daha az sayıda ve bu değişkenlerin doğrusal bileşenleri olan yeni değişkenlerle ifade etme yöntemidir. Aralarında korelasyon bulunan  $p$

sayıda değişkenin açıkladığı yapıyı, aralarında korelasyon bulunmayan ve sayıca orijinal değişken sayısından daha az sayıda ( $p > k$ ) orijinal değişkenlerin doğrusal bileşenleri olan değişkenlerle ifade etme yöntemine temel bileşenler analizi denir. Veri matrisinde yer alan  $p$  değişkeninin doğrusal bileşenlerini bulmak için kovaryans matrisinin ya da korelasyon matrisinin öz değerleri (Eigen) ve öz vektörleri kullanılır. İncelenen popülasyonların sahip oldukları genetik yapıya ve çevresel bileşenlere göre uzaysal dağılımının görüntülenmesinde kullanılan alternatif bir yöntemdir. Pearson korelasyon matrisine göre değişken olarak  $H_e$ ,  $A$ ,  $A_p$  sıcaklık, yağış, rüzgar, yükseklik, enlem ve boylam verileri kullanılarak TBA yapıldı. Temel koordinatlar analizi (TKA) (PCoA: Principle Coordinate Analysis) sıklıkla filogenetik veya genetik uzaklık değerlerine göre örnek gruplarını karşılaştırmak için kullanılır. Temel bileşenler analizi ile aynı eşdeğer olarak görülse de iki analiz şekli birbirinden farklıdır. Temel bileşenler değişkenler arasındaki ilişkiyi araştırır ve bu ilişkiye göre kümelemeye gider. Değişken sayısı çok olduğunda tercih edilmelidir. Temel koordinatlar ise klasik boyutlandırma veya ağırlık hesaplama yöntemidir. TKA çok boyutlu metrik ölçekli metotlar kullanır. Bunun için örnekler arasındaki uzaklık (distance)/benzemezlik (dissimilarity) matris değerlerini kullanarak örnekleri grafik ekseninde yerleştirir. Grafik eksenlerinde iki örnek arasındaki uzaklık da işaretlenmiş olur. TKA yönteminin TBA yöntemine göre daha güçlü bir yöntem olduğu bazı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Chae ve Warde, 2006). Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki benzemezlik matris değerlerinden yararlanarak TBA hesaplandı ve popülasyonların grafik ekseninde uzaklıklarına göre coğrafik dağılımları görüntülendi.

Regresyon analizi aralarında sebep sonuç ilişkisi bulunan iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi belirlemek ve bu ilişkiyi kullanarak o konu ile ilgili tahminlerde ya da kestirimlerde bulunmak amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Regresyon analizi tek değişkenli ve çok değişkenli uygulanabilir. Tek değişkenlide bir bağımlı değişken ile bir bağımsız değişken arasındaki ilişki araştırılır. Çok değişkenli regresyon analizinde ise bir bağımsız değişken ile birden fazla bağımsız değişken arasındaki ilişki araştırılır. Regresyon karesi değeri ilişkinin düzeyini belirleyen sayısal değerdir. Bu çalışmada genetik verilerin değerleri ( $A$ ,  $A_p$  ve  $H_e$ ) ile eko-coğrafik faktörler (sıcaklık, yağış, nispi nem, yükseklik, enlem ve boylam)

arasındaki sebep sonuç ilişkisi araştırıldı. Genetik veriler bağımlı eko-coğrafik faktörler bağımsız değişken kabul edildi. Önce tekli regresyon analizi yapıldı ancak önemli bir sonuç elde edilmedi. Daha sonra çoklu regresyon analizi uygulandı.

Organizmalar arasında onların filogenetik ilişkilerini veya genetik benzerliklerinin derecesini gösteren ağaç dallarına benzer şekilde dendrogram denir. Düşey ekseninde gösterilen değerler zamanı gösterir veya göreceli gelişme (ilerleme) düzeyini gösterir.

Bu çalışmada Nei'nin (1978) genetik uzaklık ve genetik identi hesaplarına göre Ortalama Ağırlıksız Çiftli-Gruplama (Unweighted Pair-Group Average UPGMA) yöntemi kullanılarak bir dendrogram elde edildi. Morfolojik karakterlerin analizine göre Euclidean uzaklığı kullanılarak UPGMA yöntemine göre de bir dendrogram oluşturuldu.

Bu çalışmada tüm istatistiksel analizler XLSTAT versiyon (2012) kullanılarak Yrd. Doç. Dr. Özlem ÖZBEK tarafından yapıldı.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA:

##### 4.1. *I. glauca* Aucher ex Boiss. Alttürlerinin Teşhisi:

Çalışmada 2010-2011 yıllarında toplanan örnekler kullanıldı. 2010 örneklerinin çoğu doğru tür teşhisi sağlayacak meyve olgunluğunda toplanmadığı için morfolojik ve moleküler çalışmalar 2011 örnekleri üzerinde yapıldı. Popülasyon oluşturmak için yeterli örnek sayısı elde edilememekle beraber 2010 örnekleri de Prof. Dr. Şinasi Yıldırım ve Elçin Görgülü tarafından görsel olarak 2011 örnekleri ile karşılaştırılıp analiz edildi.



**Resim 4.1.** 2010 ve 2011 yıllarında Ankara/Ayaş lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. *I. glauca* subsp. *galatica* tip örneğine en yakın morfoloji gösteren örnek (a), subsp. *galatica*'da farklı bir meyve morfolojisi (b), subsp. *sivasica* tip örneğini andıran meyveler ve aynı zamanda polimorfizm örneği (c), subsp. *iconia* tip örneğini andıran meyveler (d) (Görgülü, 2011)

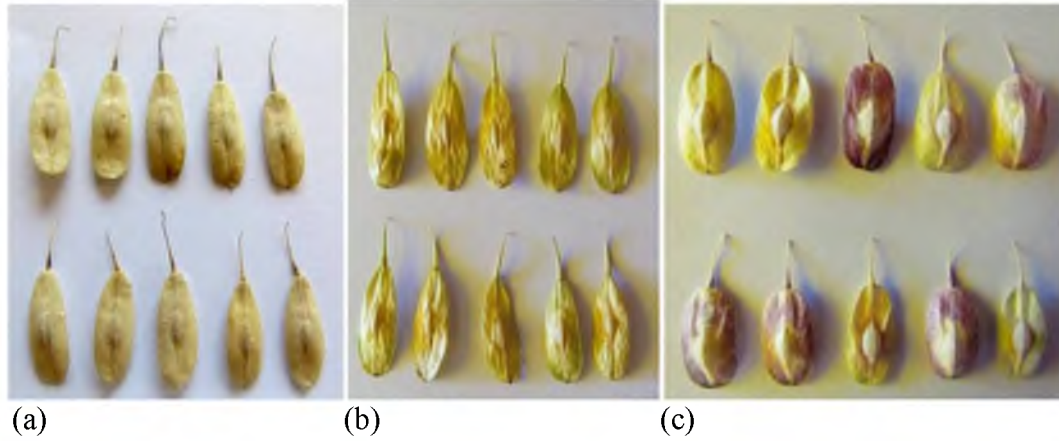
2010 ve 2011 yıllarında yapılan arazi çalışmasında Ankara/Ayaş lokasyonunda tipik *I. glauca* subsp. *galatica* örneklerine rastlandı [Resim 4.1 (a)]. Subspecies *galatica* tip örneğinde (Yıldırım, 1988) meyve şekli oblong olarak belirlenmiş olmasına rağmen toplanan örneklerde meyve morfolojisi oldukça yüksek çeşitlilik gösterdi [Resim 4.1 (b)]. Örneğin bu lokasyona ait bazı örnekler şaşırtıcı bir şekilde subsp. *sivasica* tip örneğini hatırlattı [Resim 4.1 (c)]. Aynı şekilde 2011 yılında toplanan bazı örnekler de subsp. *iconia* tip örneğini hatırlattı [Resim 4.1 (d)]. Subspecies *iconia* ve subsp. *sivasica*, subsp. *galatica*'nın varyasyonları olabilir. Aynı bireye ait meyvelerde bile meyve şekli ve meyve boyutu bakımından belirgin şekilde birinden diğerine farklılık gözlemlendi. Polimorfizm ve dimorfizm özelliği en çok bu alttürde kendini gösterdi. Diğer alttürler, ataları sayılabilecek subsp. *galatica*'dan farklılaşmış olabilir. Bu da gerçekleştirilecek moleküler çalışmalarımızla aydınlatılacaktır.

Ankara/Polatlı lokasyonundan 2011 yılında toplanan örnekler subsp. *galatica*'dan subsp. *glauca*'ya geçiş formu olarak değerlendirildi. Bu lokasyondan toplanan örnekler genel olarak subsp. *galatica*'daki gibi iri ve ovat-oblong meyve şekli gösterirken, lokulusun tüylü olması ile subsp. *glauca*'yı anımsattı (Resim 4.2).



**Resim 4.2.** 2011 yılında Ankara/Polatlı lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. Ovat meyve şekli (a) ve oblong meyve şekli (b) ile subsp. *galatica* lokulusun tüylü oluşu ile subsp. *glauca* arası geçiş formu teşkil eden meyveler (Görgülü, 2011)

Ankara/Gölbaşı lokasyonundan toplanan örneklerde subsp. *glauca*'nın yanısıra subsp. *glauca-galatica* geçiş formu teşkil eden bireyler tespit edildi. Bunlar ayrı popülasyon olarak değerlendirildi (Resim 4.3).



**Resim 4.3.** 2010 ve 2011 yıllarında Ankara/Gölbaşı lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. Tipik subsp. *glauca* örneği (a); dar oblong meyve şekli ile subsp. *glauca*, lokulusun tüysüz olması ile subsp. *galatica* geçiş formu (b), ve oblong meyve şekli ile subsp. *galatica*, lokulusun tüylü olması ile subsp. *glauca* geçiş formu (c) teşkil eden meyveler (Görgülü, 2011)

2011 yılında Ankara/Beytepe lokasyonundan toplanan örnekler subsp. *glauca* olarak teşhis edildi. Bununla birlikte bu lokasyondan toplanan örneklerde de hem subsp. *glauca* hem de subsp. *galatica* özelliği gösteren bireyler tespit edildi (Resim 4.4).

Bu çalışmada yalnızca Ankara/İncek lokasyonunda subsp. *exauriculata* tip örneğine benzeyen örnekler elde edildi (Resim 4.5). Ankara çevresindeki diğer lokasyonlarda da subsp. *exauriculata* olarak teşhis edilebilecek bireylere rastlandı, ancak bunlar popülasyon kabul edilebilecek sayıda değildi. Subspecies *exauriculata*, subsp. *glauca* ile aynı meyve morfolojisine sahiptir. Subsp. *exauriculata*'da gövde yaprakları kulakçiksızdır ya da kulakçık çok küçüktür (Bkz. Resim 3.1)



(a) (b)  
**Resim 4.4.** 2011 yılında Ankara/Beytepe lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. Meyve şekli ve tüylü lokulus ile tipik subsp. *glauca* örneği (a); tüylü lokulus ile subsp. *glauca*, ovat meyve şekli ile subsp. *galatica* geçiş formu (b) (Görgülü, 2011)

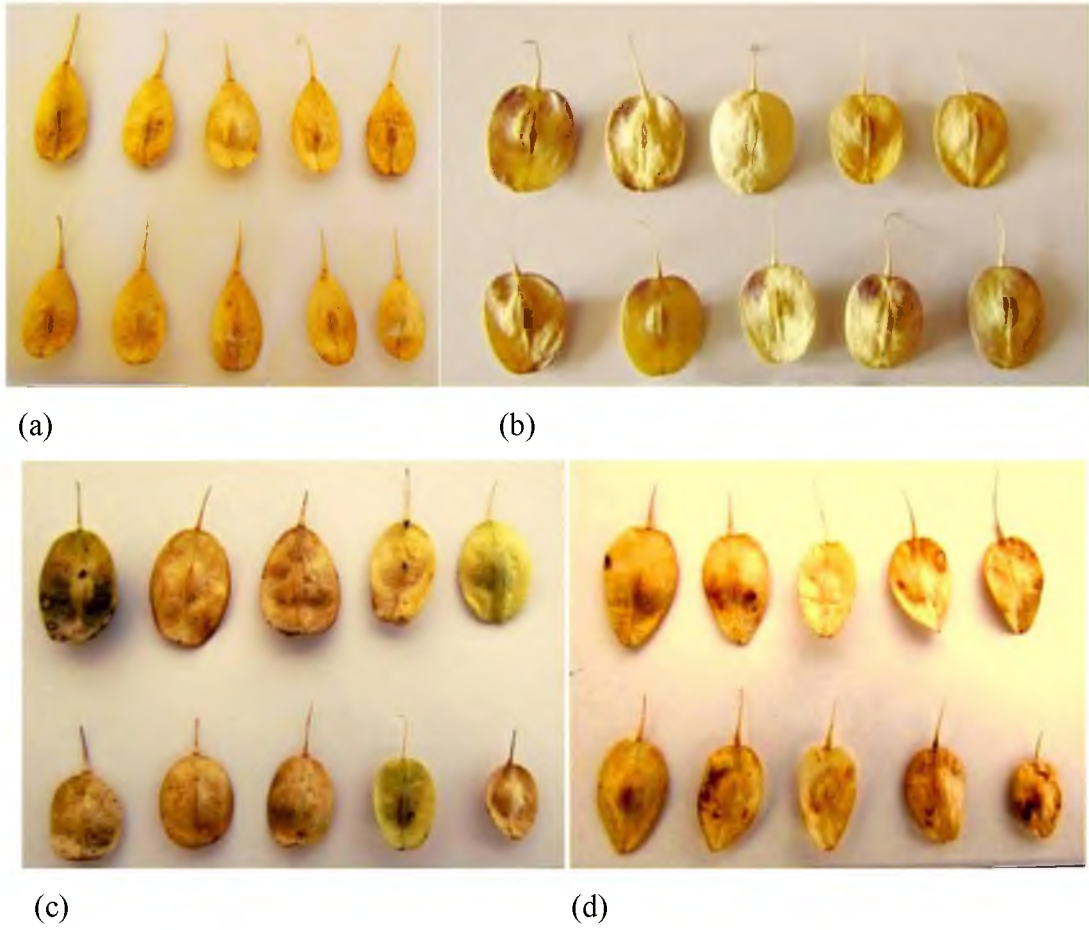


**Resim 4.5.** 2011 yılında Ankara/İncek lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri (Görgülü, 2011)

Konya lokasyonundan toplanan örnekler Ankara/Ayaş ile kıyaslandığında meyve boyutu küçük olarak tespit edildi (Resim 4.6). Bu durum iklim koşullarından



kaynaklanıyor olabilir. Sıcaklık arttıkça meyve boyutu da göreceli olarak küçülüyor olabilir. Bu lokasyonda çoğunlukla tipik obovat şekilli meyvelere rastlandı. 2010 yılında yapılan arazi çalışmasında tek bir bireyde subsp. *sivasica*'yı, yine tek bir bireyde subsp. *iconia* tip örneğini andıran meyveler tespit edildi. 2011 yılında yapılan arazi çalışmasında da subsp. *iconia* tip örneği tanımına uygun morfoloji gösteren tek bir birey tespit edildi. Bu durum subsp. *iconia*'nın, subsp. *galatica* içerisine dahil olabileceğini düşündürdü.



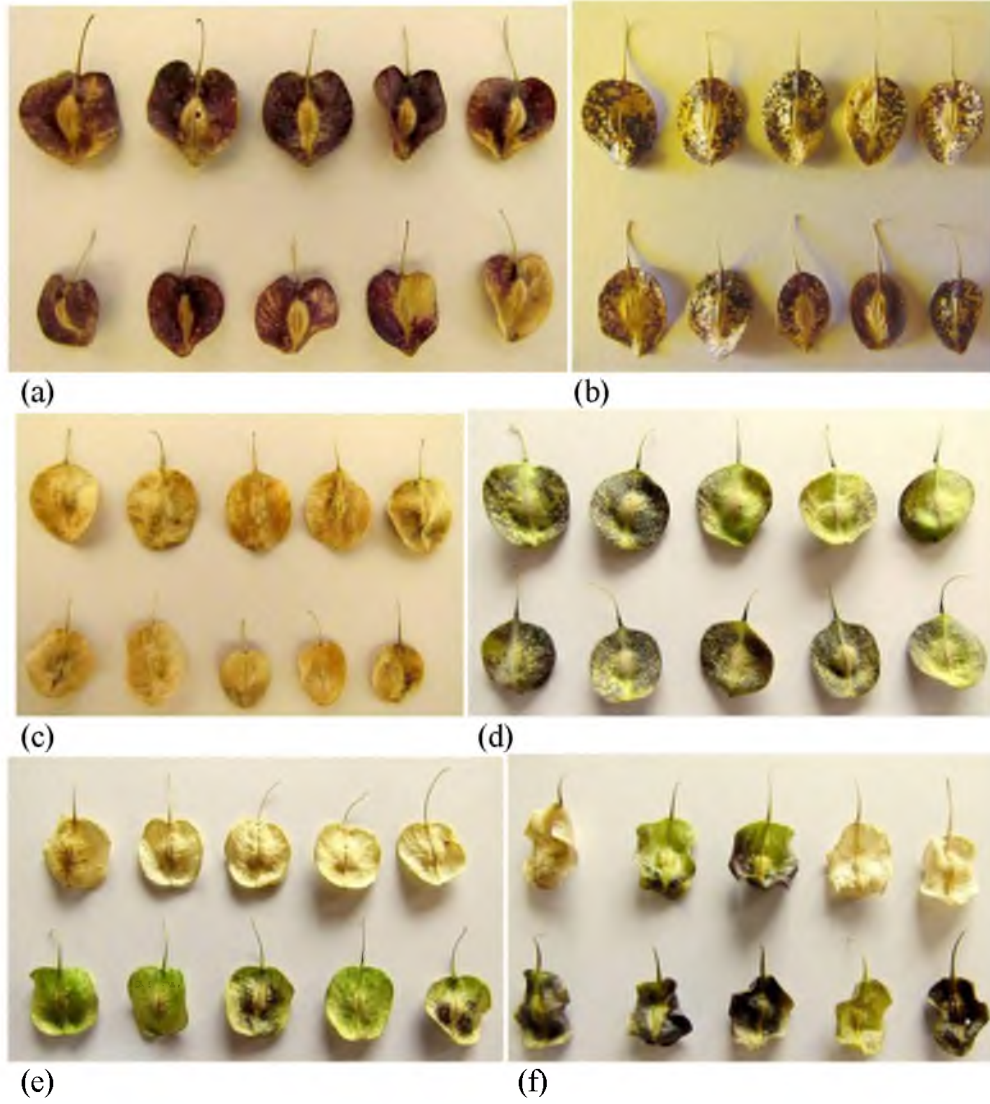
**Resim 4.6.** 2010 ve 2011 yılında Konya lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. Tipik subsp. *galatica* (a), subsp. *iconia* tip örneğine benzeyen (b) ve aynı zamanda polimorfizm gösteren meyveler (c) ve subsp. *sivasica* tip örneğine benzeyen meyveler (Görgülü, 2011)

2011 yılında Eskişehir lokasyonundan toplanan örnekler subsp. *galatica* meyve morfolojisine benzer meyve morfolojisi gösterdi (Resim 4.7).



**Resim 4.7.** 2011 yılında Eskişehir lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri (Görgülü, 2011)

2010 ve 2011 yıllarında Sivas lokasyonundan toplanan örnekler tipik kordat (yüreksi) şekli ve değişik renklenme biçimi ve bazı meyvelerde görülen ondüllenme özelliği ile ilk bakışta diğerlerinden ayrı bir popülasyon olabileceğini düşündürdü (Resim 4.8). Ancak Ankara/Ayaş [Resim 4.1 (c)] ve Konya [Resim 4.6 (d)] lokasyonlarından toplanan örnekler arasında subsp. *sivasica*'ya çok benzeyen bireyler tespit edildi. Aynı şekilde Sivas lokasyonundan toplanan örneklerin bazıları da subsp. *iconia* tip örneğine oldukça yakın morfoloji gösterdi. Bu durum bu örneklerin henüz türleşmediğini ve subsp. *sivasica*'nın subsp. *galatica*'ya ait bir varyete olabileceğini düşündürdü. Bu bireyler ondüllenme özelliği sayesinde bu kadar uzak bölgelere taşınmış olabilir. Bu türün yol boyu bitkisi olması da tohumlarının uzak mesafelere taşınmasını kolaylaştırır.



**Resim 4.8.** 2010 ve 2011 yıllarında Sivas lokasyonundan toplanan *Isatis glauca* örnekleri. Bir bireyden diğerine farklılık gösteren kendine özgü meyve desenleri ve kordat meyve şekli ile subsp. *sivasica* tip örneğine benzeyen meyveler (a) ve (b), yuvarlak meyve morfolojisi ile subsp. *iconia* tip örneğine benzeyen meyveler (c) ve (d), subsp. *iconia* tip örneğine benzeyen ve ondülleme gösteren meyveler (e) ve (f) (Görgülü, 2011)

Sonuç olarak Ankara çevresindeki lokasyonlarda morfolojik çeşitlilik ve alttürler arasında geçiş çok yüksek oranda görüldü. Ankara, *I. glauca*'nın gen merkezi olabilir. Merkezden uzaklaştıkça morfolojik karakterler de daha belirgin hal almakla birlikte alttürler arasında kesin bir sınır çizilemedi.

Meyve renklenmesi herhangi bir türe özgü olarak görülmedi ve tür içerisinde süreklilik göstermedi. Meyvelerdeki ve bitki gövdesindeki renklenmelerin nedeni toprağın kayaç yapısından kaynaklanıyor olabilir. *I. glauca* özellikle kireçli ve serpantinli toprakları tercih eden bir bitkidir. İç Anadolu bölgesinde bol miktarda bulunan bor minerali de bu renklenmenin nedeni olabilir. *Isatis* türleri ile yapılacak olan morfolojik karakterizasyon çalışmalarında bitkilerin toplandığı lokasyonlardaki toprak yapısının da incelenerek değerlendirilmesi gerekmektedir.

#### 4.2. Morfolojik Analiz Sonuçları:

Fenotipin ifadesi filogenetik geçmiş ve lokal çevreye adaptasyonun ürünüdür (MacLeod ve Forey, 2002). Popülasyonlar arasındaki morfolojik çeşitlilik ve coğrafik dağılım da aynı zamanda tür ve alttürlerin oluşumunda ön koşuldur (Losos ve Glor, 2003). İklimin etkilerini, coğrafik tarihi ve yeni taksonları oluşturan evrimsel dinamikleri göstermek için fito-coğrafik analizler kullanılabilir (Avisé ve ark., 1987; Templeton ve ark., 1995; Arbogast ve Kenagy 2001; Ellison ve ark., 2004).

**Çizelge 4.1.** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunda bitki uzunluğu ve bitki başına düşen dal sayısı (Kısaltmalar: PK Popülasyon kodu, N1 Morfometrik ölçümlerde kullanılan örnek sayısı, Min-Max Minimum- Maksimum, Ort Ortalama, SS Standart sapma, ve VK Varyasyon katsayısı)

PK	N 1	DS			BU		
		Min - Maks	Ort ± SS	VK (%)	Min-Maks	Ort ± SS	VK (%)
AA	10	14 - 34	20,60 ± 5,32	0,26	68-111	92,10 ± 15,30	0,17
AB	10	9 - 27	17,40 ± 5,83	0,34	88-155	124,60 ± 22,74	0,18
E	7	12 - 25	19,14 ± 4,14	<b>0,22</b>	78-124	93,29 ± 15,28	0,16
AG 1	10	9 - 24	18,50 ± 4,35	0,24	59-123	92,50 ± 19,01	<b>0,21</b>
AG 2	10	13 - 25	16,80 ± 3,99	0,24	72-119	84,00 ± 13,44	0,16
AI	9	11 - 32	18,67 ± 6,65	0,36	74-134	91,44 ± 17,39	0,19
K	10	10 - 35	23,00 ± 6,94	0,30	68-98	82,30 ± 10,10	<b>0,12</b>
AP	10	8 - 24	13,40 ± 4,81	0,36	69-111	86,80 ± 11,43	0,13
S	10	2 - 33	15,90 ± 13,62	<b>0,86</b>	41-103	81,80 ± 17,27	<b>0,21</b>

Morfolojik karakterler arasında DS, bütün popülasyonlar içinde en yüksek çeşitlilik katsayısını gösterdi. DS (Çizelge 4.1) bitki başına 2-33 oranıyla en yüksek varyasyon katsayısı (%86) S popülasyonunda gözlenirken, bitki başına 12-25 oranıyla en düşük varyasyon katsayısı (%22) E popülasyonunda gözlemlendi. Bunun nedenin örneklerin toplandığı Eskişehir'in iklim verileri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. İklimsel verilere bakıldığında (Çizelge 3.2) S popülasyonu en yüksek senelik ortalama yağış miktarına (YA= 40,14 mm) sahip bulundu ve senelik ortalama nispi nemi (NM=%61,91) nispeten yüksek bulundu. Aynı zamanda S popülasyonu bu çalışmadaki popülasyonlar arasında en fazla yükseklik değerine (YÜ= 1,420 m) sahip olarak belirlendi (Çizelge 3.1). Meyve ve tohumları tutan dallar bitkinin genetik mirasını yeni nesillere aktarmada rol alır. Bitki başına daha fazla dal sayısı daha fazla meyve demektir (Kızıl, 2006). Çevresel koşullar sert ve değişken hale geldiğinde bitkiler değişen koşullara cevap vermek için DS gibi değişken morfolojik karakter gelişimini teşvik ederek çeşitliliğe sahip olurlar. Diğer yandan Pearson korelasyon analizine göre (Çizelge 4.2) DS ile NM, YA, EN ve BO (sırasıyla  $r_p = -0,090$ ;  $p = 0,008$ ,  $r_p = -0,110$ ;  $p = 0,001$ ;  $r_p = 0,097$   $p = 0,008$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında negatif korelasyon görülürken, DS ile BO ( $r_p = 0,169$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında pozitif korelasyon görüldü.

Daha önce Kızıl (2006) tarafından yapılmış bir çalışmada bazı yabani ve kültüre edilmiş *Isatis* türleri arasında en değişken morfolojik karakter bitki uzunluğu olarak rapor edilmesine rağmen bu çalışmada bitki uzunluğu en fazla değişkenlik gösteren karakter olarak bulunmadı. Bunun nedeni muhtemelen bu çalışmada sadece *I. glauca* alttürlerine ait örnekler çalışılmış olmasıdır. BU, 68-98 cm oranı ile en düşük varyasyon katsayısını (%12) K popülasyonunda gösterirken, 59-123 ve 41-103 cm oranları ile en yüksek varyasyon katsayısını (her ikisi için de %21) AG1 ve S popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.1). Pearson korelasyon analizine göre (Çizelge 4.2) BU, SI, YA, EN ve BO (sırasıyla  $r_p = -0,103$   $p = 0,002$ ,  $r_p = -0,185$   $p = 0,00$ ,  $r_p = -0,201$   $p = 0,00$  ve  $r_p = -0,232$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile negatif korelasyon gösterirken, NM ve YÜ (sırasıyla  $r_p = 0,154$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,241$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile pozitif korelasyon gösterdi. Eko-coğrafik koşullar bitki uzunluğunu etkiliyor olabilir. Olumsuz çevresel koşullar bitki uzunluğunu değişken durumlara karşı adapte edecek şekilde çeşitlendiriyor.

Çalışmada aynı zamanda BU ve DS ( $r_p = 0,261$ ;  $p = 0,008$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi. Yüksek bitki uzunluğu, bitki başına daha fazla alan ve daha fazla dal sayısı demektir.

**Çizelge 4.2.** Ortalama morfolojik değerler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki Pearson korelasyon katsayıları (SI Sıcaklık, NM Nispi nem, YA Yağış, YÜ Yükseklik, EN Enlem, BO Boylam, DS Dal sayısı, BU Bitki uzunluğu, GBÇ Gövde bazal çap, GMCÇ Gövde median çap, GAÇ Gövde apikal çap, MU Meyve uzunluğu, MG meyve genişliği, MSU Meyve sap uzunluğu,  $r_p$  Pearson korelasyon katsayısı)

		SI	NM	YA	YÜ	EN	BO
DS	$r_p$	0,037	-0,090**	-0,110**	-0,035	-0,097**	0,169**
	$p$	0,282	0,008	0,001	0,312	0,004	0,000
BU	$r_p$	-0,103**	0,154**	-0,185**	0,241**	-0,201**	-0,232**
	$p$	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GBÇ	$r_p$	0,156**	0,031	0,043	-0,175**	0,204**	-0,030**
	$p$	0,000	0,365	0,211	0,000	0,000	0,380
GMCÇ	$r_p$	0,128**	0,052	-0,106**	-0,218**	0,210**	0,019
	$p$	0,000	0,125	0,002	0,000	0,000	0,580
GAÇ	$r_p$	-0,020	0,099**	-0,191**	-0,139**	0,119**	0,014
	$p$	0,561	0,004	0,000	0,000	0,000	0,682
MU	$r_p$	-0,572**	0,062**	-0,395**	0,096**	0,326**	-0,561**
	$p$	0,000	0,070	0,000	0,005	0,000	0,000
MG	$r_p$	0,270**	0,263**	0,524**	0,262**	-0,405**	0,226**
	$p$	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MSU	$r_p$	-0,164**	0,150**	-0,111**	0,123**	0,028	-0,191**
	$p$	0,000	0,000	0,001	0,000	0,405	0,000

Bu çalışmada Pearson korelasyon analizine göre meyvenin tüm morfolojik karakterleri ile eko-coğrafik faktörler arasında korelasyon olmasına rağmen gövdenin morfolojik karakterleri ile karşılaştırıldığında çok değişkenlik göstermektedirler. Pearson korelasyon analizine göre MU, YÜ ve EN (sırasıyla  $r_p = 0,096$ ;  $p = 0,005$  ve  $r_p = 0,326$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında pozitif korelasyon gösterirken SI, YA ve BO (sırasıyla  $r_p = -0,572$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = -0,395$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = -0,561$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında negatif korelasyon gösterdi (Çizelge 4.2).

Hornung-Leoni ve Sosa (2006) tarafından yapılan bir çalışmada birtakım coğrafik bölgelerdeki bazı angiosperm grupları için yükseklik ve bitki boyu arasında

korelasyon rapor edildi. Yükseklik arttıkça farklı taksonlar için bitki boyutları da artmaktadır. Örneğin Venezuela Ant dağlarındaki *Espeletia* (*Asteraceae*)’da yükseklik arttıkça uzun bitki formlarının kısa bitki formları ile yer değiştirdiği ifade edilmektedir. Benzer bir durum da yüksek rakımlarda devasa bireyler oluşturan *Lobelia* (*Lobeliaceae*) ve *Senecio* (*Asteraceae*) gibi taksonların bulunduğu Afroalpin florasında meydana geliyor (Mabberley, 1972; Hornung-Leoni ve Sosa, 2006). Bu durum bu çalışmada elde edilen sonuçlarla da uyumluluk gösterdi. *I. glauca* popülasyonlarında yüksek rakımlarda uzun bitki boyu gözlemlendi.

Üçüncü değişken karakter olan GBÇ 5,89-10,13 cm oranıyla en düşük varyasyon katsayısını (%19) AG2 popülasyonunda gösterirken, 6,35-17,72 cm oranıyla en yüksek varyasyon katsayısını (%44) E popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.3). GBÇ bitkiyi toprağa bağlayan, köke oldukça yakın bir kısımdır. Dolayısıyla GBÇ’in güçlü olması kökün de güçlü olmasını sağlar ve bu da bitkiyi rüzgar erozyon gibi çevresel etkenlere karşı güçlü kılar.

**Çizelge 4.3.** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunda gövde bazal çap (GBÇ) ve gövde median çap (GMÇ) değerleri (Kısaltmalar için Bkz. Çizelge 4.1)

PK	GBÇ				GMÇ		
	N1	Min - Maks	Ort ± SS	VK (%)	Min-Maks	Ort ± SS	VK (%)
AA	10	4,91 - 11,34	7,52 ± 1,82	0,24	4,18 - 8,7	5,93 ± 1,27	<b>0,21</b>
AB	10	1,67 - 14,9	7,96 ± 3,31	0,42	3,42 - 10,92	5,30 ± 2,16	0,41
E	7	6,35 - 17,72	9,20 ± 4,00	<b>0,44</b>	5,04 - 9,92	6,50 ± 1,60	0,25
AG1	10	6,99 - 15,24	10,24 ± 2,58	0,25	4,46 - 11,83	7,51 ± 2,26	0,30
AG2	10	5,89 - 10,13	8,20 ± 1,55	<b>0,19</b>	3,07 - 8,43	5,75 ± 2,02	0,35
AI	9	5 - 11,5	8,51 ± 2,07	0,24	4,77 - 8,3	6,13 ± 1,32	0,22
K	10	3,96 - 9,33	6,89 ± 1,52	0,22	2,61 - 7,77	5,16 ± 1,49	0,29
AP	10	4,02 - 10,05	7,31 ± 1,85	0,25	2,95 - 6,9	4,32 ± 1,18	0,27
S	10	4,28 - 13,14	8,65 ± 3,21	0,37	1,86 - 9,42	5,19 ± 2,65	<b>0,51</b>

GMÇ, 4,18-8,7 cm oranı ile en düşük varyasyon katsayısını (%21) popülasyon AA’da gösterirken, 1,86-9,42 cm oranı ile en yüksek varyasyon katsayısını (%41) popülasyon S’de gösterdi (Çizelge 4.3). Pearson korelasyon analizine göre (Çizelge 4.2) GMÇ, YA ve YÜ (sırasıyla  $r_p = -0,106$ ;  $p = 0,002$  ve  $r_p = -0,218$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile negatif korelasyon gösterirken SI ve EN (sırasıyla  $r_p = -0,106$ ;  $p = 0,002$  ve  $r_p = -0,218$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile pozitif

korelasyon gösterdi. S popülasyonu en yüksek rakım (1420 m) ve yağışa (yıllık ortalama 40,14 mm) sahip olarak tespit edildi. Diğer yandan nispeten düşük sıcaklığa (yıllık ortalama 22,63 °C) sahip olarak tespit edildi. Çivit otu bodur bir bitkidir ve kırılğan gövde ve dallara sahiptir. Yüksek rakımlarda sıcaklık daha düşük ve hava çoğu zaman rüzgarlı olur. Diğer yandan yüksek yağış miktarı bitkinin kök ve dallarında nemlenmeye neden olur. Bu da bitkinin gövde ve dallarında kırılma ya da parazitlere maruz kalma gibi fiziksel hasarlara yol açabilir. Sonuç olarak bitki zorlu çevresel koşullara karşı morfolojik değişikliklerle cevap verir.

Pearson korelasyon analizine göre (Çizelge 4.2) GBÇ, SI ve EN (sırasıyla  $r_p = 0,156$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,204$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile pozitif korelasyon gösterirken YÜ ( $r_p = -0,175$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile negatif korelasyon gösterdi. Yüksek rakımlarda yüzeydeki verimli toprak tabakası azalır ve sonuç olarak bu da bitkinin toprağa sağlam bir şekilde bağlanmasını olumsuz etkiler. GBÇ ile YÜ arasında negatif korelasyon olmasına rağmen yalnızca tek bir çevresel faktöre göre karar verilemez. Morfolojik çeşitlilikte diğer çevresel faktörlerin yanı sıra toprak yapısı da etkili oluyor olabilir.

GAÇ 1,52-2,33 cm oranıyla en düşük varyasyon katsayısını (%12) AI popülasyonunda gösterirken 1,2-2,65 cm ve 1,38-3,66 cm oranı ile en yüksek varyasyon katsayısını (her biri için %32) AG1 ve E popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.4). Pearson korelasyon analizine göre GAÇ, NM ve EN (sırasıyla  $r_p = 0,099$ ;  $p = 0,004$  ve  $r_p = 0,119$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile pozitif korelasyon gösterirken YA ve YÜ (sırasıyla  $r_p = -0,191$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = -0,139$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) ile negatif korelasyon gösterdi (Çizelge 4.2). Bitkinin uç kısmı apikal meristemi içeren büyüme konisini içerir. Bitkinin bu kısmı çevresel koşullara özellikle neme karşı oldukça duyarlıdır. Nemdeki düşüş apikal kısmın kurumasına ve dolayısıyla diğer kısımların da kurumasına neden olur. Bu nedenle bitki büyürken apikal kısmı taze tutmak için havanın nemli olmasına ihtiyaç duyabilir. Ancak AG1, E ve S popülasyonları bitkileri negatif etkileyen yüksek rakıma ve yüksek yağış miktarına sahiptir. Dolayısıyla bu tür lokasyonlardaki bitkilerin bu karakterler bakımından daha fazla çeşitliliğe sahip olmaları doğaldır.



**Çizelge 4.4.** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunda gövde apikal çap (GAÇ) ile meyve uzunluğu (MU) ilişkisi (Kısaltmalar için bkz. Çizelge 4.1)

PK	GAÇ				MU		
	N1	Min - Maks	Ort ± SS	VK	Min-Maks	O ± SS	VK
AA	10	1,39 - 2,92	1,91 ± 0,57	0,30	12,67 - 21,03	14,53 ± 2,53	<b>0,17</b>
AB	10	1,16 - 2,71	1,78 ± 0,53	0,30	14,77 - 21,56	17,34 ± 2,12	0,12
E	7	1,2 - 2,65	1,60 ± 0,51	<b>0,32</b>	13,78 - 18,89	15,49 ± 1,87	0,12
AG1	10	1,38 - 3,66	2,19 ± 0,71	<b>0,32</b>	12,64 - 19,19	16,35 ± 2,24	0,14
AG2	10	1,09 - 2,69	1,55 ± 0,48	0,31	14,84 - 18,82	17,45 ± 1,34	<b>0,08</b>
AI	9	1,52 - 2,33	1,94 ± 0,24	<b>0,12</b>	12,74 - 21,64	17,33 ± 3,01	<b>0,17</b>
K	10	1,27 - 2,32	1,68 ± 0,28	0,17	9,41 - 17,36	13,54 ± 2,21	0,16
AP	10	1,09 - 2,25	1,55 ± 0,35	0,23	18,9 - 29,1	22,35 ± 3,18	0,14
S	10	1,39 - 2,92	1,91 ± 0,57	0,30	10,25 - 14,83	12,07 ± 1,39	0,12

MU, 12,67-21,03 cm ve 12,74 - 21,64 cm oranıyla en yüksek varyasyon katsayısını (%17) AA ve AI popülasyonlarında gösterirken, 14,84 - 18,82 cm oranıyla en düşük varyasyon katsayısını (%8) AG2 popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.4). Pearson korelasyon analizine göre MU ile YÜ ve EN arasında (sırasıyla  $r_p = 0,096$ ;  $p = 0,005$  ve  $r_p = 0,326$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) pozitif korelasyon gözlenirken, MU ve SI, YA ve BO arasında (sırasıyla  $r_p = -0,572$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = -0,395$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = -0,561$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) negatif korelasyon gözlemlendi (Çizelge 4.2).

MG, 7,16-15,57 cm oranıyla en yüksek varyasyon katsayısını (%24) S popülasyonunda gösterirken, 6,25-7,44 cm oranıyla en düşük varyasyon katsayısını (%7) E popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.5). Pearson korelasyon analizine göre MG ile SI, NM, YA, YÜ ve BO (sırasıyla  $r_p = 0,270$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = 0,263$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = 0,524$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = 0,262$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,226$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında pozitif korelasyon gözlenirken, MG ve EN ( $r_p = -0,405$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında negatif korelasyon gözlemlendi (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.5.** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunda meyve genişliği (MG) ve meyve sap uzunluğu (MSU) ilişkisi (Kısaltmalar için Bkz. Çizelge 4.1)

PK	MG				MSU		
	N	Min – Maks	Ort ± SS	VK	N	Min - Maks	VK
AA	10	6,15 - 10,79	8,89 ± 1,60	0,18	6,92 - 11,28	8,70 ± 1,38	0,16
AB	10	5,5 - 7,23	6,50 ± 0,59	<b>0,09</b>	6,28 - 9,21	7,96 ± 1,01	0,13
E	7	6,25 - 7,44	6,67 ± 0,46	0,07	7,61 - 9,28	8,50 ± 0,63	0,07
AG1	10	4,91 - 6,52	5,92 ± 0,67	0,11	6,6 - 9,13	7,98 ± 0,87	0,11
AG2	10	5,8 - 8,07	7,01 ± 0,63	<b>0,09</b>	6,59 - 10,46	8,64 ± 1,35	0,16
AI	9	4,65 - 6,78	5,85 ± 0,67	0,11	7,05 - 9,11	7,75 ± 0,64	0,08
K	10	5,59 - 8,67	7,04 ± 1,04	0,15	5,92 - 11,05	7,68 ± 1,40	0,18
AP	10	5,74 - 10,29	7,90 ± 1,62	0,20	6,68 - 10,47	8,86 ± 1,33	0,15
S	10	7,16 - 15,57	10,25 ± 2,41	<b>0,24</b>	6,48 - 9,46	7,84 ± 0,88	0,11

MSU 5,92-11,05 cm oranı ile en yüksek varyasyon katsayısını (%18) K popülasyonunda gösterirken 7,61-9,28 cm oranı ile en düşük varyasyon katsayısını (%7) E popülasyonunda gösterdi (Çizelge 4.5). Pearson korelasyon analizine göre MSU ile NM ve YÜ (sırasıyla  $r_p = 0,150$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,123$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında pozitif korelasyon gözlenirken, MSU ile SI, YA ve BO (sırasıyla  $r_p = -0,164$ ;  $p = 0,005$ ,  $r_p = -0,111$ ;  $p = 0,001$  ve  $r_p = -0,191$ ;  $p = 0,00$   $p < \%1$  önemlilik derecesinde) arasında negatif korelasyon gözlemlendi (Çizelge 4.2). Meyve sapı meyveyi dala bağlar. Yüksek sıcaklık meyve sapını daha kuru ve kolayca kırılabilir hale getirir. Şiddetli yağış da aynı sonucu doğurabilir. Dolayısıyla meyve sapı çevre koşullarına karşı iyi adapte olabilmek için varyasyon geliştirmiş olabilir. Yüksek sıcaklık ortalaması (yıllık 24,38 °C) K popülasyonunun bu karakter bakımından neden yüksek çeşitlilik gösterdiğini açıklayabilir.

Bitki morfolojisinde coğrafik varyasyonlar bireysel olarak bir türün biyocoğrafik tarihinde, popülasyonlar arasında evrimleşme, genetik çeşitlilik ve yerel çevre koşullarına gösterdiği tepkilerdeki fenotipik varyasyonun bir fonksiyonudur (Ellison ve ark., 2004). Yaprak şekli gibi karakterler genetik olarak zorlanırlar, (Thompson 1991; Schlichting ve Pigliucci 1998; Ellison ve ark., 2004) aynı zamanda içinde yetiştikleri çevresel koşullar tarafından büyük ölçüde etkilenebilirler.

Bu çalışmada düşük meyve uzunluğu değerleri stresin etkisini göstermektedir. Meyveler teşhiste kullanıldığı için *I. glauca* alttürlerinin önemli bir parçasıdır.

Dolayısıyla meyve şekli üzerine abiyotik etkilerin ihmal edilebileceği sonucuna varılamaz. Kuraklık, tohumu korumak için meyve genişliğini azaltıp meyveyi kalın hale getirmiş olabilir. Muhtemelen bu durum çevreye karşı bir adaptasyondur. Yüksekliğe ve sıcaklığa yanıt olarak meyveler de yapraklar gibi boyut değiştirebilirler (Niinemets ve ark., 2006).

Bu çalışmada morfolojik karakterler, birbirleri üzerine etkilerini göstermek için Pearson korelasyon analizine göre ilişkilendirildiler (Çizelge 4.6). Morfolojik karakterler içinde DS ile GBC, GMC ve GAÇ (sırasıyla  $r_p = 0,418$ ;  $p = 0,00$ ,  $r_p = 0,667$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,255$ ;  $p = 0,00$   $p < \%5$  önemlilik derecesinde) arasında önemli düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi. Bitki gövdesi dalları taşır. Dolayısıyla gövdenin farklı kısımlarının çapı bitkiyi rüzgar ve yağmur gibi çevresel etkenlere karşı dirençli kılar. Fazla dal sayısı aynı zamanda çok sayıda meyve ve tohumu taşımaya destekler (Kızıl, 2006). Sonuç olarak doğal populasyonlarda çok sayıda tohum nesli devam ettirmek için bir adaptasyon olabilir. Diğer yandan GAÇ ile GBC ve GMC (sırasıyla  $r_p = 0,553$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = 0,557$ ;  $p = 0,00$   $p < \%5$  önemlilik derecesinde) arasında yüksek düzeyde pozitif korelasyon gözlemlendi, LO ile MŞ ve MU (sırasıyla  $r_p = -0,467$ ;  $p = 0,00$  ve  $r_p = -0,462$ ;  $p = 0,00$   $p < \%5$  önemlilik derecesinde) arasında negatif korelasyon gözlemlendi.

Bitkiyle ilişkili morfolojik karakterler taksonların potansiyel farklılıklarını bulmak için karşılaştırıldı. Bitkilerin yapısı ve şeklinde belirgin şekilde morfolojik çeşitlilik olduğu gözlemlendi. Varyasyonlar gelişme dönemlerinde, çevresel etkiler ve organların gelişimsel pozisyonlarından etkilenmektedir. Bitki gelişimi, bitki fizyolojisi ve bitki anatomisi analizini içeren bir süreçtir. Çevre, bitkinin büyüme ve olgunlaşma süreci üzerinde etkilidir. Evrim devam ettikçe daha çok bitki formları araştırılacak ve insanlara faydaları görülmeyecektir. Bitki morfolojisine göre belirlenebilmeleri için kayıt altına alınacaklardır (Ellison ve ark., 2004).

**Çizelge 4.6** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunda morfolojik karakterler arasındaki ilişkiyi gösteren Pearson korelasyon analizi değerleri

		DS	BU	GBÇ	GMÇ	GAC	MU	MG	MSU	MŞ	MBŞ	MAŞ	LO	MR	O	AD
DS	$r_p$	1														
	P															
BU	$r_p$	0,261**	1													
	P	0,00														
GBÇ	$r_p$	0,418**	0,293**	1												
	P	0,00	0,00													
GMÇ	$r_p$	0,667**	0,272**	0,796**	1											
	P	0,00	0,00	0,00												
GAC	$r_p$	0,255**	0,197**	0,553**	0,557**	1										
	P	0,00	0,00	0,00	0,00											
MU	$r_p$	-0,197**	0,16**	0,076*	-0,075*	0,09**	1									
	P	0,00	0,00	0,026	0,028	0,008										
MG	$r_p$	-0,225**	-0,253**	-0,121**	-0,242**	-0,195**	-0,082*	1								
	P	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,016									
MSU	$r_p$	-0,153**	0,02	-0,008	-0,062	-0,032	0,338**	0,092**	1							
	P	0,00	0,563	0,805	0,071	0,349	0,00	0,007								
MŞ	$r_p$	-0,031	0,248**	0,166**	0,151**	0,189**	0,111**	-0,201**	-0,106**	1						
	P	0,362	0,00	0,00	0,00	0,00	0,001	0,00	0,002							
MBŞ	$r_p$	0,081*	-0,052	0,036	0,074*	0,116**	0,069*	-0,061	-0,084*	0,257**	1					
	P	0,018	0,127	0,289	0,03	0,001	0,042	0,075	0,013	0,00						
MAŞ	$r_p$	0,061	-0,159**	-0,078*	-0,048	-0,159**	-0,02	0,194**	0,088**	-0,243**	0,07*	1				
	P	0,076	0,00	0,022	0,156	0,00	0,548	0,00	0,01	0,00	0,041	0,00				
LO	$r_p$	0,183**	-0,299**	-0,16**	-0,041	-0,069*	-0,462**	0,328**	0,01	-0,467**	0,053	0,328**	1			
	P	0,00	0,00	0,00	0,228	0,044	0,00	0,00	0,778	0	0,12	0,00				
MR	$r_p$	-0,063	-0,122**	-0,115**	-0,123**	-0,03	-0,117**	0,302**	0,013	-0,268**	-0,04	0,156**	0,187**	1		
	P	0,067	0,00	0,001	0,00	0,387	0,001	0,00	0,71	0,00	0,247	0,00	0,00			
O	$r_p$	0,071*	-0,008	0,148**	0,045	0,066	-0,187**	0,153**	-0,135**	0,042	-0,118*	-0,045	0,142**	0,059	1	
	P	0,037	0,824	0,00	0,184	0,053	0,00	0,00	0,00	0,215	0,001	0,191	0,00	0,084		
AD	$r_p$	-0,178**	-0,159**	0,141**	0,017**	-0,019	0,155**	-0,139**	0,059	0,085*	-0,109**	-0,089**	-0,247**	-0,043	-0,065	1
	P	0,00	0,00	0,00	0,626	0,586	0,00	0,00	0,081	0,013	0,001	0,009	0,00	0,203	0,056	
	N	860	860	860	860	860	860	860	860	860	860	860	860	859	860	860

\*\* $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$

Bir organizmanın fenotipi onun genotipinin çevreyle birlikte ifade edilmesidir. Bu çalışmada eko-coğrafik faktörlerin morfolojik çeşitliliğe etkisini tespit etmek amacıyla çoklu regresyon (ÇR) uygulandı (Çizelge 4.7). ÇR analizi sonuçları YÜ, EN, BO, SI, NM ve YA kombinasyonunun morfolojik karakterlerin varyasyonu üzerine dikate değer oranda etkisi olduğunu gösterdi. ÇR analizine göre eko-coğrafik faktörlerin (YÜ, EN, BO, SI, NM ve YA) etkileri birlikte değerlendirildiğinde morfolojik karakterlerin (DS, BU, GBC, GMC, GAÇ, MU, MG) varyasyonu üzerinde önemli etkilere sahiptirler. Regresyon ( $R^2$ ) katsayısı değerleri sırasıyla %97,8, %81,10, %64,8,%71, %94,5, %90,7, %66,6. ÇR sonuçları eko-coğrafik faktörlerin İç Anadolu bölgesi *I. glauca* popülasyonları üzerine dikkate değer oranda etkilerinin olduğunu gösterdi.

**Çizelge 4.7.** *Isatis glauca* popülasyonlarının regresyon analizi (Kısaltmalar: Bağımlı değişken BD, Bağımsız değişken BZD, Regresyon katsayısı  $R^2$ , standart hata Std. Hata)

BD	$R^2$	Std. Hata	BZD
DS	0,978	0,895	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
BU	0,810	11,426	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
GBC	0,684	1,144	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
GMC	0,710	1,032	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
GAÇ	0,567	0,324	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
MU	0,945	1,391	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
MG	0,907	0,900	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA
MSU	0,666	0,532	YÜ, EN, BO, SI, NM, YA

Morfolojik çeşitliliğin uzaysal dağılımını görüntülemek için yapılan TBA ile morfolojik varyasyonun %92'sini gösteren beş temel bileşen oluşturdu (Çizelge 4.8). MU, MG, YÜ, BO ve YA kombinasyonundan oluşan ilk bileşen varyasyonun %29,73'ünü gösterirken GBC, GMC, GAÇ ve MSU kombinasyonundan oluşan ikinci bileşen varyasyonun %27,16'sını gösterdi. DS ve NM kombinasyonundan oluşan üçüncü bileşen varyasyonun %14,76'sını açıkladı. Bununla birlikte EN ve BU kombinasyonundan oluşan dördüncü ve beşinci bileşenler sırasıyla varyasyonun

%12,47'sini ve %7,88'ini açıkladı. Temel bileşenler faktörlerine değişkenlerin katkı oranları Çizelge 4.9'da verildi.

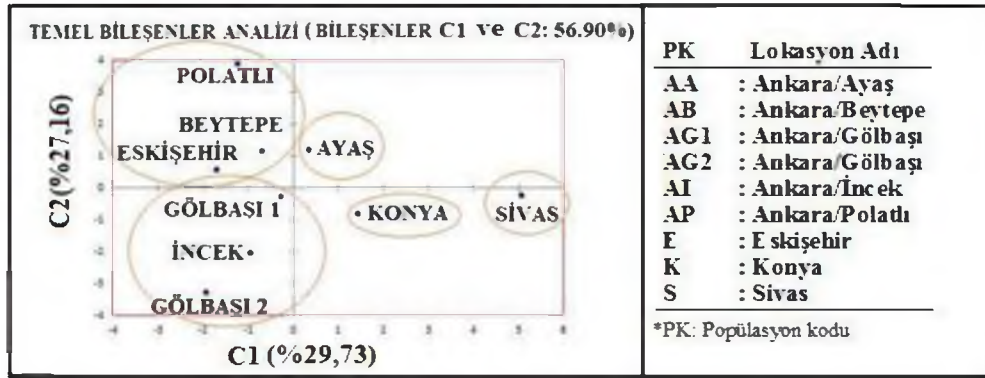
**Çizelge 4.8.** Morfolojik karakterlerin bilgisayar ölçümleri ile TBA tarafından elde edilen Eigen değeri , çeşitlilik (%) kümülatif (katlanmış) çeşitlilik (%) değerleri (Kısaltmalar: Bileşen B)

	B1	B2	B3	B4	B5
Eigen değeri	4,163	3,803	2,066	1,746	1,103
Varyasyon (%)	29,734	27,164	14,756	12,471	7,881
Kümülatif varyasyon %	29,734	56,898	71,654	84,125	92,006

**Çizelge 4.9.** Temel bileşenler faktörlerine değişkenlerin katkı oranları (Koyu renkle gösterilen değerler değişkenin en fazla katkısının olduğu bileşeni ifade etmektedir (Kısaltmalar: Faktör F).

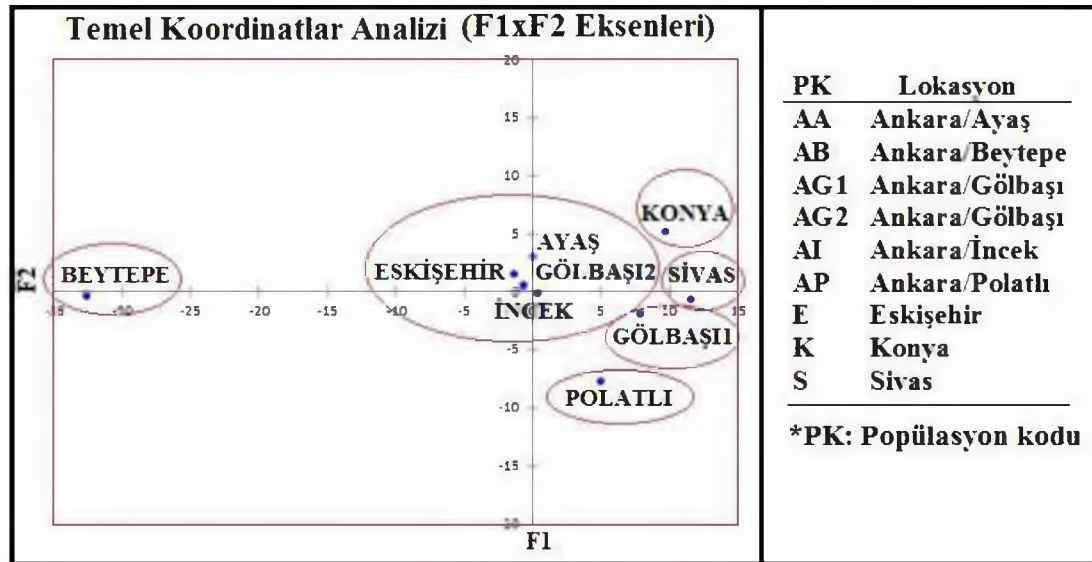
Değişken	F 1	F 2	F3	F 4	F 5
DS	0,031	0,172	<b>0,581</b>	0,046	0,157
BU	0,147	0,019	0,222	0,149	<b>0,409</b>
GBÇ	0,114	<b>0,380</b>	0,123	0,208	0,019
GMÇ	0,270	<b>0,517</b>	0,002	0,123	0,044
GAÇ	0,288	<b>0,322</b>	0,081	0,083	0,006
MU	<b>0,455</b>	0,217	0,155	0,032	0,041
MG	<b>0,657</b>	0,170	0,016	0,079	0,061
MSU	0,139	<b>0,445</b>	0,092	0,039	0,231
SI	0,001	<b>0,649</b>	0,183	0,058	0,001
NM	0,258	0,207	<b>0,476</b>	0,039	0,005
YA	<b>0,520</b>	0,288	0,024	0,029	0,012
YÜ	<b>0,475</b>	0,330	0,017	0,120	0,009
EN	0,003	0,077	0,003	<b>0,708</b>	0,064
BO	<b>0,805</b>	0,011	0,089	0,033	0,045

Popülasyonların morfolojik ve eko-coğrafik veriler arasındaki Pearson korelasyonu temelli (tek kuyruk) temel bileşenler analizine (Şekil 4.1) göre dağılımının yapılmasına rağmen bu popülasyonların dağılımı orijinal coğrafik dağılımlarıyla uyumluluk gösterdi. Gölbaşı 1 (AG1), Gölbaşı 2 (AG2) ve İncek (AI) popülasyonları birbirlerine yakın gruplanma gösterirken Ayaş (AA), Beytepe (AB), Polatlı (AP) ve Eskişehir (AE) popülasyonları da kendi aralarında yakın bir şekilde gruplanma gösterdiler. Konya (K) ve Sivas (S) popülasyonu coğrafik olarak diğer popülasyonlara ve birbirlerine uzak ilişkili bulundu.



**Şekil 4.1.** Temel bileşenler analizine göre popülasyonların uzaysal dağılımı

Benzemezlilik matrisine göre heaplanan TKA'ya göre popülasyonların F1 ve F2 eksenlerine göre dağılımı Şekil 4.2'de verildi. Grafiğe göre Gölbaşı 2 (AG2), İncek (AI), Ayaş (AA) ve Eskişehir (E) popülasyonları birbirlerine yakın dağılım gösterirken, Gölbaşı 1 (AG1), Beytepe (AB), Konya (K), Polatlı (AP) ve Sivas (S) birbirlerine ve diğer popülasyonlara uzak bir dağılım gösterdi. Dokuz *I. glauca* popülasyonunun yedi morfolojik karaktere göre elde edilen benzemezlilik matrisi ile hesaplanan TKA tarafından elde edilen Eigen değeri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon (%) Çizelge 4.10'da verildi.



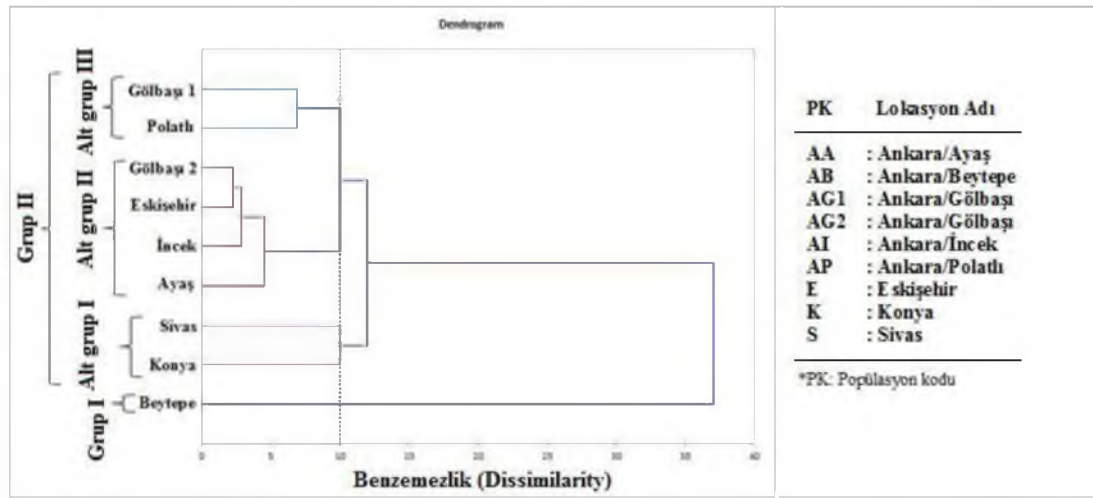
**Şekil 4.2.** Benzemezlilik matrisine göre hesaplanan TKA'ya göre popülasyonların F1 ve F2 eksenlerinde uzaysal dağılımı

**Çizelge 4.10.** Dokuz *Isatis glauca* popülasyonunun yedi morfolojik karakterinden elde edilen benzeme matrisi ile hesaplanan TKA tarafından elde edilen Eigen değeri, çeşitlilik (%) ve kümülatif çeşitlilik (%) (Kısaltmalar: Faktör F)

	F1	F2
Eigen değeri	1382,358	103,261
Varyasyon (%)	88,965	6,646
Kümülatif varyasyon (%)	88,965	95,611

Öklit (Euclidean) mesafesi ve UPGMA metoduna göre hiyerarşik küme analizi yapıldı ve bir dendrogram oluşturuldu (Şekil 4.3). Dendrogramda popülasyonlar iki temel küme oluşturdu. İlk temel grupta AB (*I. glauca* subsp. *glauca*) popülasyonu diğer popülasyonlardan ayrı bir küme oluşturdu. Bu durum örneklerin toplandığı alanın hava kirliliğine neden olan kağıt fabrikasına çok yakın olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu morfolojisinde farklılığa neden olarak kirleticiler AB popülasyonunun diğer popülasyonlardan ayrı olarak kümelenebilmesine neden olmuş olabilir. İkinci temel küme kendi içinde TKA sonuçları ile uyumlu alt gruplara ayrıldı. Birinci alt grupta AG1 (*I. glauca* subsp. *glauca*) popülasyonu ve AP (*I. glauca* subsp. *galatica*) popülasyonu, ikinci alt grupta AA (*I. glauca* subsp. *galatica*), AI (*I. glauca* subsp. *exauriculata*), AG2 (*I. glauca* subsp. *galatica*) ve E (*I. glauca* subsp. *galatica*) popülasyonları, üçüncü alt grupta K (*I. glauca* subsp. *galatica*) ve S (*I. glauca* subsp. *sivasica*) popülasyonları birlikte kümelendiler. Küme analizine göre TKA sonuçları ve AI popülasyonunun morfolojik karakter değerlendirmeleri *I. glauca* subsp. *glauca*'nın bir varyetesi olarak gösterdi.





**Şekil 4.3.** İç Anadolu bölgesinden toplanan dokuz *Isatis glauca* popülasyonu arasındaki filogenetik ilişkiyi morfolojik verilerin benzemezlik matrisine göre oluşturularak gösteren dendrogram

#### 4.3. AFLP Analizi Sonuçları:

Çalışmada *I. glauca* alttürlerine ait dokuz popülasyonu oluşturan toplam 67 aksesyonda genetik çeşitlilik sekiz primer kombinasyonu kullanılarak AFLP yöntemi analizi gerçekleştirildi. Primer kombinasyonları toplam 805 AFLP kesiti üretti. Bunların 793'ü (%98,5) polimorfik ve 12'si (%1,5) monomorfiktir. *I. glauca* alttürlerine ait örnek gruplarının AFLP analizi sonucu elde edilen polimorfik ve monomorfik lokusları Ek-3 ve Ek-4'de verildi. Lokus düzeyinde genetik çeşitlilik verileri Ek-5'de verildi.

Genetik veri analiz sonuçlarına göre dokuz popülasyon içinde incelenen ortalama örnek sayısı 7,03'tür (Çizelge 4.11). Ortalama polimorfik lokus oranı, ortalama alel sayısı, her bir polimorfik lokus için ortalama alel sayısı ve ortalama genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla  $P= 0,59$ ,  $A= 1,59$ ,  $A_p= 2$  ve  $H_e= 0,23$ 'tür. En yüksek polimorfik lokus oranı, alel sayısı ve genetik çeşitlilik değeri sırasıyla  $P= 0,68$ ,  $A= 1,68$ ,  $A_p= 2$  ve  $H_e= 0,26$  olarak K popülasyonunda gözlemlendi. Buna karşın en düşük polimorfik lokus oranı ve alel sayısı sırasıyla  $P= 0,50$ ,  $A= 1,50$ ,  $A_p= 2$  olmak üzere AI popülasyonunda gözlenirken en düşük genetik çeşitlilik değeri olarak  $H_e= 0,20$  S popülasyonunda gözlemlendi. Alel sayısı ve polimorfik lokus oranının AI popülasyonunda en az olmasının nedeni örnek sayısı ile ilişkili olabilir. Aynı şekilde S popülasyonunda da düşük olmalarına karşın örnek sayısı AI popülasyonuna göre

daha fazla olduğundan en az olarak gözlenmemiş olabilir. Buna karşın en düşük genetik çeşitlilik değeri S popülasyonunun eko-coğrafik koşullarının diğer lokasyonlara göre daha zor koşullar olması ile ilgili olabilir. Çünkü eko-coğrafik koşulların genetik çeşitlilik üzerindeki önemli etkileri çoklu regresyon analizleri bölümünde daha detaylı şekilde açıklandı.

**Çizelge 4.11.** Örnek grupları düzeyinde genetik çeşitlilik verileri (PK Popülasyon kodu, N2 AFLP analizlerinde kullanılan örnek sayısı,  $P$  Her bir lokus için polimorfik alel sayısı,  $A_p$  Her bir polimorfik lokustaki ortalama alel sayısı,  $A$  Her bir lokustaki ortalama alel sayısı,  $H_e$  Genetik çeşitlilik)

PK	N2	$P$	$A$	$A_p$	$H_e$
AA	8,00	0,60	1,60	2,00	0,22
AB	7,43	0,60	1,60	2,00	0,22
AG1	7,82	0,58	1,58	2,00	0,21
AG2	7,82	0,61	1,61	2,00	0,23
AI	5,07	<b>0,50</b>	<b>1,50</b>	2,00	0,22
AP	6,44	0,60	1,60	2,00	0,23
E	4,82	0,56	1,56	2,00	0,25
K	8,44	<b>0,68</b>	<b>1,68</b>	2,00	<b>0,26</b>
S	7,40	0,54	1,54	2,00	<b>0,20</b>
Ortalama	7,03	0,59	1,59	2,00	0,23

AFLP analizi ile elde edilen tüm lokuslardaki  $F$ -istatistik değerlerine göre popülasyonlar arasındaki ortalama genetik farklılaşma, popülasyon değeri  $\Theta_p = 0,24$  olarak hesaplandı. Buna göre genetik çeşitliliğin %76'sı popülasyon içinde gözlenirken, %24'ü popülasyonlar arasında gözlendi. Popülasyonlar arası farklılaşmanın oldukça yüksek olduğu tespit edildi.

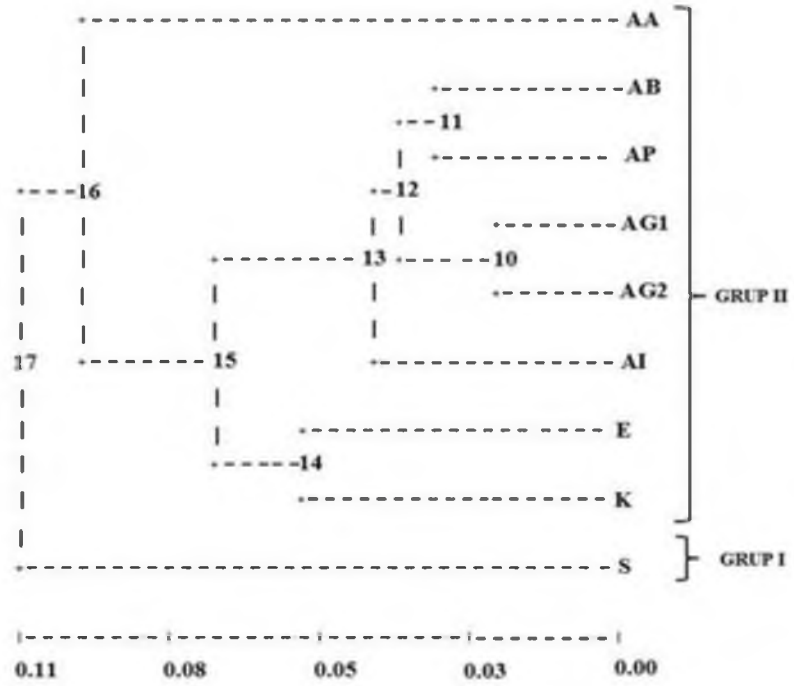
Genetik uzaklık ( $GU$ ) bütün popülasyonlar karşılaştırılarak benzer ve farklı alel sayılarına göre Nei (1978)'nin formülü ile hesaplandı (Çizelge 4.12). Popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık birbirlerine göre belirgin farklılık gösterdi. En yüksek genetik uzaklık değeri ( $GU = 0,244$ ) AA ve S popülasyonları arasında gözlenirken, en düşük genetik uzaklık değeri ( $GU = 0,043$ ) AG2 ve AG1 popülasyonları arasında görüldü. Muhtemelen gen merkezi olan Ankara'dan uzaklaştıkça morfolojik

farklılıklar daha belirgin hale geliyor, dolayısıyla genetik uzaklık da belirgin hale geliyor. Bu durum morfolojik değerlendirme sonuçları ile de örtüşmektedir.

**Çizelge 4.12.** Nei (1978)'e göre populasyonlar arasında hesaplanan genetik uzaklık değerleri

PK	AA	AB	AG1	AG2	AI	AP	E	K	S
AA									
AB	0,196								
AG1	0,218	0,081							
AG2	0,201	0,077	<b>0,043</b>						
AI	0,203	0,095	0,087	0,084					
AP	0,195	0,065	0,080	0,074	0,089				
E	0,171	0,154	0,124	0,130	0,140	0,146			
K	0,166	0,155	0,163	0,144	0,160	0,148	0,114		
S	<b>0,244</b>	0,193	0,220	0,196	0,221	0,187	0,237	0,239	

Küme analizi hesaplamak için Nei (1978)'nin genetik uzaklık ve genetik identite değerlerine göre UPGMA metodu kullanılarak bir dendrogram oluşturuldu (Şekil 4.4). Dendrograma göre örnek grupları iki ana gruba ayrıldı. İlk ana grupta S (*I. glauca* subsp. *sivasica*) populasyonu diğerlerinden ayrı kümelendi. İkinci ana grup da kendi içinde üç alt gruba ayrıldı. İkinci ana gruptaki birinci alt grupta AA (*I. glauca* subsp. *galatica*) populasyonu diğerlerinden ayrılırken ikinci alt grup AB (*I. glauca* subsp. *glauca*), AP (*I. glauca* subsp. *galatica*), AG1 (*I. glauca* subsp. *glauca*), AG2 (*I. glauca* subsp. *galatica*) ve AI (*I. glauca* subsp. *glauca*) populasyonlarından oluşurken üçüncü alt grup E (*Isatis glauca* subsp. *galatica*) ve K (*Isatis glauca* subsp. *galatica*) populasyonlarından oluştu. Morfolojik verilerle oluşturulan dendrogramda AB (*I. glauca* subsp. *glauca*) populasyonu diğer populasyonlardan ayrı bir küme oluşturuyordu.



**Şekil 4.4.** AFLP analizleri sonuçlarıyla Nei (1978)'nin genetik uzaklığına göre hesaplanarak UPGMA yöntemiyle oluşturulan ve dokuz *Isatis glauca* popülasyonu arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendrogram.

Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan Pearson korelasyon katsayısı verilerine göre aralarında önemli bir ilişki olmadığı tespit edildi (Çizelge 4.13).

**Çizelge 4.13.** Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan Pearson korelasyon katsayısı verileri (N2 AFLP analizlerinde kullanılan örnek sayısı,  $P$  Her bir lokus için polimorfik alel sayısı,  $A_p$  Her bir polimorfik lokustaki ortalama alel sayısı,  $A$  Her bir lokustaki ortalama alel sayısı,  $H_e$  Genetik çeşitlilik, SI Sıcaklık, NM Nispi nem, YA Yağış, YÜ Yükseklik, EN Enlem, BO boylam,  $r_P$  Pearson korelasyon katsayısı)

Değişkenler	N2	$P$	$A$	$H_e$
SI	-0,134	0,215	0,215	0,255
$r_P$	0,730	0,578	0,578	0,507
NM	-0,362	-0,369	-0,369	-0,066
$r_P$	0,339	0,329	0,329	0,865
YA	0,627	0,167	0,167	-0,236
$r_P$	0,070	0,668	0,668	0,540
YÜ	0,158	-0,440	-0,440	-0,572
$r_P$	0,685	0,236	0,236	0,107
EN	-0,068	-0,412	-0,412	-0,584
$r_P$	0,863	0,270	0,270	0,099
BO	0,248	-0,273	-0,273	-0,595
$r_P$	0,521	0,478	0,478	0,091

Çalışmada Eko-coğrafik faktörlerin genetik verilerin varyasyonundaki etkilerini incelemek için regresyon analizi yapıldı (Çizelge 4.14). Analiz sonuçlarına göre SI, NM, YA, YÜ, EN ve BO bileşenlerinden oluşan kombinasyonunun  $H_e$ ,  $A$  ve  $P$  üzerine önemli etkilerinin olduğu tespit edildi. Bu faktörlerin etki değerleri sırasıyla %74,9, %74,9 ve %92,8 olarak hesaplandı. Eko-coğrafik faktörlerin tümünün birlikte *I. glauca* altürlerinin genetik yapısını önemli ölçüde etkilediği belirlendi. Bu durum morfolojik varyasyonla ilgili elde edilen verilerle de uyumluluk gösterdi.

**Çizelge 4.14.** Eko-coğrafik faktörlerin genetik verilerin varyasyonundaki etkilerinin regresyon analizi ile gösterilmesi (Kısaltmalar: BD: Bağımlı değişken,  $R^2$ : regresyon katsayısı, BZD: Bağımsız değişken,  $H_e$  Genetik çeşitlilik,  $A$  Her bir lokustaki ortalama alel sayısı).

BD	$R^2$	BZD
$H_e$	0,749	SI, NM, YA, YÜ, EN, BO
$A$	0,749	SI, NM, YA, YÜ, EN, BO
$p$	0,928	SI, NM, YA, YÜ, EN, BO

**Çizelge 4.15.** TBA Eigen değerleri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon

	F1	F2	F3
Eigen değeri	3,715	2,945	1,903
Varyasyon (%)	37,146	29,447	19,025
Kümülatif varyasyon (%)	37,146	66,593	<b>85,618</b>

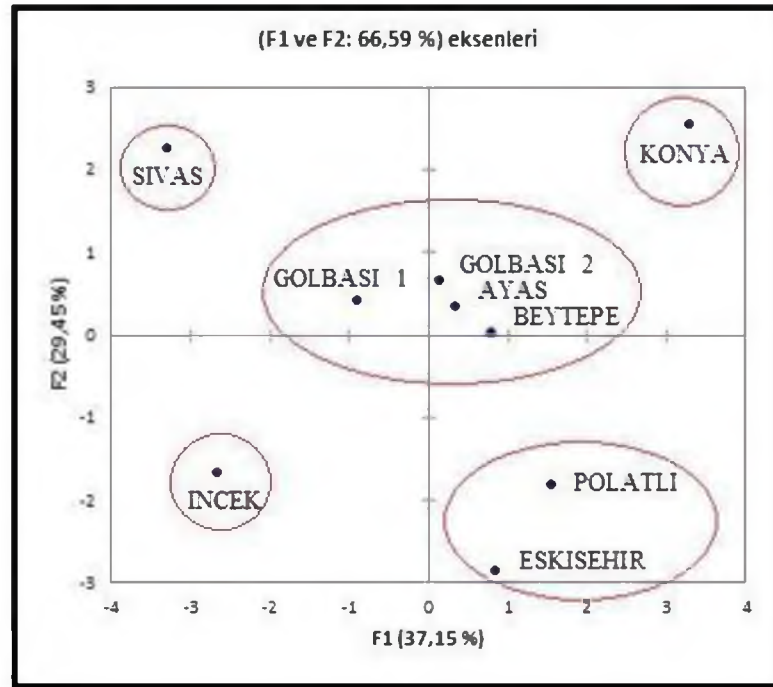
Genetik çeşitliliğin uzaysal dağılımını belirlemek amacıyla yapılan TBA'ya göre üç temel bileşen elde edildi. Temel bileşenler analizi Eigen değerleri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon değerleri Çizelge 4.15'te verildi.  $P$ ,  $A$ ,  $H_e$ ,  $Y\ddot{U}$  ve  $BO$  kombinasyonundan oluşan ilk temel bileşen çeşitliliğin %37,14'ünü açıklarken  $N2$  ve  $YA$  kombinasyonundan oluşan ikinci temel bileşen çeşitliliğin %29,44'ünü açıkladı.  $A_p$ ,  $SI$ ,  $NM$  ve  $EN$  kombinasyonundan oluşan üçüncü temel bileşen çeşitliliğin %19,02'sini gösterdi. Temel bileşenlere katkısı olan değişkenlerin matriks değerleri Çizelge 4.16'da verildi.

**Çizelge 4.16.** Temel bileşenlere katkısı olan değişkenlerin matriks değer tablosu

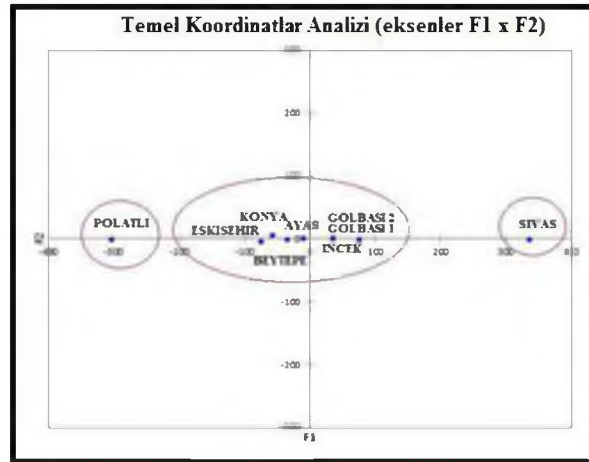
Değişken			
	F1	F2	F3
$N2$	0,077	<b>0,737</b>	0,011
$P$	<b>0,754</b>	0,224	0,000
$A$	<b>0,754</b>	0,224	0,000
$A_p$	0,087	0,040	<b>0,329</b>
$H_e$	<b>0,657</b>	0,027	0,088
$SI$	0,210	0,088	<b>0,637</b>
$NM$	0,088	0,145	<b>0,642</b>
$YA$	0,073	<b>0,806</b>	0,028
$Y\ddot{U}$	<b>0,584</b>	0,279	0,000
$EN$	0,150	0,067	<b>0,443</b>
$BO$	<b>0,369</b>	0,349	0,053

Temel bileşenler analizine göre populasyonların uzaysal dağılım grafiği (Şekil 4.5) oluşturuldu. Bu grafikte Gölbaşı 1 (AG1), Gölbaşı 2 (AG2), Ayaş (AA) ve Beytepe (AB) populasyonları birbirlerine yakın dağılım gösterirken Konya (K), Sivas (S), Eskişehir (E) ve Polatlı (AP) populasyonları belirgin bir şekilde diğerlerine uzak dağılım gösterdi.

Benzersizlik matrisi değerleri kullanılarak hesaplanan temel koordinat analizine göre popülasyonların uzaysal dağılım grafiği oluşturuldu (şekil 4.6). Analiz sonuçlarına göre Konya (K), Eskişehir (E), Ayaş (AA), Beytepe (AB), İncek (AI), Gölbaşı 1(AG1) ve Gölbaşı 2 (AG2) popülasyonları birbirlerine yakın dağılım gösterirken Sivas (S) ve Polatlı (AP) popülasyonları belirgin şekilde diğerlerinden ayrıldı. Benzersizlik matrisi ile hesaplanan TKA tarafından elde edilen Eigen değeri, çeşitlilik (%) ve kümülatif çeşitlilik (%) izelge 4.17’de verildi.



şekil 4.5. TBA’ya göre popülasyonların uzaysal dağılım grafiği



şekil 4.6. TKA’ya göre popülasyonların uzaysal dağılım grafiği

**Çizelge 4.17.** TKA faktörlerinin Eigen değeri, varyasyon (%) ve kümülatif varyasyon (%) değerleri

	F1	F2
Eigen değeri	223185,815	59,515
Varyasyon (%)	99,960	0,027
Kümülatif varyasyon %	99,960	99,987



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

*Isatis glauca* Aucher ex Boiss. alttürlerinin sistematik sınıflandırması oldukça zordur. Bu çalışma ile *I. glauca* alttürleri arasındaki morfolojik ve genetik çeşitliliğinin karakterizasyonu ilk kez rapor edildi. Bu bir başlangıç niteliğindedir ve sonuçlar İç Anadolu bölgesindeki yalnızca *I. glauca* alttürlerinin morfolojik ve genetik karakterizasyonunu göstermektedir. Dolayısıyla Türkiye'deki diğer *Isatis* alttürlerinin bulunduğu türleri de çalışmak gerekecektir. Bu yolla Türkiye'deki lokal çevresel koşulların değişimi ile morfolojik karakterlerin nasıl oluştuğu ve etkilendiği konusunda tespitler yapılabilir. Diğer yandan kloroplast (ör. *ndhF* geni) ve nükleus (ör. ITS)'un hızlı değişen DNA bölgeleri ile ilgili yapılan moleküler çalışmalar bir çok taksonun olağanüstü dizi benzerlikleri ve çok farklı meyve morfolojileri ve embriyo pozisyonlarını gösterdiklerini ortaya çıkardı (Warwick ve Black 1994; Crespo ve ark., 2000; Beilstein ve ark., 2006; Mummenhoff ve ark., 2005; Alshehbaz ve ark., 2006). Dolayısıyla *Isatis* gibi problemlili cinslerin doğal ve doğru sınıflandırmasını yapabilmek için morfolojik karakterizasyon çalışmaları moleküler verilerle karşılaştırılmalıdır. Pearson korelasyonu, çoklu regresyon analizi ve TBA sonuçları eko-coğrafik faktörlerin morfolojik karakter çeşitliliği üzerine önemli ölçüde etkisinin olduğunu gösterdi. Bu çalışmada daha önceki çalışmalarda da gösterildiği gibi (Thompson, 1991; Schlichting ve Pigliucci, 1998; Ellison ve ark., 2004; Niinemets ve ark., 2006) sıcaklık, nem, yükseklik, enlem ve boylam gibi çevresel faktörlerin morfolojik karakterleri etkilediği gösterildi.

Aynı zamanda TKA sonuçları coğrafik ve iklimsel olarak benzer yerlerde morfolojik karakterlerin mekana adaptasyon gibi benzer fenotipler olarak ifade edildiğini gösterdi. *I. glauca* popülasyonları arasındaki morfolojik karakterizasyona göre yüksek düzeyde çeşitlilik ortaya çıkarılmasına rağmen filogenetik ilişki hakkında bilgi vermek için bu çalışma yalnızca bir ön çalışma niteliğindedir. Moleküler çalışmalar morfolojik ölçümleri ve analizleri yapılan bitki materyalleri ile yürütüldü. Bu sayede aynı bitki materyali üzerinde moleküler analiz ve morfolojik karakterizasyon sonuçları karşılaştırıldı ve birbirleri ile örtüşen sonuçlar elde edildi.

Bu çalışmada Sivas, Konya, Eskişehir, Polatlı/Ankara, Beytepe/Ankara, Ayaş/Ankara, Gölbaşı/Ankara ve İncek/Ankara lokasyonlarından toplanan 9 *I. glauca* popülasyonu üzerinde AFLP yöntemi kullanılarak genetik karakterizasyon yapıldı. Sonuçlar *I. glauca*'nın oldukça yüksek düzeyde genetik çeşitlilik gösterdiğini ortaya çıkardı. AFLP parmak izi tekniği *I. glauca* alttürlerini oldukça başarılı bir şekilde gruplara ayırdı. Bu gruplar içerisinde Sivas (*I. glauca* subsp. *sivasica*) diğerlerinden bağımsız bir grup olarak ayrıldı. Beytepe (*I. glauca* subsp. *glauca*), Polatlı (*I. glauca* subsp. *glauca*), Gölbaşı (*I. glauca* subsp. *glauca*, *I. glauca* subsp. *galatica*), İncek (*I. glauca* subsp. *exauriculata*), Eskişehir (*I. glauca* subsp. *galatica*), Konya (*I. glauca* subsp. *galatica*) popülasyonlarının birbirine daha yakın olduğu gözlenirken Ayaş (*I. glauca* subsp. *galatica*) popülasyonunun diğer popülasyonlara daha uzak olduğu gözlemlendi.

Bu morfolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda *I. glauca* türünün subsp. *galatica*, subsp. *sivasica* ve subsp. *glauca* alttürlerinin varlığı kesinleşmiş ancak subsp. *iconia*'nın az örneği bulunduğundan kesin bir sonuca varılamamış; eldeki verilere göre subsp. *exauriculata*'nın şimdilik subsp. *glauca* içinde yer aldığı anlaşılmıştır.

Popülasyon genetiği ve genetik çeşitlilik çalışmalarında AFLP tekniği çok sayıda lokus üretmesi, hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesi açısından etkili bir teknik olduğu bu çalışma ile de tekrarlanmış oldu.

Arazi çalışmaları esnasında popülasyon büyüklükleri oldukça küçük olarak tespit edildi. Popülasyonların küçük olması *I. glauca* alttürlerini genetik darboğaza sürükleyebilir. Habitat olarak özellikle yol kenarları, tarla kenarları gibi alanları tercih eden *I. glauca* alttürleri (özellikle subsp. *galatica*) yol genişletme çalışmaları nedeniyle yakın zaman içinde neslinin tükenmesi tehlikesi ile karşı karşıya kalacaktır. Bu nedenle gerekli tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Günümüzde gerek tekstil, gerekse kozmetik kullanımında doğal ve organik ürünler tercih edilmektedir. Doğal boyacılıkta ve tıpta kullanımı ile ünlü *Isatis* türlerinden *I. glauca*'da alttür düzeyinde boyarmadde içeriği ve tıbbi faydaları yönünden değerlendirilmelidir. Yapılan çalışmalar *I. glauca*'nın da potansiyel indigo üreticisi olduğunu ve medikal olarak da kullanılabileceğini gösterdi (Gilbert ve ark., 2002;

Akar, 2006). *I. glauca* Türkiyede doğal olarak yetişen ve Türkiye'ye endemik bir bitkidir. Buğday, arpa, pirinç gibi modern tarım ürünlerinin yetiştirilmediği alanlarda *I. glauca*'nın alternatif tarım bitkisi olarak tarımsal alanda desteklenmesiyle ülke ekonomisine de katkı sağlanabilir. Bu şekilde tekstil endüstrisinde doğal boyalara karşı artan talebin karşılanması sağlanabilir. Sonuç olarak kalite ve yüksek verim, hastalıklara ve çevre şartlarına karşı dayanıklılıkla ilgili genleri taşıyan genotiplerin seçilmesi ve bu genlerin ıslah programlarıyla kültür formlarına aktarılarak standart varyetelerin geliştirilmesi için çivit otu türlerinin morfolojik, fizyolojik, sitolojik ve genetik çeşitliliği hakkında daha fazla çalışmanın yapılması gereklidir.

## KAYNAKLAR

- Akar, D., 2006. Doğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren bazı *Isatis* (çivitotu) türlerinin boyama özelliklerinin ve boyar madde içeriklerinin incelenmesi. Doktora tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Al-Shehbaz, I.A., Beilstein, M.A., Kellogg, EA., 2006. Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematic and Evolution*, 259:89–120. Doi: 10.1007/s00606-006-0415-z.
- Al-Shehbaz, İA., Mutlu, B., Dönmez, AA., 2007. The *Brassicaceae* (Cruciferae) of Turkey. Updated. *Turk J Bot*, 31:327-336.
- Anonim, 2006. Elektroforez Metotları. <http://www.duzen.com.tr> (04.08.2012).
- Arbogast, BS., Kenagy, GJ. 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28: 819–825.
- Arens, P., Coops, H., Jansen, J., Wosman, B., 1998. Molecular genetic analysis of black poplar (*Populus nigra* L.) along Dutch rivers. *Molecular Ecology*, 7, 11–18.
- Avise, JC., Arnold, J., Ball, RM., Berminham, E., Lamb, T., Neigel, JE., Reeb, CA., Saunders, NC., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489–522.
- Barker JHA, Matthes M, Arnold GM, Edwards KJ, Ahman I, Larsson S, Karp, A., 1999. Characterisation of genetic diversity in potential biomass willows (*Salix* spp.) by RAPD and AFLP analyses. *Genome*, 42:173–183.
- Beilstein, MA., Al-Shehbaz, IA., Kellogg, EA., 2006. Brassicaceae phylogeny and trichome evolution. *Amer J Bot*, 93 (4): 607-619.
- Bonnier, G., 1911. Flore Complete Illustree en Couleurs de France, Suisse et Belgique, 1, 93-94.
- Caetano-Anolles, G., Bassam, B.J., Gresshof, P.M., 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Nature biotechnology*, 9:553–557.
- Cesare, C. G., (a cura di S. Giarretta). 1989. De Bello Gallico. Bompiani Editore, Milano.

- Chae, S.S., Warde, W.D., 2006. Effect of using principal coordinates principal components on retrieval of clusters. *Computational Statistics and Data Analysis*, 50 (2006) 1407 – 1417.
- Chen, X., Zack Howard. O.M., Yang, X., Vang L., Oppenheim, J.J., Krakauer, T., 2002. Effects of Shuanghuanglian and Qingkailing, two multi-components of traditional Chinese medicinal preparations, on human leukocyte function. *Life Sciences*, 70:2897–2913.
- Clerc, A., Manceau, C. ve Nesme, X., 1998. Comparison of randomly amplified polymorphic DNA with amplified fragment length polymorphism to assess genetic diversity and genetic relatedness within genospecies II of *Pseudomonas syringae*. *Applied Environmental Microbiology*, 64:1180–1187.
- Crespo, MB., Lledo', M.D., Fay, M.F., Chase, M.W., 2000. Subtribe Vellinae (Brassicaceae, Brassicaceae): a combined analysis of ITS nrDNA sequences and morphological data. *Annals of Botany*, 86: 53–62.
- Ellison, A.M., Buckley, H.L., Miller, T.E., Gotelli, N.J., 2004. Morphological variation in *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae): Geographic, environmental, and taxonomic correlates. *American Journal of Botany*, 91 (11): 1930–1935.
- Epstein, E., Nabors, M.W., Stowe, B.B., 1967. The origin of indigo in woad. *Nature*, 216:547–549.
- Erschadi, S., Haberer, G., Schoniger, M. ve Torres-Ruiz, R.A., 2000. Estimating genetic diversity of *Arabidopsis thaliana* ecotypes with amplified fragment length polymorphisms (AFLP). *Theoretical and Applied Genetics* 100:633–640.
- Fréchar, A., Fabre, N., Péan, C., Montaut S., Fauvel., Rollin, P., T., Fourasté, I., 2001. Novel indole-type glucosinolates from woad (*Isatis tinctoria* L.). *Tetrahedron Letters*, 42:9015–9017.
- Galletti, S., Barillari, J., Iori, R. Venturi, G., 2006. Glucobrassicin enhancement in woad (*Isatis tinctoria*) leaves by chemical and physical treatments. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 86:1833–1838.
- Garcia-Mas, J., Oliver, M., Gomez-Paniagua, M.C., de Vicente, M.C. 2000. Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theoretical and Applied Genetics*, 101:860–864.
- Gilbert, K.G., Cooke, D.T., 2001. Dyes from plants: past usage, present understanding and potential. *Plant Growth Regulation* 34:57–69.

- Gilbert, K.G., Garton, S., Karam, M.A., Arnold, G.M., Karp, A., Edwards, K.J., Cooke, D.T., Barker, J.H.A., 2002. A high degree of genetic diversity is revealed in *Isatis* ssp. (dyer's woad) by amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 1150-1156.
- Guarino, C., Casoria, P., Menale, B., 2000. Cultivation and use of *Isatis tinctoria* L. (*Brassicaceae*) in Southern Italy. *Economy Botany*, 54(3):395–400.
- Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü*, 4, 2: 27-37.
- Hamburger, M., 2002. *Isatis tinctoria*- From the rediscovery of an ancient medicinal plant towards a novel anti-inflammatory phytopharmaceutical. *Phytochemistry Reviews*, 1:333–344.
- Hegi, G., 1917. *Illustrierte Flora von Mittel Europa*, 4,193-199.
- Hill, D.J., 1992. Production of natural indigo in the United Kingdom. *Beit Wa*, 4/5:23–26.
- Hornung-Leoni, C., Sosa, V., 2006. Morphological variation in *Puya* (Bromeliaceae): an allometric study. *Plant Systematics and Evolution*, 256: 35–53 DOI 10.1007/s00606-005-0302-z.
- Jombart, T., Pontier, D., Dufour, A.B., 2009. Genetic markers in the playground of multivariate analysis. *Heredity*, 102: 330–341.
- Jones, C.J., Edwards, K.J., Castaglione, S., Winfield, M.O., Sala, F., van de Wiel C., Bredemeijer, B., Wosman, B., Matthes, M., Daly, A., 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding*, 3, 381–390
- Kafkas, S., 2008. Kendilenmiş Monoik Atlantik Sakızı Populasyonunda Genetik Haritalama İçin Polimorfik Yöntem ve Primerlerin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Proje No:ZF2008YL22.
- Karagüzel, O., Taşcıoğlu, S.G., 2007. Sıcaklığın *Consolida orientalis*, *Isatis tinctoria* ve *Silene armeria* Doğal Popülasyonlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi. 36 (1-2): 19 – 28.
- Karp, A., Seberg, O. ve Buiatt, M., 1996. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. *Annals of Botany*, 78:143–149.
- Karp, A., Edwards, K.J., 1997. Molecular techniques in the analysis of the extent and distribution of genetic diversity. In: Ayad, W.G., Hodgkin, T., Jaradat, A., Rao, V.R. (eds). *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, pp 11–22.

- Kidwell, K. K., Osborn, T. C., 1992. Simple plant DNA isolation procedures, *Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1–13.
- Kızıl, S., 2000. Bazı Çivitotu (*Isatis tinctoria* L., *Isatis constricta* Davis) Türlerinde uygun Ekim Sıklığı ve Boyama Özelliklerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara: T-95695.
- Kızıl, S., Aslan, N., 2001. Bazı Çivitotu (*Isatis tinctoria* L., *Isatis constricta* Davis) Türleri ile Yün Halı İpliklerinin Boyanması ve Elde Edilen Renklerin Bazı Haslık Değerlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Tarım Bilimleri Dergisi*: 7 (3), 42-47.
- Kızıl, S., 2006. Morphological and agronomical characteristics of some wild and cultivated *Isatis* species. *Journal of Central European Agriculture*, 7 (3):479-484.
- Losos, J.B., Glor, R.E., 2003. Phylogenetic comparative methods and the geography of speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 220–227.
- Mabberley, D.J., 1972. Evolution in the giant groundsels. *Kew Bull*, 28: 61–69.
- MacLeod, N., Forey, P., 2002. Morphology, shape, and phylogenetics. Taylor and Francis, London.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P., 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 18:189–197.
- Maughan, P.J., Saghai, Maroof, M.A., Buss, G.R. ve Huestis, G.M., 1996. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) in soybean: species diversity, inheritance, and near-isogenic analysis. *Theor Appl Genet*, 93:392–401.
- Mısırdalı, H., 1985. Doğu, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz Bölgelerinin *Isatis* türleri üzerinde morfolojik ve sitolojik araştırmalar. TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu, Türkiye. Proje No: TBAG-535.
- Moazzeni, M., Zarre, S., Maroofi, H., 2008. *Isatis* L. (Brassicaceae) in Iran: A new record and a new synonym. *Turk J Bot*, 32:243-247.
- Mueller, U.G., Wolfenbarger, L.L., 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Reviews*, page 1-5.
- Mummenhoff, K., Al-Shehbaz, İ.A., Bakker, F.T., Linder, H.P., Muhlhausen, A., 2005. Phylogeny, morphological evolution, and speciation of endemic Brassicaceae genera in the Cape flora of southern Africa. *Ann Missouri Bot Gard*, 92: 400–424.

- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 8:583–590.
- Niinemets, Ü., Portsmouth, A., Tobias, M., 2006. Leaf size modifies support biomass distribution between stems, petioles and mid-ribs in temperate plants. *New Phytologist*, 171: 91–104.
- Oberthür, C., Schneider, B., Graf, B., Hamburger, M., 2004. The elusive indigo precursor in woad (*Isatis tinctoria* L.)-identification of the major indigo precursor, isatan A, and a structure revision of isatan B. *Chem Biodiv* 1:174–182.
- Oberthür, C., Jäggi, R., Hamburger, M., 2005. HPLC based activity profiling for 5 lipoxygenase inhibitory activity in *Isatis tinctoria* leaf extracts. *Fitoterapia*, 76:324–332.
- Özbek, Ö., 2006. Yabani tetraploit buğday *triticum turgidum* var. *dicoccoides* (Körn.Schwein) popülasyonlarında genetik çeşitliliğin moleküler markörler (AFLP, RFLP) ile tespit edilmesi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Patterson, N., Price, A.L., Reich, D., 2006. Population structure and Eigen analysis. *PLOS Genet*, 2:2074–2093.
- Pearson, K., 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine*, 2:559–572.
- Schlichting, C.D., Pigliucci, M., 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Simpson, M.G., 1953. *Plant Systematics*. Elsevier Academic Press, Page: 347-402.
- Spataro, G., Taviani, P., Negri, V., 2007. Genetic variation and population structure in Eurasian collection of *Isatis tinctoria* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 573-584.
- Spataro, G., Taviani, P., Negri, V., 2008. Assessment of the reproductive system of *Isatis tinctoria* L. *Euphytica*, 159: 229–231.
- Spataro, G., Negri, V., 2008. Adaptability and variation in *Isatis tinctoria* L.: a new crop for Europe. *Euphytica*, 163: 89–102.
- Stoker, K.G., Cooke, D.T., Hill, D.J., 1998. Influence of light on natural indigo production from woad (*Isatis tinctoria*). *Plant Growth Regulation*, 25(3):181–185.



- Templeton, A.R., Routman, E., Phillips, C.A., 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, 140: 767–782.
- Thompson, J.D., 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution*, 6: 246–249.
- Tu, Y., Sun, J., Ge, X., Li, Z., 2009. Chromosome elimination, addition and introgression in intertribal partial hybrids between *Brassica rapa* and *Isatis indigotica*. National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, National Center of Crop Molecular Breeding Technology, National Center of Oil Crop Improvement (Wuhan). Huazhong Agricultural University, 430070 Wuhan, P.R. China and 2 Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 430062 Wuhan, P.R. China. *Annals of Botany* Page 1 of 10.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 23 (no. 21): 4407-4417.
- Warwick, S.I., Black, L.D., 1994. Evaluation of the subtribes Moricandiinae, Savignyinae, Vellinae, and Zillinae (Brassicaceae, Tribe Brassiceae) using chloroplast DNA restriction site variation. *Canadian Journal of Botany*, 72: 1692–1701.
- Weir, B.S. ve Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-Statistics For The Analysis of Population Structure. *Evolution*, Vol. 38 No.6, 1358-1370.
- Welsh, J. ve McClelland, M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18:7213–7218.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18:6531–6535.
- Winfield, M.O., Arnold, G.M., Cooper, F., Le Ray, M., White, j., Karp, A., Edwards, K.J., 1998. A study of genetic diversity in *Populus nigra* subsp. *betulifolia* in the Upper Severn area of the UK using AFLP markers. *Molecular Ecology*, 7, 3–10.
- Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenetics*, 15: 323-354.
- Yıldırım, Ş., 1988. Türkiye'nin batı yarısı ve kuzeyindeki *Isatis* L. (Cruciferae) cinsinin revizyonu, *Doğa Türk Botanik Dergisi*, 12, 3, 332-400.

- Yıldırım, Ş., 1989. *Isatis* L. türlerinin Türkçe yerel adları ve kullanışları (The Turkish vernacular names of *Isatis* L. species and their usages), Marmara Üniversitesi Eczacılık Dergisi, 5, 1, 1-5.
- Yıldırım, Ş., 2001. The chorology of the Turkish species of Brassicaceae, Buddlejaceae and Buxaceae families, OT Sistemik Botanik Dergisi, 8, 1, 141-171.
- Zabeau, M., Vos, P., 1993. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. Avrupa Patent Başvurusu No. 0534858 A1.

EKLER

## Ek-1

Çizelge E.1. Kullanılan malzeme ve kimyasalların listesi

	ADI	MOLEKÜL FORMÜLÜ	FİRMA
ADAPTÖRLER	<i>EcoRI</i> adaptör-1	5'-CTC GTA GAG TGC GTA CC-3' 3'-CAT CTG ACG CAT GG-5'	Dr.Zeydanlı, Türkiye
	<i>MseI</i> adaptör-1	5'-GAC GAT GAG TCC TGA G-3' 3'-TA CTC AGG ACT C-5'	
ÖN SEÇİCİ PRİMERLER	<i>EcoRI</i> +A (E01)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CA-3'	Dr.Zeydanlı, Türkiye
	<i>MseI</i> +A (M01)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AA-3'	
SEÇİCİ PRİMERLER	<i>EcoRI</i> +AAG (E33)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAA G-3'	Dr.Zeydanlı, Türkiye
	<i>EcoRI</i> +ACC (E36)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAC C-3'	
	<i>EcoRI</i> +AGA (E39)	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAG A-3'	
	<i>MseI</i> +AAC (M32)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AC-3'	
	<i>MseI</i> +AAG (M33)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AG-3'	
	<i>MseI</i> +AAT (M34)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AT-3'	
	<i>MseI</i> +ACA (M35)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA CA-3'	
	<i>MseI</i> +ACT (M38)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA CT-3'	
	<i>MseI</i> +AGC (M40)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA GC-3'	
	<i>MseI</i> +AGG (M41)	5'-GAT GAG TCC TGA GTA GG-3'	
ENZİMLER	Taq polimeraz		Fermentas-EPO701
	<i>EcoRI</i> enzim	5'-G↓AATTC-3' 3'-CTTAA↑G-5'	Fermentas-ER0271
	<i>MseI</i> enzim	5'-T↓AA-3' 3'-AAT↑T-5'	Fermentas-FD2174
	T <sub>4</sub> DNA ligaz enzim		Fermentas-EL0011

## Ek-1

## Çizelge E.1. Devamı

	ADI	MOLEKÜL FORMÜLÜ	FİRMA
DİĞER MALZEMELER	Agaroz jel		Sigma-A9539
	BSA (Bovine serum albumin)		Fermantas-B14
	Kloroform	CHCL <sub>3</sub>	Merck-1888
	İzoamil alkol	CH <sub>2</sub> H <sub>12</sub> O	UN-1105
	İzopropil alkol	CH <sub>3</sub> CH(OH)CH <sub>3</sub>	UN1219
	Sodyum klorür	NaCl	Sigma-S7653
	Hidrojen klorür	HCl	Merc-UN1789
	Magnezyum klorür	MgCl <sub>2</sub>	Fermants-R0971
	Trizma base	NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub>	Sigma-T1503
	EDTA	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> NO <sub>3</sub> Na	Sigma-EDS
	Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Merck-UN1170
	λ DNA		Fermantas-SM0281
	T <sub>4</sub> DNA ligaz buffer		Fermantas-B69
	dNTP		Fermantas-R0251
	Hi-di formamit		İnvitrogen-4311320
LIZ-500 size standart		Fermantas	

**Ek-2**

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

**Çizelge Ek 2.1.** 100 mL DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanışında kullanılan çözeltiler Pearson korelasyon katsayısı

Çözelti A: DNA izolasyon çözeltisi (200 mL)		
Kimyasal	Miktar	Molarite
Sorbitol	12,75 g	0,35M
1 M Tris-HCl (pH 7,5)	20 mL	0,1 M
0,5 M EDTA	2 mL	5 mM
dH <sub>2</sub> O	150 mL	
Çözelti B: Çekirdek zarının parçalanması için kullanılan çözelti (200 mL)		
Kimyasal	Miktar	Molarite
Tris-HCl (pH 7,5)	40 mL	0,2M
0,5 M EDTA	2 mL	0,05 M
5 M NaCl	80 mL	2 M
CTAB	4 g	%2
Çözelti C: % 5 N-Lauroyl Sarcosine (Sodyum tuzları) çözeltisi(200 mL)		
Kimyasal	Miktar	Molarite
N-Lauroyl Sarcosine	10 gr	
dH <sub>2</sub> O	100 mL	

**DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanışı (240 mL):**

1. a, b, c çözeltileri 1:1:0.4 oranlarında karıştırılır.
  - a. Hazırlanacak olan DNA izolasyon çözeltisinin toplam hacminin %1'inin ağırlığı kadar PVP tartılır ve bir cam beherin içinde b çözeltisine (100 mL) eklenerek ve çözdürülür.
  - b. 150 mg/50mL oranında natriumdisulfit troken tartılıp başka bir cam beherin içinde a çözeltisine (100 mL) ilave edilir ve tamamen çözdürülür (100 mL için m= 720 mg).
  - c. a ve b çözeltileri birbirine karıştırılır.
  - d. 240 mL toplam hacimli DNA izolasyon çözeltisi için 40 mL c çözeltisi birbirine karıştırılan a ve b çözeltisinin üzerine eklenir ve karışımın iyice karışması sağlanır. sıcaklığı 65 C'ta hazırlanan çözeltilerle karıştırılır.
2. DNA izolasyon çözeltisinin sıcaklığı 65 °C'a muhafaza edilmelidir.

**Çizelge Ek 2.2.** 100 mL 1X TE (Tris-EDTA) çözeltisi

Kimyasal	Miktar
Tris (1M)	1 mL
EDTA (0.5M)	0,2 mL
dH <sub>2</sub> O	98,8 mL

**Ek-2****Çizelge Ek 2.3.** 2000 mL 0,5X TBE (Tris-Borik asit-EDTA)

Kimyasal	Miktar
Tris	108 g
Borik asit	55 g
EDTA (0,5 M; pH 8,0)	40 mL
dH <sub>2</sub> O	1,797 mL

**Çizelge E 2.4.** 50 mL 6XLB çözeltisi (%50 gliserol /1XTE 1:1)

Kimyasal	Miktar
Gliserol	25 mL
1XTE	25 mL

## EK-3

**Çizelge E.3.** *I. glauca* alttürlerine ait örnek gruplarının AFLP analizi sonucu elde edilen polimorfik lokuslar

SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L
1.	A37	31.	A112	61.	A173	91.	A224	121.	A276	151.	B60
2.	A40	32.	A114	62.	A174	92.	A225	122.	A279	152.	B62
3.	A42	33.	A115	63.	A179	93.	A226	123.	A282	153.	B63
4.	A47	34.	A116	64.	A182	94.	A227	124.	A283	154.	B66
5.	A51	35.	A117	65.	A183	95.	A228	125.	A284	155.	B67
6.	A52	36.	A119	66.	A184	96.	A229	126.	A285	156.	B68
7.	A53	37.	A121	67.	A187	97.	A230	127.	A291	157.	B69
8.	A54	38.	A122	68.	A189	98.	A231	128.	A292	158.	B72
9.	A55	39.	A124	69.	A190	99.	A232	129.	A293	159.	B74
10.	A57	40.	A125	70.	A192	100.	A233	130.	A296	160.	B75
11.	A59	41.	A126	71.	A193	101.	A234	131.	A301	161.	B77
12.	A61	42.	A132	72.	A194	102.	A235	132.	A305	162.	B78
13.	A65	43.	A135	73.	A195	103.	A236	133.	A309	163.	B79
14.	A66	44.	A136	74.	A196	104.	A237	134.	A314	164.	B80
15.	A69	45.	A138	75.	A197	105.	A243	135.	A315	165.	B81
16.	A72	46.	A143	76.	A199	106.	A244	136.	A320	166.	B82
17.	A77	47.	A146	77.	A202	107.	A245	137.	A322	167.	B83
18.	A79	48.	A148	78.	A204	108.	A246	138.	A340	168.	B84
19.	A80	49.	A150	79.	A206	109.	A247	139.	B46	169.	B85
20.	A81	50.	A154	80.	A208	110.	A248	140.	B47	170.	B86
21.	A82	51.	A155	81.	A209	111.	A252	141.	B49	171.	B88
22.	A84	52.	A158	82.	A210	112.	A257	142.	B50	172.	B89
23.	A96	53.	A159	83.	A212	113.	A259	143.	B51	173.	B90
24.	A102	54.	A160	84.	A216	114.	A265	144.	B52	174.	B91
25.	A103	55.	A161	85.	A217	115.	A266	145.	B53	175.	B92
26.	A104	56.	A162	86.	A218	116.	A267	146.	B55	176.	B93
27.	A107	57.	A168	87.	A219	117.	A270	147.	B56	177.	B94
28.	A108	58.	A169	88.	A220	118.	A271	148.	B57	178.	B95
29.	A109	59.	A170	89.	A221	119.	A272	149.	B58	179.	B96
30.	A111	60.	A171	90.	A222	120.	A275	150.	B59	180.	B97



**EK-3****Çizelge E.3. Devamı**

SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L
181.	B98	211.	B148	241.	B202	271.	B255	301.	B319	331.	B393
182.	B101	212.	B149	242.	B204	272.	B258	302.	B320	332.	B401
183.	B102	213.	B152	243.	B206	273.	B259	303.	B321	333.	C46
184.	B103	214.	B153	244.	B208	274.	B260	304.	B322	334.	C49
185.	B104	215.	B154	245.	B211	275.	B261	305.	B323	335.	C52
186.	B105	216.	B155	246.	B212	276.	B262	306.	B324	336.	C54
187.	B108	217.	B158	247.	B213	277.	B263	307.	B326	337.	C57
188.	B112	218.	B159	248.	B215	278.	B264	308.	B327	338.	C59
189.	B113	219.	B160	249.	B216	279.	B271	309.	B328	339.	C62
190.	B114	220.	B161	250.	B218	280.	B275	310.	B329	340.	C65
191.	B115	221.	B162	251.	B219	281.	B276	311.	B330	341.	C69
192.	B117	222.	B163	252.	B220	282.	B277	312.	B331	342.	C73
193.	B118	223.	B169	253.	B221	283.	B278	313.	B332	343.	C75
194.	B119	224.	B171	254.	B222	284.	B279	314.	B333	344.	C79
195.	B120	225.	B172	255.	B223	285.	B280	315.	B334	345.	C80
196.	B121	226.	B174	256.	B226	286.	B281	316.	B335	346.	C81
197.	B122	227.	B175	257.	B227	287.	B285	317.	B337	347.	C82
198.	B123	228.	B177	258.	B228	288.	B292	318.	B338	348.	C85
199.	B125	229.	B179	259.	B229	289.	B293	319.	B339	349.	C90
200.	B127	230.	B180	260.	B231	290.	B294	320.	B340	350.	C95
201.	B128	231.	B184	261.	B232	291.	B300	321.	B346	351.	C96
202.	B132	232.	B185	262.	B234	292.	B301	322.	B354	352.	C99
203.	B134	233.	B186	263.	B239	293.	B304	323.	B363	353.	C100
204.	B135	234.	B187	264.	B240	294.	B309	324.	B369	354.	C103
205.	B136	235.	B188	265.	B242	295.	B310	325.	B370	355.	C110
206.	B139	236.	B190	266.	B243	296.	B311	326.	B377	356.	C114
207.	B141	237.	B191	267.	B244	297.	B313	327.	B381	357.	C119
208.	B145	238.	B192	268.	B246	298.	B314	328.	B387	358.	C128
209.	B146	239.	B193	269.	B247	299.	B315	329.	B389	359.	C134
210.	B147	240.	B194	270.	B254	300.	B318	330.	B392	360.	C136

## EK-3

Çizelge E.3. Devamı

SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L
361.	C142	391.	C274	421.	D60	451.	D116	481.	D169	511.	E94
362.	C146	392.	C275	422.	D63	452.	D118	482.	D170	512.	E96
363.	C159	393.	C278	423.	D64	453.	D119	483.	D171	513.	E98
364.	C160	394.	C280	424.	D65	454.	D121	484.	D173	514.	E104
365.	C174	395.	C284	425.	D67	455.	D123	485.	D176	515.	E106
366.	C183	396.	C286	426.	D68	456.	D124	486.	D178	516.	E109
367.	C191	397.	C295	427.	D69	457.	D125	487.	D182	517.	E110
368.	C195	398.	C298	428.	D74	458.	D126	488.	D188	518.	E111
369.	C197	399.	C300	429.	D76	459.	D128	489.	D189	519.	E116
370.	C200	400.	C301	430.	D77	460.	D129	490.	D191	520.	E118
371.	C202	401.	C310	431.	D80	461.	D131	491.	D194	521.	E121
372.	C204	402.	C318	432.	D81	462.	D132	492.	D196	522.	E123
373.	C209	403.	C331	433.	D82	463.	D133	493.	D201	523.	E124
374.	C216	404.	C339	434.	D83	464.	D134	494.	D203	524.	E132
375.	C224	405.	C341	435.	D87	465.	D135	495.	D205	525.	E136
376.	C226	406.	C352	436.	D88	466.	D136	496.	D207	526.	E148
377.	C234	407.	C354	437.	D89	467.	D139	497.	D213	527.	E149
378.	C236	408.	C355	438.	D90	468.	D142	498.	D214	528.	E151
379.	C239	409.	C390	439.	D91	469.	D144	499.	D215	529.	E152
380.	C241	410.	C392	440.	D92	470.	D146	500.	D220	530.	E154
381.	C242	411.	D46	441.	D98	471.	D147	501.	E45	531.	E156
382.	C244	412.	D47	442.	D100	472.	D148	502.	E50	532.	E157
383.	C246	413.	D48	443.	D101	473.	D150	503.	E51	533.	E158
384.	C258	414.	D49	444.	D106	474.	D156	504.	E63	534.	E159
385.	C263	415.	D50	445.	D107	475.	D161	505.	E64	535.	E160
386.	C266	416.	D52	446.	D109	476.	D162	506.	E66	536.	E162
387.	C267	417.	D53	447.	D110	477.	D163	507.	E68	537.	E171
388.	C269	418.	D54	448.	D111	478.	D165	508.	E74	538.	E172
389.	C270	419.	D56	449.	D113	479.	D167	509.	E86	539.	E179
390.	C273	420.	D58	450.	D115	480.	D168	510.	E93	540.	E181

## EK-3

## Çizelge E.3. Devamı

SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L	SN	L
541.	E183	571.	E256	601.	E330	631.	F92	661.	G75	691.	G140
542.	E185	572.	E257	602.	E331	632.	F102	662.	G77	692.	G146
543.	E186	573.	E258	603.	E334	633.	F103	663.	G79	693.	G148
544.	E189	574.	E265	604.	E336	634.	F106	664.	G80	694.	G153
545.	E195	575.	E266	605.	E341	635.	F110	665.	G81	695.	G160
546.	E197	576.	E267	606.	E343	636.	F120	666.	G83	696.	G161
547.	E199	577.	E270	607.	E344	637.	F132	667.	G96	697.	G171
548.	E200	578.	E271	608.	E368	638.	F135	668.	G98	698.	G172
549.	E204	579.	E272	609.	E369	639.	F136	669.	G100	699.	G173
550.	E205	580.	E273	610.	E371	640.	F137	670.	G101	700.	G176
551.	E206	581.	E274	611.	E377	641.	F138	671.	G102	701.	G177
552.	E207	582.	E275	612.	E379	642.	F139	672.	G103	702.	G183
553.	E210	583.	E276	613.	E381	643.	F142	673.	G104	703.	G184
554.	E211	584.	E277	614.	E385	644.	F142	674.	G105	704.	G186
555.	E213	585.	E278	615.	E392	645.	F154	675.	G106	705.	G188
556.	E214	586.	E281	616.	E395	646.	F178	676.	G113	706.	G189
557.	E215	587.	E289	617.	E407	647.	F201	677.	G114	707.	G191
558.	E216	588.	E293	618.	E411	648.	F213	678.	G116	708.	G196
559.	E223	589.	E296	619.	E417	649.	F219	679.	G117	709.	G197
560.	E234	590.	E302	620.	E420	650.	F461	680.	G118	710.	G198
561.	E235	591.	E304	621.	E425	651.	G47	681.	G121	711.	G199
562.	E238	592.	E310	622.	E426	652.	G49	682.	G122	712.	G202
563.	E242	593.	E311	623.	E439	653.	G52	683.	G123	713.	G203
564.	E243	594.	E312	624.	E465	654.	G53	684.	G124	714.	G206
565.	E244	595.	E313	625.	F46	655.	G56	685.	G130	715.	G207
566.	E245	596.	E314	626.	F51	656.	G61	686.	G132	716.	G208
567.	E247	597.	E315	627.	F67	657.	G62	687.	G133	717.	G217
568.	E248	598.	E320	628.	F77	658.	G63	688.	G135	718.	G218
569.	E249	599.	E321	629.	F84	659.	G65	689.	G136	719.	G224
570.	E250	600.	E328	630.	F91	660.	G74	690.	G138	720.	G225

**EK-3****Çizelge E.3. Devamı**

SN	L	SN	L	SN	L
721.	G226	751.	H109	781.	H163
722.	G230	752.	H110	782.	H164
723.	G234	753.	H111	783.	H168
724.	G236	754.	H113	784.	H169
725.	G246	755.	H117	785.	H173
726.	G253	756.	H118	786.	H174
727.	G262	757.	H119	787.	H177
728.	G264	758.	H120	788.	H178
729.	G270	759.	H122	789.	H180
730.	G272	760.	H123	790.	H182
731.	G273	761.	H125	791.	H184
732.	G274	762.	H130	792.	H190
733.	G275	763.	H131	793.	H192
734.	G282	764.	H132		
735.	H46	765.	H133		
736.	H47	766.	H141		
737.	H49	767.	H143		
738.	H50	768.	H147		
739.	H55	769.	H148		
740.	H65	770.	H150		
741.	H66	771.	H151		
742.	H71	772.	H152		
743.	H72	773.	H153		
744.	H77	774.	H154		
745.	H89	775.	H155		
746.	H91	776.	H157		
747.	H97	777.	H158		
748.	H98	778.	H159		
749.	H99	779.	H160		
750.	H102	780.	H162		

**EK-4**

**Çizelge E.4.** *I. glauca* alt türlerine ait örnek gruplarının AFLP analizi sonucu elde edilen monomorfik lokuslar

SN	L
1.	A157
2.	E47
3.	E76
4.	E78
5.	E389
6.	F48
7.	F54
8.	F75
9.	F140
10.	F169
11.	F179
12.	H52

## Ek-5

**Çizelge E.5.** Lokus düzeyinde genetik çeşitlilik verileri (Kısaltmalar: Sıra numarası SN, lokus L, örnek sayısı n, polimorfik alel sayısı P, alel sayısı A, her lokus için polimorfik alel sayısı

SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
1.	A37	66	1	2	2	31.	A112	66	1	2	2	61.	A173	66	1	2
2.	A40	66	1	2	2	32.	A114	66	1	2	2	62.	A174	66	1	2
3.	A42	66	1	2	2	33.	A115	66	1	2	2	63.	A179	66	1	2
4.	A47	66	1	2	2	34.	A116	66	1	2	2	64.	A182	66	1	2
5.	A51	66	1	2	2	35.	A117	66	1	2	2	65.	A183	66	1	2
6.	A52	66	1	2	2	36.	A119	66	1	2	2	66.	A184	66	1	2
7.	A53	66	1	2	2	37.	A121	66	1	2	2	67.	A187	66	1	2
8.	A54	66	1	2	2	38.	A122	66	1	2	2	68.	A189	66	1	2
9.	A55	66	1	2	2	39.	A124	66	1	2	2	69.	A190	66	1	2
10.	A57	66	1	2	2	40.	A125	66	1	2	2	70.	A192	66	1	2
11.	A59	66	1	2	2	41.	A126	66	1	2	2	71.	A193	66	1	2
12.	A61	66	1	2	2	42.	A132	66	1	2	2	72.	A194	66	1	2
13.	A65	66	1	2	2	43.	A135	66	1	2	2	73.	A195	66	1	2
14.	A66	66	1	2	2	44.	A136	66	1	2	2	74.	A196	66	1	2
15.	A69	66	1	2	2	45.	A138	66	1	2	2	75.	A197	66	1	2
16.	A72	66	1	2	2	46.	A143	66	1	2	2	76.	A199	66	1	2
17.	A77	66	1	2	2	47.	A146	66	1	2	2	77.	A202	66	1	2
18.	A79	66	1	2	2	48.	A148	66	1	2	2	78.	A204	66	1	2
19.	A80	66	1	2	2	49.	A150	66	1	2	2	79.	A206	66	1	2
20.	A81	66	1	2	2	50.	A154	66	1	2	2	80.	A208	66	1	2
21.	A82	66	1	2	2	51.	A155	66	1	2	2	81.	A209	66	1	2
22.	A84	66	1	2	2	52.	A158	66	1	2	2	82.	A210	66	1	2
23.	A96	66	1	2	2	53.	A159	66	1	2	2	83.	A212	66	1	2
24.	A102	66	1	2	2	54.	A160	66	1	2	2	84.	A216	66	1	2
25.	A103	66	1	2	2	55.	A161	66	1	2	2	85.	A217	66	1	2
26.	A104	66	1	2	2	56.	A162	66	1	2	2	86.	A218	66	1	2
27.	A107	66	1	2	2	57.	A168	66	1	2	2	87.	A219	66	1	2
28.	A108	66	1	2	2	58.	A169	66	1	2	2	88.	A220	66	1	2
29.	A109	66	1	2	2	59.	A170	66	1	2	2	89.	A221	66	1	2
30.	A111	66	1	2	2	60.	A171	66	1	2	2	90.	A222	66	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	
91.	A224	66	1	2	2	121.	A276	66	1	2	2	151.	B60	66	1	2
92.	A225	66	1	2	2	122.	A279	66	1	2	2	152.	B62	66	1	2
93.	A226	66	1	2	2	123.	A282	66	1	2	2	153.	B63	66	1	2
94.	A227	66	1	2	2	124.	A283	66	1	2	2	154.	B66	66	1	2
95.	A228	66	1	2	2	125.	A284	66	1	2	2	155.	B67	66	1	2
96.	A229	66	1	2	2	126.	A285	66	1	2	2	156.	B68	66	1	2
97.	A230	66	1	2	2	127.	A291	66	1	2	2	157.	B69	66	1	2
98.	A231	66	1	2	2	128.	A292	66	1	2	2	158.	B72	66	1	2
99.	A232	66	1	2	2	129.	A293	66	1	2	2	159.	B74	66	1	2
100.	A233	66	1	2	2	130.	A296	66	1	2	2	160.	B75	66	1	2
101.	A234	66	1	2	2	131.	A301	66	1	2	2	161.	B77	66	1	2
102.	A235	66	1	2	2	132.	A305	66	1	2	2	162.	B78	66	1	2
103.	A236	66	1	2	2	133.	A309	66	1	2	2	163.	B79	66	1	2
104.	A237	66	1	2	2	134.	A314	66	1	2	2	164.	B80	66	1	2
105.	A243	66	1	2	2	135.	A315	66	1	2	2	165.	B81	66	1	2
106.	A244	66	1	2	2	136.	A320	66	1	2	2	166.	B82	66	1	2
107.	A245	66	1	2	2	137.	A322	66	1	2	2	167.	B83	66	1	2
108.	A246	66	1	2	2	138.	A340	66	1	2	2	168.	B84	66	1	2
109.	A247	66	1	2	2	139.	B46	66	1	2	2	169.	B85	66	1	2
110.	A248	66	1	2	2	140.	B47	66	1	2	2	170.	B86	66	1	2
111.	A252	66	1	2	2	141.	B49	66	1	2	2	171.	B88	66	1	2
112.	A257	66	1	2	2	142.	B50	66	1	2	2	172.	B89	66	1	2
113.	A259	66	1	2	2	143.	B51	66	1	2	2	173.	B90	66	1	2
114.	A265	66	1	2	2	144.	B52	66	1	2	2	174.	B91	66	1	2
115.	A266	66	1	2	2	145.	B53	66	1	2	2	175.	B92	66	1	2
116.	A267	66	1	2	2	146.	B55	66	1	2	2	176.	B93	66	1	2
117.	A270	66	1	2	2	147.	B56	66	1	2	2	177.	B94	66	1	2
118.	A271	66	1	2	2	148.	B57	66	1	2	2	178.	B95	66	1	2
119.	A272	66	1	2	2	149.	B58	66	1	2	2	179.	B96	66	1	2
120.	A275	66	1	2	2	150.	B59	66	1	2	2	180.	B97	66	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
181.	B98	66	1	2	2	211.	B148	66	1	2	2	241.	B202	66	1	2
182.	B101	66	1	2	2	212.	B149	66	1	2	2	242.	B204	66	1	2
183.	B102	66	1	2	2	213.	B152	66	1	2	2	243.	B206	66	1	2
184.	B103	66	1	2	2	214.	B153	66	1	2	2	244.	B208	66	1	2
185.	B104	66	1	2	2	215.	B154	66	1	2	2	245.	B211	66	1	2
186.	B105	66	1	2	2	216.	B155	66	1	2	2	246.	B212	66	1	2
187.	B108	66	1	2	2	217.	B158	66	1	2	2	247.	B213	66	1	2
188.	B112	66	1	2	2	218.	B159	66	1	2	2	248.	B215	66	1	2
189.	B113	66	1	2	2	219.	B160	66	1	2	2	249.	B216	66	1	2
190.	B114	66	1	2	2	220.	B161	67	1	2	2	250.	B218	66	1	2
191.	B115	66	1	2	2	221.	B162	66	1	2	2	251.	B219	66	1	2
192.	B117	66	1	2	2	222.	B163	66	1	2	2	252.	B220	66	1	2
193.	B118	66	1	2	2	223.	B169	66	1	2	2	253.	B221	66	1	2
194.	B119	66	1	2	2	224.	B171	66	1	2	2	254.	B222	66	1	2
195.	B120	66	1	2	2	225.	B172	66	1	2	2	255.	B223	66	1	2
196.	B121	66	1	2	2	226.	B174	66	1	2	2	256.	B226	66	1	2
197.	B122	66	1	2	2	227.	B175	66	1	2	2	257.	B227	66	1	2
198.	B123	66	1	2	2	228.	B177	66	1	2	2	258.	B228	66	1	2
199.	B125	66	1	2	2	229.	B179	66	1	2	2	259.	B229	66	1	2
200.	B127	66	1	2	2	230.	B180	66	1	2	2	260.	B231	66	1	2
201.	B128	66	1	2	2	231.	B184	66	1	2	2	261.	B232	66	1	2
202.	B132	66	1	2	2	232.	B185	66	1	2	2	262.	B234	66	1	2
203.	B134	66	1	2	2	233.	B186	66	1	2	2	263.	B239	66	1	2
204.	B135	66	1	2	2	234.	B187	66	1	2	2	264.	B240	66	1	2
205.	B136	66	1	2	2	235.	B188	66	1	2	2	265.	B242	66	1	2
206.	B139	66	1	2	2	236.	B190	66	1	2	2	266.	B243	66	1	2
207.	B141	66	1	2	2	237.	B191	66	1	2	2	267.	B244	66	1	2
208.	B145	66	1	2	2	238.	B192	66	1	2	2	268.	B246	66	1	2
209.	B146	66	1	2	2	239.	B193	66	1	2	2	269.	B247	66	1	2
210.	B147	66	1	2	2	240.	B194	66	1	2	2	270.	B254	66	1	2



## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
271.	B255	66	1	2	2	301.	B319	66	1	2	2	331.	B393	66	1	2
272.	B258	66	1	2	2	302.	B320	66	1	2	2	332.	B401	66	1	2
273.	B259	66	1	2	2	303.	B321	66	1	2	2	333.	C46	62	1	2
274.	B260	66	1	2	2	304.	B322	66	1	2	2	334.	C49	62	1	2
275.	B261	66	1	2	2	305.	B323	66	1	2	2	335.	C52	62	1	2
276.	B262	66	1	2	2	306.	B324	66	1	2	2	336.	C54	62	1	2
277.	B263	66	1	2	2	307.	B326	66	1	2	2	337.	C57	62	1	2
278.	B264	66	1	2	2	308.	B327	66	1	2	2	338.	C59	62	1	2
279.	B271	66	1	2	2	309.	B328	66	1	2	2	339.	C62	62	1	2
280.	B275	66	1	2	2	310.	B329	66	1	2	2	340.	C65	62	1	2
281.	B276	66	1	2	2	311.	B330	66	1	2	2	341.	C69	62	1	2
282.	B277	66	1	2	2	312.	B331	66	1	2	2	342.	C73	62	1	2
283.	B278	66	1	2	2	313.	B332	66	1	2	2	343.	C75	62	1	2
284.	B279	66	1	2	2	314.	B333	66	1	2	2	344.	C79	62	1	2
285.	B280	66	1	2	2	315.	B334	66	1	2	2	345.	C80	62	1	2
286.	B281	66	1	2	2	316.	B335	66	1	2	2	346.	C81	62	1	2
287.	B285	66	1	2	2	317.	B337	66	1	2	2	347.	C82	62	1	2
288.	B292	66	1	2	2	318.	B338	66	1	2	2	348.	C85	62	1	2
289.	B293	66	1	2	2	319.	B339	66	1	2	2	349.	C90	62	1	2
290.	B294	66	1	2	2	320.	B340	66	1	2	2	350.	C95	62	1	2
291.	B300	66	1	2	2	321.	B346	66	1	2	2	351.	C96	62	1	2
292.	B301	66	1	2	2	322.	B354	66	1	2	2	352.	C99	62	1	2
293.	B304	66	1	2	2	323.	B363	66	1	2	2	353.	C100	62	1	2
294.	B309	66	1	2	2	324.	B369	66	1	2	2	354.	C103	62	1	2
295.	B310	66	1	2	2	325.	B370	66	1	2	2	355.	C110	62	1	2
296.	B311	66	1	2	2	326.	B377	66	1	2	2	356.	C114	62	1	2
297.	B313	66	1	2	2	327.	B381	66	1	2	2	357.	C119	62	1	2
298.	B314	66	1	2	2	328.	B387	66	1	2	2	358.	C128	62	1	2
299.	B315	66	1	2	2	329.	B389	66	1	2	2	359.	C134	62	1	2
300.	B318	66	1	2	2	330.	B392	66	1	2	2	360.	C136	62	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
361.	C142	62	1	2	2	391.	C274	62	1	2	2	421.	D60	62	1	2
362.	C146	62	1	2	2	392.	C275	62	1	2	2	422.	D63	62	1	2
363.	C159	62	1	2	2	393.	C278	62	1	2	2	423.	D64	62	1	2
364.	C160	62	1	2	2	394.	C280	62	1	2	2	424.	D65	62	1	2
365.	C174	62	1	2	2	395.	C284	62	1	2	2	425.	D67	62	1	2
366.	C183	62	1	2	2	396.	C286	62	1	2	2	426.	D68	62	1	2
367.	C191	62	1	2	2	397.	C295	62	1	2	2	427.	D69	62	1	2
368.	C195	62	1	2	2	398.	C298	62	1	2	2	428.	D74	62	1	2
369.	C197	62	1	2	2	399.	C300	62	1	2	2	429.	D76	62	1	2
370.	C200	62	1	2	2	400.	C301	62	1	2	2	430.	D77	62	1	2
371.	C202	62	1	2	2	401.	C310	62	1	2	2	431.	D80	62	1	2
372.	C204	62	1	2	2	402.	C318	62	1	2	2	432.	D81	62	1	2
373.	C209	62	1	2	2	403.	C331	62	1	2	2	433.	D82	62	1	2
374.	C216	62	1	2	2	404.	C339	62	1	2	2	434.	D83	62	1	2
375.	C224	62	1	2	2	405.	C341	62	1	2	2	435.	D87	62	1	2
376.	C226	62	1	2	2	406.	C352	62	1	2	2	436.	D88	62	1	2
377.	C234	62	1	2	2	407.	C354	62	1	2	2	437.	D89	62	1	2
378.	C236	62	1	2	2	408.	C355	62	1	2	2	438.	D90	62	1	2
379.	C239	62	1	2	2	409.	C390	62	1	2	2	439.	D91	62	1	2
380.	C241	62	1	2	2	410.	C392	62	1	2	2	440.	D92	62	1	2
381.	C242	62	1	2	2	411.	D46	62	1	2	2	441.	D98	62	1	2
382.	C244	62	1	2	2	412.	D47	62	1	2	2	442.	D100	62	1	2
383.	C246	62	1	2	2	413.	D48	62	1	2	2	443.	D101	62	1	2
384.	C258	62	1	2	2	414.	D49	62	1	2	2	444.	D106	62	1	2
385.	C263	62	1	2	2	415.	D50	62	1	2	2	445.	D107	62	1	2
386.	C266	62	1	2	2	416.	D52	62	1	2	2	446.	D109	62	1	2
387.	C267	62	1	2	2	417.	D53	62	1	2	2	447.	D110	62	1	2
388.	C269	62	1	2	2	418.	D54	62	1	2	2	448.	D111	62	1	2
389.	C270	62	1	2	2	419.	D56	62	1	2	2	449.	D113	62	1	2
390.	C273	62	1	2	2	420.	D58	62	1	3	3	450.	D115	62	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
451.	D116	62	1	2	2	481.	D169	62	1	2	2	511.	E94	67	1	2
452.	D118	62	1	2	2	482.	D170	62	1	2	2	512.	E96	67	1	2
453.	D119	62	1	2	2	483.	D171	62	1	2	2	513.	E98	67	1	2
454.	D121	62	1	2	2	484.	D173	62	1	2	2	514.	E104	67	1	2
455.	D123	62	1	2	2	485.	D176	62	1	2	2	515.	E106	67	1	2
456.	D124	62	1	2	2	486.	D178	62	1	2	2	516.	E109	67	1	2
457.	D125	62	1	2	2	487.	D182	62	1	2	2	517.	E110	67	1	2
458.	D126	62	1	2	2	488.	D188	62	1	2	2	518.	E111	67	1	2
459.	D128	62	1	2	2	489.	D189	62	1	2	2	519.	E116	67	1	2
460.	D129	62	1	2	2	490.	D191	62	1	2	2	520.	E118	67	1	2
461.	D131	62	1	2	2	491.	D194	62	1	2	2	521.	E121	67	1	2
462.	D132	62	1	2	2	492.	D196	62	1	2	2	522.	E123	67	1	2
463.	D133	62	1	2	2	493.	D201	62	1	2	2	523.	E124	67	1	2
464.	D134	62	1	2	2	494.	D203	62	1	2	2	524.	E132	67	1	2
465.	D135	62	1	2	2	495.	D205	62	1	2	2	525.	E136	67	1	2
466.	D136	62	1	2	2	496.	D207	62	1	2	2	526.	E148	67	1	2
467.	D139	62	1	2	2	497.	D213	62	1	2	2	527.	E149	67	1	2
468.	D142	62	1	2	2	498.	D214	62	1	2	2	528.	E151	67	1	2
469.	D144	62	1	2	2	499.	D215	62	1	2	2	529.	E152	67	1	2
470.	D146	62	1	2	2	500.	D220	62	1	2	2	530.	E154	67	1	2
471.	D147	62	1	2	2	501.	E45	67	1	2	2	511.	E94	67	1	2
472.	D148	62	1	2	2	502.	E50	67	1	2	2	512.	E96	67	1	2
473.	D150	62	1	2	2	503.	E51	67	1	2	2	513.	E98	67	1	2
474.	D156	62	1	2	2	504.	E63	67	1	2	2	514.	E104	67	1	2
475.	D161	62	1	2	2	505.	E64	67	1	2	2	515.	E106	67	1	2
476.	D162	62	1	2	2	506.	E66	67	1	2	2	516.	E109	67	1	2
477.	D163	62	1	2	2	507.	E68	67	1	2	2	517.	E110	67	1	2
478.	D165	62	1	2	2	508.	E74	67	1	2	2	518.	E111	67	1	2
479.	D167	62	1	2	2	509.	E86	67	1	2	2	519.	E116	67	1	2
480.	D168	62	1	2	2	510.	E93	67	1	2	2	520.	E118	67	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
531.	E156	67	1	2	2	561.	E235	67	1	2	2	591.	E304	67	1	2
532.	E157	67	1	2	2	562.	E238	67	1	2	2	592.	E310	67	1	2
533.	E158	67	1	2	2	563.	E242	67	1	2	2	593.	E311	67	1	2
534.	E159	67	1	2	2	564.	E243	67	1	2	2	594.	E312	67	1	2
535.	E160	67	1	2	2	565.	E244	67	1	2	2	595.	E313	67	1	2
536.	E162	67	1	2	2	566.	E245	67	1	2	2	596.	E314	67	1	2
537.	E171	67	1	2	2	567.	E247	67	1	2	2	597.	E315	67	1	2
538.	E172	67	1	2	2	568.	E248	67	1	2	2	598.	E320	67	1	2
539.	E179	67	1	2	2	569.	E249	67	1	2	2	599.	E321	67	1	2
540.	E181	67	1	2	2	570.	E250	67	1	2	2	600.	E328	67	1	2
541.	E183	67	1	2	2	571.	E256	67	1	2	2	601.	E330	67	1	2
542.	E185	67	1	2	2	572.	E257	67	1	2	2	602.	E331	67	1	2
543.	E186	67	1	2	2	573.	E258	67	1	2	2	603.	E334	67	1	2
544.	E189	67	1	2	2	574.	E265	67	1	2	2	604.	E336	67	1	2
545.	E195	67	1	2	2	575.	E266	67	1	2	2	605.	E341	67	1	2
546.	E197	67	1	2	2	576.	E267	67	1	2	2	606.	E343	67	1	2
547.	E199	67	1	2	2	577.	E270	67	1	2	2	607.	E344	67	1	2
548.	E200	67	1	2	2	578.	E271	67	1	2	2	608.	E368	67	1	2
549.	E204	67	1	2	2	579.	E272	67	1	2	2	609.	E369	67	1	2
550.	E205	67	1	2	2	580.	E273	67	1	2	2	610.	E371	67	1	2
551.	E206	67	1	2	2	581.	E274	67	1	2	2	611.	E377	67	1	2
552.	E207	67	1	2	2	582.	E275	67	1	2	2	612.	E379	67	1	2
553.	E210	67	1	2	2	583.	E276	67	1	2	2	613.	E381	67	1	2
554.	E211	67	1	2	2	584.	E277	67	1	2	2	614.	E385	67	1	2
555.	E213	67	1	2	2	585.	E278	67	1	2	2	615.	E392	67	1	2
556.	E214	67	1	2	2	586.	E281	67	1	2	2	616.	E395	67	1	2
557.	E215	67	1	2	2	587.	E289	67	1	2	2	617.	E407	67	1	2
558.	E216	67	1	2	2	588.	E293	67	1	2	2	618.	E411	67	1	2
559.	E223	67	1	2	2	589.	E296	67	1	2	2	619.	E417	67	1	2
560.	E234	67	1	2	2	590.	E302	67	1	2	2	620.	E420	67	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
621.	E425	67	1	2	2	651.	G47	54	1	2	2	681.	G121	54	1	2
622.	E426	67	1	2	2	652.	G49	54	1	2	2	682.	G122	54	1	2
623.	E439	67	1	2	2	653.	G52	54	1	2	2	683.	G123	54	1	2
624.	E465	67	1	2	2	654.	G53	54	1	2	2	684.	G124	54	1	2
625.	F46	67	1	2	2	655.	G56	54	1	2	2	685.	G130	54	1	2
626.	F51	67	1	2	2	656.	G61	54	1	2	2	686.	G132	54	1	2
627.	F67	67	1	2	2	657.	G62	54	1	2	2	687.	G133	54	1	2
628.	F77	67	1	2	2	658.	G63	54	1	2	2	688.	G135	54	1	2
629.	F84	67	1	2	2	659.	G65	54	1	2	2	689.	G136	54	1	2
630.	F91	67	1	2	2	660.	G74	54	1	2	2	690.	G138	54	1	2
631.	F92	67	1	2	2	661.	G75	54	1	2	2	691.	G140	54	1	2
632.	F102	67	1	2	2	662.	G77	54	1	2	2	692.	G146	54	1	2
633.	F103	67	1	2	2	663.	G79	54	1	2	2	693.	G148	54	1	2
634.	F106	67	1	2	2	664.	G80	54	1	2	2	694.	G153	54	1	2
635.	F110	67	1	2	2	665.	G81	54	1	2	2	695.	G160	54	1	2
636.	F120	67	1	2	2	666.	G83	54	1	2	2	696.	G161	54	1	2
637.	F132	67	1	2	2	667.	G96	54	1	2	2	697.	G171	54	1	2
638.	F135	67	1	2	2	668.	G98	54	1	2	2	698.	G172	54	1	2
639.	F136	67	1	2	2	669.	G100	54	1	2	2	699.	G173	54	1	2
640.	F137	67	1	2	2	670.	G101	54	1	2	2	700.	G176	54	1	2
641.	F138	67	1	2	2	671.	G102	54	1	2	2	701.	G177	54	1	2
642.	F139	67	1	2	2	672.	G103	54	1	2	2	702.	G183	54	1	2
643.	F142	67	1	2	2	673.	G104	54	1	2	2	703.	G184	54	1	2
644.	F142	67	1	2	2	674.	G105	54	1	2	2	704.	G186	54	1	2
645.	F154	67	1	2	2	675.	G106	54	1	2	2	705.	G188	54	1	2
646.	F178	67	1	2	2	676.	G113	54	1	2	2	706.	G189	54	1	2
647.	F201	67	1	2	2	677.	G114	54	1	2	2	707.	G191	54	1	2
648.	F213	67	1	2	2	678.	G116	54	1	2	2	708.	G196	54	1	2
649.	F219	67	1	2	2	679.	G117	54	1	2	2	709.	G197	54	1	2
650.	F461	67	1	2	2	680.	G118	54	1	2	2	710.	G198	54	1	2

## Ek-5

Çizelge E.5. Devamı

SN	L	N	P	A	Ap	SN	L	n	P	A	Ap	SN	L	n	P	A
721.	G226	54	1	2	2	751.	H109	54	1	2	2	781.	H163	56	1	2
722.	G230	54	1	2	2	752.	H110	54	1	2	2	782.	H164	55	1	2
723.	G234	54	1	2	2	753.	H111	54	1	2	2	783.	H168	56	1	2
724.	G236	54	1	2	2	754.	H113	54	1	2	2	784.	H169	55	1	2
725.	G246	54	1	2	2	755.	H117	54	1	2	2	785.	H173	56	1	2
726.	G253	54	1	2	2	756.	H118	54	1	2	2	786.	H174	56	1	2
727.	G262	54	1	2	2	757.	H119	54	1	2	2	787.	H177	56	1	2
728.	G264	54	1	2	2	758.	H120	54	1	2	2	788.	H178	57	1	2
729.	G270	54	1	2	2	759.	H122	54	1	2	2	789.	H180	57	1	2
730.	G272	54	1	2	2	760.	H123	54	1	2	2	790.	H182	56	1	2
731.	G273	54	1	2	2	761.	H125	54	1	2	2	791.	H184	57	1	2
732.	G274	54	1	2	2	762.	H130	54	1	2	2	792.	H190	58	1	2
733.	G275	54	1	2	2	763.	H131	54	1	2	2	793.	H192	58	1	2
734.	G282	54	1	2	2	764.	H132	54	1	2	2	<b>Tümü</b>		<b>63,24</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
735.	H46	54	1	2	2	765.	H133	54	1	2	2					
736.	H47	54	1	2	2	766.	H141	54	1	2	2					
737.	H49	54	1	2	2	767.	H143	54	1	2	2					
738.	H50	54	1	2	2	768.	H147	55	1	2	2					
739.	H55	54	1	2	2	769.	H148	56	1	2	2					
740.	H65	54	1	2	2	770.	H150	55	1	2	2					
741.	H66	54	1	2	2	771.	H151	56	1	2	2					
742.	H71	54	1	2	2	772.	H152	56	1	2	2					
743.	H72	54	1	2	2	773.	H153	55	1	2	2					
744.	H77	54	1	2	2	774.	H154	55	1	2	2					
745.	H89	54	1	2	2	775.	H155	55	1	2	2					
746.	H91	54	1	2	2	776.	H157	56	1	2	2					
747.	H97	54	1	2	2	777.	H158	55	1	2	2					
748.	H98	54	1	2	2	778.	H159	56	1	2	2					
749.	H99	54	1	2	2	779.	H160	55	1	2	2					
750.	H102	54	1	2	2	780.	H162	55	1	2	2					

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : GÖRGÜLÜ, Elçin  
 Uyuşu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 14.11.1978 - Ankara  
 Medeni hali : Evli  
 e-mail : elcingrgl@hotmail.com

### Eğitim

Derece Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans/ Hitit Üniversitesi/ Biyoloji ABD	2012
Lisans/Ankara Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2003
Lise/Mobil/ Lisesi	1996

### Yabancı Dil

İngilizce (KPDS: 75)

### Yayımlar

1. E. Gorgulu, **O. Ozbek**, S. Yıldırım (2011). Variation in Morphological Characteristics of Fruits in *Isatis glauca* Aucher ex Boiss. subspecies. *Evolutionary Developmental Biology (C1)*. Tahoe City, California, 129, pp. 63 February 27 - March 3, 2011 (Poster)
2. **4. O. Ozbek**, E. Gorgulu, S. Yıldırım. Assessment of Genetic Variation in Natural Sample Groups of *Isatis glauca* Aucher ex Boiss. *Evolutionary Developmental Biology (C1) Tahoe City, California*, 220, pp. 71 February 27 - March 3, 2011 (Poster)