T.C

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE TESCİLLİ ÇELTİK ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ZEYNEP ÇİSEM MUTAFÇILAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi NECMİ BEŞER

EDİRNE-2018

Zeynep Çisem MUTAFÇILAR'ın hazırladığı "TÜRKİYE'DE TESCİLLİ ÇELTİK ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri: İmza

Dr. Öğr. Üyesi Necmi BEŞER

Doç. Dr. Semra HASANÇEBİ

Dr. Öğr. Üyesi Behiye Banu BİLGEN

Tez Savunma Tarihi: 23/05/2018

Bu tezin Yüksek Lisans tezi gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Necmi BEŞER

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

23/05/2018

ZEYNEP ÇİSEM MUTAFÇILAR

İmza



Yüksek Lisans Tezi

Türkiye'de Tescilli Çeltik Çeşitlerinin Moleküler Karakterizasyonu

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışma; Türkiye'deki tescilli veya üretim izni almış çeltik çeşitlerinin moleküler karakterizasyonunu yapmak ve pazara sunulan pirinçlerde çeşit karışıklığını ayırt edecek moleküler markırları belirlemek amacıyla yapılmıştır. Türkiye'de tescilli veya üretim izinli çeşitler ile bazı yerel çeşitler ile yurt dışında tescil edilmiş 60 çeltik çeşidi bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır. Genotiplendirme, Gramene veritabanında çeltikte çeşitliliğin belirlenmesi için önerilen 50 SSR markır ile gerçekleştirilmiştir. Kullanılan 50 SSR markırdan, 44'ünden sağlıklı sonuçlar elde edilmiş ve 44 SSR markırı içinde bir markır hariç geri kalan 43 SSR markırı polimorfik bulunmuştur. Bu 43 SSR markırından da 231 allel elde edilmiştir. Maksimum PIC değeri RM287 SSR markırı (0.832) ile minimum PIC değeri ise RM495 (0.000), RM514 (0.103) RM489 (0.105) SSR markırları kullanılarak elde edilmiştir. Allellerin frekansları ve bireylerin genetik benzerlik ve uzaklıkları GenAlex6.5 programı ile hesaplanmış ve elde edilen veriler doğrultusunda UPGMA yöntemi yardımı ile dendogram oluşturulmuştur. Yapılan analizler sonucunda bir çok çeşit için spesifik SSR alleller belirlenmiştir. Bu çalışma ile; ülkemiz pazarında yaygın olarak yer alan başta Osmancık-97, Baldo, Ronaldo ve Cammeo çeşitlerinin birbirinden ayrımının sağlanabildiği 12 SSR markırı belirlenmiş olup, embriyosuz ve parlatılmış tek pirinç

tanesi kullanılarak rutin biçimde çeşit ayırımında kullanılabilir moleküler yöntemi optimize edilmiştir. Araştırmada kullanılan diğer çeşitlerinde 43 SSR markırı ile genotiplemesi yapılmıştır.

Yıl : 2018

Sayfa Sayısı : XX+114

Anahtar Kelimeler : Çeltik *(Oryza sativa* L.*)*, moleküler karakterizasyon, SSR, markır,

Master's Thesis

Molecular Charakterization of Registered Rice Cultıvars in Turkey

Trakya University, Institute of Natural Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

This study was carried out to make molecular characterization of registered rice cultivars in Turkey and to determine molecular marker to distinguish rice genotypes in rice market. Registered, production permitted and some local cultivars of Turkey and some other countries varieties, total 60 rice cultivars were used as a material of this study. Molecular genotyping was carried out by 50 SSR markers that are advised for rice genotyping by Gramene data base. From 50 SSRs, 44 SSRs were used effectively in the study and 43 of them were found polymorphic. 231 alleles were obtained with using 43 SSRs. Maximum PIC value (0.8329 was obtained from RM287 SSR marker while, minimum PIC values were obtained from RM495 (0,000), RM514 (0,103) and RM 489 with 0,00, 0,103 and 0,105respectively. Their allelic frequency and genetic distance/identity matrix were calculated by GenAlex 6.5 programme and the matrix were used to create dendogram by UPGMA method. In this study, many cultivar specific alleles were detected. 12 SSR markers were determined to distinguish most widely marketed rice cultivars such as, Osmancık-97, Baldo, Ronaldo and Cammeo and molecular method for distinguishing rice cultivars from using one polished rice kernel was optimized. All 60 rice cultivars used in this study were genotyped with 43 SSRs markers.

Year :2018

Number of Pages :XX+114

Keywords :Rice (*Oryza sativa* L.), moleculer characterization, SSR, marker

ÖNSÖZ

Çeltik ülkemizde bazı yıllar değişse de ortalama yıllık 800 000 ila 1 000 000 ton üretimi ve bir milyon dekar civarında ekilişi olan önemli bir ürünündür. Yurt dışında olduğu gibi ülkemizde de birçok değişik özelliklere sahip çeşitler tescil edilmiş ve üretimi yapılmaktadır. Pazara paketlenmiş pirinç olarak sunulması esnasında çeşitler arasındaki kalite farklılıkları nedeniyle fiyatlarında da farklılıklar olmaktadır. Ülkemizde pazara genel olarak Osmancık-97, Edirne, Cammeo ve Ronaldo gibi çeşitler hakimdir bunun yanı sıra birçok çeşit üretilmekte ve yurt dışından da ithal edilmektedir. Zaman zaman farklı çeşitlere ait pirinçlerin karıştırılarak paketlenip bu şekilde satıldığına dair şikayetler olmaktadır. Bu durum hem üreticinin hem de tüketicinin zararına yol açmaktadır. Pirinçlerin fiziksel görünüşlerine bakarak çeşitleri ayırmak zor olmakta ve yanılgılara sebep vermektedir. Günümüzde "DNA profilleme (DNA parmakizi)" çalışmaları istenilen her türlü biyolojik materyallerin kimliklendirilmesinde etkin biçimde kullanılmaktadır. DNA parmak izi çalışmaları, hem tüketici hem de üreticiyi korumak, karışıklıkları önlemek ve piyasada yer alan ürünün etikette yazılan olup olmadığı tespit etmek adına önemli katkılar sunmaktadır.

Bu çalışmada Türkiye'de tescilli veya üretim izinli çeltik çeşitlerini, ayrıca bazı yerel ve yurtdışında tescil edilmiş çeltik çeşitlerini genotipleme ve birbirinden ayırt edecek markırları belirlemek için yürütülmüştür. Yapılan analizler sonucunda bir çok çeşit için spesifik SSR allelleri belirlenmiştir. Çalışmanın en önemli çıktısı; tescilli ve üretim izinli çeltik çeşitlerinin DNA parmakizinin çıkarılması ve ülkemiz pazarında yaygın olarak yer alan Osmancık, Baldo, Ronaldo ve Cammeo çeşitlerinin tek pirinç tanesi kullanılarak ayrımının sağlanabildiği 12 SSR markırın belirlenmiş olması ve rutin biçimde analiz edilebilir yöntemin oluşturulmasıdır. Bu çalışma ile, ülkemizdeki tescilli çeltik çeşitlerinin, her birinin moleküler olarak kimliklendirilmesi yapılmış her hangi bir çeşit karışıklılığı durumunda, karışıklılığı saptayabilecek moleküler genetik markırlar belirlenmiştir.

Bu tez çalışması Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından ARGE projeleri kapsamında desteklenerek Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümünce yürütülen **TAGEM-15/AR-GE/58** numaralı projenin alt çalışması olarak yapılmıştır.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı yürüttüğüm süre boyunca, her türlü konuda yardımlarını benden esirgemeyen, zengin bilgi birikimine sahip olan, aktarmaktan asla usanmayan ve deneyimleriyle gerek saha çalışmalarında gerçekleştirdiği ıslah programlarında gerek çeltik ıslahı alanında bana daima yol gösteren, saha da bolca uygulama fırsatını veren tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Necmi BEŞER'e (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), kendisine her an yakın olduğumu hissettiğim samimiyeti, sıcaklığı, neşesi ve içten gülümsemesi ile hem hayata dair hem de bilimsel anlamda barındırdığı bilgi birikimini aktarmak isteyişi, son sene sahadan laboratuvara alabilmek adına gösterdiği çabalar için laboratuvar hocam Doç. Dr. Semra HASANÇEBİ'ye (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü) tezimi yürüttüğüm sırada bana sahada iş imkanı sunan ve çalışmam boyunca her türlü imkanı sağlayan herkese kapısı açık olan Prof. Dr. Yalçın KAYA'ya (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı), ayrıca analizlerde verilerin elde edilmesinde ve elde edilen verilerin değerlendirilip yorumlanmasına dair hiçbir yardımını esirgemeyen ve tezimin son halini almasında yardımcı olan hocam Dr. Öğr. Üyesi BEHİYE BANU BİLGEN'e (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü) Tüm emekleri için teşekkür ederim. Üç sene boyunca hiçbir zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her an her koşulda yanımda olan Ziraat Mühendisliğini isteme sebebim olan teorik ile pratik arasında köprü kurabilmeme yardımcı olan babam Fehmi MUTAFÇILAR'a, hayata dair pozitif bakabilmeme, her şeyin üstesinden gelebileceğime bana benden daha çok inanan annem Filiz MUTAFÇILAR'a, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kardeşim Tuğsem MUTAFÇILAR'a, ayrıca dönem arkadaşlarım olan Çağlar ÇOLAK'a, Gülçiçek KILIÇ'a, Mete Arslan KONAK'a, Burak TATLISES'e ve her zaman desteği ile yanımda olan Vildan SALIK'a teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda ben saha da iken yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Emrah AKPINAR'a, Özlem BALTA'ya çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından ARGE projeleri kapsamında desteklenerek Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümünce yürütülen **TAGEM-15/AR-GE/58** numaralı projenin alt çalışması olarak yapılmıştır. Desteklerinden dolayı **TAGEM'e** teşekkür ederim.

Zeynep Çisem MUTAFÇILAR, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ..... **Vİİİ**

TEŞEKKÜR ..... **X**

İÇİNDEKİLER ..... **Xİİ**

SİMGELER DİZİNİ ..... **XİV**

KISALTMALAR DİZİNİ ..... **XV**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **XVİİ**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **XX**

BÖLÜM 1 ..... **1**

GİRİŞ **1**

BÖLÜM 2 ..... **5**

GENEL BİLGİLER **5**

2.1. ÇELTİĞİN ÖNEMİ **5**

2.2. TÜRKİYE'DEKİ ÇELTİK ÇEŞİTLERİ **9**

2.3. PİRİNÇ GIDA KODEKSİ **10**

2.4. FARKLI PİRİNÇ ÇEŞİTLERİNİN KARIŞTIRILMASI **11**

2.5. BİTKİ ISLAHI VE MOLEKÜLER MARKIRLAR **12**

2.6. SSR MARKIRLAR VE PCR **14**

2.7. ÇELTİK İLE İLGİLİ YAPILMIŞ MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR **15**

BÖLÜM 3 ..... **18**

MATERYAL VE YÖNTEM **18**

3.1. MATERYAL **18**

3.2. YÖNTEM 20
3.2.1. Çimlendirme 20
3.2.2. DNA izolasyonu ve saflaştırma 21
3.2.3.Tek Pirinç Tanesinden DNA İzolasyonu 24
3.2.4. DNA miktar ölçümü ve kalite tayini 25
3.2.5. SSR Markırlarının Belirlenmesi 28
3.2.6. PCR analizleri 31
3.2.7. Kapiler elektroforez analizi 33
3.3. VERİLERİN İSTATİKSEL ANALİZİ VE DENDOGRAMIN OLUŞTURULMASI 35
BÖLÜM 4 37
BULGULAR 37
4.1. GENOMİK DNA İZOLASYONU VE SSR ANALİZLERİ 37
4.2. ÇEŞİT KARIŞIKLIĞININ TESPİTİNDE KULLANILACAK SSR MARKIRLARIN BELİRLENMESI 42
BÖLÜM 5 66
SONUÇLAR VE TARTIŞMA 66
KAYNAKÇA 70
EKLER 77
ÖZGEÇMİŞ 113
TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER 114

SİMGELER DİZİNİ

cM :	Santimorgan
^{0}C :	Santigrat derece
cm :	Santimetre
da :	Dekar
f :	Frekans
ha :	Hektar
kg :	Kilogram
M :	Molarite
mg :	Miligram
ml :	Mililitre
µL :	Mikrolitre
mM :	Milimolar
Ma :	Miliamper
nm :	Nanomol
ng :	Nanogram
O/N :	Over Night
rpm :	Dakikadaki Devir Sayısı
U :	Ünite
V :	Voltaj
% :	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

ark : Arkadaşları

AATI : Advance Analytical Fragment Analyzer

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi)

ALP : Amplicon Length Polymorphism

AP-PCR : Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction

AS-PCR : Allele Specific Polymerase Chain Reaction

bp,bç : Base pair (Baz Çifti)

CAPS : Cleaved Amplified Polymorphic

CTAB : Cetyl Tree methyl Ammonium Bromide

DAF : DNA Amplification Fingerprinting

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

dNTP : Deoksi Nükleotid Tri Fosfat

dsDNA : Çift İplikli DNA

EDTA : Etilendiamin Tetra Asetik Asit

EtBr : Etidyum Bromür

EtOH : Etil Alkol, Ethanol

gDNA : Genomik DNA

GA : Guanin Adenin

GT : Guanin Timin

IRAP : Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism

ISSR : Inter Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Arası Tekrarları)

$MgCl_2$: Magnezyum Klorür

MP-PCR : Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction

NaCl : Sodyum Klorür

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

pH: Potansiyel Hidrojen

PIC : Polymorphic information content (Polimorfik Bilgi İçeriği)

PVP : Polivinil Prolidon

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA (Değişken DNA Dizilerinin Tesadüfen Çoğaltılması)

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi**)**

RNase : Ribonükleaz

SCAR : Sequence Characterized Amplified Regions (Amplifikasyon Bölgesi Karakterize Edilmiş Dizi)

SNP : Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotit Poliformizmi)

SRAP : Sequence Related Amplified Polymorphism

SSR : Simple Sequence Repeats **(**Basit Tekrar Dizileri)

STS : Sequence Tagged Site (İşaretli Bölge Dizileri)

TAGEM : Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü

Tris : Trizma Base

Taq : Taq DNA Polimeraz

TE : Tris- EDTA Tamponu

Tm : DNA'nın Erime Sıcaklığı

UV : Ultraviole Işığı

UPGMA : Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Avarages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Soğuk ethanol içerisinde yoğunlaşan DNA ve RNA molekülleri 23

Şekil 3.2. Tek pirinç tanesinden DNA izolasyonunda faz ayırımı 25

Şekil 3.3. Elde edilen DNA'da miktar ve kalite tayini 26

Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan agaroz jel elektroforezi 28

Şekil 3.5. Kullanılan SSR markırlarından daha önceki çalışmalarda elde edilen DNA parçalarının büyüklükleri 31

Şekil 3.6. PCR karışımının hazırlanışı 32

Şekil 3.7. Kapiler elektroforez için plaka hazırlığı 34

Şekil 3.8. Tez çalışmasında kullanılan kapiler elektroforez cihazı 34

Şekil 4.1. Türkiye'de tescilli çeşitlerin yapraklarından izole edilen gDNA'lar…….. 37

Şekil 4.2. Embriyosu çıkarılmış ve parlatılmış tek pirinç tanelerinden elde edilen gDNA'lar 38

Şekil 4.3. RM152 markırı ile 1nolu çeşit Rocca da elde edilen DNA fragmentinin AATI fragment analyzer ile görüntülenmesi 39

Şekil 4.4. RM152 markırı ile 1, 2, 4, 6, 8, 11 nolu çeşitler de (Rocca, Kızıltan, Sürek-95, Ramballi, Hamzadere, İpsala) elde edilen farklı allellere ait DNA fragmentlerinin AATI fragment analyzer ile görüntülenmesi 39

Şekil 4.5. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Cammeo (mavi) ve Osmancık-97 (siyah), çeşitlerine ait ayırıcı RM152 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir. 45

Şekil 4.6. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Osmancık-97 (mavi) ve Cammeo (siyah) çeşitlerine ait ayırıcı RM144 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir. 45

Şekil 4.7. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Osmancık-97 (mavi) ve Cammeo (siyah) çeşitlerine ait ayırıcı RM259 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir. 46

Şekil 4.8. Baldo (Siyah), Osmancık-97 (kırmızı), Ronaldo (turuncuı) ve Cammeo (mavi) çeşitlerine ait ayırıcı SSR markırına ait sanal jel ve elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir. 46

Şekil 4.9. Osmancık-97 (kırmızı), Ronaldo (turuncuı) ve Cammeo (mavi) çeşitlerine ait ayırıcı SSR markırına ait sanal jel ve elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir. 47

Şekil 4.10. RM152 Primeri Kullanılarak Baldo- Osmancık-97 Ayırımı 47

Şekil 4.11. RM431 Primeri Kullanılarak Osmancık-97-Ronaldo Ayırımı 48

Şekil 4.12. RM283 Primeri Kullanılarak Ronaldo-Baldo Ayırımı 48

Şekil 4.13. RM484 Primeri Kullanılarak Ronaldo- Cammeo Ayırımı 49

Şekil 4.14. RM19, RM277 ve RM552 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 50

Şekil 4.15. RM536, RM489 ve RM44 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 51

Şekil 4.16. RM11, RM408 ve RM237 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 52

Şekil 4.17. RM312, RM152 ve RM495 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 53

Şekil 4.18. OSR13, RM5 ve RM215 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 54

Şekil 4.19. RM283, RM455 ve RM1 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 55

Şekil 4.20. RM507, RM413 ve RM271 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 56

Şekil 4.21. RM307, RM133 ve RM474 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 57

Şekil 4.22. RM484, RM105 ve RM514 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 58

Şekil 4.23. RM334, RM510 ve RM118 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 59

Şekil 4.24. RM178, RM287 ve RM162 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 60

Şekil 4.25. RM316, RM452 ve RM338 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 61

Şekil 4.26. RM161, RM144 ve RM433 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 62

Şekil 4.27. RM125, RM431 ve RM455 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir) 63

Şekil 4.28. RM454 ve RM171 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir).....64

Şekil 4.29.UPGMA Dendogramı.....65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. 2000-2017 yılları arası Türkiye Çeltik ekim alanı ve üretim miktarları (TUİK 2018).....6

Çizelge 2.2. Türkiye pirinç üretim, ihracat, ithalat ve tüketim durumu (Anonim, 2017).7

Çizelge 2.3. Bölge ve iller bazında çeltik üretimi (TUİK 2018) 8

Çizelge 2.4. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen, ilk Türk çeltik çeşitleri 9

Çizelge 2.5. Moleküler Markır Çeşitleri 13

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan çeltik çeşitleri.....18

Çizelge 3.2. 2X CTAB Tampon Çözeltisi 21

Çizelge 3.3. 2X CTAB (Tampon Çözeltisi) solüsyonu 24

Çizelge 3.4. Çeltik genomik DNA spektorfotometre sonuçları 26

Çizelge 3.5. Tez çalışmasında kullanılan SSR markırlarına ait bilgiler 29

Çizelge 3.6. Tüm markırlar için kullanılan PCR karışımı ve konsantrasyonları 32

Çizelge 3.7. PCR koşulları.....33

Çizelge 3.8. Kapiler elektroforezinde kullanılan kitlerin içeriği 35

Çizelge 3.9. Primerlerin Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) 36

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Pirinçte kalite kriterlerinde yöresel farklılıklar çok önemlidir. Ülkeden ülkeye kalite kriterleri değiştiği gibi bir ülke içinde şehirden şehire de değişmektedir. Tüketicinin alıştığı fiziksel görünüş, koku, tat, aroma ve pişme özellikleri halk arasında pirinç kalitesi olarak adlandırılır (Sezer, Akay, Şişman, & Şenocak, 2015). Ancak belirtilenlerin yanı sıra genelde herkes tarafından kabul edilen başlıca kalite unsurları; randıman ve fiziksel özellik, gıda işleme sanayi için kalite, besleyicilik kalitesi, pişirme ve yeme kalitesi ile temizlik ve karışıksız olması da yer alır. Bütün kalite unsurları istenen düzeyde olsa dahi markette pazarlanan ürünün karışık olması kalite değerlerini düşürmekte aynı zamanda haksız rekabete ve tüketicinin yanıltılmasına neden olmaktadır. Çeşit karışımı olduğunda, karışımda kullanılan pirinç çeşitleri arasında pişme süresi, amiloz oranı, jelatinleşme sıcaklığı vb. farklılıklar olduğunda bu karışım pirinçten hazırlanacak yemeğin kalitesini de düşürmektedir.

Türkiye'de pirinç paketli olarak genelde Osmancık-97 ve Baldo diye satılmaktadır. Baldo ve Osmancık-97 çeşitlerinin pirinci Türk tüketicisi tarafından yüksek kaliteli kabul edilmektedir. Özellikle Baldo çeşidi üretimi çok az olmasına rağmen pazarda değişik pirinçler karıştırılarak Baldo ismiyle pazarlanmaktadır. Yine ithal pirinçler Osmancık-97 veya Baldo diye çeşitli oranlarda karıştırılarak satılmaktadır. Baldo çeşidinin çeltik üretim izni dolmuş olup artık sertifikalı tohumluğu Türkiye'de üretilmemektedir. Ancak marketlerde diğer çeşitler karıştırılarak halen Baldo diye satılmaktadır. Bunun nedeni Baldo pirincinin yüksek fiyatla satılmasıdır. Farklı pirinç karışımlarının piyasada kabul görmüş çeşitlerin ismi ile satılması değişik

sorunlara neden olmakta, zaman zaman da yargıya intikal etmektedir. Paketin içinde ismindeki ile aynı olmayan pirinç karışımlarının gözle veya fiziksel ölçümlerle ayrılması çok zordur. Paket içindeki pirinçler fiziksel olarak birbirine benzese de kimyasal ve pişirme özellikleri farklı olabilir bu nedenle, çeşitleri ayırt edici moleküler markırlara ihtiyaç vardır.

Moleküler markırlar hızlı işlem yeteneği ile istenen özelliklerin bulunup bulunmadığını belirleme de bizlere yardımcı olmaktadır (Richmond & Somerville, 2001). Moleküler genetik markırlar, DNA'yı kaynak olarak kullanır. Canlıların yapısal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan şifreler yer aldığı için moleküler genetik markırlar bitki populasyonunda oluşan çeşitlilik ya da populasyon da yer alan bitki genotiplerinin ilişkisini belirlemede %100'e yakın güvenilirlikte sonuçlar verirler. Günümüzde moleküler markırlar bitki ıslahında, gen kaynaklarının değerlendirilmesinde, genetik farkılılığın saptanmasında ve bitki sistematiğinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Gülşen & Mutlu, 2005).

Morfolojik karakterlerin aksine moleküler markılar DNA temellidir ve çevresel faktörlerden etkilenmezler. Moleküler kimliklendirme, markır lokuslarının polimorfizmine dayanmakta ve bu nedenle genetik kaynakların karakterizasyonu, korunması ve yönetilmesi bakımından güvenilir ve etkili sonuçlar ortaya koymaktadırlar.

SSR markırları, tüm genoma dağılmış basit dizi tekrarlarıdır ve mikrosatellit olarak da bilinirler. Mikrosatellitler birçok ökaryotik genomda yaygın bir şekilde bulunan 1-6 nükleotid uzunluğunda tekrar motifleridir. Genetik düzeyde yapılan kimliklendirme çalışmalarında genotipler arasındaki allelik varyasyonları replikasyon kaymasındaki mutasyonlara vb. dayandırılması ile SSR markırlar önemli avantaj sağlar (Schlotterer & Tautz, 1992). SSR markırlarının kullanılmasıyla elde edilen polimorfizm, çoğaltılmış bölgedeki mikrosatellit motiflerinin tekrar sayısındaki farklılıktan kaynaklanır. Bu markırların bitki genomlarında yüksek oranda polimorfizm göstermeleri, kromozomlara özgün markırlar olmaları, reaksiyonların yüksek tekrar edilebilme özelliği, allelik farkları ortaya koyabilmesi, ko-dominant (eş baskın) markırlar olmaları, kolay ve hızlı uygulanabilmeleri tekniğin en önemli avantajlarıdır. Moleküler markılar DNA temelli olduğu için asıl hedef, bireyler arasında bulunan ve

DNA seviyesinde ifade edilen farklılığın ortaya çıkarılmasıdır. Bireyler arası farklılık iki allel arasındaki tekrar sayısından kaynaklanmaktadır. Bireylerde aynı DNA bölgesinde yer alan lokus homozigot ya da heterezigot özellik gösterebilir. Bunun nedeni ebeveynlerden gelen allellerdir (Kibar, 2012). Eğer ifade edilen bu farklılık genomda belirtiliyor ve tek bir bölgeyi işaret ediyor ise bu tanımlama allel kavramının genomik olarak karşılığıdır. Bunu genomik olarak DNA seviyesinde ifade etmenin başlıca avantajı, herhangi bir DNA zincirinin, iki birey arasında bulunan allellik farklılığını gösterebilmesidir (Gülşen & Mutlu, 2005). Belirtilen avantajları nedeniyle özellikle tür içi varyasyonları ortaya koymada ve çeşitlerin ayırımında etkili biçimde kullanılması nedeni ile çalışma kapsamında moleküler karakterizasyon ve çeşit ayırıcı markırları belirlemek üzere SSR markırları kullanılmıştır.

Ülkemizde pirince işlendikten sonra nihai tüketiciye sunulan embriyosu alınmış, parlatılmış pirinçten çeşit tanımlamaya yönelik bir moleküler kimliklendirme çalışmasına da rastlanılmamıştır.

Ülkemizde çeltik çeşitleri ile ilgili bazı moleküler çalışmalar yapılmıştır. Bay (2009) tohum depo proteinleri ve 20 adet RAPD primeri kullanılarak yaptığı araştırmada, Türkiye'de tescil edilen bazı çeşitler arasında birkaç çeşidin birbirinden farklı şekilde yerleşimi dışında temelde benzer dendogramların oluştuğunu ve iki ana grup altında toplandığını bildirilmiştir. Cömertpay ve ark. (2015) ticari çeşitlerde akrabalık ilişkilerini belirlemek için SSR markırları kullanılarak çalışma yapmışlardır. Yüzbaşıoğlu ve ark. (2016) Türkiye'de tescilli 37 çeltik çeşidinde IRAP markırları kullanarak polimorfizim çalışması yapmışlardır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ülkemizde tescil ettirilen bazı çeltik çeşitlerinin genetik akrabalık düzeyleri belirlenmiş fakat çeşitleri tanımlayacak ayırıcı markırlarların belirlenmesi ve geliştirilmesi konusunda herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Markette pazarlanan ürünün karışık olması, bu karışımların tüketiciyi yanıltıcı bir şekilde piyasada kabul görmüş çeşitlerin ismi ile satılması sık karşılaşılan bir durumdur ve bu durum hem haksız rekabete hem de haksız kazanca ve tüketicinin yanıltılmasına neden olmaktadır. Karışım halinde piyasaya sunulan pirinçleri ayırt etmenin en güvenilir yolu, moleküler kimliklendirmedir. Bunun için pazarda yer alan

çeşitleri ayırıcı, mümkünse çeşide özgü moleküler markırların belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Yürütülen bu tez çalışmasının iki temel amacı vardır. Birinci amacı ülkemizde bulunan tescilli çeltik çeşitlerinin moleküler karakterizasyonu, ikincisi ise nihai tüketiciye pazarlanan pirinçlerin karıştırılması durumunda bu karışık pirinç tanelerinin belirlenmesi ve paket içindeki pirinçlerin çeşidini tanımlayabilecek moleküler markırları belirlemektir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Çeltiğin Önemi

Çeltik, buğdaygiller (Poaceae) familyasından, *Oryza sativa* L. türü olup tropikal ve ılıman bölgelerde su içerisinde yetiştirilerek tarımı yapılabilen tek otsu sıcak iklim bitkisidir. Çeltik, tuzlu ve alkali topraklarda da yetişebilmesi bakımından sorunlu topraklarda ıslah amaçlı kullanımına başvurulan bir tahıldır (Öztürk & Akçay, 2010). Kültür bitkileri içerisinde insan beslenmesinde temel gıda maddesi niteliğinde olan bu tahıl bitkisi pirinç hali ile sofralarımızda önemli bir yere sahiptir.

Dünya nüfusun besin ihtiyacının %80'ini tahıllar tarafından karşılanmaktadır. Aynı zamanda nüfusun yarıdan fazlasının temel besin kaynağını oluşturan çeltik bitkisi (*Oryza sativa* L.) sıcak iklim grubu tahılları arasında kendisine yer edinmiştir (Khush, 1997). Dünyada günlük enerjinin % 25'i çeltik tüketilerek karşılanmakta olup (Sürek, 2002), dünya nüfusunun yarısından fazlası ve gelişmiş ülkelerin çoğunluğu çeltik tarımının yapılmasına önem vermektedir (Boyer, 1982).

Türkiye'de çeltik ekim alanı 1.160.563 dekar, üretim 900.000 ton olup kişi bakına tüketim ise 9.4 kg'dır (Anonim, 2018). Türkiye'nin birçok bölgesi çeltik yetiştiriciliği için uygun ekolojik koşullara sahiptir. Ülkemizde yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde belirlenen sıcaklık ortalaması genellikle 25^{o}C civarındadır. Belirlenen bu sıcaklık yetiştiriciliği yapılacak olan çeltik için oldukça idealdir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeltik yetiştiriciliği için sulak alanlar gözetilir (Sezer, Akay, Öner, & Şahin, 2012). Yetiştiricilik için uygun olduğu düşünülen ve suya erişimin kolaylıkla

sağlanabildiği genellikle akarsuların olduğu delta ovalarının bulunduğu, vadi tabanlarında yapılmaktadır. Çeltik bitkisinin gelişimini etkileyen önemli iki faktör bulunmaktadır. Biri gün uzunluğu iken diğeri sıcaklıktır (Vergara, 1970).

Türkiye halen çeltik ithal etmeye devam etse de, son yıllarda yüksek verimli çeşitlerin kullanılması, çeltik yetiştirme tekniği uygulamalarının iyileştirilmesi ve çeltik üreticisinin modern tarım yöntemlerini kullanmaya yönelmesine bağlı olarak üretimde ciddi artışlar olmuştur. Türkiye'de çeltik ekimi 2000 yılında 580.000 da alanda yapılırken 2017 yılına gelindiğinde bu değer 1.095.599 ha çıkmıştır. 2000'de çeltik üretimi 350.000 ton iken 2017 yılına gelindiğinde bu üretim değeri 920.000 tona ulaşmıştır (Anonim, 2018). 2000-2017 yılları arası Türkiye çeltik ekim alanı ve üretim miktarları Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. 2000-2017 yılları arası Türkiye Çeltik ekim alanı ve üretim miktarları (TUİK 2018)

Yıl	Ekim Alanı (da)	Hasat Edilen Alan(da)	Üretimi (ton)	Verimi (kg/da)
2000	580000	350000	350000	603
2001	590000	360000	360000	610
2002	600000	360000	360000	600
2003	650000	372000	372000	572
2004	700000	699900	490000	700
2005	850000	849090	600000	707
2006	991000	990433	696000	703
2007	939000	937994	648000	691
2008	995000	994929	753325	757
2009	967541	964441	750000	778
2010	990000	989664	860000	869
2011	994000	993832	900000	906
2012	1197247	1196639	880000	735
2013	1105924	1105924	900000	814
2014	1108844	1086487	830000	764

Çizelge 2.2. (Devam)

2015	1158561	1158561	920000	794
2016	1160563	1160563	920000	793
2017	1095599	1095049	900000	822

Ülkemize ABD, Mısır, İtalya, Pakistan ve Avusturalya'dan pirinç ithal edilirken bu durum 2004 yılından sonra düzenlenen korumacı politikalar ile Edirne ve İpsala ovalarından gelen artış sonucu dışa olan bağımlılık azalmıştır (Erdem, 2012). Türkiye pirinç üretim, ihracat, ithalat ve tüketim durumu Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Türkiye pirinç üretim, ihracat, ithalat ve tüketim durumu (Anonim, 2017)

Yıl	Arz = Kullanım (Ton)	İhracat (Ton)	İthalat (Ton)	Kullanılabilir Üretim (Ton)
2000	516439	14386	310639	205800
2001	534958	11760	323278	211680
2002	616402	16041	404722	211680
2003	344021	13937	125285	218736
2004	571164	14648	283044	288120
2005	577650	16580	221250	356400
2006	581400	16790	167980	413420
2007	621276	20948	236364	384912
2008	631096	36494	183621	447475
2009	781692	40463	336192	445500
2010	786107	105874	275267	510840
2011	693349	91783	158749	534600
2012	739776	46412	217056	522720
2013	854814	34770	320214	534600
2014	785683	39589	292663	493020
2015	745356	61254	198876	546480

Türkiye'de çeltik üretiminin bölgelere dağılımına bakıldığında Batı ve Doğu Marmara, Batı Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu en önemli ekim ve üretim bölgeleridir. Üretici iller arasında ise Edirne, Balıkesir, Samsun, Çorum ve Çanakkale en önemli sırayı almaktadır (Anonim, 2018). İllere göre çeltik üretimi Çizelge 2.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Bölge ve iller bazında çeltik üretimi (TUİK 2018)

Bölge	İller	Ekilen Alan (da)	Üretim (Ton)
MARMARA (%70)	Edirne	456846	398534
	Balıkesir	144376	113829
	Çanakkale	82367	67357
	Tekirdağ	9439	7329
	Diğer	49451	41027
	TOPLAM	742479	628076
KARADENİZ (%26)	Samsun	165965	133038
	Çorum	69131	57076
	Diğer	56556	43511
	TOPLAM	291652	233625
İÇ ANADOLU (%2)	Çankırı	22119	15580
	Diğer	4600	4528
	TOPLAM	26719	20108
Diğer Bölgeler (%2)		34199	18191
TOPLAM ÜRETİM		1095049	900000

Türkiye 1984 yılından bu yana çeltik ve pirinç için ithalatçı bir ülke pozisyonundadır. Ancak son yıllarda desteklerin verilmesi ve belirlenen yurt dışı fiyatların yüksek olması, çiftçiyi üretime sevk etmiştir (TMO, 2018).

2.2. Türkiye'deki Çeltik Çeşitleri

Ülkemizde yapılan çeltik ıslah çalışmalarının ilk yıllarında çoğunluğu introdüksiyon yoluyla dışarıdan materyal sağlanmış ve tescil edilmiştir. 1979 yılında Edirne'de bulunan Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünde, yapılmaya başlanan melezleme ıslahı çalışmalarına yer verilmesi ile takip eden yıllarda yerli ıslah edilmiş çeşitler tescil edilmeye başlanmıştır. Yapılan bu melezlemeler sonucu, ülkemiz için uygun genetik varyasyonlar yaratılarak, yüksek adaptasyon yeteneği olan, verimli ve kaliteli çeşitler geliştirilmiştir.

Çalışmaları hızlandırabilmek için 1981 yılında "Ülkesel Çeltik Araştırmaları Projesi" oluşturulmuş ve Edirne Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü proje merkezi seçilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 40'un üzerinde çeşit geliştirilmiştir. Bunun yanı sıra Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve özel sektör firmalarının çeşitleri de tescil edilerek, ülkemizde tescilli ve üretim izinli çeşit sayısı hızla artmıştır.

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen, ilk Türk çeltik çeşitleri Çizelge 2.4'te sunulmuştur

Çizelge 2.5. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen, ilk Türk çeltik çeşitleri

Çeltik Çeşitleri	**Tescil Yılı**
Ergene, Trakya, Meriç, İpsala, Altınyazı	1990
Serhat-92,	1992
Sürek-95	1995
Osmancık-97	1997
Kıral, Demir, Yavuz,	2000
Kargı, Gönen, Neğiş	2002
Kırkpınar, Edirne, Halilbey, Ece	2004
Şumnu, Beşer	2005
Durağan, Kızıltan,Aromatik-1	2007
Gala, Tunca	2009
Efe, Çakmak, Paşalı, Hamzadere	2011

1997 yılında tescil edilen Osmancık-97 çeşidi ülkemiz çeltik ıslahı için çok önemli bir başarı olmuş ve % 80 lere kadar ekiliş alanlarını kapsadığı yıllar olmuştur. Gerek kalite gerekse verim açısından üretici ve tüketici tarafından büyük kabul görmüştür. Ancak son yıllarda özel firmaların yurt dışından getirerek tescil ettirdiği çeşitler üretimde büyük pay sahibi olmaya başlamıştır. Özellikle iri tanesi nedeni ile Cammeo çeşidi, İmi grubu ilaçlara dayanıklılık özelliği nedeni ile Luna çeşidi ve yüksek verim nedeni ile Ronaldo çeşidi üretimde çok yüksek oranlara ulaşmıştır. Bugün için her ne kadar tescil edilseler de birçok çeşit üretimden kalkmış olup Türkiye çeltik üretimi büyük çoğunlukla Osmancık-97, Cammeo, Ronaldo, Luna vb. gibi çok az sayıda çeşitten gelmektedir. Tescilli çeşitlerin yanı sıra çok az miktarda Diyarbakır'da yetiştirilen Karacadağ gibi yerel çeşitler de yetiştirilmektedir.,

2.3. Pirinç Gıda Kodeksi

Çeltiğin kabuklarının soyularak parlatma işlemine tabi tutulması sonucu elde edilen pürüzsüz görünüme sahip ürüne pirinç denir (Dönmez, 2007). Çeltiğin, işlenmesi ile pirinçte çeşitli kalite sınıfları elde edilmektedir. Düşük kademede yer alanlar nişasta ve bira yapımında değerlendirilirken kaliteli pirinçler tüketime doğrudan sunulmaktadır (Gaytancıoğlu, 1997)

Üretilen pirinç, Türk Gıda Kodeksine uygun olarak üretilmeli ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınan Üretim İzin Belgesi'ne sahip olmalıdır. Kodeksin belirlediği 07/01/2011 tarihli ve 27808 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi-Pirinç Tebliği"nin (Tebliğ No:2010/60) 1. Maddesinde belirtildiği şekilde amaç, paketli veya dökme olarak insan tüketimine sunulan kavuzsuz pirinç, değirmenlenmiş pirinç, yarı haşlanmış pirinç ve kırık pirincin tekniğine uygun ve hijyenik şekilde üretim, hazırlama, işleme, muhafaza, depolama, taşıma ve pazarlamasını sağlamak üzere bu ürünlerin özelliklerini belirlemektir ("Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği,").

2.4. Farklı Pirinç Çeşitlerinin Karıştırılması

Piyasada bulunan düşük kaliteye sahip pirinçlerin satılabilmesi için yüksek kaliteli pirinçler ile karıştırılmaktadır. Bu durum giderek sorun teşkil etmeye başlamıştır. Daha önceleri yerli pirinçler arasında yapılan bu karışım işlemi yerini düşük kaliteye sahip olan aynı zamanda daha ucuz nitelikte ki Mısır pirincinin daha yüksek kaliteli ve pahalı olan ABD üretimi Carlose pirinçlerinin karıştırılmasına bırakmıştır. Dünya'daki pirinç ticaretinin dörtte üçünü uzun taneli çeşitler oluşturmaktadır. Önümüzdeki on yıl boyunca pirinç ticaretinde bu çeşitler artış göstererek yer alacaktır. Orta ve kısa taneli çeşitlerin en büyük piyasası Kuzeydoğu Asya olup küresel ticaretin %10 -12'sini oluşturmaktadır. Küresel pirinç ticaretinin kalanını aromatik pirinç çeşitleri olan Basmati ve Jasmine oluşturmaktadır. Dünyada ticarete konu pirinçler arasında kalitelerine göre büyük fiyat farkları vardır, bu fiyat farkından dolayı zaman zaman uluslararası ticarette de karışımlar yapılarak haksız rekabete neden olunmaktadır.

Son yıllarda ülkemizde yerli üretim ve daha kaliteli olan Osmancık–97 ve Baldo çeşitleride fiziksel özellikleri bunlara benzeyen pirinçler ile karıştırıldığına dairşikayetler vardır. Bu karışımlarda ki tek amaç, düşük kaliteli pirinçlerin daha yüksek fiyatlar ile satılmasıdır. Pirinçlerin karıştırılması tüketicilerin aldatılmasına aynı zamanda yerli üretimimiz olan Osmancık–97 pirincinin lezzetinin bozulmasına yol açmaktadır. Bu durum, yerli üretimimiz olan pirinç çeşitleri için olumsuz düşüncelerin sergilenmesine yol açmıştır. Bazen paketlerde pirincin çeşidine dair bir isim yazılmadığı gibi, menşei hakkında da herhangi bir bilgiye rastlanmamaktadır. Genelde çeşit ismi yerine pilavlık pirinç ifadesi kullanılarak satışa sunulmaktadır. Pirinç taneleri fiziksel olarak biraz iri taneli ise Baldo olarak ifade edilerek tüketiciye sunulmaktadır.

Pirinç kalitesini belirleyen unsurlar olarak genetik yapısı, yetiştiricilik, pirince işlenmesi, depolanması ve pazarlanması olarak belirtilmiştir Belirlenen bu unsurlar. başta kalite kriterlerini oluşturmakla birlikte tüketiciye ulaşana kadar pirincin kalitesini yükseltilmesi ve muhafazası için gerekli koşullarda yürütülmesi gereklidir. Üretimin ardından tüm işlemleri tamamlanmış pirincin tüketiciye sunulması sırasında uygun şartlarda paketleme işlemi yapılarak depolanmalı ve pirincin kalitesini bozacak olan bakteri fungus ve böcek oluşumu giderilmeli pirinç için ayrılmış özel depolarda saklanmalıdır. Pazara sunulacak olan pirinçlerde değişik çeşitlerin karışımı olmamalıdır.

Eğer karıştırılarak sunulması gerekiyorsa aynı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip pirinçler karıştırılmalıdır. Ülkemizde büyük ölçüde karışım yapılmaktadır. Bu durum tüketicinin yanılmasına yol açmaktadır Ancak tüketici durumun farkına varıp karışık olmayan adına doğru pirinci almak için ithal pirince yönelecektir. Bu sorunun ortadan kaldırılması için paketin içindeki ürünü temsil edecek olan bilgilerin ambalajlama aşamasında doğru şekilde yazılmalıdır (Sürek & Beşer, 2014).

2.5. Bitki Islahı ve Moleküler Markırlar

Bitki ıslahında amaç, bitkilerin genetik yapılarının insan gereksinimini karşılayacak ölçüde değiştirmek iyileştirmek ve döllere sağlıklı bir şekilde aktarımıdır (A. Demir, Seyis, & Kurt, 2006; İ. Demir & Turgut, 1999). Melezlemeler sonunda elde edilen ve açılım gösteren döller arsından üstün özellikteki genotiplerin fenotiplerine bakılarak seçilmesine klasik bitki ıslahı denir. Ancak yapılan bu seçim işlemi çoğunlukla pahalı ve bazı karakterler için uygulanabilir değildir. Klasik bitki ıslahında sorun teşkil eden bu durumlara alternatif olarak yeni bir yaklaşım olan markır destekli seleksiyon ıslah programlarına alınmıştır (Francia et al., 2004). Moleküler markırlar genomda yer alan bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkisi olan DNA parçalarıdır (Yorgancılar, Yakışır, & Tanur Erkoyuncu, 2015). Analizlerin yapılabilmesi için elde edilen DNA her hangi bölümden alınan doku parçası yeterlidir (Botstein, White, Skolnick, & Davis, 1980). Islah programlarında ilgili gen ile bağlantılı markırların kullanılmasının yararları son yıllarda giderek daha da anlam kazanmıştır. 1970'li yılların sonlarında DNA markırlarının geliştirilmesi ıslah programlarına yön vermiştir. Geliştirilen moleküler markırlar kantitatif karakterler ile çalışılmasını kolaylaştırdığı için büyük ilgi görmüştür (Eserkaya Güleç, Yıldırım, & Ateş Sönmezoğlu, 2010).

Moleküler markırlar çevresel ya da diğer değişikliklerden kaynaklanan yapısal farkların belirlenip ortaya çıkarılmasında hayati önemi büyüktür (Jump & Peñuelas, 2005). Yürütülecek çalışmada kullanılacak markır sisteminin belirlenmesinde materyal ve amaç göz önünde tutularak karar verilmelidir. Seçimlerde maliyet, kolay uygulanabilirlik, popülasyon yapısı, lokus sayısı, genomda dağılımı, monomorfik ve polimorfik yapı önemli rol oynar. Bitki dünyasında çeşitli amaçlar için kullanılan moleküler markırlar, PCR'a dayalı, hibridizasyona dayalı veya DNA sekanslamasına

dayalı markır sistemeri olarak büyük çeşitlilik göstermektedir (Çizelge 2.5) (Yorgancılar et al., 2015).

Çizelge 2.6. Moleküler Markır Çeşitleri

PCR'a Dayalı Olanlar	
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi (Random Amplified Polymorphic DNA)
ISSR	Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (Inter Simple Sequence Repeat)
SSR	Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler (Simple Sequence Repeat)
AFLP	Çoğaltılmış Uzunluk Fragmenti Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
Hibridizasyona Dayalı Olanlar	
RFLP	Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
DNA Sekanslamasına Dayananlar	
SNP	Tek Nükleotit Poliformizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
MP-PCR	(Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction)
AP-PCR	(Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction)
AS-PCR	(Allele Specific Polymerase Chain Reaction)
DAF	(DNA Amplification Fingerprinting)
CAPS	(Cleaved Amplified Polymorphic)
ALP	(Amplicon Length Polymorphism)
SRAP	(Sequence Related Amplified Polymorphism)
STS	Etiketlenmiş Sekans Bölgeleri (Sequence Tagged Site)
SCAR	Dizin Karakterli Çoğaltılmış Bölgeler (Sequence Characterized Amplified Regions)

Bitki ıslahında melezleme çalışmalarında kullanılacak ana ve baba hatların akrabalık derecelerinin bilinmesi ve kombinasyonların buna göre yapılması da önem arz etmektedir. Yürüttüğümüz bu çalışmada Türkiye'de tescilli ve üretim izinli çeşitlerde akrabalık durumları 43 SSR markırı ile ıslah çalışmalarında değerlendirilmek için incelenmiştir.

2.6. SSR Markırlar ve PCR

Yüksek organizmalarda düzenleyici rolleri olduğu düşünülen ancak görevleri henüz bilinmeyen rastgele tekrarlanmış DNA bölgeleri mevcuttur (Altun, 2006). DNA markırları kullanımı ile genetik harilalamaların yapılması, genetik çeşitliliğin belirlenmesi çalışmaların yapılması, filogetik düzeydeki analizler, markır destekli seleksiyon (MAS) çalışmaları kolaylık kazanmıştır (Joshi, Gupta, Aggarwal, Ranjekar, & Brar, 2000). Ardışık olarak tekrarlanan her ünitedeki 2-6 nükleotid sayısı minisatallit, mikrosatallit olarak ifade edilen SSR' lar aynı türde belirtilen bireylerin arasında korunduğu için farklı genotipler ile çakışan SSR'ların PCR primerleri kullanımı ile çoğaltılarak seçim yapılmasına yardımcı olmaktadır (Altun, 2006). Minisatallitller 4kb ile 20 kb büyüklükleri arasında değişim gösteren çoklu lokus probları ile hibridize olabilen markırlardır (Jeffreys, Wilson, & Thein, 1985). Bitkilerde SSR kullanımı ile genetik haritalama çalışmaları her geçen gün artış göstermektedir. Kodominant, polimorfik olmaları ve PCR çalışmalarında kolay uygulanması kullanımını arttırmaktadır (Röder et al., 1995). SSR' ların (mikrosatallitlerin) bitki genetik çalışmalarında belirleyici olarak kullanılması dinükleiotid ve trinükleotid tekrarlarının genomda sıkça bulunmasından kaynaklı olup kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Morgante & Olivieri, 1993). Yapılan çalışmalarda belirli tekrar bölgelerinin çokluğu genomik bölgeye göre değişiklik gösterdiği ve dağılımın incelendiği taksonomik gruba özgün olduğu belirlenmiştir (Tóth, Gáspári, & Jurka, 2000). Ancak SSR markırların kullanım kolaylığının olmasının yanında yeni markır olarak geliştirilmesi oldukça güçtür (Yorgancılar et al., 2015).

PCR' ın kolay uygulanabilirliği bitki biyoteknolojisi alanında yapılan çalışmalar sonunda ideal bir metod olduğu belirlenmiştir. PCR; temelde oligonükleotid primerlerinin kullanılması ve DNA polimeraz enzim aracılığı ile çalışılan materyal olan DNA'nın çoğaltılması işlemi olarak tanımlanır (Yılmaz & Devran, 2003).

2.7. Çeltik İle İlgili Yapılmış Moleküler Çalışmalar

Ko ve ark. (1994) 22 RAPD primeri kullanarak 37 adet Avusturalya çeltik çeşidini analiz etmişledir. Yaptıkları çalışma sonunda %67'si polimorfik karakterli olan 144 bant elde edilmiştir. Ayrıca ABD çeşitleri ile Avusturalya çeşitleri arasında ve çeşitlerin ebeveynleri arasında ki ilişki %88-97 arasında benzer bulunmuştur.

Blair ve ark.(1999) kültüre edilmiş 59 çeltik çeşidi için ISSR markırlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında çeltikte mikrosatallit motif frekansını ve parmak izi analizini yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda motif dizisinde çoklu (GA) motifinin çoklu (GT) motifinden daha fazla olduğunu görmüştür.

Buu ve Lang.(1999) yürüttükleri çalışmada 10 adet RAPD primerini lokal olan 72 çeltik çeşidi için kullanarak genetik çeşitliliği belirlemeye çalışmıştır.

Raghunathachari ve ark.(2000) Hindistan orijinli olan 18 çeltik çeşidini 10 RAPD pirmeri kullanarak incelemişlerdir. Çeşitler arasındaki genetik benzerlik % 22 ile % 77.5 arasında belirlenmiştir.

Cho ve ark. (2000) çeltiğin genetik çeşitliliğini belirleyebilmek için genomun ifade edilen bölgeleri olan EST ve bu bölgelerden geliştirilmiş olan EST-SSR markırlarını kullanmıştır.

McCouch ve ark. (2002) çeltikte 2500 SSR primer çiftininin geliştirildiğini ve bu markırların genom haritalanması dahil birçok alanda kullanıldığını bildirmiştirler.

Saini, Jain, Jain ve Jain'in (2004) yılında AFLP, ISSR ve SSR markırlarını kullanarak yaptıkları çalışmada Basmati ve Basmati olmayan çeltik çeşitlerinin genetik çeşitliliğini değerlendirmişlerdir. SSR analizleri için. 30 SSR markırı kullanmışlardır.

Garris ve ark. (2005) yürüttükleri araştırma çalışmalarında SSR markırlarını kullanarak çeltiğin genetiğini ve çeşitliliğini incelemişlerdir. Sonuç olarak 169 nüklear ile 2 kloroplast lokusu belirlediklerini bildirmişlerdir.

Ogunbayo ve ark (2005) tarafından RAPD primerlerini kullanarak çalışma için belirlenen 40 çeltik çeşidi arasında filogenetik çeşitlilik incelenmiştir. Morfolojik karakterlere göre yapılan bu dendogramda çeşitler 6 grup oluşturmuş, RAPDs markırları daha fazla polimorfizim göstermiştir.

Cao ve ark (2006) SSR markırlarını kullanmış ve belirledikleri populasyonlar arası genetik varyasyonu % 35 olarak belirtmiştirler.

Chakravarthi ve (2006) Naravaneni 7-12 numaralı kromozom sayıları üzerinde 30 SSR primerini kullanarak 15 elit çeltik çeşidinin genotipinin genetik çeşitliliğini ve DNA parmak izini incelemiştir.

Houssain, Rasul, Ali, Iftekharuddaula ve Mian 'ın (2007) yılında yaptıkları çalışmada 21 çeltik genotipinin genetik çeşitiliği 30 SSR markırı kullanarak tanımlamaya çalışmışlardır.

Wan ve ark. (2008) 13 ISSR markırını *Oryza meyeriana* (Zoll. & Moritzi) Baill.'ya ait 34 populasyonun genetik çeşitliliğini belirleyebilmek için kullanmıştır. Sonuç olarak elde edilen bant sayısı 168'dir.Bantlardan 135'i polimorfik karakterde belirlenmiştir.

Bay (2009) Türk çeltik çeşitlerinin tohum depo proteinleri ve 20 adet RAPD primeri kullanılarak genetik analizini yaptıştır.

Zeliang, Pattanayak, Iangrai, Khongwir ve Sarma (2010), *Oryza rufipogon* Griff. bitki materyalini kullanarak yaptıkları çalışmada 26 SSR markırından 18 tanesi 1 allel vermiş geri kalan 8 tanesi 2 allel vermiştir.

Filiz (2012) biyoinformatik araçların kullanımı ile yabani çeltik çeşidi olan *O.rufipogon* Griff. için mitokondriyal genomu (mtDNA) *in silico* SSR analizi kullanarak belirlemiş ve tanımlamıştır. Çalışmanın sonucunda elde edilen verilerin ilerleyen zamanlarda bilimsel çalışmalar için *Oryza* türlerinin genetik olarak haritalanmasına ve mtSSR kullanımı yardımcı olacağını söylemiştir.

Rahman ve ark. (2012) 21 çeltik çeşidinde 34 SSR kullanarak bir çalışma yapmışlardır. RM401'in çeltik genotiplerinin çeşitlilik tanımlaması ve çeşitlilik tahmini için en iyi markır olabileceği ve bunu RM566, RM3428, RM436 ve RM8094 markırlarının izlediğini ortaya konulmuştur. Sadece aromatik pirinç türlerinde spesifik allel üreten ve varyetelerin tanımlamasında DNA parmak izi için yararlı olan 8 SSR markır tespit edilmiştir. Bunlar RM10713, RM279, RM424, RM6266, RM1155, RM289, RM20224 ve RM5371'dır.

Törün (2013) tarafından yapılan yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye'de geliştirilen 28 çeltik (*Oryza sativa* L.) çeşidini genetik çeşitlilik seviyeleri ISSR markırları kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada 20 adet ISSR primeri kullanılmış ve çoğaltılan DNA parçalarının 217'si polimorfik olmakla birlikte toplam 268 bant elde edilmiştir. Çalışma sonucunda genetik olarak birbirine en çok benzeyen çeşitlerin Efe ve Hamzadere (0.856), birbirine en az benzeyen çeşitlerin ise Demir ve Bafra Yıldızı (0.395) çeşitleri olduğu belirlenmiştir.

Kumbhar ve ark (2013.) çeltikte ISSR markırı kullanımı yardımı ile moleküler çeşitlilik incelenmiştir. Yürüttükleri çalışma sonunda 13 ISSR markırı için 103 bant elde edilirken polimorfizmi % 97.08 olarak bildirmişlerdir.

Verma ve ark (2014) Hindistan'da soğuğa karşı QTL bölgesi için Dagad ve Danteshwari çeltik çeşitlerini kullanmıştır. Çalışmayı 161 SSR markırı ile yürütmüştürler.

Patel, Dhirhi, Shrivastava ve Sahu (2015) yılında 38 aromatik çeltik çeşitlerinin moleküler karakterizasyonunu için 19 SSR markırı kullanmışlardır.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada IRAP markırı kullanarak 37 *Oryza sativa* L. çeşidinin parmak izi analizi yapmıştır. Yapılan bu çalışmada; Houba için (Tos5/Osr13), RIRE1 ve Hopi için (Osr27) ve pirinç genomunda zengin bulunan retrotranspozonlara sahip Ors30 için spesifik IRAP primerleri tasarlanmıştır. Polimorfizim oranları Jaccard benzerlik indeksi ile hesaplanmış ve 37 pirinç çeşidinin değişken polimorfizm aralığına sahip olduğu belirlenmiştir. Maksimum polimorfizm oranları Hopi için % 75, Osr30 için % 57, Houba için % 52, RIRE1 için % 45' tir. Elde edilen sonuçlar retrotranspozon tabanlı markır tekniklerinin pirinç çeşidinin belirlenmesinde yararlı olabileceğini kanıtlamıştır. Houba belirgin bant desen kalitesi ile pirinç parmak izi için iyi bir model olmuştur.

Ashraf ve ark. (2016) yılında 16 çeltik genotipinin genetik çeşitliliğini belirlemek için 24 SSR markırı kullanmıştır.

Shamim, Manzar, Sharma ve Kumar'ın (2016) yılında SSR markırlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında 18 çeltik çeşidin karakterizasyonunda 30 SSR markırından yaralanmış ve 223 allel elde etmişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada ülkemizde geliştirilip tescil edilen ve üretim izni olan çeşitler ile üç adet yerel çeltik (Akçeltik, Sarıçeltik, Diyarbakır yerli) ve Türkiye'de tescilli olmayan fakat Türk çeşitlerinin melezlemesinde kullanılmış iki adet (Thainato ve Europa) toplam 60 çeltik çeşidi materyal olarak kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan çeltik çeşitleri ve geliştirildikleri ebeveynlere ilişkin bilgileri Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan çeltik çeşitleri

No	**Çeşit Adı**	**Ana Adı**	**Baba Adı**
1	Rocca	-	-
2	Kızıltan	Veneria	Thainato
3	Ergene	Delta	Zoria
4	Sürek-95	Rocca	Rodina
5	Trakya	Baldo	Komsomolsky
6	Ranballi	Bulgaristan Yerli Çeşidi	
7	Altınyazı	Baldo	Ribe
8	Hamzadere	Demir	83013-TR631-4-1-2

Çizelge 3.1. (Devam)

9	Kale	Ergene	
10	Paşalı	Osmancık-97	82070-TR480-1-1-1-1
11	İpsala	Rodina	Delta
12	Cammeo	-	-
13	Neğiş	Vialone Nano	Sequial
14	Gönen	Bonni	Shinei
15	Demir	Plovdiv	Lido
16	Ülfet	Baldo	Rus Çeşidi
17	Balaban	Krasnodarsky-424	Osmancık-97
18	Osmancık-97	Rocca	Europa
19	Rodina	Bulgaristan Çeşidi	
20	Gala	Osmancık-97 Seleksiyon-2	
21	Şumnu	Rialto	Koral
22	Yatkın	Sürek-95	92057-TR467-12-1
23	Sürek-M711	Sürek-95 Mutasyon 2007-7-1-1	
24	Sarıçeltik	Türkiye Yerel Çeşidi	
25	Koral	İtalyan Çeşidi	
26	Krasnodarsky	Rusya Çeşidi	
27	Akçeltik	Türkiye Yerel Çeşidi	
28	Plovdiv	Bulgaristan Çeşidi	
29	Ronaldo	-	-
30	Tosya Güneşi	Sovio	Baldo
31	Sarhan	Osmancık-97	TR-795
32	Aromatik-I	İntrodüksiyon	
33	Efe	Baldo	Demir
34	Beşer	İpsala Mutasyon	
35	Veneria	İtalyan Çeşidi	
36	Ribe	İtalyan Çeşidi	
37	Mis-2013	YRF-204	Osmancık-97

Çizelge 3.1. (Devam)

38	Çakmak	Trakya	N1-41T-1T-OT
39	Halilbey	İpsala	Veneria
40	Yavuz	Rocca	1979-70-1
41	D.Bakır Yerlisi	Türkiye Yerel Çeşidi	
42	Maratelli	İtalyan Çeşidi	
43	Durağan	Panda	Baldo
44	Manyas Yıldızı	IR66160-5-2-3-2	Veneria
45	Biga İncisi	Baldo	Koral
46	Kırkpınar	İpsala	80110-TR253-4-1-1
47	Kıral	Gritna	Balilla
48	Meriç	Delta	Akçeltik
49	Küplü	Baldo	IR25571-3-1
50	Kargı	Baldo	Balilla
51	Baldo	İtalyan Çeşidi	
52	N1-41T-1T-OT	-	-
53	Europa	-	-
54	Meco	-	-
55	Mevlütbey	-	-
56	Tunca	Rocca / Thainato	
57	Thainato	-	-
58	Bafrayıldızı	-	-
59	Kızılırmak	-	-
60	Karadeniz	-	-

3.2. Yöntem

3.2.1. Çimlendirme

Çalışmada temin edilen çeltik tohumları her bir fide violüne 10-15 adet düşecek şekilde ekilmiştir.14 saat ışık, 10 saat karanlık ortam ve %75 nem derecesinde sıcaklık

ise 25^0C'ye ayarlanarak bitki büyütme kabininde çimlendirmeye alınmıştır. Kabin içi nemin düşmesini önlemek için tohumlar belirli aralıklarda distile su ile sulanmıştır. Çimlenmenin 20 günlük büyüme periyodunun ardından araştırma için uygun olduğu düşünülen 17-20 cm'lik uzunluğa sahip genç fideler değerlendirmeye alınmıştır. Moleküler analizler için fidelerden yaprak örnekleri alınıp etiketlenerek alüminyum folyalara sarılan örnekler, DNA izolasyonuna kadar -20^0C'ye kaldırılmıştır.

3.2.2. DNA izolasyonu ve saflaştırma

Moleküler çalışmalarda ilk adım genomik DNA'nın (gDNA) saf halde elde edilmesidir. gDNA'nın elde edilmesi, dokuların parçalanması, hücre artığı proteinler ve diğer tüm kirliliğin ortamdan uzaklaştırılması ve DNA'nın çöktürülerek geri kazanılması aşamalarından oluşmaktadır. DNA izolasyonu ve saflaştırılması ile ilgili kullandığımız yöntem aşağıda verilmiştir.

3.2.2.1. DNA izolasyonu

Bitki materyallerinden alınan 50-75 mg yaprak örnekleri 2 ml'lik santrifüj tüpleri içine konulmuş üzerine 5 mg PVP ve ikişer adet 3 mm metal bilye eklenerek sıvı azot içine daldırılmıştır. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu Doyle & Doyle'un (1990) 2X CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) yöntemleri modifiye edilerek sırası ile aşağıdaki adımlar uygulanarak izole edilmiştir. 2X CTAB tampon çözeltisi Çizelge 3.2'de verilen oranlar doğrultusunda final konsantrasyonu 50 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır.

Çizelge 3.2. 2X CTAB Tampon Çözeltisi

İçerik	**Son Konsantrasyon**
NaCl	1.4M
Tris (pH 8)	1 M
CTAB	%2
EDTA (pH8.1)	0.5 M
β-merkaptoethanol	%0.2

1) 2 ml'lik santrifüj tüpleri içerisine alınan 50-75 mg yaprak örneği sıvı azot içerisinde dondurulan örnekler doku parçalayıcısında (RETSCH MM400) saniyede 30 devir hızında 90 saniye süreyle parçalanarak dokuların homojen toz haline gelmesi sağlanmıştır.

2) Örneklere 65°C'ye ısıtılmış ve kullanımdan hemen önce % 0,2 β-mercaptoethanol ilave edilen, % 2 CTAB özütleme tamponundan 500 µl ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.

3) 65°C'de 30-60 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur.

4) İnkübasyondan sonra örnekler 5-10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

5) Üzerine 500 µl kloroform:izoamil alkol (24:1) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 20 dakika alt üst edilerek çalkalanmıştır.

6) Örnekler 5000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilmiştir.

7) Ayrımın gerçekleşmesinin ardından üst faz (süpernatant) yeni 1,5 ml'lik tüpe aktarılmış ve üzerine eşit hacimde izopropanol eklenmiştir.

8) Örnekler -20°C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

9) Örnekler 12000 rpm'de oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj edilmiştir.

10) Üst sıvı atılarak 1000 µl % 70'lik soğuk ethanol ilave edilmiştir (Şekil 3.1).

11) Örnekler 5000 rpm'de oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj edilmiştir.

12) Üst sıvı atılarak DNA pelletleri çeker ocakta oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

13) Pelletler 100 µl TE tamponu (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8) ilave edilerek çözülmüştür.

14) Üzerine 1 µl RNase (10mg/ml) ilave edilmiştir.

15) 37ºC'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

16) Üzerine 1/10 hacim Sodyum-asetat ilave edilmiştir.

17) 2 hacim absolüethanol (% 99) ilave edilmiştir.

18) -20ºC'de 1 saat veya O/N olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır.

19) 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir.

20) Üst faz atılmış ve örnekler 12000 rpm'de oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj edilmiştir.

21) Üst sıvı atılmış ve pelletler çeker ocak altında oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

22) Kuruyan DNA pelletleri istenilen DNA konsantrasyonuna göre 75-100 µl olacak şekilde steril su ile çözdürülmüştür.

23) DNA izolasyonunun adımların tamamlanmasının ardından DNA miktar ve kalite tayini yapılarak 25ng/µl olacak şekilde sulandırılmıştır. Ana stoklar uzun süreli muhafaza için -20°C'ye kaldırılmıştır



Şekil 3.1. Soğuk ethanol içerisinde yoğunlaşan DNA ve RNA molekülleri

3.2.3.Tek Pirinç Tanesinden DNA İzolasyonu

Marketlerde satışa sunulan pirinçler, embriyosu çıkartılmış ve parlatılmış formdadır. Bu nedenle pazardaki çeşit karışıklığının belirlenmesine yönelik çalışmalar için embriyosu çıkarılmış ve parlatılmış tek pirinç tanesinden DNA izolasyonları yapılmıştır. SSR analizleri için söz konusu tek pirinç tanesinden, Kumar ve ark (Rajendrakumar et al., 2007) tarafından önerilen DNA izolasyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmış ve yeterli miktar ve kalitede gDNA elde edilmiştir. Elde edilen gDNA'lar SSR markır çalışmalarında kullanılmıştır.

Çizelge 3.3'te verilen 2X CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) çözeltisi kullanılmış ve sırası ile aşağıdaki adımlar uygulanarak gDNA izole edilmiştir.

Çizelge 3.3. 2X CTAB (Tampon Çözeltisi) solüsyonu

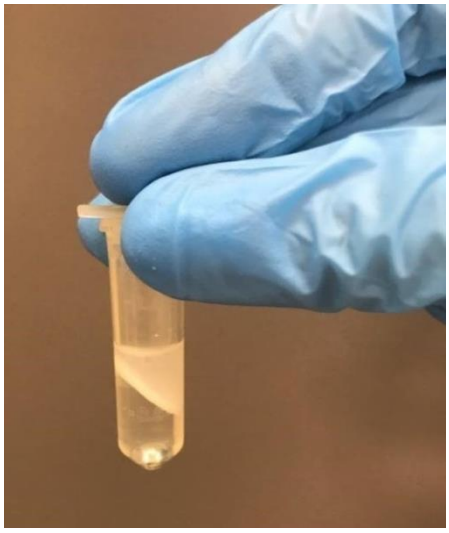
İçerik	**Son Konsantrasyon**
NaCl	1.25M
Tris (pH 8)	0.1M
EDTA (pH 8)	0.25M
CTAB	%2
PVP	%3

1) 2ml'lik santrifüj tüplere endospermi tamamen alınarak temizlenmiş, parlatılmış 1 adet pirinç tanesi atılmış üstüne 600 µl özütleme tamponu eklenmiştir.
2) 37^0C'de 45-60 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

3) Her bir örnek tüpünün içerisine ikişer adet 3 mm metal bilye ilave edilmiştir.

4) Doku parçalayıcısı (RETSCH MM400) yardımı ile örnekler saniyede 30 devir hızında 5 dakika süreyle parçalanarak dokuların homojen biçimde tamamen parçalanması sağlanmıştır.

5) Üzerine 600 µl kloroform ilave edilmiştir.



Şekil 3.2. Tek pirinç tanesinden DNA izolasyonunda faz ayırımı

6) Örnekler hafifçe karıştırılmış ve 12000 rpm'de oda sıcaklığında 10 dakika santrifüj edilmiştir (Şekil 3.2).

7) Üst faz (süpernatant) yeni 1,5 ml'lik tüpe aktarılmış ve üzerine eşit hacimde izopropanol eklenmiştir.

8) 12000 rpm'de oda sıcaklığında 10 dakika santrifüj edilmiştir.

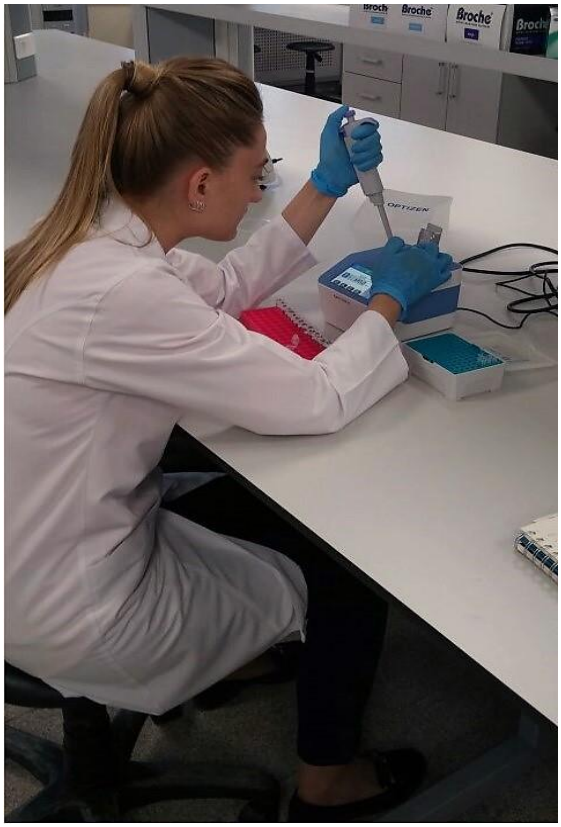
9) Üst sıvı atılmış ve 2 kez soğuk % 70'lik EtOH ile yıkama yapılmıştır.

10) Pelletler çeker ocak altında oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

11) Kuruyan DNA pelletleri istenilen DNA konsantrasyonuna göre 50-75 µl olacak şekilde steril su ile çözülmüştür.

3.2.4. DNA miktar ölçümü ve kalite tayini

Örneklerin DNA miktar tayini için OPTİZEN NanoQ Spektrofotometresi kullanılmış ve OD260 nm'de DNA miktarı ng/µl cinsinden belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin OD260/OD280 nm dalga boyundaki absorbans oranları ile saflığı da değerlendirilmiştir (Şekil 3.4). DNA'nın saflığını gösteren bu değerin 1.8 ile 2.0 arasında olması istenmektedir.



Şekil 3.3. Elde edilen DNA'da miktar ve kalite tayini

Çizelge 3.4. Çeltik genomik DNA spektorfotometre sonuçları

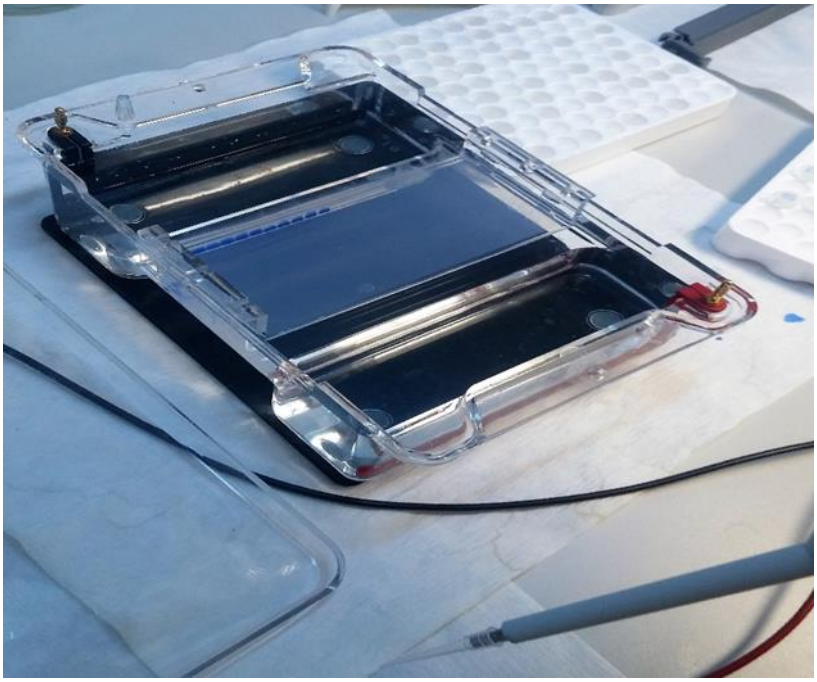
1	414 ng / uL	16	476 ng / uL
2	620 ng / uL	17	556 ng / uL
3	804 ng / uL	18	944 ng / uL
4	40 ng / uL	19	433 ng / uL
5	1051 ng / uL	20	589 ng / uL
6	84 ng / uL	21	478 ng / uL
7	311 ng / uL	22	678 ng / uL
8	450 ng / uL	23	433 ng / uL
9	1258 ng / uL	24	1389 ng / uL
10	165 ng / uL	25	450 ng / uL
11	1566 ng / uL	26	1393 ng / uL
12	304 ng / uL	27	796 ng / uL

Çizelge 3.4. (Devam)

13	546 ng / uL	28	1161 ng / uL
14	1200 ng / uL	29	1861 ng / uL
15	447 ng / uL	30	818 ng / uL
31	525 ng / uL	46	589 ng / uL
32	407 ng / uL	47	177 ng / uL
33	381 ng / uL	48	203 ng / uL
34	260 ng / uL	49	595 ng / uL
35	96 ng / uL	50	621 ng / uL
36	148 ng / uL	51	123 ng / uL
37	573 ng / uL	52	259 ng / uL
38	61 ng / uL	53	603 ng / uL
39	813 ng / uL	54	719 ng / uL
40	96 ng / uL	55	160 ng / uL
41	401 ng / uL	56	310 ng / uL
42	221 ng / uL	57	346 ng / uL
43	514 ng / uL	58	212 ng / uL
44	1040 ng / uL	59	452 ng / uL
45	264 ng / uL	60	309 ng / uL

İzolasyonu tamamlanmış örneklerden 0.2 ml'lik tüplere 8 µl DNA alınmış ve üzerine 2 µl 6X yükleme boyası ilave edilerek elektroforez için hazırlanmıştır. % 0,8 konsantrasyonlu, EtBr (30 µl/L) (Etidyum bromür) içeren agaroz jele yüklemeler yapılmış ve 120V, 80 mA akımda 1 saat yürütülmüştür (Şekil 3.4).

Elektroforezin ardından jel görüntüleme cihazında UV ışık altında örneklerin DNA kalitesine bakılmıştır. Genomik DNA'lar PCR çalışmaları için 25 ng/µl olacak şekilde steril su ile seyreltilmiştir.



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan agaroz jel elektroforezi

3.2.5. SSR Markırlarının Belirlenmesi

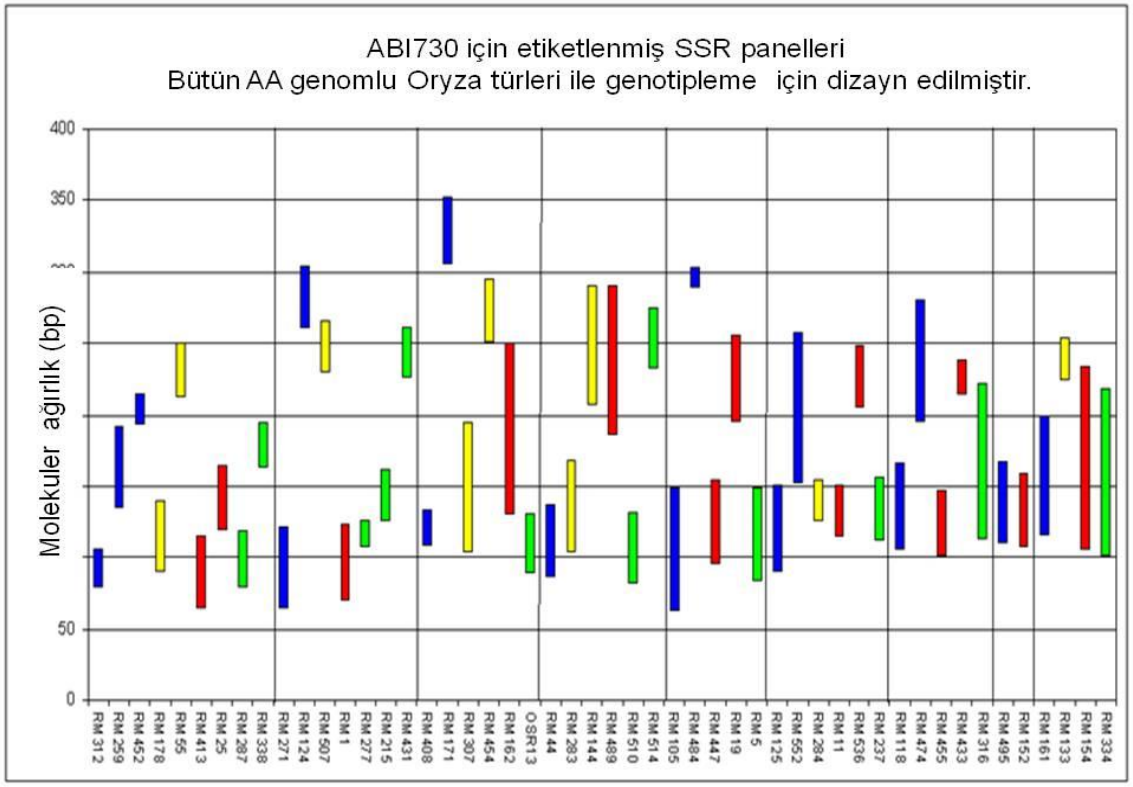
Tez çalışmasında; moleküler karakterizasyon ve çeşit ayrıcı markırlarının belirlenebilmesi için türe özgü olması, tüm genomu temsil edecek ölçüde yaygın olması, yüksek tekrarlanabilirlik ve polimorfizm göstermesi nedeniyle SSR markırları tercih edilmiştir. Çalışmada kullanılacak SSR markırlarını belirlemek üzere yapılan literatür çalışmaları ve çeşitli araştırmalar sonucunda Gramene veri tabanında, çeltik çeşitliliğinin belirlenmesi için önerilen 50 adet SSR markırı seçilmiştir. Seçilen SSR markırlarına ait bilgiler ve daha önceki çalışmalarda bu markırlarla elde edilmiş PCR ürünlerine dair veriler Çizelge 3.5 ve Şekil 3.5'te sunulmuştur.

Çizelge 3.5. Tez çalışmasında kullanılan SSR markırlarına ait bilgiler (http://archive.gramene.org/markers/microsat/50_ssr.html)

Markır No	Markır Kodu	Kromozom No	Lokasyon. (cM)	Primer (İleri)	Primer (Geri)	Tm (ºC)
SSR1	RM495	1	2,8	aatccaaggtgcagagatgg	caacgatgacgaacacaacc	55
SSR2	RM1	1	29,7	gcgaaaacacaatgcaaaaa	gcgttggttggacctgac	55
SSR3	RM283	1	31,4	gtctacatgtacccttgttggg	cggcatgagagtctgtgatg	61
SSR4	RM259	1	54,2	tggagtttgagaggaggg	cttgttgcatggtgccatgt	55
SSR5	RM312	1	71,6	gtatgcatatttgataagag	aagtcaccgagtttaccttc	55
SSR6	RM5	1	94,9	tgcaacttctagctgctcga	gcatccgatcttgatggg	57
SSR7	RM237	1	115,2	caaatcccgactgctgtcc	tgggaagagagcactacagc	55
SSR8	RM431	1	178,3	tcctgcgaactgaagagttg	agagcaaaaccctggttcac	55
SSR9	RM154	2	4,8	accctctccgcctcgcctcctc	ctcctcctcctgcgaccgctcc	61
SSR10	RM452	2	58,4	ctgatcgagagcgttaaggg	gggatcaaaccacgtttctg	61
SSR11	RM489	3	29,2	acttgagacgatcggacacc	tcacccatggatgttgtcag	55
SSR12	OSR13	3	53,1	catttgtgcgtcacggagta	agccacagcgcccatctctc	53
SSR13	RM338	3	108,4	cacaggagcaggagaagagc	ggcaaaccgatcactcagtc	55
SSR14	RM55	3	168,2	ccgtcgccgtagtagagaag	tcccggttattttaaggcg	55
SSR15	RM514	3	216,4	agattgatctcccattcccc	cacgagcatattactagtgg	55
SSR16	RM307	4	0	gtactaccgacctaccgttcac	ctgctatgcatgaactgctc	55
SSR17	RM124	4	150,1	atcgtctgcgttgcggctgctg	catggatcaccgagctcccccc	67
SSR18	RM507	5	0	cttaagctccagccgaaatg	ctcaccctcatcatcgcc	55
SSR19	RM413	5	26,7	ggcgattcttggatgaagag	tccccaccaatcttgtcttc	53
SSR20	RM161	5	96,9	tgcagatgagaagcggcgcctc	tgtgtcatcagacggcgctccg	61
SSR21	RM178	5	118,8	tcgcgtgaaagataagcggcgc	gatcaccgttccctccgcctgc	69
SSR22	RM334	5	141,8	gttcagtgttcagtgccacc	gactttgatctttggtggacg	55
SSR23	RM133	6	0	ttggattgttttgctggctcgc	ggaacacggggtcggaagcgac	63
SSR24	RM510	6	20,8	aaccggattagtttctcgcc	tgaggacgacgagcagattc	57
SSR25	RM454	6	99,3	ctcaagcttagctgctgctg	gtgatcagtgcaccatagcg	55
SSR26	RM162	6	108,3	gccagcaaaaccagggatccgg	caaggtcttgtgcggcttgcgg	61
SSR27	RM125	7	24,8	atcagcagccatggcagcgacc	aggggatcatgtgccgaaggcc	63
SSR28	RM11	7	47	tctcctcttcccccgatc	atagcgggcgaggcttag	55
SSR29	RM455	7	65,7	aacaacccaccacctgtctc	agaaggaaaagggctcgatc	57
SSR30	RM118	7	96,9	ccaatcggagccaccggagagc	cacatcctccagcgacgccgag	67

Çizelge 3.5. (Devam)

SSR31	RM408	8	0	caacgagctaacttccgtcc	actgctacttgggtagctgacc	55
SSR32	RM152	8	9,4	gaaaccaccacacctcaccg	ccgtagaccttcttgaagtag	53
SSR33	RM25	8	52,2	ggaaagaatgatcttttcatgg	ctaccatcaaaaccaatgttc	53
SSR34	RM44	8	60,9	acgggcaatccgaacaacc	tcgggaaaacctaccctacc	53
SSR35	RM284	8	83,7	atctctgatactccatccatcc	cctgtacgttgatccgaagc	55
SSR36	RM433	8	116	tgcgctgaactaaacacagc	agacaaacctggccattcac	53
SSR37	RM447	8	124,6	cccttgtgctgtctcctctc	acgggcttcttctccttctc	55
SSR38	RM316	9	1,8	ctagttgggcatacgatggc	acgcttatatgttacgtcaac	55
SSR39	RM105	9	32,1	gtcgtcgacccatcggagccac	tggtcgaggtggggatcgggtc	63
SSR40	RM215	9	99,4	caaaatggagcagcaagagc	tgagcacctccttctctgtag	55
SSR41	RM474	10	0	aagatgtacgggtggcattc	tatgagctggtgagcaatgg	55
SSR42	RM271	10	59,4	tcagatctacaattccatcc	tcggtgagacctagagagcc	55
SSR43	RM171	10	73	aacgcgaggacacgtacttac	acgagatacgtacgcctttg	55
SSR44	RM484	10	97,3	tctccctcctcaccattgtc	tgctgccctctctctctctc	55
SSR45	RM552	11	40,6	cgcagttgtggatttcagtg	tgctcaacgtttgactgtcc	55
SSR46	RM536	11	55,1	tctctcctcttgtttggctc	acacaccaacacgaccacac	55
SSR47	RM287	11	68,6	ttccctgttaagagagaaatc	gtgtatttggtgaaagcaac	55
SSR48	RM144	11	123,2	tgccctggcgcaaatttgatcc	gctagaggagatcagatggtagtgc	57
SSR49	RM19	12	20,9	caaaaacagagcagatgac	ctcaagatggacgccaaga	55
SSR50	RM277	12	112.2	cggtcaaatcatcacctgac	caaggcttgcaagggaag	55



Şekil 3.5. Kullanılan SSR markırlarından daha önceki çalışmalarda elde edilen DNA parçalarının büyüklükleri (http://archive.gramene.org/markers/microsat/50_ssr.html)

3.2.6. PCR analizleri

Yapraklardan izole edilen gDNA'lar kullanılarak 50 adetlik SSR setinden rastgele seçilen markırlar ile PCR işlemine başlanmıştır (Şekil 3.6). PCR bileşenleri ve konsantrasyonları Çizelge 3.6'te sunulmuştur.



Şekil 3.6. PCR karışımının hazırlanışı

Çizelge 3.6. Tüm markırlar için kullanılan PCR karışımı ve konsantrasyonları

PCR Karışımı	**Son Konsantrasyon**
PCR Tamponu	1X
$MgCl_2$	2.5 mM
dNTP	0.2 µM)
Primerler	1 µM)
Kalıp DNA	20 ng
Taq DNA Polimeraz	1 U

PCR reaksiyonları 25 µl hacimde hazırlanmıştır. Kullanılan her bir primer için hazırlanan PCR reaksiyonuna negatif kontrol de eklenmiştir.

PCR optimizasyonları için yapılan ön denemelerde reaksiyon ürünleri % 1'lik agaroz jeli hazırlanarak jel elektroforezinde analiz edilmiştir. Daha sonra yerel çeşitlerin SSR analizleri kapsamında yapılan tüm PCR ürünleri, kapiller elektroforezde ayrılarak değerlendirilmiştir.

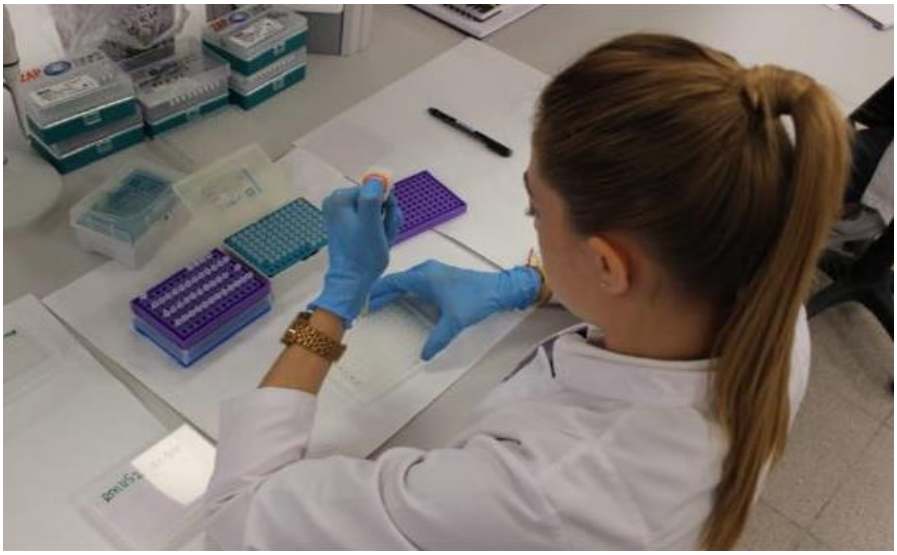
SSR analizleri için gerçekleştirilen PCR koşulları Çizelge 3.7'te sunulmuştur. Bu koşullarda, sadece primer bağlanma sıcaklığı, her bir markırın primer çiftlerinin Tm sıcaklığına uygun olarak değiştirilmiştir.

Çizelge 3.7. PCR koşulları

Basamaklar	**Sıcaklık (^{0}C)**	**Süre**	**Döngü (Cycle)**
1	94	2 dakika	1
2	94	45 saniye	35
3	53-69 (Tm)	1 dakika	
4	72	2 dakika	
5	72	10 dakika	1

3.2.7. Kapiler elektroforez analizi

Bu çalışmada, PCR sonucu çoğaltılan SSR lokuslarına ait DNA fragmentleri, kapiler elektroforez (Advance Analytical Fragment Analyzer) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 3.8). Cihaza ait olan kitlerden, 1-500 bp arasındaki DNA fragmentlerinin analiz edilmesi için DNF-905 dsDNA 905 Reagent Kiti ve kite ait olan DNF-905-55 - DNA 1-500bp.mthds metodu seçilerek cihaza yüklemeleri yapılmıştır. Çizelge 3.8'de verilen kit içeriğinde yer alan Seperation Gel, Inlet Buffer, Conditioning Solution ve Marker cihazın protokolüne göre sisteme yüklenmiş ve çalıştırılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri 1/6 oranında Dilution Buffer ile sulandırılarak 96 kuyucuklu plakalara hazırlanıp cihaza yüklenmiştir. Cihaz 12 kapiler içerdiğinden, mikro plakalarda her 12'lik sıranın sonundaki kuyucuğa kite özgü DNA Ladder yerleştirilmiştir. Hazırlanan plakanın cihaza yerleştirme işleminden sonra, uygun çalışma metodu seçilerek elektroforez başlatılmıştır.



Şekil 3.7. Kapiler elektroforez için plaka hazırlığı



Şekil 3.8. Tez çalışmasında kullanılan kapiler elektroforez cihazı

Çizelge 3.8. Kapiler elektroforezinde kullanılan kitlerin içeriği

Kit İçeriği
dsDNA Separation Gel
Intercalating Dye
5X dsDNA Inlet Buffer
5X Capillary Conditioning Solution
Markers
DNA Ladder
Mineral Oil
Dilution Buffer 1X TE

3.3. Verilerin İstatiksel Analizi ve Dendogramın Oluşturulması

Bu çalışmada kullanılan 60 çeltik çeşidi 50 SSR markırı ile AATI kapiler elektroforez yardımı ile denenmiştir 6 adet SSR markır ümit var nitelikte olmadığı için analizlere dahil edilmemiştir (RM259, RM154, RM12,RM25, RM284, RM447). Elde edilen verilerin allel frekansı ve PIC değerleri Sharma ve ark.'larının (2009) yılında çalışmalarında SSR markırlarının analizi için kullandıkları formül baz alınarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.9). Polimorfik allelerde toplam var (1) ve yok (0) olan allel sayıları belirlenerek her bir allelin frekansı (Pi) ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Primerlerin Polimorfik Bilgi İçeriği (Polymorphic information content)

$$(PIC) = 1- \mathbf{\Sigma}Pi^2$$

SSR lokuslarına ait kapiler elektroforez sonuçları, sisteme özgün olarak geliştirilen "ProSize 3.0" paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Allel verilerinden GenAlEx 6.5 programı (http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Download.html) kullanılarak genetik benzerlik ve farklılık matriksleri oluşturulmuş, private alleles, allel profili, çeşide özgü SSR alleleri belirlenmiştir. Bireyler arasındaki genetik farklılık düzeyinin belirlenmesi ve ağacın oluşturulması için Nei'nin tarafsız genetik mesafe ve benzerlik katsayısı kullanılarak bireyler arası farklılık düzeyleri belirlenmiştir (Nei, 1987). Daha sonrasında dendogramlar Fig Tree v1.4.3 programına aktarılarak düzenlenmiştir.

Çizelge 3.9. Primerlerin Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)

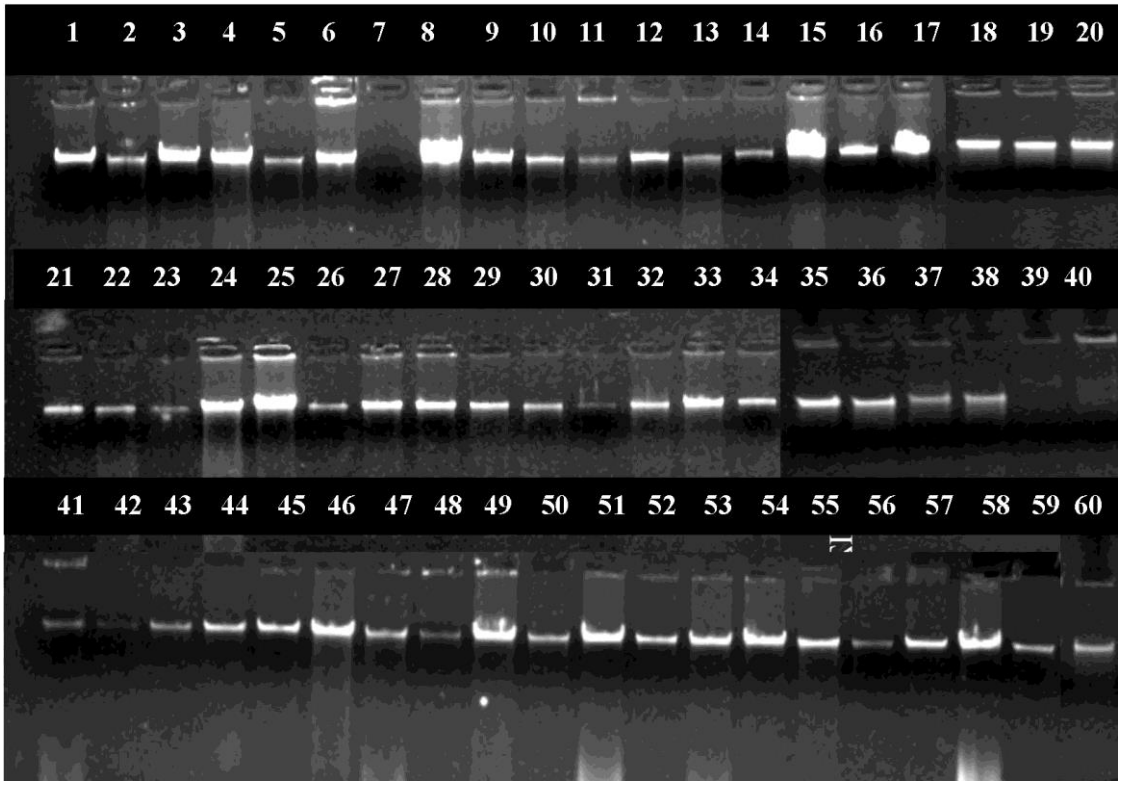
Primer	**PIC**	**Primer**	**PIC**
RM215	0.831	RM474	0.557
RM283	0.643	RM484	0.136
RM455	0.572	RM105	0.098
RM1	0.774	RM514	0.103
RM507	0.065	RM334	0.431
RM413	0.562	RM510	0.656
RM271	0.318	RM118	0.319
RM307	0.304	RM178	0.134
RM133	0.303	RM287	0.832
RM316	0.506	RM338	0.598
RM452	0.340	RM161	0.742
RM144	0.658	RM55	0.764
RM433	0.684	RM454	0.634
RM125	0.096	RM171	0.619
RM431	0.605	RM5	0.299
RM536	0.446	RM552	0.683
RM277	0.551	RM19	0.552
RM489	0.105	RM44	0.447
RM11	0.718	RM408	0.755
RM237	0.730	RM312	0.491
RM152	0.744	RM495	0.000
OSR13	0.531	RM162	0.691

BÖLÜM 4

BULGULAR

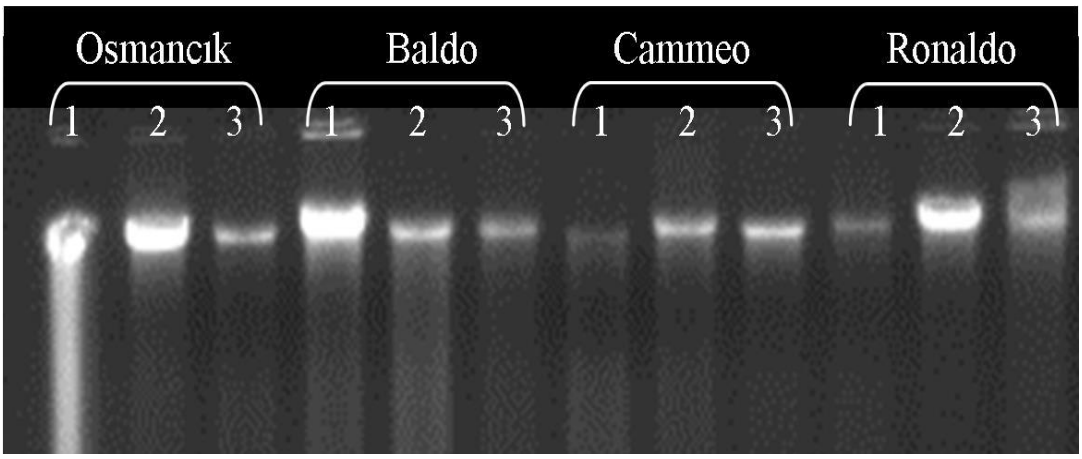
4.1. Genomik DNA İzolasyonu ve SSR Analizleri

Türkiye'de tescilli çeşitlerin moleküler karakterizasyonu ve çeşitleri birbirinden ayırt edecek moleküler markırların belirlenmesi kapsamındaki çalışmalar için 20 günlük fidelerin yaprak dokularından gDNA izolasyonu yapılmıştır. Genel olarak 450-900 ng/µl konsantrasyonda ve kaliteli gDNA elde edilmiştir (Şekil 4.1).



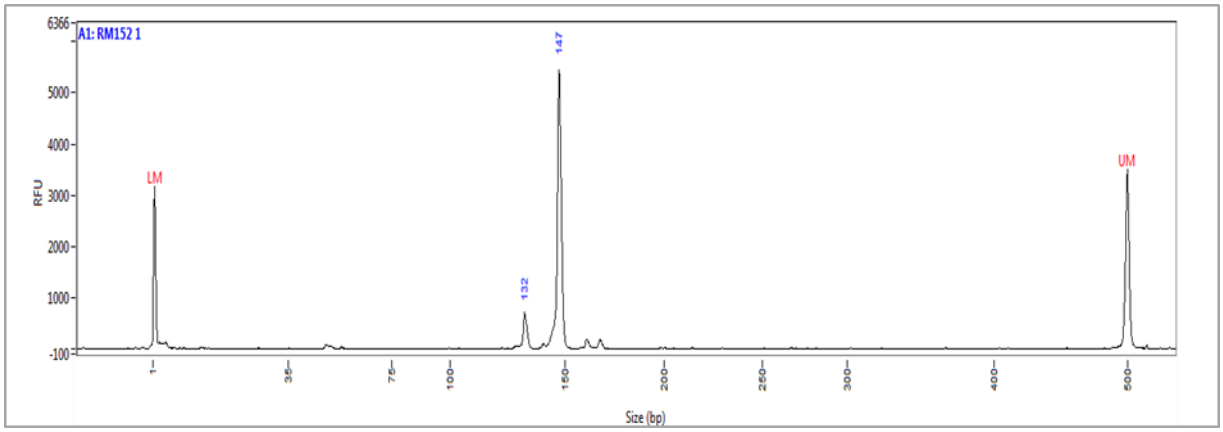
Şekil 4.1. Türkiye'de tescilli çeşitlerin yapraklarından izole edilen gDNA'lar

Ayrıca, marketlerde yer alan paketlenmiş ürünlerde karışıklığın tespiti ve karışım halindeki ürünlerde karışımı oluşturan çeşitlerin belirlenmesi amacıyla, embriyosu çıkarılmış, parlatılmış tek pirinç tanesinden de genomik DNA izole edilmiştir. Elde edilen gDNA'ların çeşitlerin birbirinden ayrılması için yapılacak SSR analizlerine uygun miktar ve kalite de olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2) ve elde edilen SSR analiz sonuçları da bu gözlemleri desteklemiştir.

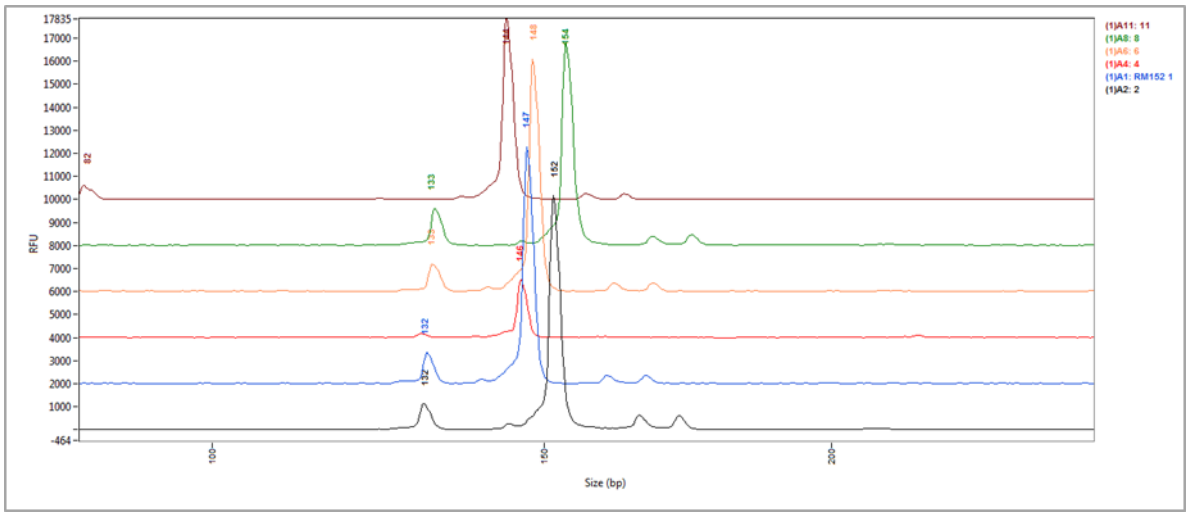


Şekil 4.2. Embriyosu çıkarılmış ve parlatılmış tek pirinç tanelerinden elde edilen gDNA'lar

Gramene gene veritabanında çeltikte genetik çeşitliliğin ortaya konması için önerilen 50 SSR markır (Çizelge 3.4), Türkiye'de tescilli veya üretim izinli çeşitler arasındaki genetik yakınlık ve uzaklığın belirlenmesi ve DNA parmakizlerinin çıkarılması için kullanılmıştır. Ancak bu markırlardan 6 tanesi (RM259, RM154, RM124, RM25, RM284, RM447) analiz edilebilir kalitede PCR ürünü üretmemiş ve tekrar edilmesine rağmen sağlıklı sonuç elde edilemediği için değerlendirmeye alınmamış ve çalışmadan çıkarılmıştır. Geri kalan 44 SSR markırı ile her bir çeşitte üretilen DNA fragmentleri AATI fragment analyzer cihazında detaylı biçimde analiz edilmiştir. Her bir SSR markırı ile üretilen, farklı uzunluktaki DNA fragmenti bir allel olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.3'de RM152 markırı ile 1 nolu çeşit Rocca da elde edilen 147 bç büyüklüğündeki allelin AATI fragment analyzer ile görüntülenmesi verilmiştir. Ayrıca Şekil 4.4'de de yine aynı markır ile 1, 2, 4, 6, 8 ve 11 nolu çeşitlerde gözlenen farklı allellerin karşılaştırılması verilmiştir.



Şekil 4.3. RM152 markırı ile 1nolu çeşit Rocca da elde edilen DNA fragmentinin AATI fragment analyzer ile görüntülenmesi



Şekil 4.4. RM152 markırı ile 1, 2, 4, 6, 8, 11 nolu çeşitler de (Rocca, Kızıltan, Sürek-95, Ramballi, Hamzadere, İpsala) elde edilen farklı allellere ait DNA fragmentlerinin AATI fragment analyzer ile görüntülenmesi

Tescilli yerel çeşitlerin moleküler karakterizasyonu kapsamında 44 SSR markırı ile 60 çeşitte toplam 231 allel elde edilmiş ve çeşitler arasındaki genetik benzerliğin belirlenmesi amacıyla GenAlex 6.5 programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Peakall & Smouse, 2006). Kullanılan SSR'lar arasında en fazla allel sayılası 9'ar allel ile RM454, RM162, RM316, RM215, RM287 markırlarından polimorfik görüntü ile elde edilirken bunu çalışmada ki bir diğer polimorfik görünüme sahip olan ve 8 allel eldesi ile RM144 SSR markırında izlemiştr. RM495 markırı 1 allel ile monomorfik olarak belirlenmiştir. 44 SSR lokusu birlikte değerlendirildiğinde lokus başına düşen ortalama allel sayısı ise 5.25 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Tescilli ve üretim izinli çeltik çeşitlerinde 45 markıra ait allel sayıları

Markır	**Kromozom**	**Lokasyon cM**	**Gözlenen Allel sayısı**	**Minimum Allel Büyüklüğü(bç)**	**Maksimum Allel Büyüklüğü(bç)**
RM495	1	2.8	1	169	169
RM237	1	115.2	6	133	145
RM431	1	178.3	6	249	259
RM1	1	29.7	6	90	116
RM283	1	31.4	6	152	162
RM312	1	71.6	4	99	105
RM5	1	94.9	6	114	124
RM452	2	58.4	7	174	213
RM489	3	29.2	4	240	292
OSR13	3	53.1	4	101	107
RM338	3	108.4	6	170	189
RM55	3	168.2	5	232	240
RM514	3	216.4	3	250	254
RM307	4	0	5	130	140
RM507	5	0	3	259	267
RM413	5	26.7	5	81	97
RM161	5	96.9	6	165	186
RM178	5	118.8	5	112	132

Çizelge 4.1. (Devam)

RM334	5	141.8	2	136	138
RM133	6	0	2	231	233
RM454	6	99.3	9	255	310
RM510	6	20.8	4	118	124
RM162	6	108.3	9	219	256
RM125	7	24.8	3	135	147
RM11	7	47	7	127	183
RM455	7	65.7	4	125	132
RM118	7	96.9	5	150	181
RM408	8	0	7	130	142
RM152	8	9.4	6	142	154
RM44	8	60.9	3	77	97
RM433	8	116	5	224	232
RM316	9	1.8	9	201	235
RM105	9	32.1	4	133	139
RM215	9	99.4	9	143	161
RM474	10	0	6	233	271
RM271	10	59.4	3	92	98
RM171	10	73	6	394	418
RM484	10	97.3	4	295	305
RM552	11	40.6	7	160	180
RM536	11	55.1	6	230	248
RM287	11	68.6	9	103	121
RM144	11	123.2	8	222	270
RM19	12	20.9	6	208	243
RM277	12	57.2	4	118	124

4.2. Çeşit Karışıklığının Tespitinde Kullanılacak SSR Markırların Belirlenmesi

Bu çalışma kapsamında özellikle çeşit karışıklığının tespit edilebilmesi ve karışıklığı oluşturan çeşitlerin belirlenebilmesi için "çeşite özgün markır/allelerin" belirlenmesi amaç olmuştur. Çizelge 4.2'de belirlenen çeşide özgün SSR allelleri verilmiştir. Bu markırlar ile çeşitlerin kimlik tespiti, pazara sunulan pirinç paketlerinde karışım olup olmadığı, karışım varsa hangi çeşitleri içerdiği açık biçimde tespit edilebilecektir. Ülkemiz pazarında yer alan çeşitlerin ayrımında kullanılabilecek çeşitlere özgün alleller arasında RM118, 150 bç'lik alleli ile Baldo çeşidi için, RM452 189 bç'lik alleli ile Cammeo çeşidi için, RM489 277 bç'lik alleli, RM283 152 bç'lik alleli ve RM105 139 bç'lik allelleri ise Ronaldo çeşidine özgün bulunmuştur. Osmancık-97 için özgün allel tespit edilmemiştir. En fazla çeşide özgün allel (21 allel) ise Aromatik-1 çeşidinde gözlenmiştir.

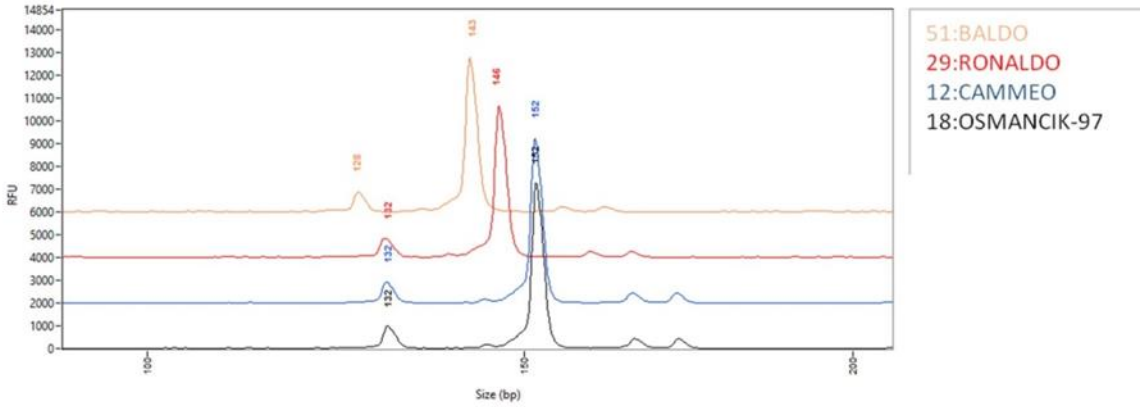
Diğer yandan ülkemiz pazarında yaygın olarak yer alan Osmancık-97, Baldo, Ronaldo, Cammeo çeşitlerini birbirinden ayıran 12 SSR markırı belirlenmiştir. Özellikle de Baldo ve Osmancık-97 çeşitlerini birbirinden ayıran markırları temsilen bir kaç AATI fragment analizer sonucu Şekil 4.5 Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur. Sunulan bu markırlar ve özellikle de Çizelge 4.2'de sunulan özgün alleller, çeltik çeşitlerinin ya da pazarda satışa sunulan pirinç karışıklığının ayrımında başarı ile kullanılabilecek niteliktedir.

Çizelge 4.2. Türkiye'de tescilli ve ya üretim izinli çeşitlerde, çeşide özgün SSR alleleri

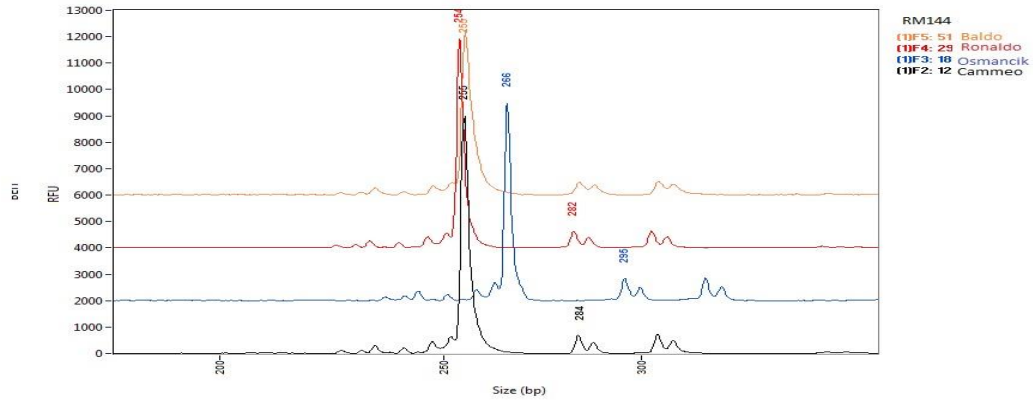
Çeşit	**Lokus**	**Allel**	**f**	**Çeşit**	**Lokus**	**Allel**	**f**
Rocca	RM454	296	0.017	Kale	RM307	132	0.018
Kızıltan	RM510	124	0.018	Kale	RM454	307	0.017
Kızıltan	RM431	259	0.017	Paşalı	RM144	252	0.020
Sürek-95	RM118	181	0.017	İpsala	RM11	183	0.017
Sürek-95	RM316	235	0.006	Cammeo	RM452	189	0.019
Sürek-95	RM452	174	0.019	Negis	RM536	238	0.020
Altınyazı	RM454	275	0.017	Negis	RM5	114	0.017
Hamzadere	RM507	267	0.017	Negis	RM452	192	0.019
Hamzadere	RM454	255	0.017	Negis	RM171	418	0.029
Balaban	RM44	97	0.018	Akceltik	RM484	295	0.018
Balaban	RM144	262	0.020	Akceltik	RM162	250	0.017
Rodina	RM105	135	0.017	Ronaldo	RM489	277	0.018
Sumnu	RM338	189	0.018	Ronaldo	RM283	152	0.017
Surek-M711	OSR13	103	0.017	Ronaldo	RM105	139	0.017
Surek-M711	RM413	87	0.017	Aromatik-I	RM19	243	0.017
Krasnodorsky	RM162	256	0.017	Aromatik-I	RM536	230	0.020
Krasnodorsky	RM144	270	0.020	Aromatik-I	RM489	240	0.018
Tosya Günesi	RM489	292	0.018	Aromatik-I	RM11	145	0.017
Tosya Gunesi	RM454	287	0.017	Aromatik-I	RM507	259	0.017
Tosya Günesi	RM408	130	0.017	Aromatik-I	RM271	98	0.018
Tosya Günesi	RM5	116	0.017	Aromatik-I	RM307	130	0.018
Tosya Günesi	RM307	140	0.018	Aromatik-I	RM474	233	0.018
Beser	RM536	244	0.020	Aromatik-I	RM484	300	0.018
Veneria	RM338	170	0.018	Aromatik-I	RM105	137	0.017
Cakmak	RM552	172	0.018	Aromatik-I	RM118	163	0.017
Yavuz	RM171	398	0.029	Aromatik-I	RM178	116	0.018
Kırkpınar	RM455	132	0.017	Aromatik-I	RM287	121	0.019

Çizelge 4.1. (Devam)

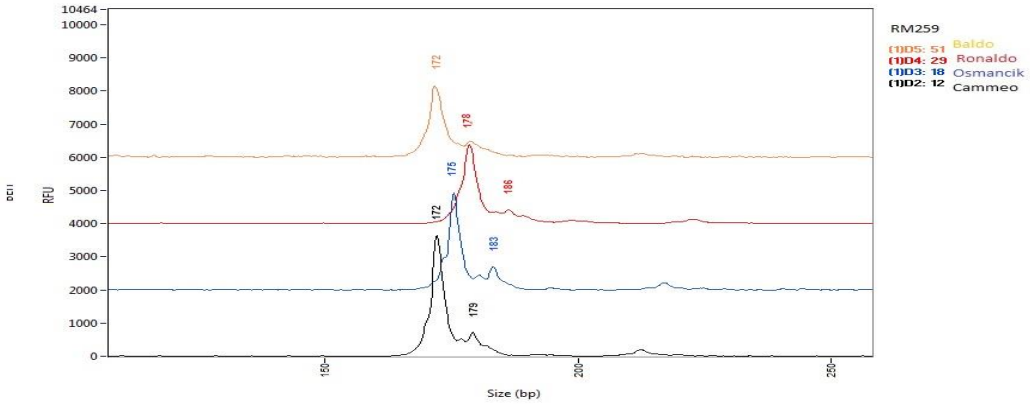
Kırkpınar	RM413	97	0.017	Aromatik-I	RM162	219	0.017
Kuplu	RM178	118	0.018	Aromatik-I	RM161	165	0.017
Baldo	RM118	150	0.017	Aromatik-I	RM125	147	0.017
N1-4IT-IT-OT	RM215	161	0.017	Aromatik-I	RM408	134	0.017
N1-4IT-IT-OT	RM55	232	0.322	Aromatik-I	OSR13	101	0.017
Meco	RM144	248	0.020	Aromatik-I	RM215	143	0.017
Mevlutbey	RM162	240	0.017	Aromatik-I	RM283	156	0.017
Tunca	RM338	175	0.018	Aromatik-I	RM1	116	0.017
Karadeniz	RM178	112	0.018	Bafrayıldızı	RM514	254	0.018
Karadeniz	RM474	268	0.018	Kızılırmak	RM316	214	0.017
Thainato	RM178	132	0.018				



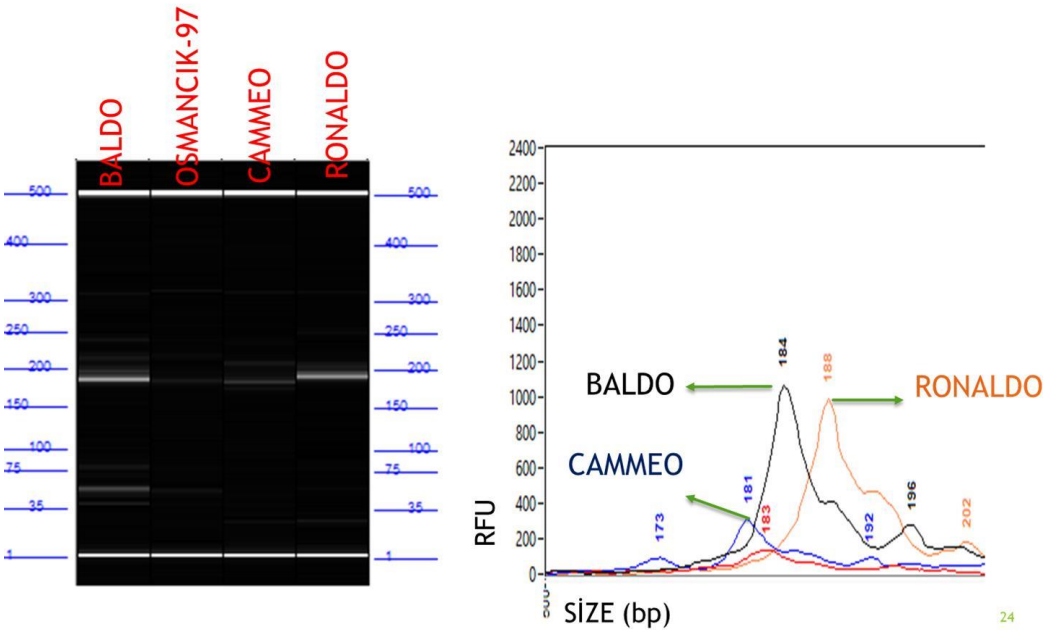
Şekil 4.5. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Cammeo (mavi) ve Osmancık-97 (siyah), çeşitlerine ait ayırıcı RM152 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir.



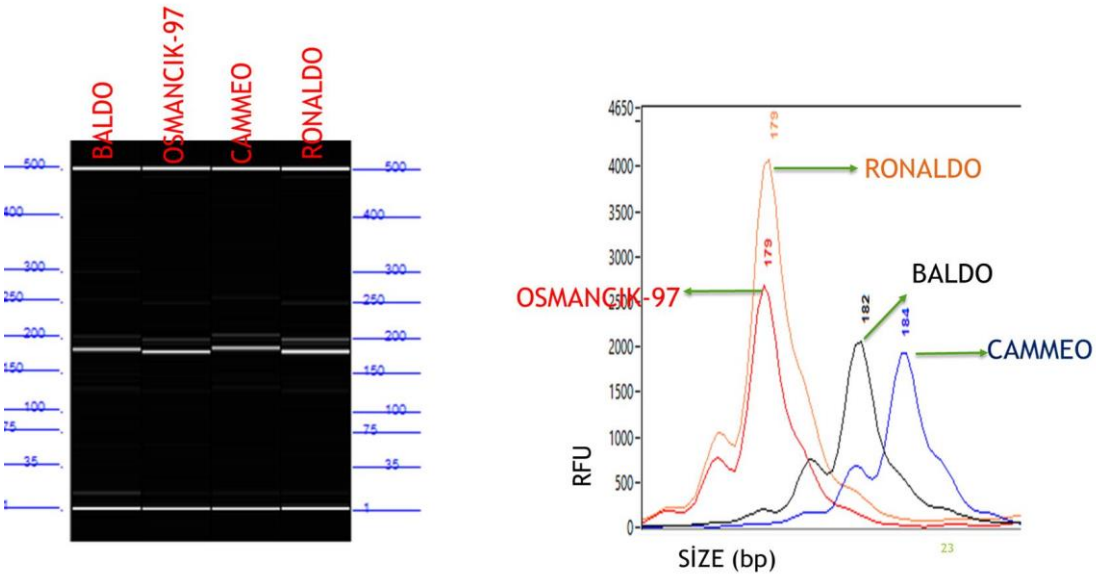
Şekil 4.6. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Osmancık-97 (mavi) ve Cammeo (siyah) çeşitlerine ait ayırıcı RM144 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir.



Şekil 4.7. Baldo (turuncu), Ronaldo (kırmızı), Osmancık-97 (mavi) ve Cammeo (siyah) çeşitlerine ait ayırıcı RM259 markırına ait elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir.

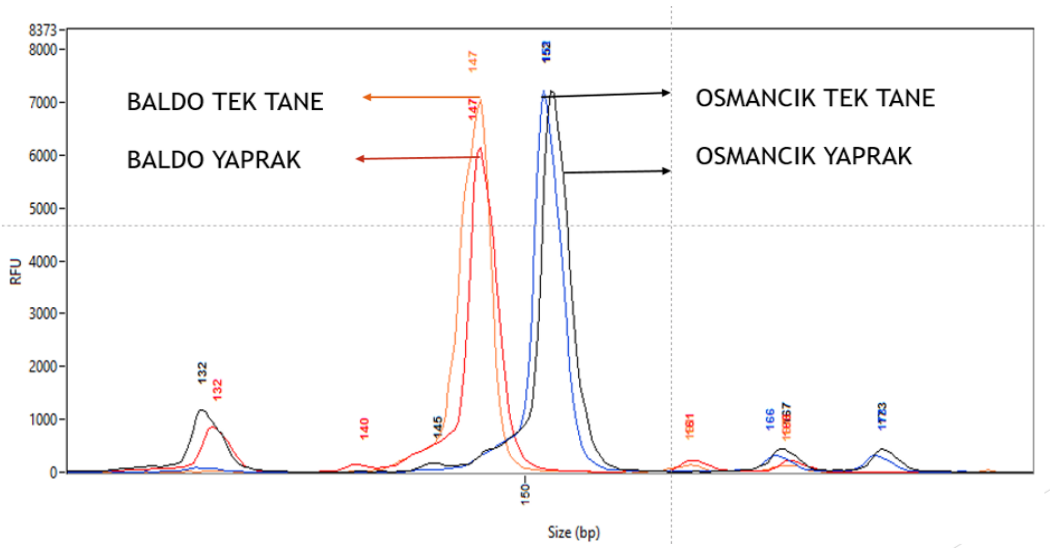


Şekil 4.8. Baldo (Siyah), Osmancık-97 (kırmızı), Ronaldo (turuncuı) ve Cammeo (mavi) çeşitlerine ait ayırıcı SSR markırına ait sanal jel ve elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir.

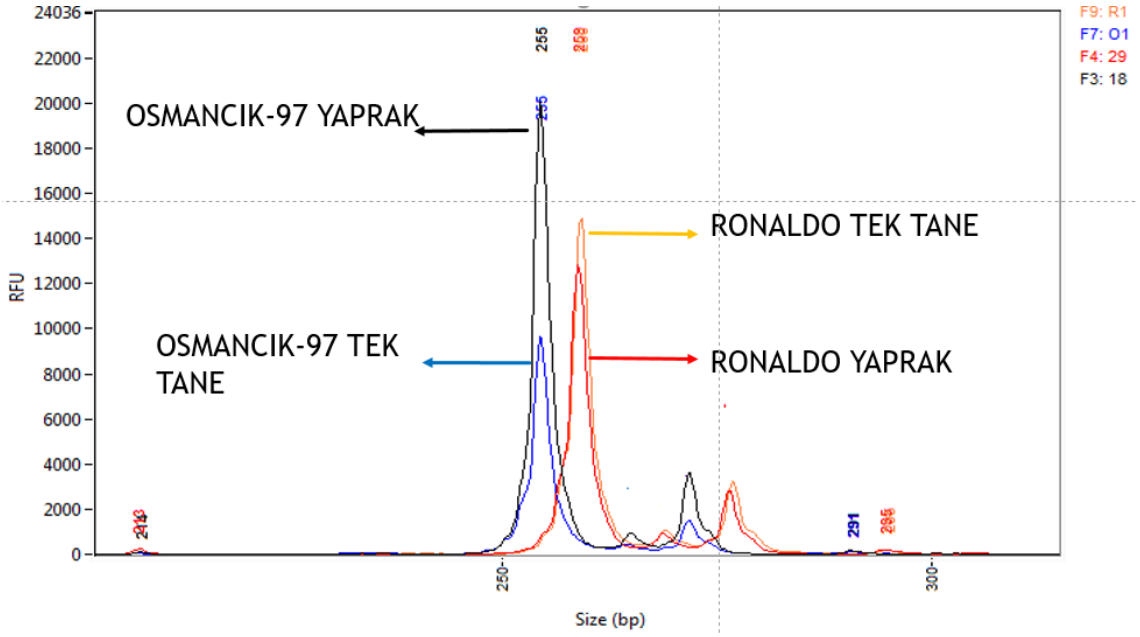


Şekil 4.9. Osmancık-97 (kırmızı), Ronaldo (turuncuı) ve Cammeo (mavi) çeşitlerine ait ayırıcı SSR markırına ait sanal jel ve elektroferogram görüntüsü. Her pik aynı markır ile elde edilen DNA fragmentini ifade etmektedir.

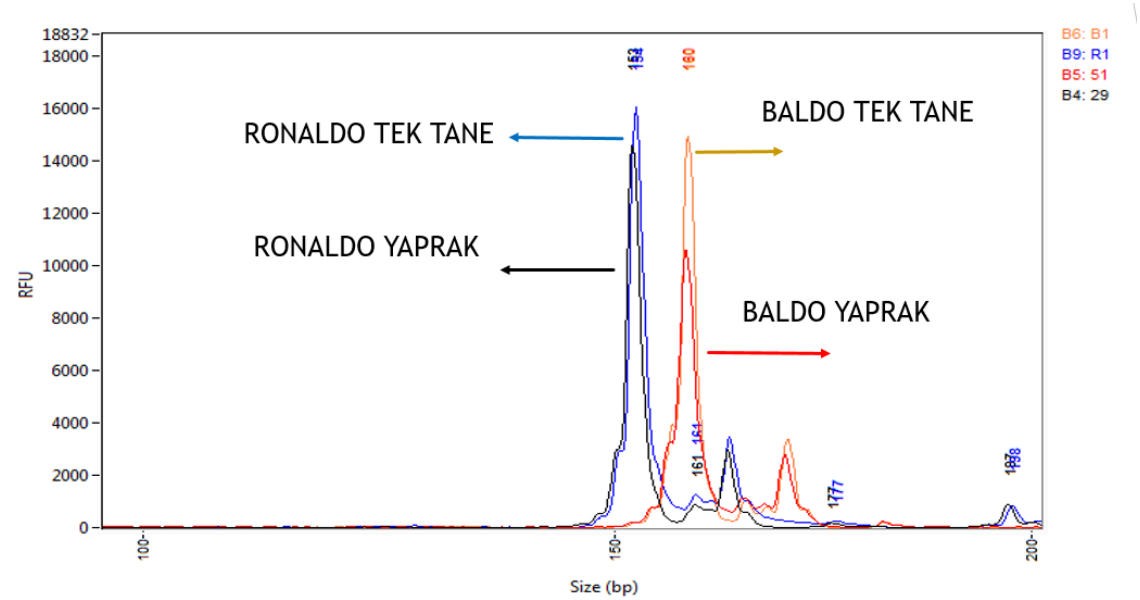
Çeşitleri birbirinden ayıracak farklı SSR markır kombinasyonları ve bunlarla ilgili şekiller aşağıda verilmiştir (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13).



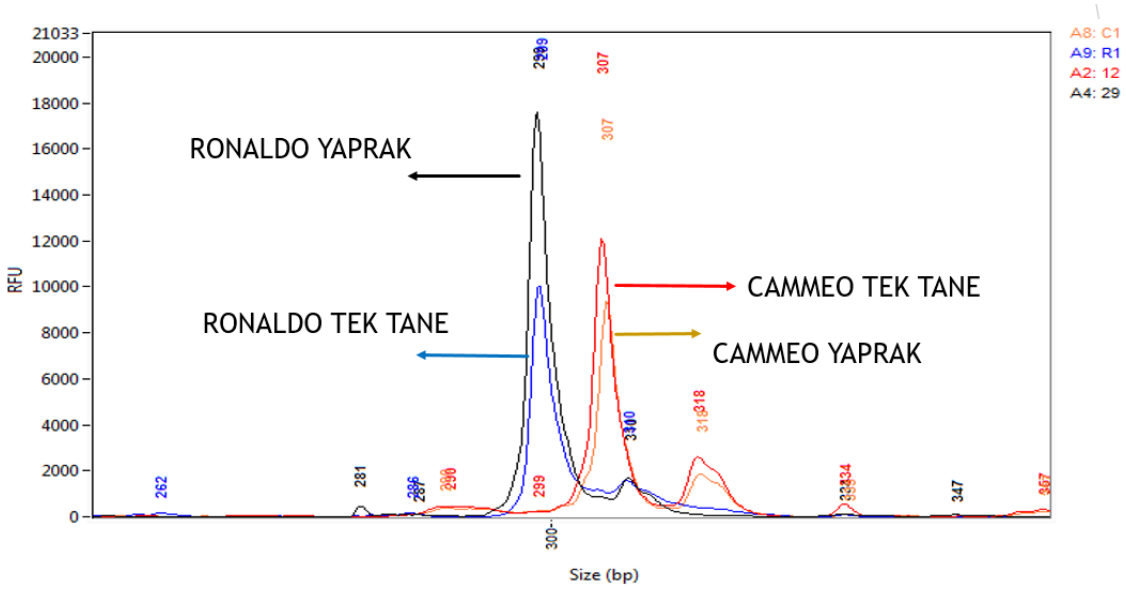
Şekil 4.10. RM152 Primeri Kullanılarak Baldo- Osmancık-97 Ayırımı



Şekil 4.11. RM431 Primeri Kullanılarak Osmancık-97-Ronaldo Ayırımı

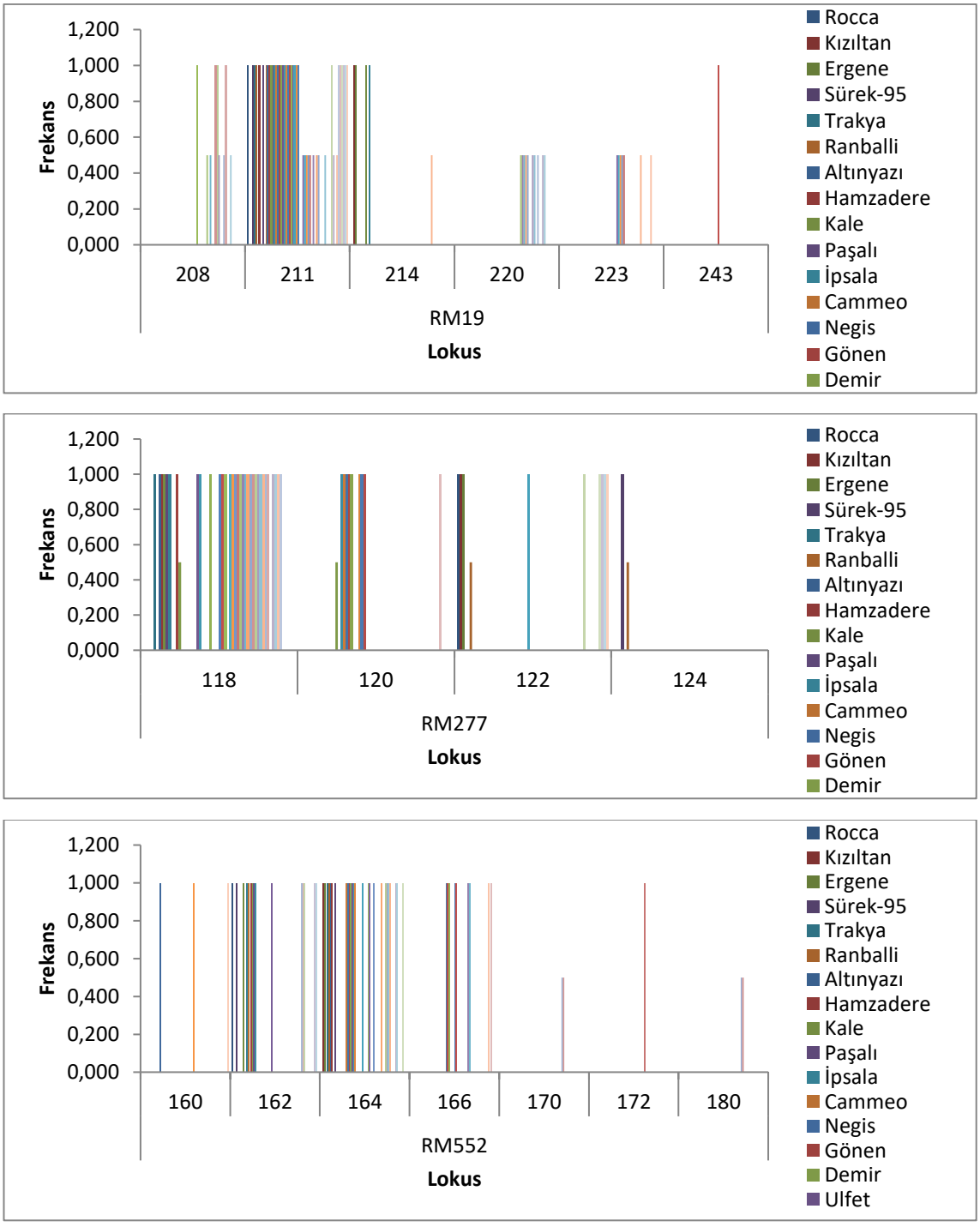


Şekil 4.12. RM283 Primeri Kullanılarak Ronaldo-Baldo Ayırımı

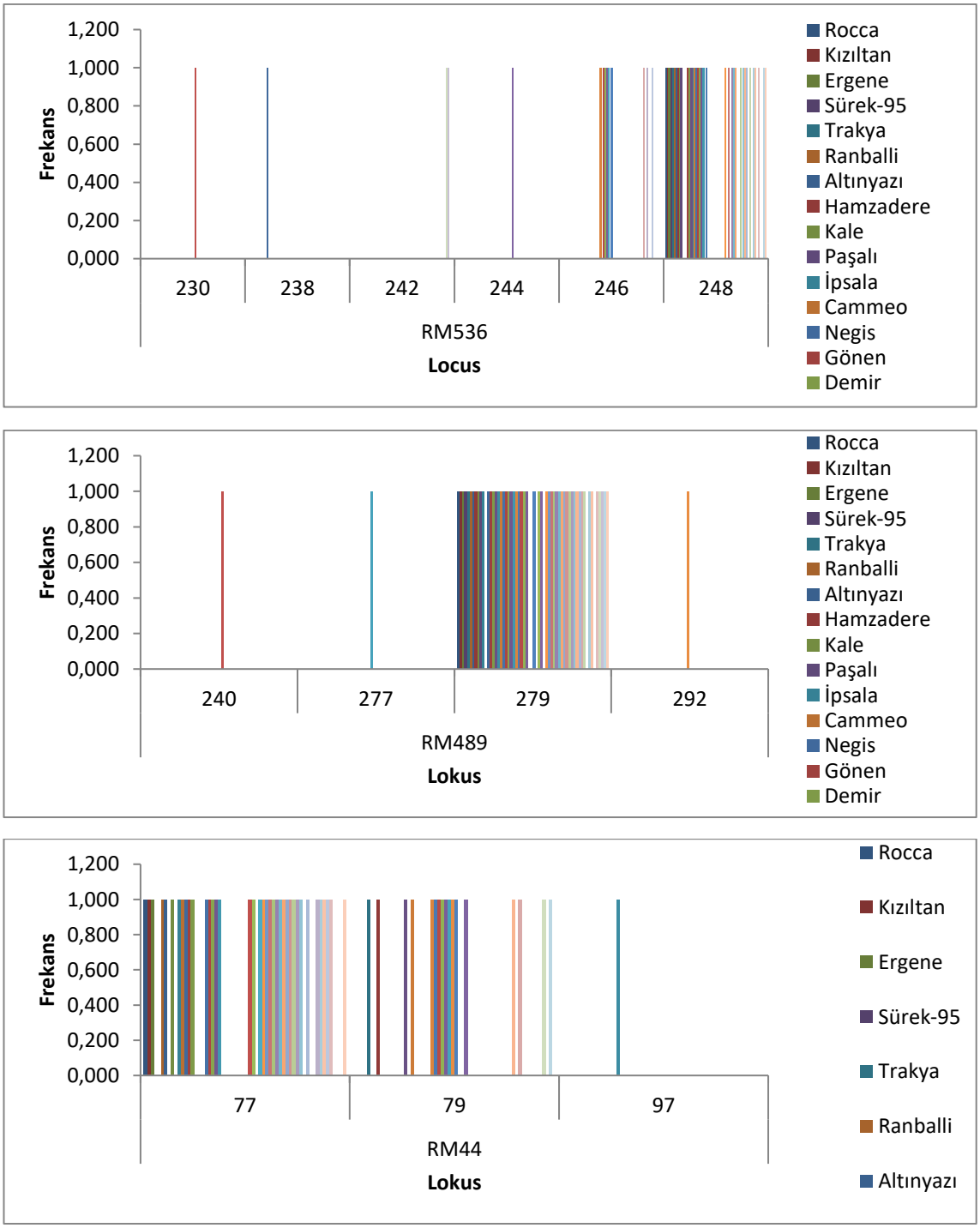


Şekil 4.13. RM484 Primeri Kullanılarak Ronaldo- Cammeo Ayırımı

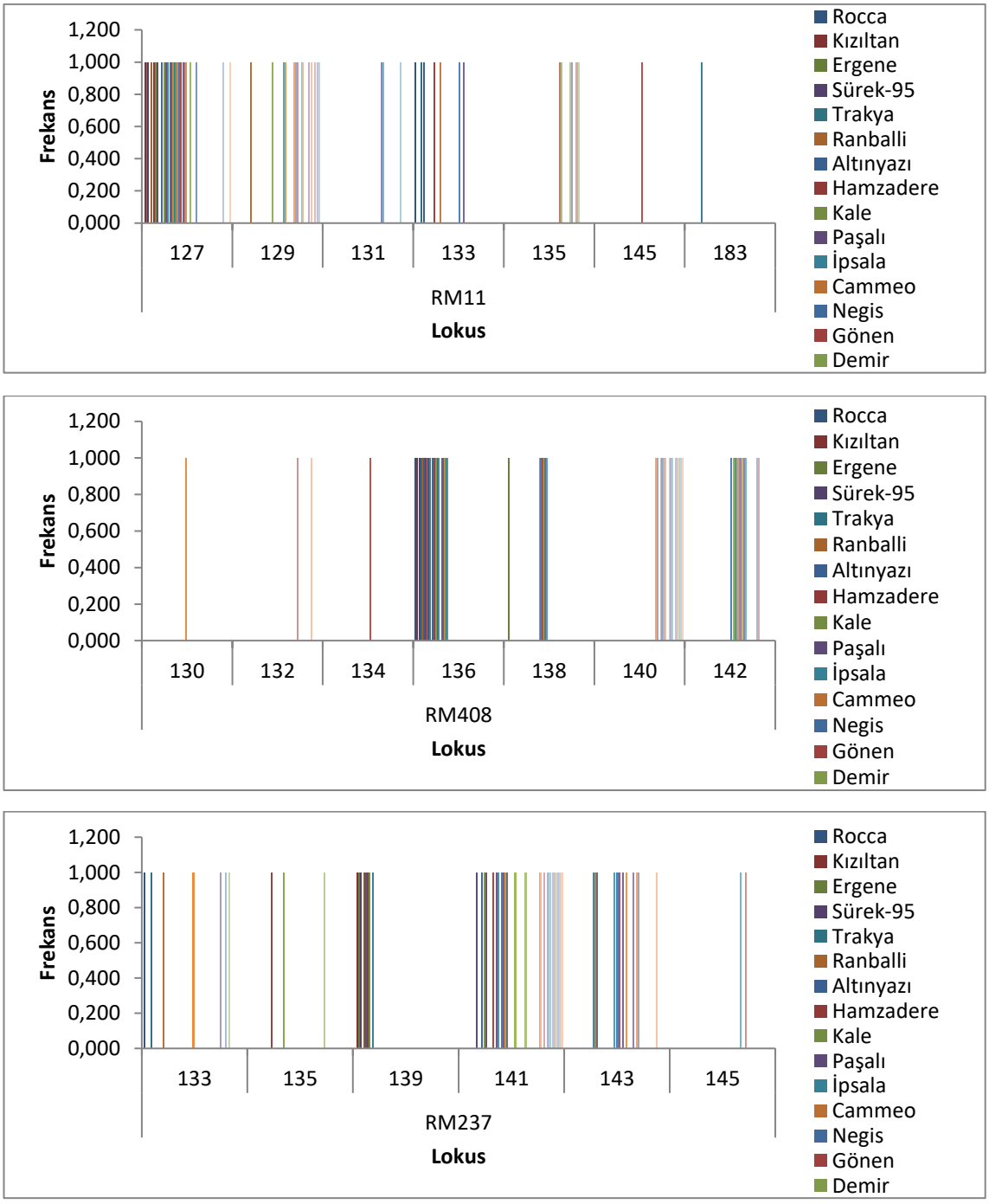
Taranan 60 bireyde 44 SSR markırına ait allelerin gözlenme sıklığı yani frekansları, GenAlex 6.5 programı kullanılarak ayrı ayrı hesaplanmış ve çalışmada kullanılan markırlar için alleleri ve allel frekanslarını gösteren grafikler Şekil 4.14-28'de sunulmuştur.



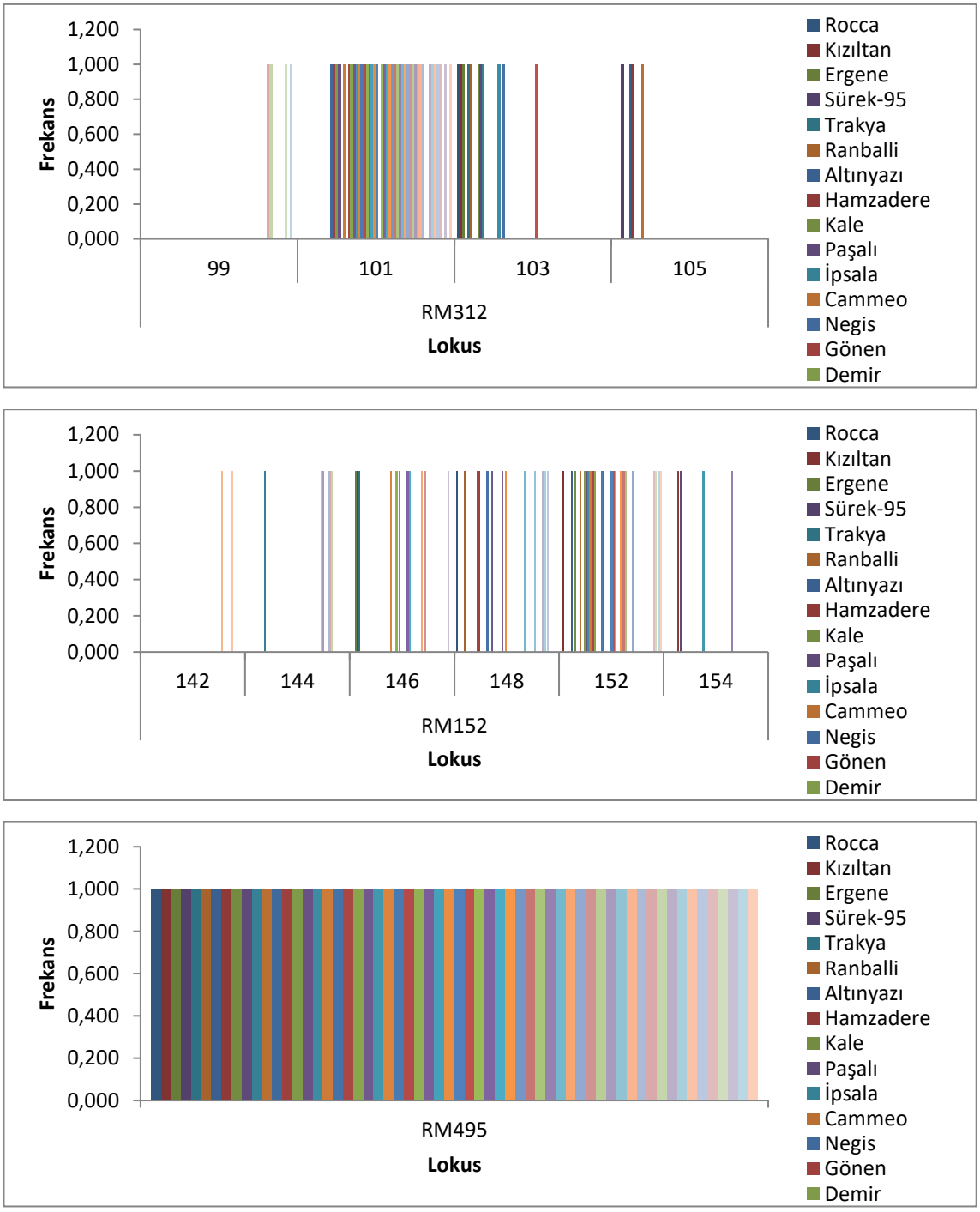
Şekil 4.14. RM19, RM277 ve RM552 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



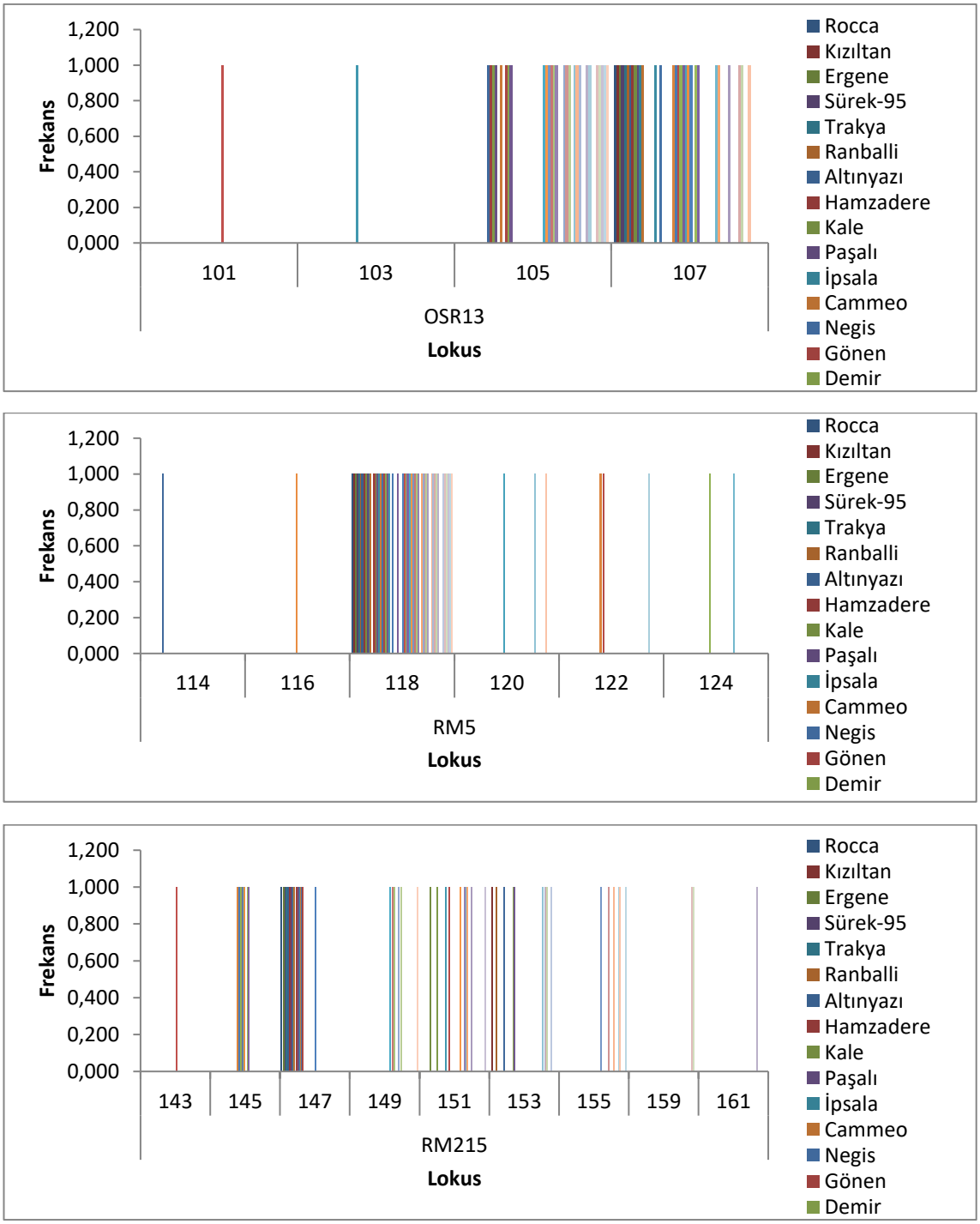
Şekil 4.15. RM536, RM489 ve RM44 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



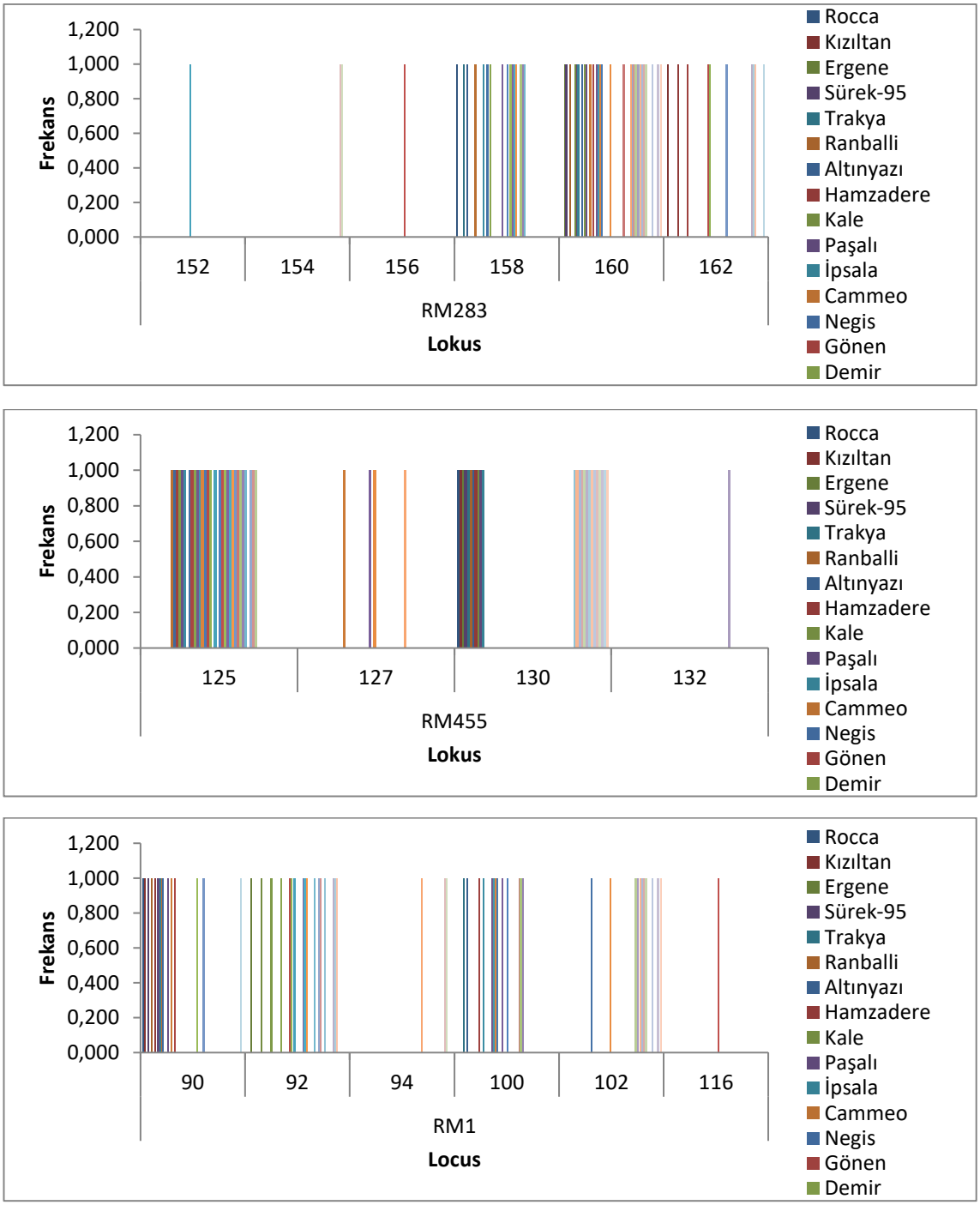
Şekil 4.16. RM11, RM408 ve RM237 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



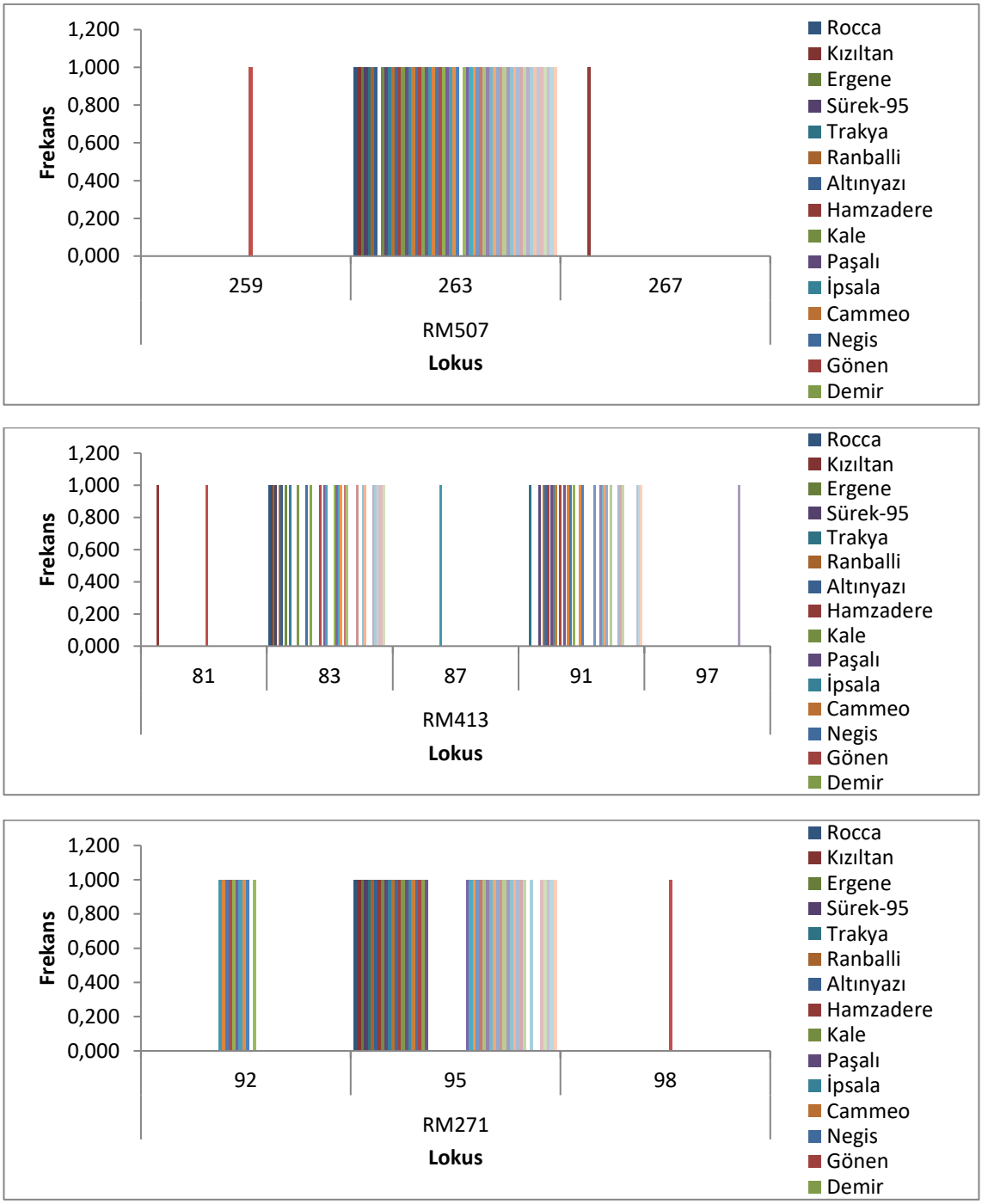
Şekil 4.17. RM312, RM152 ve RM495 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



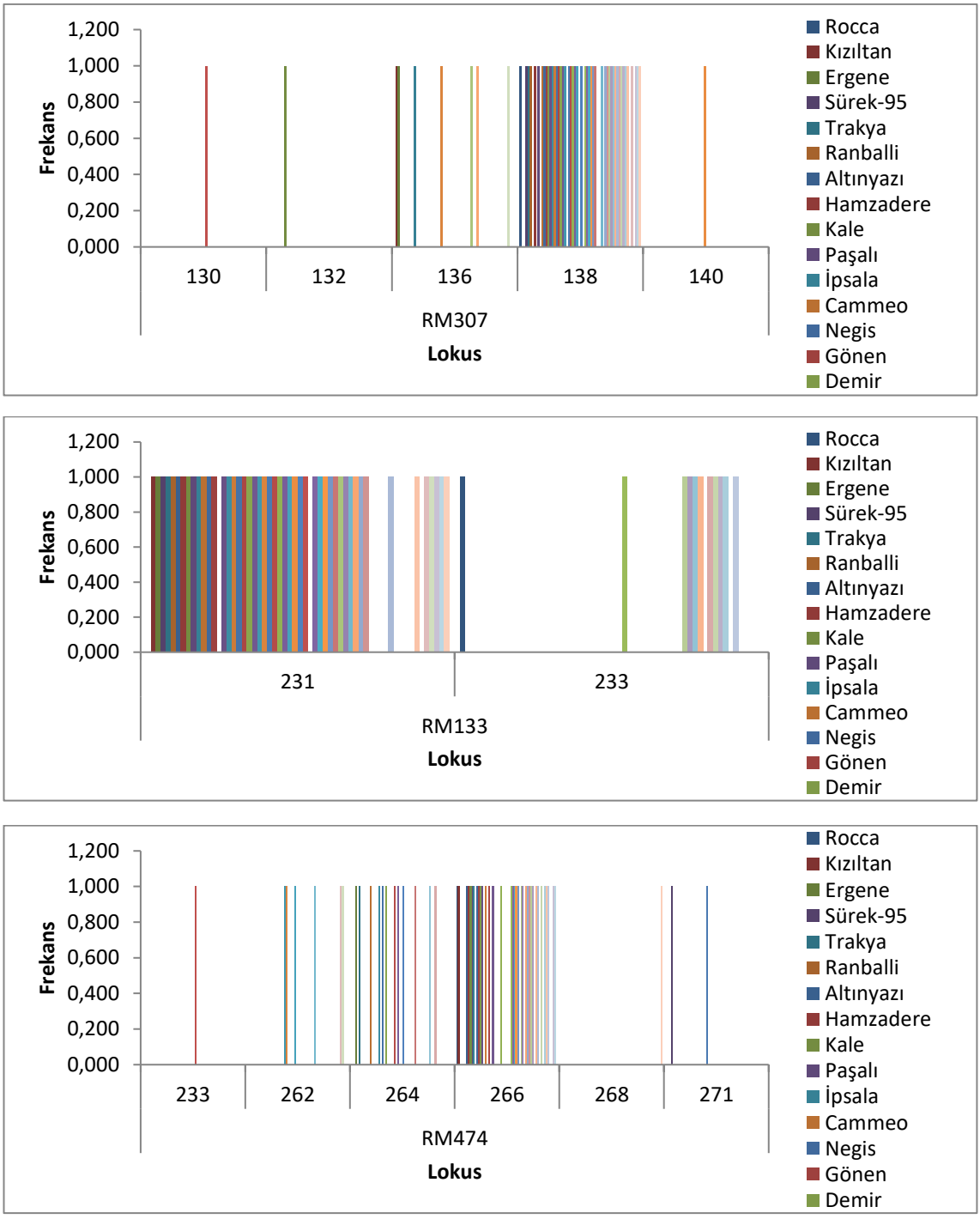
Şekil 4.18. OSR13, RM5 ve RM215 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



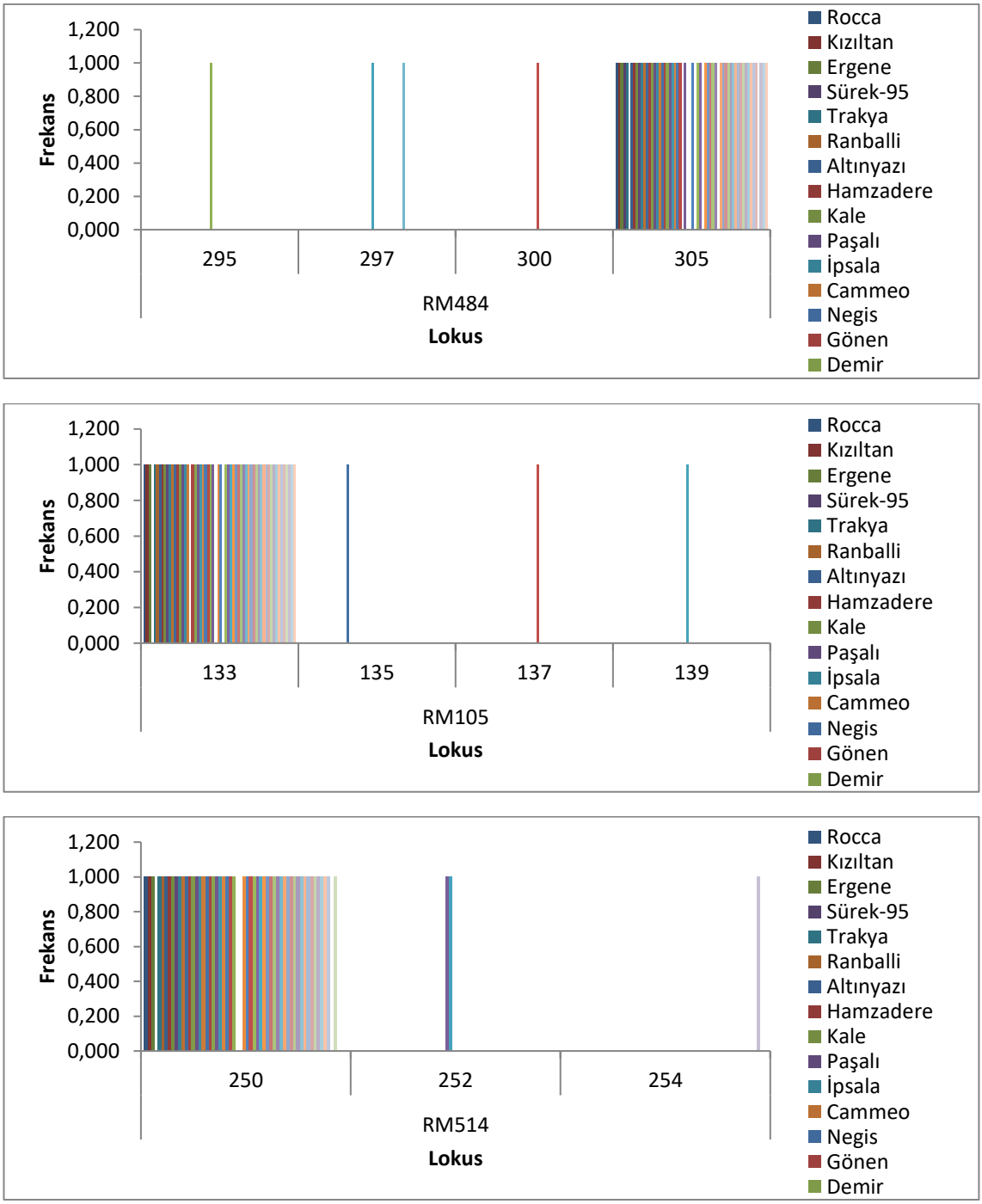
Şekil 4.19. RM283, RM455 ve RM1 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



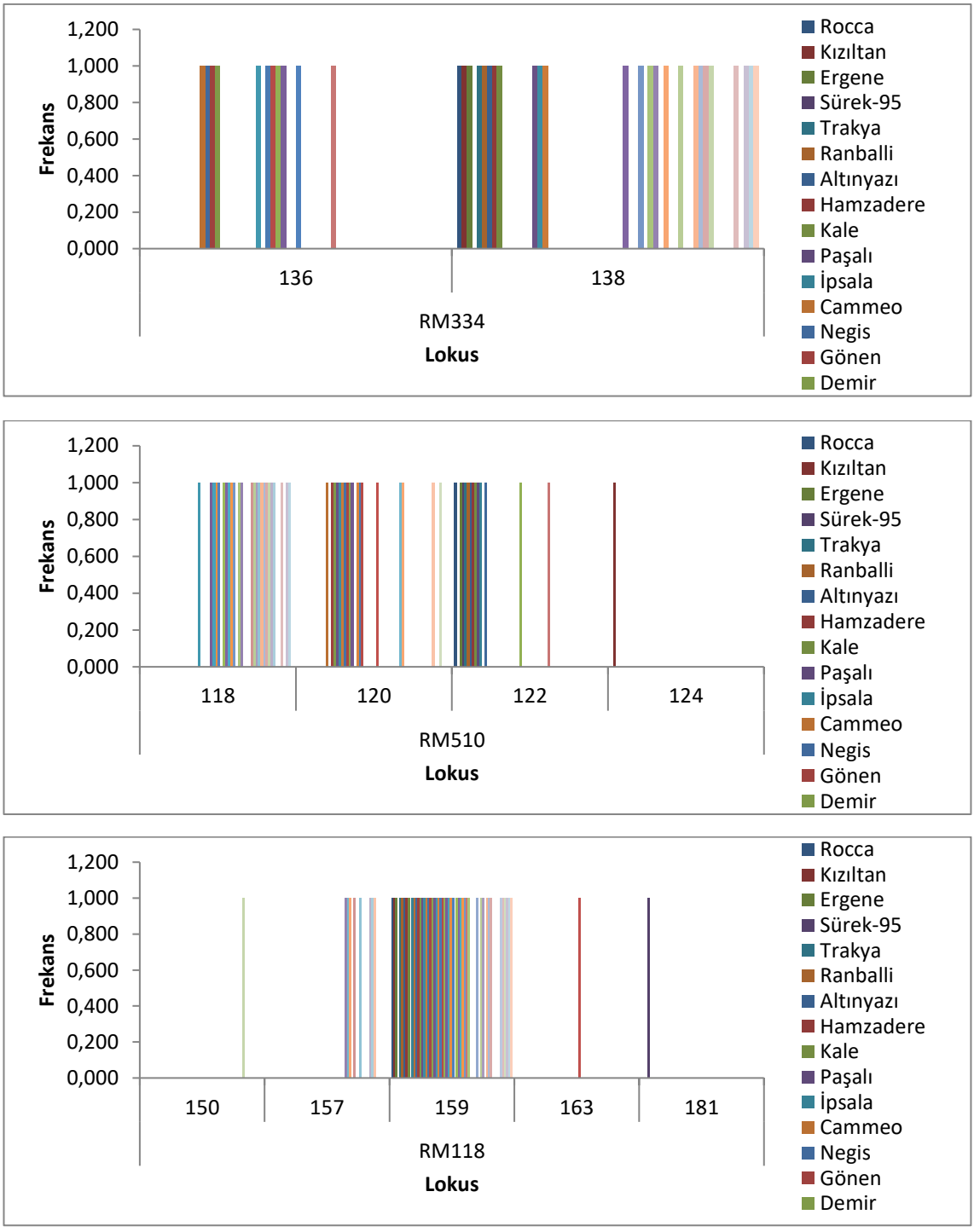
Şekil 4.20. RM507, RM413 ve RM271 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



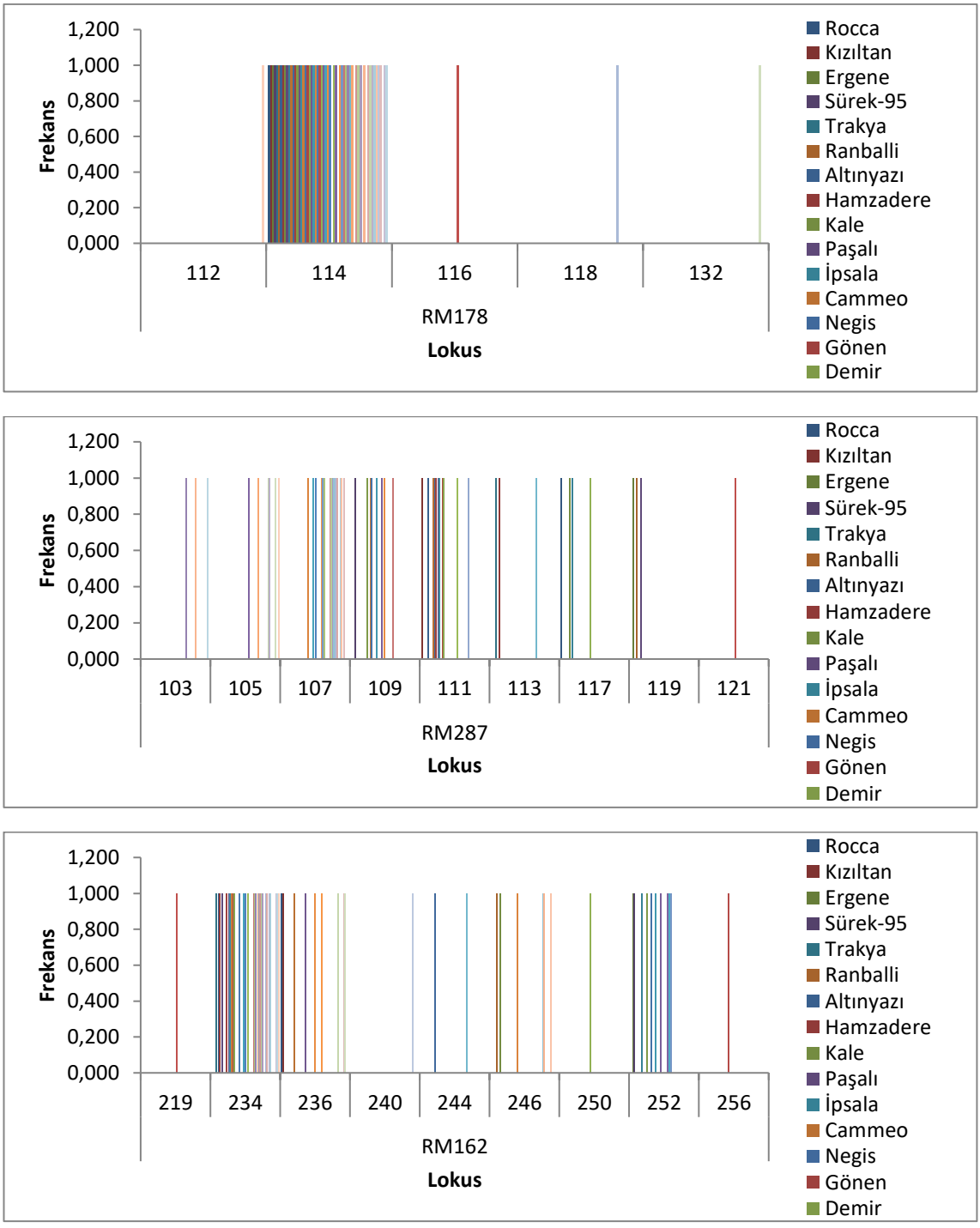
Şekil 4.21. RM307, RM133 ve RM474 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



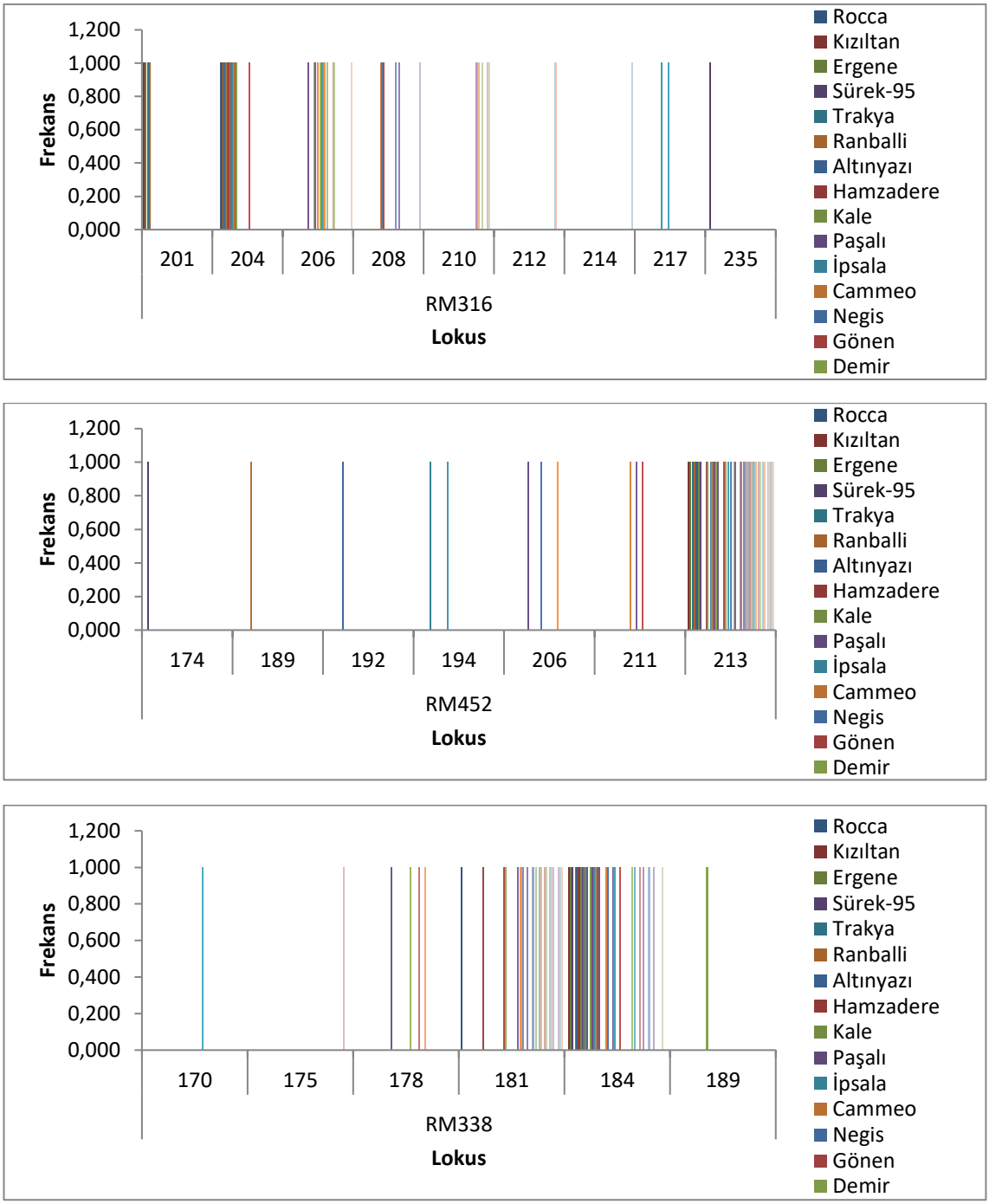
Şekil 4.22. RM484, RM105 ve RM514 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



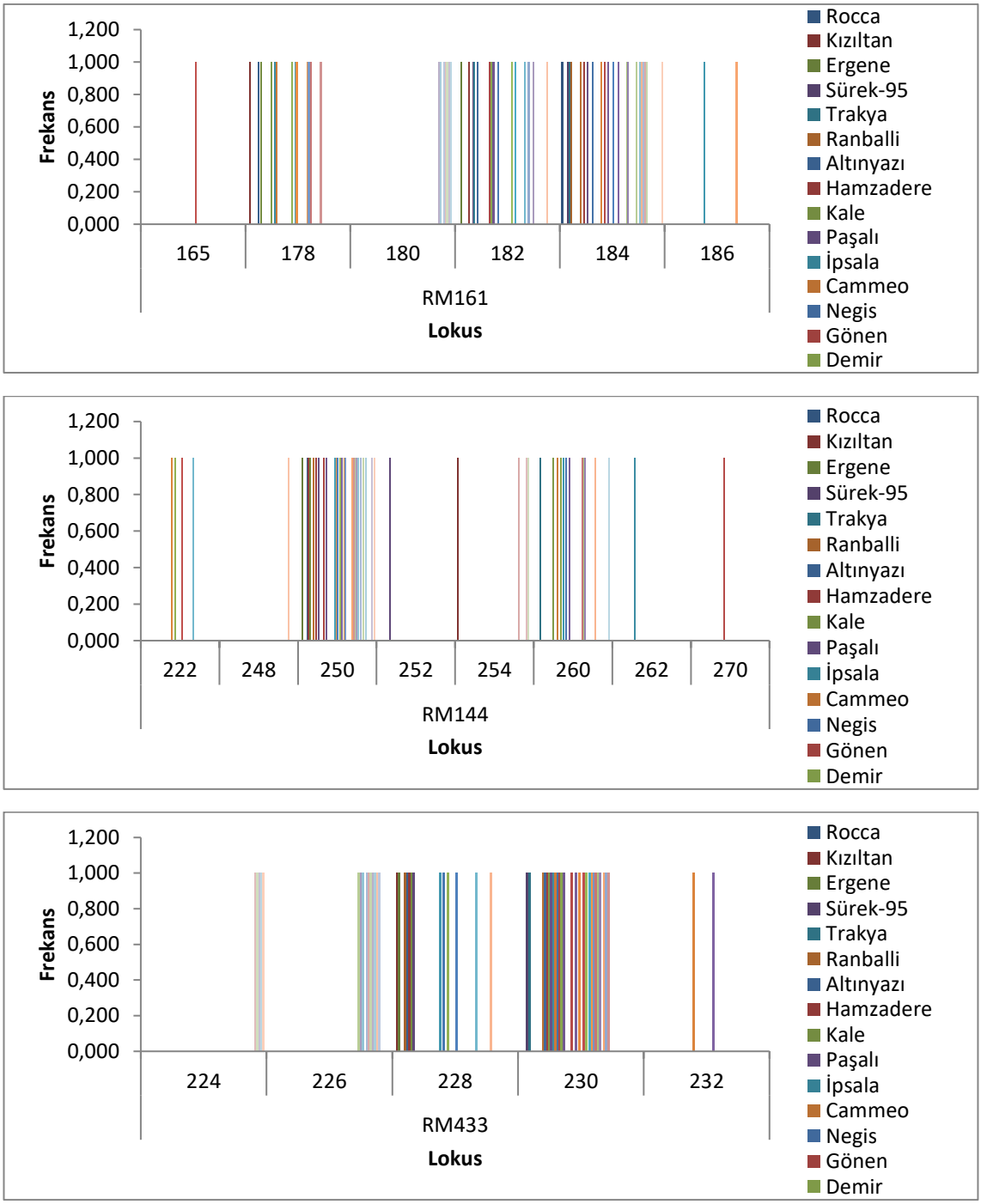
Şekil 4.23. RM334, RM510 ve RM118 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



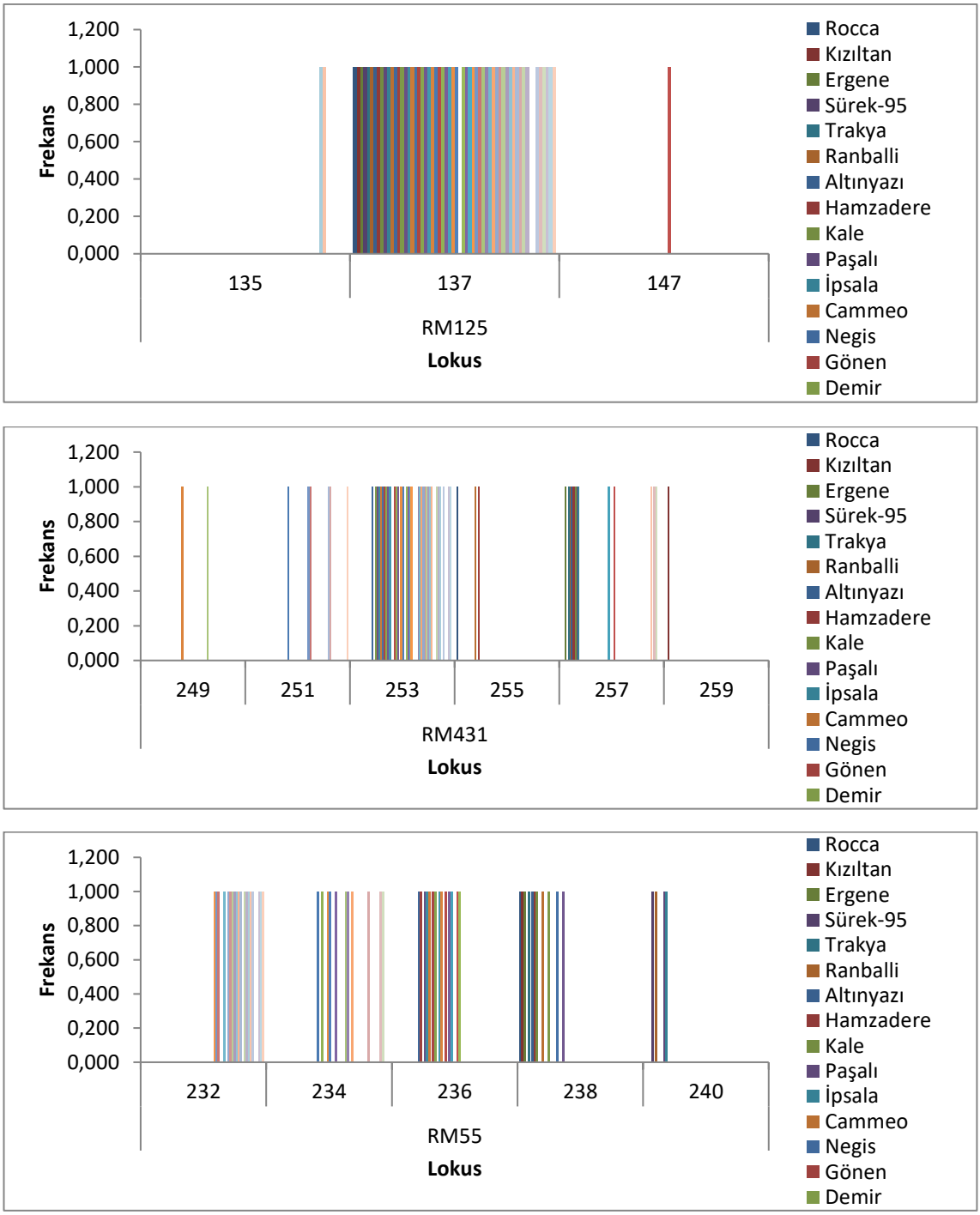
Şekil 4.24. RM178, RM287 ve RM162 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



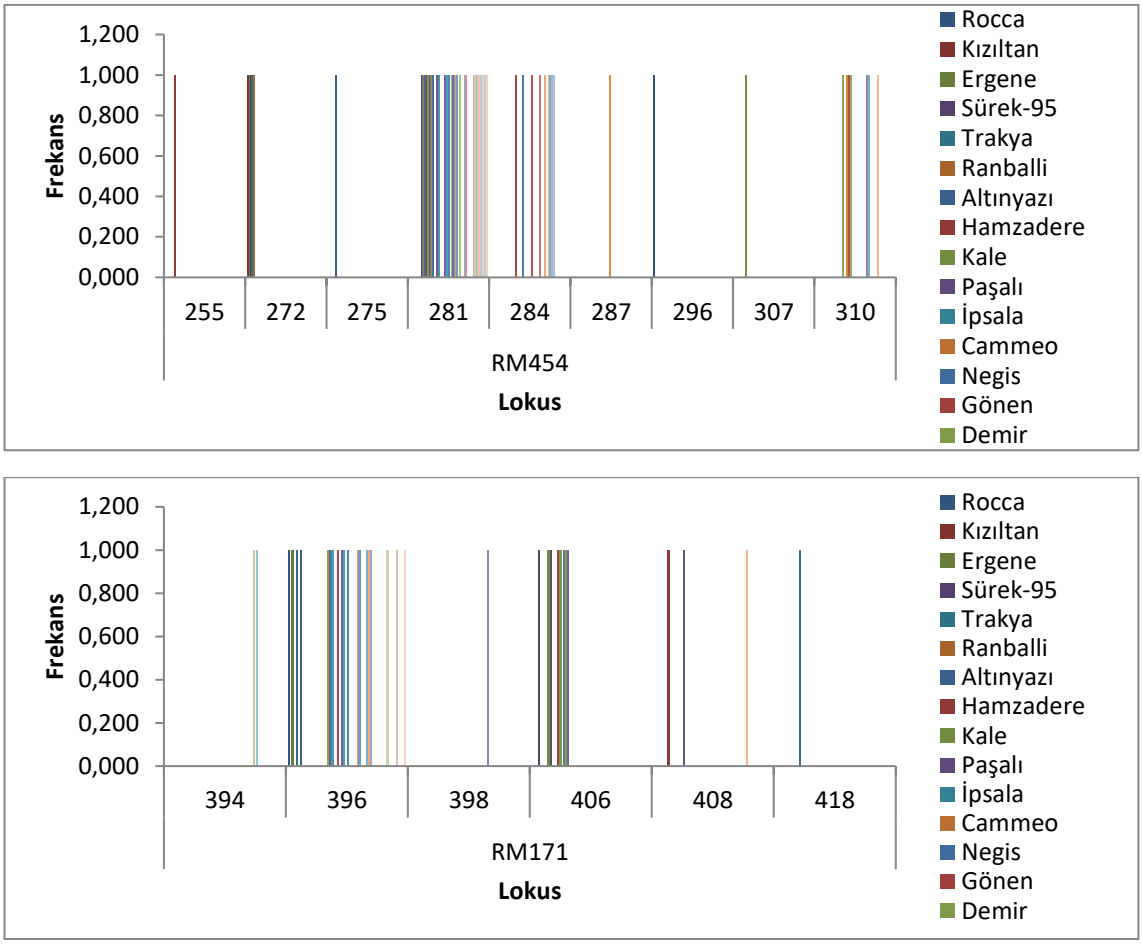
Şekil 4.25. RM316, RM452 ve RM338 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



Şekil 4.26. RM161, RM144 ve RM433 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)



Şekil 4.27. RM125, RM431 ve RM55 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)

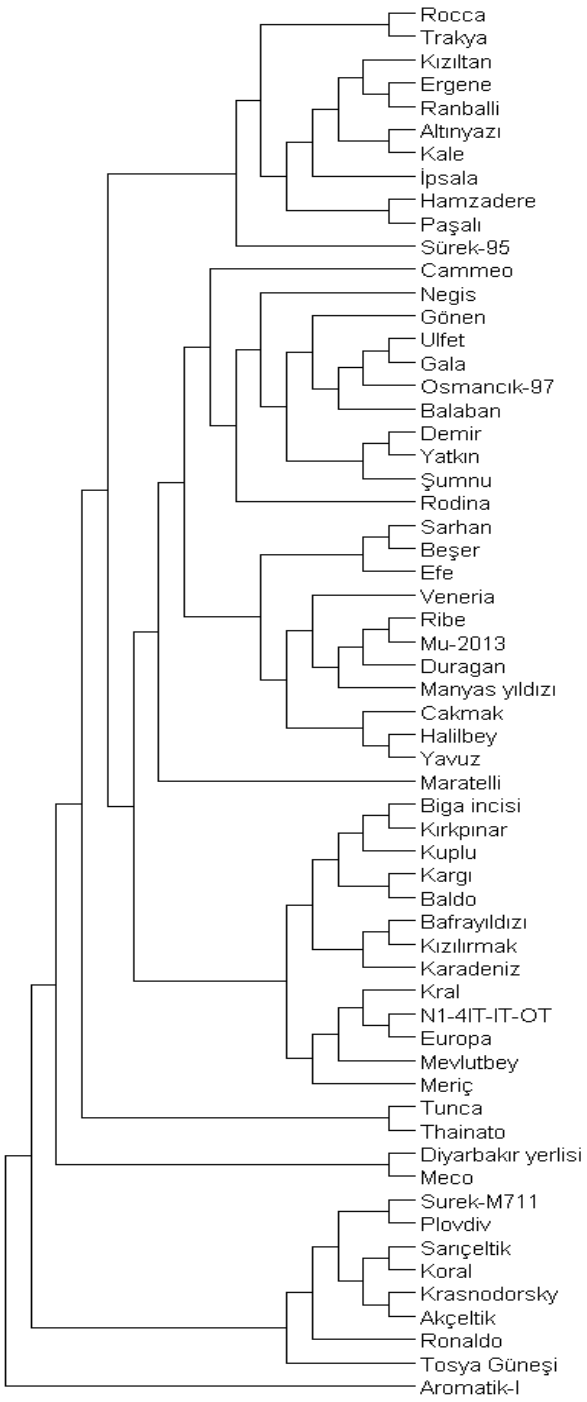


Şekil 4.28. RM454 ve RM171 markırlarına ait gözlenen alleller ve 60 çeşit arasındaki dağılımı frekansı (Renkli dikey çubuklar çeşitleri temsil etmektedir)

Tescilli 60 çeltik çeşidinin 44 SSR markırı ile taranması sonucu 231 allel ile elde edilen bulgular GenAlex 6.5 programı kullanılarak istatistiki olarak değerlendirilmiş ve elde edilen genetik yakınlık ve benzerlik martiksleri oluşturulmuştur (*Ek-1*, *Ek-2*).

Benzerlik matriksine dayalı UPGMA dendogramı (Sneath ve Sokal 1973).ise MEGA 7.0 (Kumar, Stecher, & Tamura, 2016) programı kullanılarak oluşturulmuş ve Şekil 4.29'da sunulmuştur.

Türkiye'de tescil olmuş, üretim izni almış veya pazarlanabilecek 60 çeltik çeşidinin 44 SSR markırı ile taranması sonucu ayırıcı olduğu belirlenen 10 markır ile DNA parmakizi profilleri çıkarılmış ve *Ek-3'*de sunulmuştur.



Şekil 4.29.UPGMA Dendogramı

BÖLÜM 5

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu çalışma; Türkiye'de tescilli ve üretim izinli çeşitlerin moleküler karakterizasyonu ve çeşitleri birbirinden ayırt edebilecek SSR markırlarını belirlemek için yapılmıştır. Çeşitleri ayıracak SSR markırları çalışırken "çeşite özgün markır/allelerin" de belirlenmiştir.

Çalışmada 60 çeşit 50 SSR markırı ile analiz edilmiş fakat çalışılan 50 SSR markırlarından 44'inin kullanılabileceği ön çalışmalarla ortaya konmuştur. 44 SSR markırı ile 60 çeşidin genotiplemesi yapılmıştır. 60 çeşit 44 SSR markırında toplam 231 allel vermiştir. En fazla allel 9'ar farklı allel ile RM454, RM162, RM316, RM215, RM287, markırlarından elde edilmiş vermiş, bunu 8 allel ile RM144 markır izlemiştir.

Bu çalışma sonucunda max PIC değeri RM287 markırından 0.832 olarak, min PIC değerleri ise RM495 SSR markırından 0.000, RM514 markırından 0.103 ve RM489 SSR markırından 0.105 olarak olarak bulunmuştur. RM495 SSR markırı 1 allel (169 bç) ile en monomorfik SSR markırı olarak belirlenmiş ve PIC değeri 0.000 hesaplanmıştır. RM454 (255, 272, 275, 281, 284, 287, 296, 307, 310 bç) PIC değeri 0.634, RM162 (219, 234, 236, 240, 244, 246, 250, 252, 256 bç) PIC değeri 0.691, RM316 (201, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 217, 235 bç) PIC değeri 0.506, RM215 (143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 159, 161 bç) PIC değeri 0.831 olmuştur. RM287 (103, 105, 107, 109, 111, 113, 117, 119, 121 bç) 9 allel ve onları takip eden RM144 ise 8 allel ile (228, 248, 250, 252, 254, 260, 262, 270 bç) PIC değeri 0.658 olarak hesaplanmış ve diğer SSR markırlarından daha polimorfik görünmüştür.

RM454 SSR markırı için 281 bç ile en yüksek allel frekansı 0.567, RM162 SSR markırı için 234 bç ile en yüksek allel frekansı 0.500, RM316 SSR markırı için 212 bç ile en yüksek allel frekansı 0.688, RM215 147 bç ile en yüksek allel frekansı 0.267, RM287 SSR markırı için 107 bç ile en yüksek allel frekansı 0.278, RM144 SSR markırı için ise 250 bç ile en yüksek allel frekansı 0.520 olarak hesaplanmıştır.

Saini ve ark. (2004) yılında AFLP, ISSR ve SSR markırlarını kullanarak yaptıkları çalışmada Basmati ve Basmati olmayan çeltik çeşitlerinin genetik çeşitliliğini değerlendirmişlerdir. SSR analizleri için. 30 SSR markırı kullanmışlardır. Yaptıkları araştırmada RM287 SSR markırı 7 allel vermiş ve PIC değeri 0.76 ve RM144 SSR markırı 6 allel vermiş PIC değeri ise 0.75 hesaplanmıştır. Yürüttüğümüz çalışmada ise polimormik olarak belirlenen RM287 SSR markırı 9 allel vermiş ve PIC değeri 0.832 hesaplanmıştır. RM144 SSR markırı 8 allel vermiş PIC değeri 0.658 olarak hesaplanmıştır.

Houssain ve ark.(2007) yılında yaptıkları çalışmada 21 çeltik genotipinin genetik çeşitiliği 30 SSR markırı kullanarak tanımlamaya çalışmışlardır. Allel sayısı en az 3 en fazla 9 olarak belirlenmiştir. Max PIC değerini 0.841 ile RM223 SSR markırından min PIC değerini 0.302 olarak RM219 SSR markırından hesaplamışlardır. Çalışmalarında kullandıkları diğer SSR markırları yaptığımız çalışma ile karşılaştırıldı zaman RM154 SSR markırı için 5 allel belirlenmiş ve PIC değeri 0.617 bulunmuş RM447 SSR markırı için 4 allel belirlenmiş ve PIC değeri 0.652 olarak hesaplanmıştır. Ancak yürüttüğümüz çalışmada tescilli çeşitler için seçilen bu markırlar ümit var nitelikte görülmemiştir.

Zeliang ve ark. (2010), *Oryza rufipogon* Griff. bitki materyalini kullanarak yaptıkları çalışmada 26 SSR markırından 18 tanesi 1 allel vermiş geri kalan 8 tanesi 2 allel vermiştir. Bunlar RM495 SSR markırından 2 allel (140, 160 bç), RM44 SSR markırından 2 allel (80,130 bç), RM215 SSR markırından (145,360 bç), RM237 SSR markırından 2 allel (110,150 bç), RM283 SSR markırından 2 allel (130,160 bç), RM316 SSR markırından 2 allel (200, 220 bç), RM413 SSR markırından 2 allel (70, 100 bç) ve RM507 SSR markırı için 2 allel (242, 300 bç) olarak bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmasında ise, RM495 SSR markırı için 1 allel, RM44 SSR markırı için 3 allel, RM215 SSR markırı için 9 allel, RM237 SSR markırı için 6 allel, RM283 SSR markırı

için 6 allel, RM316 SSR markırı için 9 allel, RM413 SSR markırı için 5 allel, RM507 SSR markırı için 3 allel belirlenmiştir.

Shamim ve ark. (2016) yılında SSR markırlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında 18 çeltik çeşidin karakterizasyonunda 30 SSR markırından yaralanmış ve 223 allel elde etmişlerdir. Min PIC değerini 0.059 olarak RM161 SSR markırından max PIC değerini ise RM429 SSR markırından elde etmişlerdir. Yapılan tez çalışmasında ise RM161 SSR markırı için PIC değeri 0.742 bulunmuştur. Bu farklılığın nedeninin materyal olarak seçilen tescilli çeltik çeşitlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ashraf ve ark. (2016) yılında 16 çeltik genotipinin genetik çeşitliliğini belirlemek için 24 SSR markırı kullanmıştır. Max PIC değeri RM249 SSR markırından 0.86 olarak min PIC değeri RM1 SSR markırından 0.36 olarak bulunmuştur. Yürüttükleri çalışmada RM1 SSR markırı 3 allel verirken, yaptığımız çalışmada ise RM1 SSR markırı için 6 allel elde edilmiş ve PIC değeri 0.774 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca yaptıkları çalışmada kullanılan RM259 SSR markırı için 5 allel elde ederlerken, yürüttüğümüz çalışmada ise RM259 SSR markırı tescilli çeltik çeşitlerinin tamamında ümit var sonuçlar vermemiştir. Sadece satışa sunulan pirinç çeşitlerinin ayırımı için ümit var nitelikte bulunmuştur.

Çalışmada değerlendirilen markırların çeşit ayırımında kullanılması ile ilgili yaptığımız çalışmalar ile Ülkemiz pazarında yer alan çeşitlerin ayrımında kullanılabilecek çeşitlere özgün alleller belirlenmiştir. Bunlar arasında RM118 150 bç'lik alleli ile Baldo çeşidi için, RM452 189 bç'lik alleli ile Cammeo çeşidi için, RM489 277 bç'lik alleli, RM283 152 bç'lik alleli, RM105 139 bç'lik alleli ile çeşide özgün bulunmuştur. En fazla çeşide özgün allel (21 allel) ise Aromatik-1 çeşidinde gözlenmiştir.

Türkiye'de en fazla yetiştirilen Osmancık-97 için çeşide özgün allel tespit edilmemiştir. Ancak, diğer SSR markırlarının kombinasyonu ile Osmancık-97 çeşidini ve diğer çeşitleri birbirinden ayırıcı markırlar belirlenmiştir. Bunun için ülkemiz pazarında yaygın olarak yer alan Osmancık-97, Baldo, Ronaldo, Cammeo çeşitlerini birbirinden ayıran 12 SSR markırı belirlenmiştir. Özellikle de Baldo ve Osmancık çeşitlerini birbirinden ayırıcı olarak sunulan markırlar çeltik çeşitlerinin ya da pazarda

satışa sunulan pirinç karışıklığının ayrımında başarı ile kullanılabilecek niteliktedir. (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13).

Sonuç olarak bu çalışma ile satışı yapılan pirinç paketlerinde herhangi bir karışımın olup olmadığını, şayet karışım varsa hangi çeşitlerin karıştırıldığını tespit edebilecek markırlar belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

Altun, Z. G. (2006). DNA İşaretleyiciler (Markör) ve Türkiye'de Orman Ağaçları Islahında Kullanımı. *Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü Yayınları Dergisi, 2*4

Anonim. (2017). TUİK. Retrieved from http://www.tuik.gov.tr

Anonim. (2018). TUİK. Retrieved from http://www.tuik.gov.tr

Ashraf, J., Malik, W., Iqbal, M., Khan, A., Qayyum, A., Noor, E., Ahmad, M. (2016). Comparative Analysis of Genetic Diversity among Bt Cotton Genotypes Using EST-SSR, ISSR and Morphological Markers. *Journal of Agricultural Science and Technology, 18*(2), 517-531.

Bay, S. (2009). *Türk Çeltik Çeşitlerinin (Oryza Satıva L.) Tohum Depo Proteinleri Ve Random Amplıfied Polymorphıc DNA (RAPD) Belirleyicileri İle Genetik Analizi* (Yüksek Lisans Tezi) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Blair, M. W., Panaud, O., & McCouch, S. R. (1999). Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (Oryza sativa L.). *Theoretical and Applied Genetics, 98*(5), 780-792.

Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am JHum Genet, 32*, 314-331.

Boyer, J. S. (1982). Plant productivity and environment. *Science, 218*(4571), 443-448.

Buu, B. B., & Lang, N. (1999). Using molecular markers in study of rice genetic diversity. *Omonrice, 7*, 15-25.

Cao, Q., Lu, B. R., Xia, H., Rong, J., Sala, F., Spada, A., & Grassi, F. (2006). Genetic diversity and origin of weedy rice (*Oryza sativa* f. spontanea) populations found in

north-eastern China revealed by simple sequence repeat (SSR) markers. *Annals of botany*, *98*(6), 1241-1252.

Chakravarthi, B. K., & Naravaneni, R. (2006). SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa*. L). *African Journal of Biotechnology*, *5*(9), 684-688.

Cho, Y. G., Ishii, T., Temnykh, S., Chen, X., Lipovich, L., McCouch, S. R., Cartinhour, S. (2000). Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *100*(5), 713-722.

Cömertpay, G., Baloch, F., Derya, M., Andeden, E., Alsaleh, A., Sürek, H., & Özkan, H. (2015). Population structure of rice varieties used in Turkish rice breeding programs determined using simple-sequence repeat and inter-primer binding site-retrotransposon data. *Genet Mol Res*, *15*(1).

Demir, A., Seyis, F., & Kurt, O. (2006). Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar:1.Bitkiler. *Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, OMÜ. Zir. Fak. Dergisi, J. of Fac. of Agric., OMU*, *21*(2), 249-260.

Demir, İ., & Turgut, İ. (1999). *Genel Bitki Islahı Ders Kitabı*: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, *12*, 13-15.

Dönmez, D. (2007). Pirinç. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E- Bakış, Ankara*, *9*(4).

Erdem, B. (2012). *Trakya Bölgesinde Buğday, Ayçiçeği ve Çeltiğin Üretim Ve Pazarlama Sorunlarının Analizi* (Doktora Tezi) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ

Eserkaya Güleç, T., Yıldırım, A., & Ateş Sönmezoğlu, Ö. (2010). Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, *3*(2), 67-79.

Filiz, E. (2012). Oryza rufipogon Griff. Mitokondri Genomunun (mtDNA) In silico SSR Analizi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2012*(1).

Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A. M., Galiba, G., Toth, B., Pecchioni, N. (2004). Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure'(winter)×'Tremois'(spring) barley map. *Theoretical and Applied Genetics, 108*(4), 670-680.

Garris, A. J., Tai, T. H., Coburn, J., Kresovic, S., & McCouch, S. (2005). Genetic structure and diversity in (Oryza sativa L.). *Genetics, 169*(3), 1631-1638.

Gaytancıoğlu, O. (1997). *Türkiye'de Çeltikte Uygulanan Üretim, Fiyat ve Pazar Politikalarının Değerlendirilmesi* (Doktora Tezi) Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ

Gülşen, O., & Mutlu, N. (2005). Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları *Alatarım, 4*(2), 27-37.

Hossain, M., Rasul, M., Ali, M., Iftekharuddaula, K., & Mian, M. (2007). Molecular characterization and genetic diversity in fine grain and aromatic landraces of rice (Oryza sativa L.) using microsatellite markers. *Bangladesh Journal of Plant Breeding and Genetics, 20*(2), 01-10.

Jeffreys, A. J., Wilson, V., & Thein, S. L. (1985). Hypervariable 'minisatellite'regions in human DNA. *Nature, 314*(6006), 67-73.

Joshi, S. P., Gupta, V. S., Aggarwal, R. K., Ranjekar, P. K., & Brar, D. S. (2000). Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus Oryza. *Theoretical and Applied Genetics, 100*(8), 1311-1320.

Jump, A. S., & Peñuelas, J. (2005). Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters, 8*(9), 1010-1020.

Khush, G. S. (1997). Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molecular Biology, 35*(1-2), 25-34.

Kibar, U. (2012). *EST (Expressed Sequence Tag) Koleksiyonlarından Üzüm Mikrosatellit Lokuslarının Tanımlanması* (Yüksek Lisans Tezi) Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

Ko, H. L., Cowan, D. C., Henry, R. J., Graham, G. C., Blakeney, A. B., & Lewin, L. G. (1994). Random amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (Oryza sativa L.) varieties. *Euphytica, 80*(3), 179-189.

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular biology and evolution, 33(7), 1870-1874.

Kumbhar, S. D., Patıl, J. V., Kulwal, P. L., & Chımote, V. P. (2013.). Molecular Diversity in Rice (Oryza Sativa L.) Using ISSR Markers. *Int. J. Int sci. Tech. Sec. A,, 2*(2), 17-23.

Mccouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Stein, L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA research, 9*(6), 199-207.

Morgante, M., & Olivieri, A. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The plant journal, 3*(1), 175-182.

Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*: Columbia university press.

Ogunbayo, S. A., Ojo, D. K., Guei, R. G., Oyelakin, O. O., & Sanni, K. A. (2005). Phylogenetic diversity and relationships among 40 rice accessions using morphological and RAPDs techniques. *African Journal of Biotechnology, 4*(11), 1234-1244.

Öztürk, D., & Akçay, Y. (2010). Güney Marmara Bölgesinde çeltik üretiminin genel bir değerlendirmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2010*(2).

Patel, N. B., Dhirhi, N., Shrivastava, R., & Sahu, M. (2015). Molecular characterization of aromatic rice,(*Oryza sativa* L.) using simple sequence repeats (ssr) markers. *Plant Archives, 15*(2), 1151-1156.

Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Resources, 6(1), 288-295.

Raghunathachari, P., Khanna, V. K., Singh, U. S., & Singh, N. K. (2000). RAPD analysis of genetic variability in Indian scented rice germplasm (*Oryza sativa* L.). *Current Science*, 994-998.

Rahman, M. M., Rasaul, M. G., Hossain, M. A., Iftekharuddaula, K. M., & Hasegawa, H. (2012). Molecular characterization and genetic diversity analysis of rice (Oryza sativa L.) using SSR markers. *Journal of crop improvement, 26*(2), 244-257.

Rajendrakumar, P., Sujatha, K., Rao, K. S., Natarajkumar, P., Viraktamath, B. C., Balachandran, S. M., Sundaram, R. M. (2007). A protocol for isolation of DNA suitable for rapid seed and grain purity assessments in rice. *Rice Genet Newsl, 23*, 92-95.

Richmond, T. A., & Somerville, C. R. (2001). Integrative approaches to determining Csl function. *Plant Molecular Biology, 47*, 131–143.

Röder, M. S., Plaschke, J., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., & Ganal, M. W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics MGG, 246*(3), 327-333.

Saini, N., Jain, N., Jain, S., & Jain, R. K. (2004). Assessment of genetic diversity within and among Basmati and non-Basmati rice varieties using AFLP, ISSR and SSR markers. *Euphytica, 140*(3), 133-146.

Schlotterer, C., & Tautz, D. (1992). Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research, 20*(2), 211-215.

Sezer, İ., Akay, H., Öner, F., & Şahin, M. (2012). Çeltik üretim sistemleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 5*(2), 6-11.

Sezer, İ., Akay, H., Şişman, A., & Şenocak, H. S. (2015). Çeltikte Kalite Kavramı ve Kaliteyi Etkileyen Faktörlerin İrdelenmesi. *11. Tarla Bitkileri Kongresi 7-10 Eylül 2015 Çanakkale,* 305-308.

Sneath, P., & Sokal, R. (1973). Unweighted pair group method with arithmetic mean. Numerical Taxonomy, 230-234.

Shamim, M., Manzar, H., Sharma, V., & Kumar, P. (2016). Microsatellite marker based characterization and divergence analysis among rice varieties.

Sharma, M., Kantartzi, S., & Stewart, J. (2009). Molecular diversity and polymorphism information content of selected Gossypium hirsutum accessions. *Summ. Ark. Cotton Res*, 124-126.

Sürek, H. (2002). *Çeltik Tarımı, Hasat Yayıncılık Ltd*.

Sürek, H., & Beşer, N. (2014). Çeltik Üretimi, Pirince İşleme, Pazarlama ve Tüketimde Kalite ve Kaliteye Etki Eden Unsurlar. Retrieved from https://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=44

TMO. (2018). *2017 Yılı Hububat Sektör Raporu*. Retrieved from http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/hububatsektorraporu2017.pdf

Tóth, G., Gáspári, Z., & Jurka, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome research, 10*(7), 967-981.

Törün, B. (2013). *Türkiye'de Yetiştirilen bazı Çeltik Çeşiterinin Genetik Çeşitliliğinin ISSR Tekniği İle Saptanması*, (Yüksek Lisans Tezi) Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

Türk Gıda Kodeksi Pirinç Tebliği. *TEBLİĞ NO: 2010/60.* Retrieved from http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.14650&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=pirin%C3%A7

Vergara, B. S. (1970). *Rice Plant Growth and Development* (second ed. Vol. 1): Springer, Boston, MA.

Verma, S. K., Xalxo, M. S., Saxena, R. R., & Verulkar, S. B. (2014). Identification of QTLs for cold tolerance at seedling stage in rice (Oryza sativa L.). *Indian Journal of Genetics, 74*(1), 86-89.

Wan, Y. T., Xin-Xiang, A., Fan, C. Z., Xu, F. R., Yu, T. Q., Tang, C. F., & Dai, L. Y. (2008). ISSR Analysis on Genetic Diversity of the 34 Populations of Oryza meyeriana Distributing in Yunnan Province, China. *Rice Science, 15*(1), 13-20.

Yılmaz, S., & Devran, Z. (2003). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları. *Derim, 20*(1), 31-42.

Yorgancılar, M., Yakışır, E., & Tanur Erkoyuncu, M. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, Journal Of Bahri Dagdas Crop Research, 4*(2), 1-12.

Yüzbaşıoğlu, G., Yılmaz, S., & Gözükırmızı, N. (2016). Houba retrotransposon-based molecular markers: a tool for variation analysis in rice. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40*(3), 456-464.

Zeliang, P., Pattanayak, A., Iangrai, B., Khongwir, E., & Sarma, B. (2010). Fertile plant regeneration from cryopreserved calli of Oryza rufipogon Griff. and assessment of variation in the progeny of regenerated plants. *Plant cell reports, 29*(12), 1423-1433.

EKLER

***EK-1*:** Nei Genetik Uzaklık Matriksi

1	60																		
Yerli çeşit	Sayfa1	Pairwise Population Matrix of Nei Genetic Distance																	
Rocca	Kızıltan	Ergene	Sürek-95	Trakya	Ranballi	Altınyazı	Hamzader	Kale	Paşalı	İpsala	Cammeo	Negis	Gönen	Demir	Ulfet	Balaban	Osmancık	Rodina	Gala
0,000																			
0,519	0,000																		
0,571	0,339	0,000																	
0,680	0,755	0,620	0,000																
0,405	0,626	0,440	0,655	0,000															
0,456	0,334	0,313	0,458	0,461	0,000														
0,507	0,382	0,394	0,743	0,382	0,488	0,000													
0,658	0,515	0,488	0,666	0,440	0,472	0,327	0,000												
0,571	0,371	0,350	0,666	0,637	0,398	0,295	0,452	0,000											
0,669	0,602	0,491	0,540	0,479	0,363	0,468	0,315	0,453	0,000										
0,553	0,534	0,428	0,560	0,717	0,492	0,482	0,546	0,357	0,393	0,000									
0,553	0,768	0,834	0,760	0,621	0,837	0,610	0,728	0,779	0,744	0,719	0,000								
0,835	0,805	0,928	0,854	0,916	0,662	0,847	0,765	0,816	0,548	0,656	0,610	0,000							
0,571	0,828	0,951	0,821	0,554	0,786	0,542	0,649	0,693	0,571	0,728	0,428	0,465	0,000						
0,736	0,664	0,722	0,649	0,785	0,717	0,630	0,746	0,417	0,575	0,638	0,571	0,448	0,417	0,000					
0,693	0,717	0,828	0,655	0,626	0,674	0,614	0,515	0,637	0,479	0,668	0,417	0,348	0,307	0,354	0,000				
0,704	0,637	0,740	0,715	0,477	0,686	0,503	0,649	0,565	0,491	0,728	0,428	0,583	0,383	0,417	0,307	0,000			
0,793	0,717	0,828	0,755	0,542	0,723	0,571	0,595	0,682	0,479	0,768	0,621	0,531	0,405	0,338	0,265	0,307	0,000		
0,578	0,646	0,571	0,540	0,519	0,517	0,635	0,704	0,658	0,578	0,693	0,511	0,681	0,530	0,382	0,559	0,315	0,479	0,000	
0,781	0,614	0,670	0,743	0,658	0,616	0,519	0,503	0,625	0,393	0,656	0,482	0,304	0,327	0,326	0,166	0,327	0,253	0,468	0,000
0,793	0,670	0,682	0,927	0,583	0,674	0,571	0,728	0,728	0,693	0,879	0,621	0,491	0,440	0,371	0,429	0,371	0,429	0,442	0,253
0,681	0,658	0,670	0,915	0,571	0,616	0,602	0,625	0,670	0,507	0,756	0,610	0,370	0,360	0,359	0,382	0,542	0,491	0,468	0,272
0,965	0,928	0,828	0,927	0,765	0,774	0,805	0,828	0,828	0,646	0,822	0,940	0,614	0,637	0,441	0,626	0,728	0,670	0,646	0,571
1,229	1,029	0,859	1,037	0,847	0,862	1,087	1,041	1,041	0,941	1,050	0,916	0,835	0,859	0,928	0,693	0,753	0,742	0,823	0,681
1,087	0,916	0,816	0,915	0,754	0,817	0,847	0,765	0,871	0,635	0,993	0,756	0,693	0,716	0,587	0,491	0,583	0,571	0,781	0,442
0,965	0,989	0,882	1,060	0,817	0,946	1,041	1,000	0,939	1,029	1,227	0,768	0,754	0,682	0,557	0,626	0,637	0,717	0,646	0,614
1,029	1,053	1,000	1,301	0,871	1,011	0,977	0,882	0,882	0,847	1,073	1,004	0,805	0,777	0,785	0,871	0,939	0,871	1,098	0,859
0,847	1,122	0,882	0,755	0,717	0,886	0,977	1,065	1,065	0,965	0,940	0,717	0,705	0,728	0,577	0,626	0,637	0,670	0,559	0,805
1,328	1,110	0,816	1,203	0,977	0,966	0,965	0,988	1,053	1,018	1,303	1,136	1,099	1,053	0,971	0,916	0,871	0,859	0,892	0,904
1,150	1,173	1,185	1,199	1,019	1,051	1,249	1,185	1,105	1,150	1,307	0,901	0,874	1,031	0,944	0,825	0,962	0,768	0,926	0,874
0,835	1,041	0,871	1,123	0,491	0,934	0,602	0,765	0,928	0,730	0,993	0,565	0,847	0,503	0,773	0,571	0,503	0,571	0,635	0,647
2,116	1,670	1,681	2,078	1,670	1,628	1,435	1,564	1,363	1,528	1,398	1,303	1,540	1,363	1,392	1,352	1,196	1,352	1,328	1,173
0,823	0,742	0,859	1,111	0,847	0,862	0,635	0,753	0,804	0,669	0,798	0,693	0,590	0,613	0,575	0,519	0,613	0,646	0,669	0,393
0,699	0,853	0,710	0,941	0,630	0,783	0,687	0,785	0,811	0,857	0,861	0,777	0,869	0,641	0,670	0,630	0,687	0,586	0,563	0,711
0,979	1,121	0,909	1,101	0,931	1,037	0,955	1,091	0,978	0,979	0,784	0,753	0,676	0,699	0,555	0,743	0,876	0,802	0,720	0,676
0,711	0,811	0,876	1,091	0,838	0,972	0,653	0,963	0,676	0,928	0,873	0,638	0,676	0,568	0,454	0,557	0,653	0,598	0,663	0,587
0,802	0,652	0,759	1,007	0,723	0,783	0,641	0,687	0,710	0,699	0,804	0,674	0,618	0,478	0,519	0,505	0,641	0,505	0,699	0,455
0,904	0,841	0,798	0,866	0,618	0,771	0,628	0,881	0,698	0,790	0,849	0,765	0,699	0,544	0,430	0,663	0,629	0,533	0,687	0,521
0,862	0,774	0,897	1,092	0,723	0,904	0,616	0,958	0,786	0,862	0,725	0,725	0,711	0,595	0,556	0,541	0,686	0,628	0,750	0,616
0,869	0,983	1,059	1,168	0,642	0,972	0,748	0,905	0,876	0,814	1,067	0,903	0,826	0,528	0,658	0,642	0,653	0,598	0,761	0,630
1,012	1,035	0,865	1,284	0,853	0,868	0,841	0,922	0,865	0,829	1,056	0,922	0,787	0,811	0,767	0,910	0,811	0,910	0,775	0,736
0,928	0,811	0,676	1,019	0,642	0,851	0,653	0,796	0,722	0,711	0,873	0,844	0,881	0,653	0,705	0,642	0,699	0,517	0,761	0,505
0,921	0,913	0,864	1,182	0,768	0,969	0,730	0,894	0,807	0,692	0,804	0,667	0,517	0,459	0,502	0,487	0,584	0,487	0,744	0,397
1,068	0,898	0,798	0,961	0,898	0,916	0,724	0,910	0,698	0,763	0,792	0,792	0,675	0,607	0,487	0,596	0,747	0,596	0,763	0,541
0,804	0,939	0,894	1,226	0,777	0,840	0,765	0,840	0,840	0,804	0,951	0,951	0,816	0,526	0,699	0,595	0,840	0,637	0,804	0,503
0,874	0,898	0,798	1,185	0,841	0,856	0,724	0,747	0,747	0,712	0,738	0,910	0,829	0,798	0,705	0,787	0,910	0,736	0,817	0,541
0,857	1,035	0,865	1,156	0,940	0,731	0,959	1,081	0,865	0,916	1,130	1,092	0,869	0,785	0,742	0,881	1,152	0,940	0,857	0,711
0,747	0,797	0,808	1,066	0,722	0,680	0,759	0,734	0,710	0,747	0,915	1,153	0,922	0,783	0,648	0,631	1,006	0,631	0,853	0,711
0,763	0,841	0,852	0,961	0,736	0,744	0,724	0,798	0,698	0,763	0,738	0,792	0,775	0,607	0,755	0,553	0,852	0,687	0,935	0,584
0,781	0,916	0,928	1,049	0,658	0,817	0,904	0,871	0,871	0,730	0,810	0,867	0,965	0,765	0,881	0,705	0,765	0,805	0,892	0,904
0,519	0,817	0,828	0,927	0,717	0,748	0,859	0,882	0,828	0,742	0,879	0,768	0,916	0,728	0,811	0,670	0,777	0,765	0,847	0,805
0,967	1,026	1,038	1,252	1,063	0,949	0,946	1,003	1,038	0,838	0,977	1,014	0,850	0,815	0,715	0,862	1,074	0,862	0,901	0,791
0,886	0,971	0,982	1,379	1,035	0,993	0,841	0,922	0,922	0,829	1,056	1,297	0,898	0,664	0,717	0,853	1,116	0,853	0,947	0,736
0,967	0,959	0,910	1,227	0,990	0,885	0,886	0,881	0,798	0,790	0,849	1,080	1,045	0,772	0,835	1,057	1,002	0,928	0,904	0,916
0,756	0,905	0,986	1,154	1,129	0,798	0,963	1,060	0,852	0,817	0,792	1,080	0,657	0,792	0,637	0,780	1,060	0,905	0,817	0,768
0,793	0,765	0,828	1,060	0,817	0,774	0,754	0,939	0,828	0,847	0,940	0,879	0,916	0,828	0,687	0,765	0,828	0,717	0,847	0,705
1,062	0,729	0,846	1,265	0,952	0,820	0,880	0,964	0,964	0,868	0,904	0,968	1,074	1,028	0,829	0,835	0,964	0,781	0,929	0,823
0,823	0,965	0,859	0,968	0,793	0,892	0,892	0,859	0,804	0,718	0,916	0,855	0,730	0,613	0,640	0,519	0,753	0,602	0,941	0,590
0,730	0,754	0,988	0,980	0,705	0,845	0,847	0,716	0,871	0,681	0,928	0,810	0,793	0,625	0,653	0,491	0,670	0,491	0,953	0,602
0,781	0,859	0,765	0,980	0,754	0,737	0,793	0,871	0,816	0,730	1,062	0,867	0,742	0,625	0,699	0,531	0,765	0,658	0,835	0,560

EK-1 (Devam)

Sumnu	Yatkın	Surek-M7	Sarıceltik	Koral	Krasnodor	Akceltik	Plovdiv	Ronaldo	Tosya Gun	Sarhan	Aromatik-	Efe	Beser	Veneria	Ribe	Mu-2013	Cakmak	Halilbey	Yavuz	D.bakır ye
0,000																				
0,382	0,000																			
0,583	0,454	0,000																		
0,793	0,781	0,742	0,000																	
0,614	0,602	0,571	0,468	0,000																
0,465	0,705	0,670	0,479	0,491	0,000															
0,928	0,754	0,817	0,646	0,571	0,465	0,000														
0,670	0,658	0,503	0,602	0,571	0,465	0,717	0,000													
0,859	0,965	0,805	0,635	0,847	0,705	0,754	0,614	0,000												
1,093	0,702	0,886	0,801	0,756	0,886	0,714	0,614	0,874	0,000											
0,658	0,602	0,571	0,681	0,480	0,491	0,531	0,491	0,647	0,756	0,000										
1,352	1,540	1,670	1,528	1,435	1,552	1,804	1,804	1,792	2,260	1,540	0,000									
0,479	0,430	0,602	0,880	0,681	0,646	0,742	0,559	0,730	0,801	0,507	1,528	0,000								
0,675	0,618	0,773	0,749	0,814	0,675	0,586	0,586	0,664	0,778	0,417	1,940	0,462	0,000							
0,585	0,526	0,743	1,230	1,068	0,931	0,743	0,743	0,991	0,977	0,732	1,514	0,491	0,431	0,000						
0,517	0,429	0,642	1,129	0,881	0,687	0,735	0,735	0,826	0,849	0,505	1,441	0,473	0,423	0,323	0,000					
0,586	0,417	0,630	0,857	0,761	0,675	0,773	0,826	0,814	0,900	0,533	1,534	0,462	0,487	0,520	0,320	0,000				
0,493	0,521	0,618	1,033	0,562	0,761	0,869	0,761	1,117	1,026	0,606	1,417	0,616	0,796	0,605	0,487	0,475	0,000			
0,628	0,571	0,723	0,805	0,711	0,886	0,946	0,628	1,068	1,051	0,529	1,404	0,456	0,523	0,428	0,417	0,482	0,431	0,000		
0,598	0,587	0,687	0,928	0,723	0,735	0,785	0,893	1,301	1,050	0,505	1,441	0,687	0,549	0,642	0,482	0,509	0,579	0,408	0,000	
0,652	0,641	0,799	0,886	0,787	0,748	0,652	1,035	1,024	1,156	0,687	1,429	0,802	0,835	0,755	0,647	0,781	0,823	0,898	0,549	0,000
0,687	0,466	0,735	0,869	0,773	0,893	0,838	1,015	1,069	0,849	0,676	1,441	0,687	0,591	0,812	0,603	0,635	0,669	0,705	0,472	0,681
0,447	0,397	0,716	1,060	0,757	0,716	0,716	0,945	1,000	1,057	0,561	1,372	0,527	0,612	0,384	0,339	0,401	0,468	0,541	0,523	0,660
0,640	0,501	0,787	0,999	0,947	0,898	0,736	0,841	0,775	0,920	0,675	1,522	0,489	0,535	0,398	0,324	0,418	0,523	0,450	0,590	0,645
0,682	0,503	0,777	0,976	0,871	1,000	0,882	1,065	1,122	0,962	0,670	1,815	0,530	0,577	0,673	0,509	0,459	0,524	0,492	0,548	0,837
0,787	0,628	0,787	0,999	0,829	1,023	1,023	1,023	1,011	0,920	0,724	1,774	0,509	0,718	0,803	0,634	0,622	0,657	0,668	0,768	0,743
0,723	0,618	0,881	1,117	1,129	0,881	1,003	1,003	1,129	1,198	0,869	2,122	0,775	0,768	0,800	0,591	0,718	0,705	0,853	0,767	0,822
0,722	0,664	0,722	0,971	0,865	0,823	0,771	0,877	1,270	1,099	0,811	2,369	0,699	0,603	0,764	0,615	0,603	0,681	0,680	0,583	0,916
0,841	0,628	0,898	0,999	0,775	1,246	1,166	1,023	1,235	0,989	0,724	1,640	0,790	0,769	0,742	0,590	0,495	0,523	0,490	0,623	0,851
0,977	0,793	0,977	0,953	0,793	0,859	0,859	0,805	1,099	1,007	0,519	2,351	0,681	0,641	1,029	0,853	0,641	0,724	0,593	0,748	1,058
0,928	0,614	0,928	1,172	1,041	0,989	1,053	0,928	1,184	0,886	0,754	2,651	0,847	0,630	1,080	0,687	0,675	0,928	0,946	0,785	0,971
0,803	0,736	0,803	1,199	1,051	0,925	0,925	0,803	0,979	1,211	0,850	1,862	0,646	0,800	0,662	0,651	0,743	0,847	0,719	0,856	0,860
0,799	0,641	0,910	1,322	1,247	0,910	0,971	1,104	1,093	1,338	0,898	2,345	0,606	0,730	0,815	0,560	0,548	0,823	0,731	0,681	0,755
0,869	0,802	1,057	1,105	0,979	0,813	0,813	1,206	0,979	1,488	0,857	1,522	0,874	0,796	0,835	0,612	0,693	0,898	0,981	0,821	0,718
0,841	0,557	0,723	1,025	0,963	0,841	0,905	0,780	1,204	0,871	0,894	1,992	0,645	0,855	0,784	0,690	0,734	0,843	0,798	0,933	1,111
0,670	0,658	0,765	1,098	0,805	0,817	0,989	0,871	0,916	1,173	0,705	1,804	0,847	0,773	0,802	0,557	0,630	0,761	0,628	0,785	0,971
0,892	0,823	1,086	0,993	0,941	1,017	1,160	1,086	1,005	1,224	1,005	1,634	1,062	0,845	1,044	0,978	0,966	1,021	0,792	1,193	1,222
0,847	0,590	0,793	1,006	0,835	0,847	0,793	0,847	0,953	0,926	0,730	2,627	0,769	0,606	0,720	0,575	0,521	0,790	0,750	0,618	1,012
0,754	0,693	0,859	1,241	0,793	0,859	0,805	0,805	1,099	1,162	0,742	2,351	0,781	0,711	0,853	0,630	0,493	0,749	0,711	0,630	1,093
0,705	0,519	0,805	1,087	0,742	0,859	1,041	0,859	1,030	1,007	0,742	2,128	0,781	0,711	0,853	0,587	0,493	0,606	0,662	0,773	1,024

EK-1 (Devam)

Maratelli	Duragan	Manyas yı	Biga incisi	Kırkpınar	Kral	Meric	Kuplu	Kargı	Baldo	N1-4IT-IT-	Europa	Meco	Mevlutbe	Tunca	Thainato	Bafrayıldı	Kızılırmak	Karadeniz	
																			Rocca
																			Kızıltan
																			Ergene
																			Sürek-95
																			Trakya
																			Ranballi
																			Altınyazı
																			Hamzader
																			Kale
																			Paşalı
																			İpsala
																			Cammeo
																			Negis
																			Gönen
																			Demir
																			Ulfet
																			Balaban
																			Osmancık-
																			Rodina
																			Gala
																			Sumnu
																			Yatkın
																			Surek-M7
																			Sarıceltik
																			Koral
																			Krasnodor
																			Akceltik
																			Plovdiv
																			Ronaldo
																			Tosya Gun
																			Sarhan
																			Aromatik-
																			Efe
																			Beser
																			Veneria
																			Ribe
																			Mu-2013
																			Cakmak
																			Halilbey
																			Yavuz
																			D.bakır ye
0,000																			Maratelli
0,482	0,000																		Duragan
0,547	0,379	0,000																	Manyas yıl
0,548	0,439	0,447	0,000																Biga incisi
0,537	0,554	0,503	0,262	0,000															Kırkpınar
0,670	0,600	0,535	0,388	0,485	0,000														Kral
0,717	0,601	0,602	0,411	0,518	0,382	0,000													Meric
0,669	0,600	0,544	0,293	0,351	0,525	0,602	0,000												Kuplu
0,853	0,784	0,775	0,429	0,521	0,641	0,577	0,370	0,000											Kargı
0,642	0,666	0,787	0,405	0,435	0,545	0,509	0,435	0,382	0,000										Baldo
0,742	0,620	0,500	0,632	0,579	0,409	0,580	0,731	0,763	0,748	0,000									N1-4IT-IT-
0,729	0,612	0,436	0,441	0,515	0,316	0,491	0,645	0,711	0,652	0,307	0,000								Europa
0,768	0,648	0,566	0,852	0,811	0,567	0,681	0,868	0,947	0,869	0,678	0,418	0,000							Meco
0,867	0,621	0,750	0,580	0,588	0,528	0,528	0,693	0,606	0,569	0,361	0,505	0,780	0,000						Mevlutbe
0,735	0,666	0,736	0,777	0,841	0,675	0,631	0,787	0,754	0,717	0,695	0,699	0,761	0,780	0,000					Tunca
0,857	0,909	1,056	1,172	1,056	0,966	0,840	1,130	0,880	0,835	0,826	0,999	1,169	0,938	0,358	0,000				Thainato
0,575	0,464	0,529	0,491	0,572	0,652	0,485	0,529	0,590	0,442	0,621	0,584	0,904	0,545	0,519	0,705	0,000			Bafrayıldız
0,773	0,517	0,675	0,625	0,829	0,761	0,423	0,675	0,602	0,491	0,633	0,554	0,802	0,711	0,491	0,622	0,260	0,000		Kızılırmak
0,676	0,436	0,724	0,465	0,775	0,664	0,620	0,501	0,647	0,491	0,791	0,736	0,979	0,657	0,531	0,718	0,358	0,442	0,000	Karadeniz

***EK-2*:** Nei Genetik Yakınlık Matriksi

Yerli çeşit	Sayfa1	Pairwise Population Matrix of Nei Genetic Identity																
Rocca	Kızıltan	Ergene	Sürek-95	Trakya	Ranballi	Altınyazı	Hamzader	Kale	Paşalı	İpsala	Cammeo	Negis	Gönen	Demir	Ulfet	Balaban	Osmancık-	Rodina	Gala
1,000																			
0,595	1,000																		
0,565	0,713	1,000																	
0,507	0,470	0,538	1,000																
0,667	0,535	0,644	0,520	1,000															
0,634	0,716	0,732	0,632	0,631	1,000														
0,602	0,682	0,675	0,476	0,682	0,614	1,000													
0,518	0,598	0,614	0,514	0,644	0,624	0,721	1,000												
0,565	0,690	0,705	0,514	0,529	0,672	0,744	0,636	1,000											
0,512	0,548	0,612	0,583	0,619	0,696	0,627	0,730	0,636	1,000										
0,575	0,586	0,652	0,571	0,488	0,611	0,618	0,579	0,700	0,675	1,000									
0,575	0,464	0,435	0,468	0,537	0,433	0,544	0,483	0,459	0,475	0,487	1,000								
0,434	0,447	0,395	0,426	0,400	0,516	0,429	0,465	0,442	0,578	0,519	0,544	1,000							
0,565	0,437	0,386	0,440	0,575	0,456	0,582	0,523	0,500	0,565	0,483	0,652	0,628	1,000						
0,479	0,515	0,486	0,523	0,456	0,488	0,533	0,474	0,659	0,563	0,528	0,565	0,639	0,659	1,000					
0,500	0,488	0,437	0,520	0,535	0,510	0,541	0,598	0,529	0,619	0,513	0,659	0,706	0,736	0,702	1,000				
0,494	0,529	0,477	0,489	0,621	0,504	0,605	0,523	0,568	0,612	0,483	0,652	0,558	0,682	0,659	0,736	1,000			
0,453	0,488	0,437	0,470	0,581	0,485	0,565	0,552	0,506	0,619	0,464	0,537	0,588	0,667	0,713	0,767	0,736	1,000		
0,561	0,524	0,565	0,583	0,595	0,596	0,530	0,494	0,518	0,561	0,500	0,600	0,506	0,589	0,683	0,572	0,730	0,619	1,000	
0,458	0,541	0,512	0,476	0,518	0,540	0,595	0,605	0,535	0,675	0,519	0,618	0,738	0,721	0,722	0,847	0,721	0,777	0,627	1,000
0,453	0,512	0,506	0,396	0,558	0,510	0,565	0,483	0,483	0,500	0,415	0,537	0,612	0,644	0,690	0,651	0,690	0,651	0,643	0,777
0,506	0,518	0,512	0,401	0,565	0,540	0,548	0,535	0,512	0,602	0,469	0,544	0,690	0,698	0,698	0,682	0,582	0,612	0,627	0,762
0,381	0,395	0,437	0,396	0,465	0,461	0,447	0,437	0,437	0,524	0,440	0,391	0,541	0,529	0,643	0,535	0,483	0,512	0,524	0,565
0,293	0,357	0,424	0,355	0,429	0,422	0,337	0,353	0,353	0,390	0,350	0,400	0,434	0,424	0,395	0,500	0,471	0,476	0,439	0,506
0,337	0,400	0,442	0,401	0,471	0,442	0,429	0,465	0,419	0,530	0,371	0,469	0,500	0,489	0,556	0,612	0,558	0,565	0,458	0,643
0,381	0,372	0,414	0,346	0,442	0,388	0,353	0,368	0,391	0,357	0,293	0,464	0,471	0,506	0,573	0,535	0,529	0,488	0,524	0,541
0,357	0,349	0,368	0,272	0,419	0,364	0,376	0,414	0,414	0,429	0,342	0,366	0,447	0,460	0,456	0,419	0,391	0,419	0,333	0,424
0,429	0,326	0,414	0,470	0,488	0,412	0,376	0,345	0,345	0,381	0,391	0,488	0,494	0,483	0,561	0,535	0,529	0,512	0,572	0,447
0,265	0,329	0,442	0,300	0,376	0,381	0,381	0,372	0,349	0,361	0,272	0,321	0,333	0,349	0,379	0,400	0,419	0,424	0,410	0,405
0,317	0,309	0,306	0,302	0,361	0,350	0,287	0,306	0,331	0,317	0,271	0,406	0,417	0,357	0,389	0,438	0,382	0,464	0,396	0,417
0,434	0,353	0,419	0,325	0,612	0,393	0,548	0,465	0,395	0,482	0,371	0,568	0,429	0,605	0,462	0,565	0,605	0,565	0,530	0,524
0,120	0,188	0,186	0,125	0,188	0,196	0,238	0,209	0,256	0,217	0,247	0,272	0,214	0,256	0,249	0,259	0,302	0,259	0,265	0,310
0,439	0,476	0,424	0,329	0,429	0,422	0,530	0,471	0,447	0,512	0,450	0,500	0,554	0,542	0,563	0,595	0,542	0,524	0,512	0,675
0,497	0,426	0,491	0,390	0,533	0,457	0,503	0,456	0,445	0,424	0,423	0,460	0,419	0,527	0,512	0,533	0,503	0,556	0,570	0,491
0,376	0,326	0,403	0,332	0,394	0,354	0,385	0,336	0,376	0,376	0,456	0,471	0,509	0,497	0,574	0,475	0,416	0,448	0,487	0,509
0,491	0,444	0,416	0,336	0,433	0,378	0,521	0,382	0,509	0,395	0,418	0,528	0,509	0,567	0,635	0,573	0,520	0,550	0,515	0,556
0,448	0,521	0,468	0,365	0,485	0,457	0,527	0,503	0,491	0,497	0,447	0,510	0,539	0,620	0,595	0,604	0,527	0,604	0,497	0,635
0,405	0,431	0,450	0,421	0,539	0,463	0,533	0,415	0,497	0,454	0,428	0,465	0,497	0,580	0,651	0,515	0,533	0,587	0,503	0,594
0,422	0,461	0,408	0,336	0,485	0,405	0,540	0,384	0,456	0,422	0,484	0,484	0,491	0,552	0,574	0,582	0,504	0,534	0,472	0,540
0,419	0,374	0,347	0,311	0,526	0,378	0,473	0,405	0,416	0,443	0,344	0,405	0,438	0,590	0,518	0,526	0,520	0,550	0,467	0,533
0,364	0,355	0,421	0,277	0,426	0,420	0,431	0,398	0,421	0,436	0,348	0,398	0,455	0,445	0,464	0,402	0,445	0,402	0,461	0,479
0,395	0,444	0,509	0,361	0,526	0,427	0,521	0,451	0,486	0,491	0,418	0,430	0,414	0,520	0,494	0,526	0,497	0,597	0,467	0,604
0,398	0,401	0,421	0,307	0,464	0,379	0,482	0,409	0,446	0,501	0,448	0,513	0,596	0,632	0,605	0,614	0,558	0,614	0,475	0,672
0,344	0,407	0,450	0,382	0,407	0,400	0,485	0,403	0,497	0,466	0,453	0,453	0,509	0,545	0,615	0,551	0,474	0,551	0,466	0,582
0,447	0,391	0,409	0,293	0,460	0,432	0,465	0,432	0,432	0,447	0,386	0,386	0,442	0,591	0,497	0,552	0,432	0,529	0,447	0,605
0,417	0,407	0,450	0,306	0,431	0,425	0,485	0,474	0,474	0,491	0,478	0,403	0,436	0,450	0,494	0,455	0,403	0,479	0,442	0,582
0,424	0,355	0,421	0,315	0,391	0,482	0,383	0,339	0,421	0,400	0,323	0,336	0,419	0,456	0,476	0,414	0,316	0,391	0,424	0,491
0,474	0,451	0,446	0,344	0,486	0,507	0,468	0,480	0,491	0,474	0,401	0,316	0,398	0,457	0,523	0,532	0,366	0,532	0,426	0,491
0,466	0,431	0,426	0,382	0,479	0,475	0,485	0,450	0,497	0,466	0,478	0,453	0,461	0,545	0,470	0,575	0,426	0,503	0,393	0,558
0,458	0,400	0,395	0,350	0,518	0,442	0,405	0,419	0,419	0,482	0,445	0,420	0,381	0,465	0,414	0,494	0,465	0,447	0,410	0,405
0,595	0,442	0,437	0,396	0,488	0,473	0,424	0,414	0,437	0,476	0,415	0,464	0,400	0,483	0,444	0,512	0,460	0,465	0,429	0,447
0,380	0,358	0,354	0,286	0,346	0,387	0,388	0,367	0,354	0,432	0,376	0,363	0,427	0,443	0,489	0,422	0,342	0,422	0,406	0,453
0,412	0,379	0,374	0,252	0,355	0,370	0,431	0,398	0,398	0,436	0,348	0,273	0,407	0,515	0,488	0,426	0,328	0,426	0,388	0,479
0,380	0,383	0,403	0,293	0,371	0,413	0,412	0,415	0,450	0,454	0,428	0,340	0,352	0,462	0,434	0,347	0,367	0,395	0,405	0,400
0,469	0,404	0,373	0,315	0,323	0,450	0,382	0,346	0,426	0,442	0,453	0,340	0,518	0,453	0,529	0,458	0,346	0,404	0,442	0,464
0,453	0,465	0,437	0,346	0,442	0,461	0,471	0,391	0,437	0,429	0,391	0,415	0,400	0,437	0,503	0,465	0,437	0,488	0,429	0,494
0,346	0,482	0,429	0,282	0,386	0,440	0,415	0,381	0,381	0,420	0,405	0,380	0,342	0,358	0,437	0,434	0,381	0,458	0,395	0,439
0,439	0,381	0,424	0,380	0,453	0,410	0,410	0,424	0,447	0,488	0,400	0,425	0,482	0,542	0,527	0,595	0,471	0,548	0,390	0,554
0,482	0,471	0,372	0,375	0,494	0,430	0,429	0,489	0,419	0,506	0,395	0,445	0,452	0,535	0,521	0,612	0,512	0,612	0,386	0,548
0,458	0,424	0,465	0,375	0,471	0,479	0,452	0,419	0,442	0,482	0,346	0,420	0,476	0,535	0,497	0,588	0,465	0,518	0,434	0,571

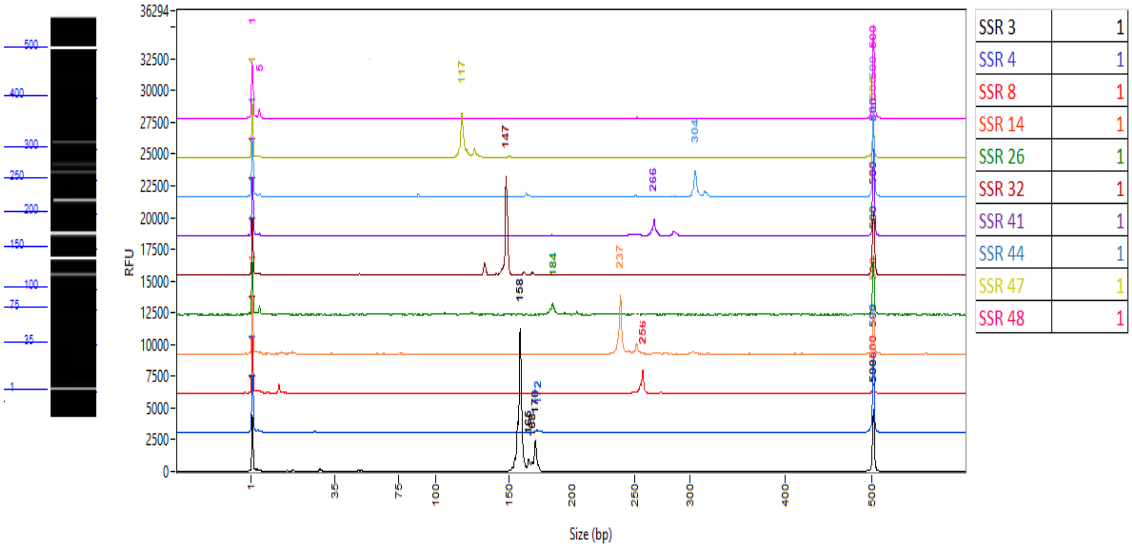
EK-2 (Devam)

Sumnu	Yatkın	Surek-M7	Sarıceltik	Koral	Krasnodor	Akceltik	Plovdiv	Ronaldo	Tosya Gun	Sarhan	Aromatik-	Efe	Beser	Veneria	Ribe	Mu-2013	Cakmak	Halilbey	Yavuz	D.bakır ye
1,000																				
0,682	1,000																			
0,558	0,635	1,000																		
0,453	0,458	0,476	1,000																	
0,541	0,548	0,565	0,627	1,000																
0,628	0,494	0,512	0,619	0,612	1,000															
0,395	0,471	0,442	0,524	0,565	0,628	1,000														
0,512	0,518	0,605	0,548	0,565	0,628	0,488	1,000													
0,424	0,381	0,447	0,530	0,429	0,494	0,471	0,541	1,000												
0,335	0,496	0,412	0,449	0,469	0,412	0,490	0,541	0,417	1,000											
0,518	0,548	0,565	0,506	0,619	0,612	0,588	0,612	0,524	0,469	1,000										
0,259	0,214	0,188	0,217	0,238	0,212	0,165	0,165	0,167	0,104	0,214	1,000									
0,619	0,651	0,548	0,415	0,506	0,524	0,476	0,572	0,482	0,449	0,602	0,217	1,000								
0,509	0,539	0,462	0,473	0,443	0,509	0,556	0,556	0,515	0,459	0,659	0,144	0,630	1,000							
0,557	0,591	0,475	0,292	0,344	0,394	0,475	0,475	0,371	0,376	0,481	0,220	0,612	0,650	1,000						
0,597	0,651	0,526	0,323	0,414	0,503	0,480	0,480	0,438	0,428	0,604	0,237	0,623	0,655	0,724	1,000					
0,556	0,659	0,533	0,424	0,467	0,509	0,462	0,438	0,443	0,407	0,587	0,216	0,630	0,614	0,595	0,726	1,000				
0,611	0,594	0,539	0,356	0,570	0,467	0,419	0,467	0,327	0,359	0,546	0,242	0,540	0,451	0,546	0,615	0,622	1,000			
0,534	0,565	0,485	0,447	0,491	0,412	0,388	0,534	0,344	0,350	0,589	0,246	0,634	0,593	0,652	0,659	0,617	0,650	1,000		
0,550	0,556	0,503	0,395	0,485	0,480	0,456	0,409	0,272	0,350	0,604	0,237	0,503	0,577	0,526	0,618	0,601	0,560	0,665	1,000	
0,521	0,527	0,450	0,412	0,455	0,473	0,521	0,355	0,359	0,315	0,503	0,240	0,448	0,434	0,470	0,524	0,458	0,439	0,408	0,577	1,000
0,503	0,627	0,480	0,419	0,462	0,409	0,433	0,363	0,343	0,428	0,509	0,237	0,503	0,554	0,444	0,547	0,530	0,512	0,494	0,624	0,506
0,639	0,672	0,489	0,347	0,469	0,489	0,489	0,389	0,368	0,347	0,571	0,254	0,591	0,542	0,681	0,712	0,670	0,626	0,582	0,593	0,517
0,527	0,606	0,455	0,368	0,388	0,407	0,479	0,431	0,461	0,398	0,509	0,218	0,614	0,585	0,672	0,723	0,659	0,593	0,638	0,554	0,524
0,506	0,605	0,460	0,377	0,419	0,368	0,414	0,345	0,326	0,382	0,512	0,163	0,589	0,562	0,510	0,601	0,632	0,592	0,612	0,578	0,433
0,455	0,533	0,455	0,368	0,436	0,359	0,359	0,359	0,364	0,398	0,485	0,170	0,601	0,488	0,448	0,530	0,537	0,519	0,513	0,464	0,476
0,485	0,539	0,414	0,327	0,323	0,414	0,367	0,367	0,323	0,302	0,419	0,120	0,461	0,464	0,449	0,554	0,488	0,494	0,426	0,464	0,440
0,486	0,515	0,486	0,379	0,421	0,439	0,462	0,416	0,281	0,333	0,445	0,094	0,497	0,547	0,466	0,541	0,547	0,506	0,507	0,558	0,400
0,431	0,533	0,407	0,368	0,461	0,288	0,312	0,359	0,291	0,372	0,485	0,194	0,454	0,463	0,476	0,554	0,610	0,593	0,613	0,536	0,427
0,376	0,452	0,376	0,386	0,452	0,424	0,424	0,447	0,333	0,365	0,595	0,095	0,506	0,527	0,357	0,426	0,527	0,485	0,552	0,473	0,347
0,395	0,541	0,395	0,310	0,353	0,372	0,349	0,395	0,306	0,412	0,471	0,071	0,429	0,533	0,340	0,503	0,509	0,395	0,388	0,456	0,379
0,448	0,479	0,448	0,301	0,350	0,397	0,397	0,448	0,376	0,298	0,427	0,155	0,524	0,449	0,516	0,521	0,475	0,429	0,487	0,425	0,423
0,450	0,527	0,402	0,267	0,287	0,402	0,379	0,331	0,335	0,262	0,407	0,096	0,545	0,482	0,443	0,571	0,578	0,439	0,482	0,506	0,470
0,419	0,449	0,347	0,331	0,376	0,443	0,443	0,300	0,376	0,226	0,424	0,218	0,417	0,451	0,434	0,542	0,500	0,407	0,375	0,440	0,488
0,431	0,573	0,485	0,359	0,382	0,431	0,404	0,458	0,300	0,418	0,409	0,136	0,525	0,425	0,457	0,502	0,480	0,431	0,450	0,393	0,329
0,512	0,518	0,465	0,333	0,447	0,442	0,372	0,419	0,400	0,309	0,494	0,165	0,429	0,462	0,448	0,573	0,533	0,467	0,534	0,456	0,379
0,410	0,439	0,338	0,370	0,390	0,362	0,313	0,338	0,366	0,294	0,366	0,195	0,346	0,430	0,352	0,376	0,380	0,360	0,453	0,303	0,295
0,429	0,554	0,453	0,366	0,434	0,429	0,453	0,429	0,386	0,396	0,482	0,072	0,463	0,545	0,487	0,563	0,594	0,454	0,472	0,539	0,364
0,471	0,500	0,424	0,289	0,452	0,424	0,447	0,447	0,333	0,313	0,476	0,095	0,458	0,491	0,426	0,533	0,611	0,473	0,491	0,533	0,335
0,494	0,595	0,447	0,337	0,476	0,424	0,353	0,424	0,357	0,365	0,476	0,119	0,458	0,491	0,426	0,556	0,611	0,546	0,516	0,462	0,359

EK-2 (Devam)

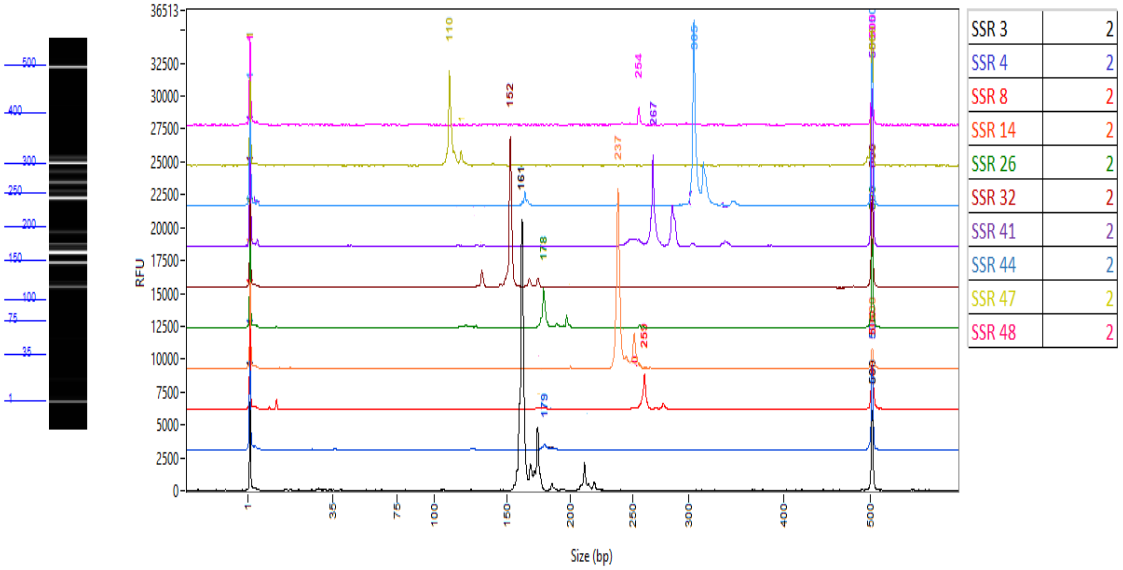
Maratelli	Duragan	Manyas yı	Biga incisi	Kırkpınar	Kral	Meric	Kuplu	Kargı	Baldo	N1-4IT-IT-	Europa	Meco	Mevlutbe	Tunca	Thainato	Bafrayıldız	Kızılırmak	Karadeniz	
																			Rocca
																			Kızıltan
																			Ergene
																			Sürek-95
																			Trakya
																			Ranballi
																			Altınyazı
																			Hamzader
																			Kale
																			Paşalı
																			İpsala
																			Cammeo
																			Negis
																			Gönen
																			Demir
																			Ulfet
																			Balaban
																			Osmancık-
																			Rodina
																			Gala
																			Sumnu
																			Yatkın
																			Surek-M7
																			Sarıceltik
																			Koral
																			Krasnodor
																			Akceltik
																			Plovdiv
																			Ronaldo
																			Tosya Gun
																			Sarhan
																			Aromatik-
																			Efe
																			Beser
																			Veneria
																			Ribe
																			Mu-2013
																			Cakmak
																			Halilbey
																			Yavuz
																			D.bakır ye
1,000																			Maratelli
0,618	1,000																		Duragan
0,578	0,685	1,000																	Manyas yıl
0,578	0,644	0,640	1,000																Biga incisi
0,585	0,575	0,605	0,770	1,000															Kırkpınar
0,512	0,549	0,585	0,679	0,616	1,000														Kral
0,488	0,548	0,548	0,663	0,596	0,683	1,000													Meric
0,512	0,549	0,580	0,746	0,704	0,592	0,548	1,000												Kuplu
0,426	0,457	0,461	0,651	0,594	0,527	0,561	0,691	1,000											Kargı
0,526	0,514	0,455	0,667	0,647	0,580	0,601	0,647	0,682	1,000										Baldo
0,476	0,538	0,607	0,531	0,560	0,664	0,560	0,481	0,466	0,474	1,000									N1-4IT-IT-
0,482	0,542	0,646	0,644	0,598	0,729	0,612	0,524	0,491	0,521	0,736	1,000								Europa
0,464	0,523	0,568	0,426	0,444	0,567	0,506	0,420	0,388	0,419	0,508	0,659	1,000							Meco
0,420	0,538	0,472	0,560	0,556	0,590	0,590	0,500	0,546	0,566	0,697	0,604	0,458	1,000						Mevlutbey
0,480	0,514	0,479	0,460	0,431	0,509	0,532	0,455	0,471	0,488	0,499	0,497	0,467	0,458	1,000					Tunca
0,424	0,403	0,348	0,310	0,348	0,380	0,432	0,323	0,415	0,434	0,438	0,368	0,311	0,391	0,699	1,000				Thainato
0,563	0,629	0,589	0,612	0,564	0,521	0,616	0,589	0,554	0,643	0,537	0,558	0,405	0,580	0,595	0,494	1,000			Bafrayıldız
0,462	0,596	0,509	0,535	0,436	0,467	0,655	0,509	0,548	0,612	0,531	0,575	0,449	0,491	0,612	0,537	0,771	1,000		Kızılırmak
0,509	0,647	0,485	0,628	0,461	0,515	0,538	0,606	0,524	0,612	0,453	0,479	0,376	0,518	0,588	0,488	0,699	0,643	1,000	Karadeniz

Ek-3: Tescilli veya üretim izinli çeşitlerin SSR markırları ile oluşturulmuş DNA parmakizi profilleri



1)ROCCA

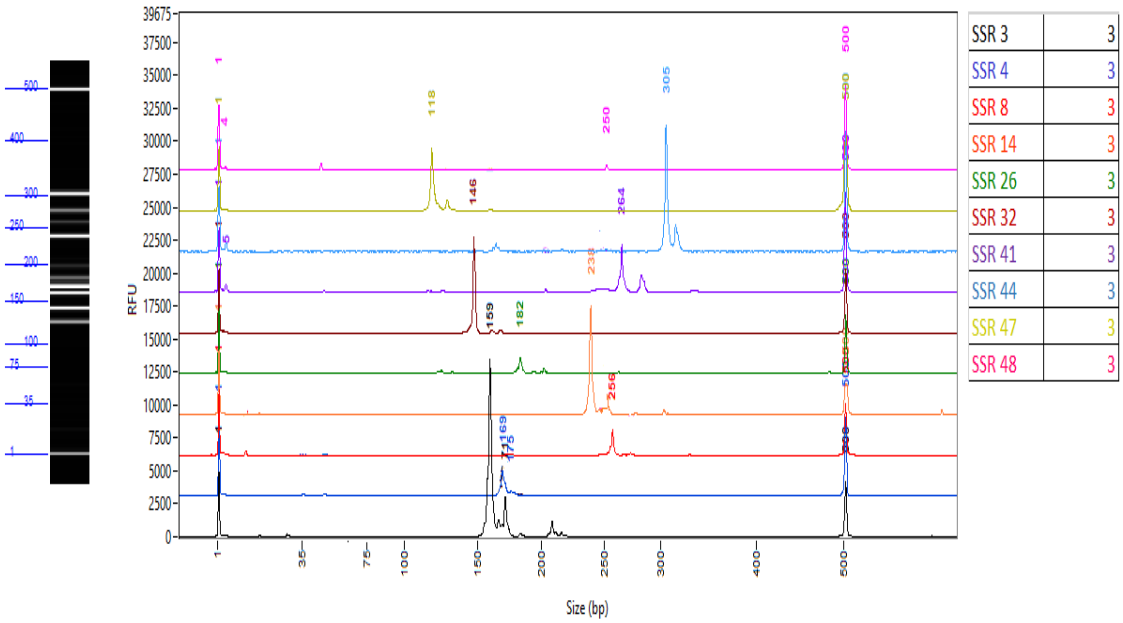
1) Rocca çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profilleri



2)KIZILTAN

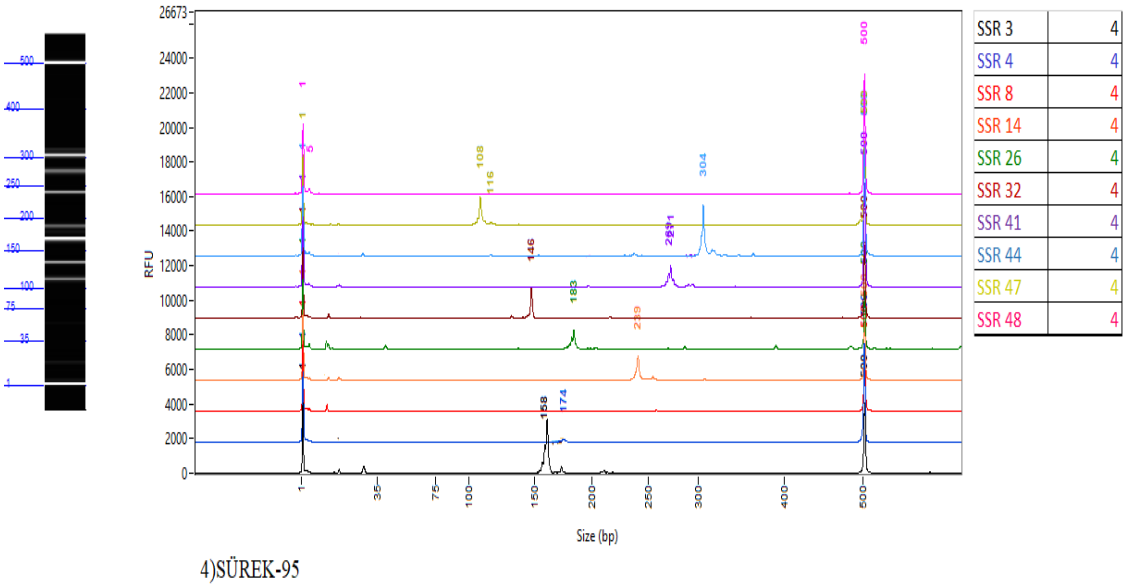
2) Kızıltan çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profilleri

Ek-3: **(Devam)**



3)ERGENE

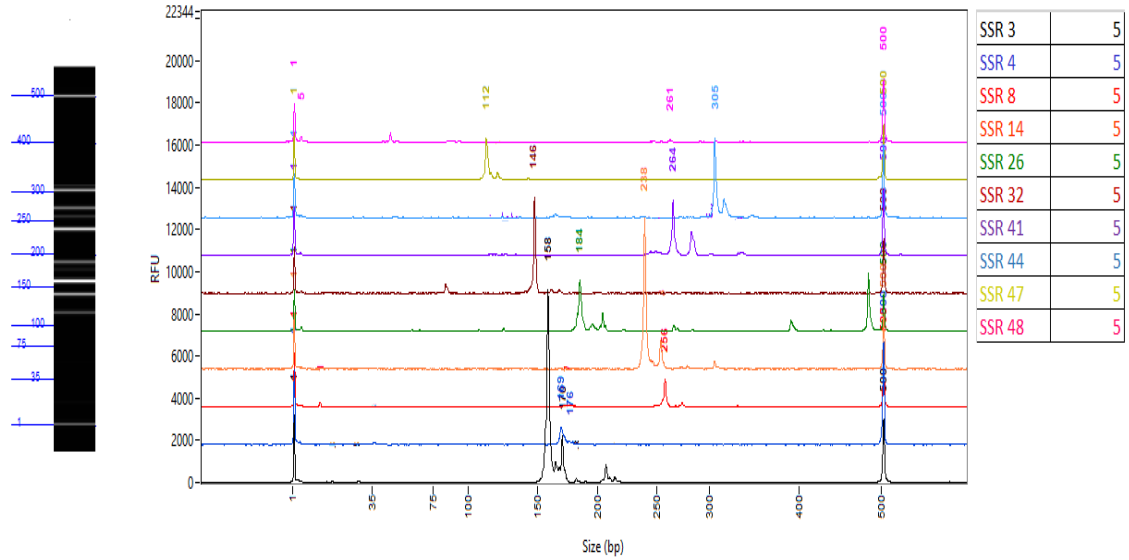
3) Ergene çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



4)SÜREK-95

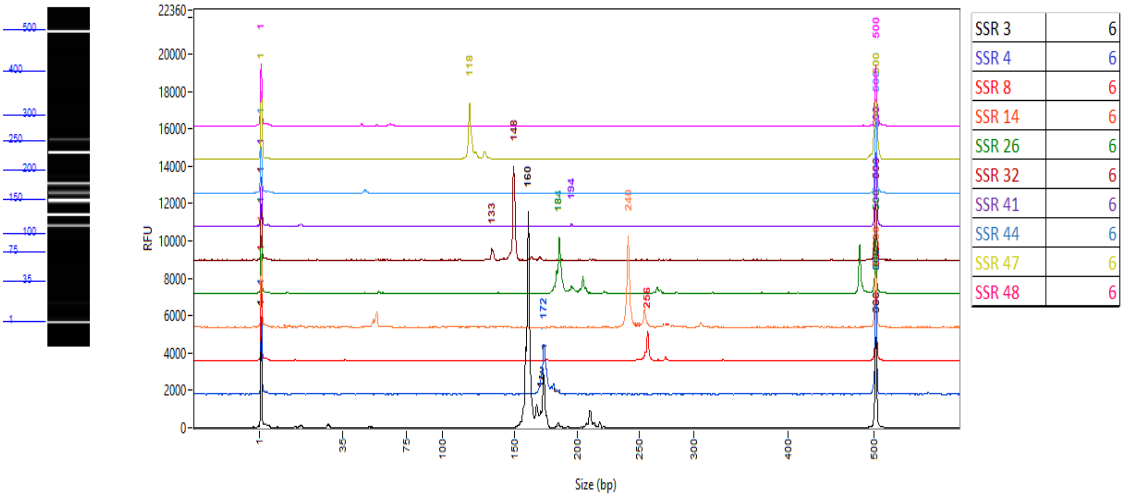
4) Sürek-95 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



5)TRAKYA

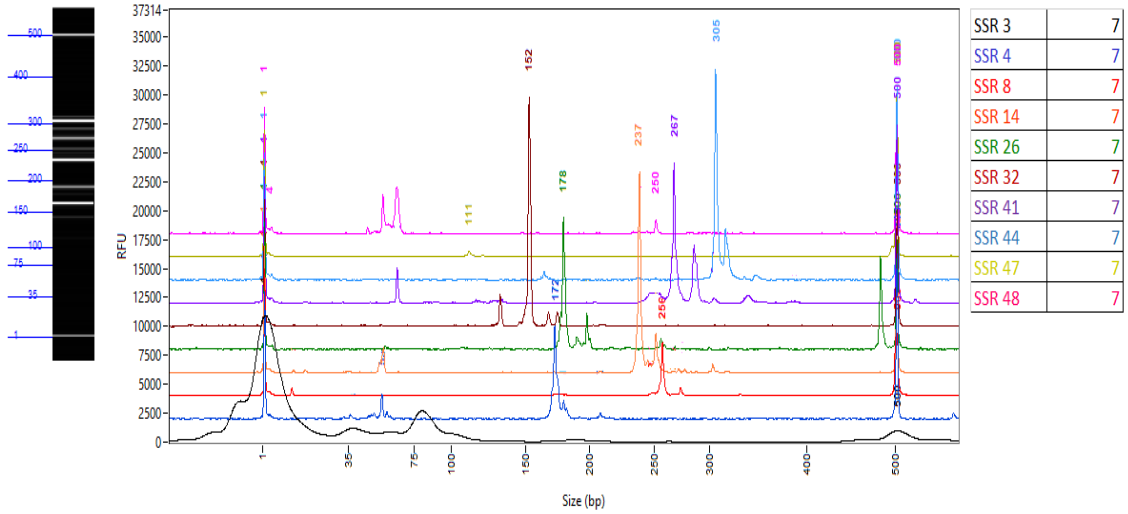
5) Trakya çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



6)RANBALLİ

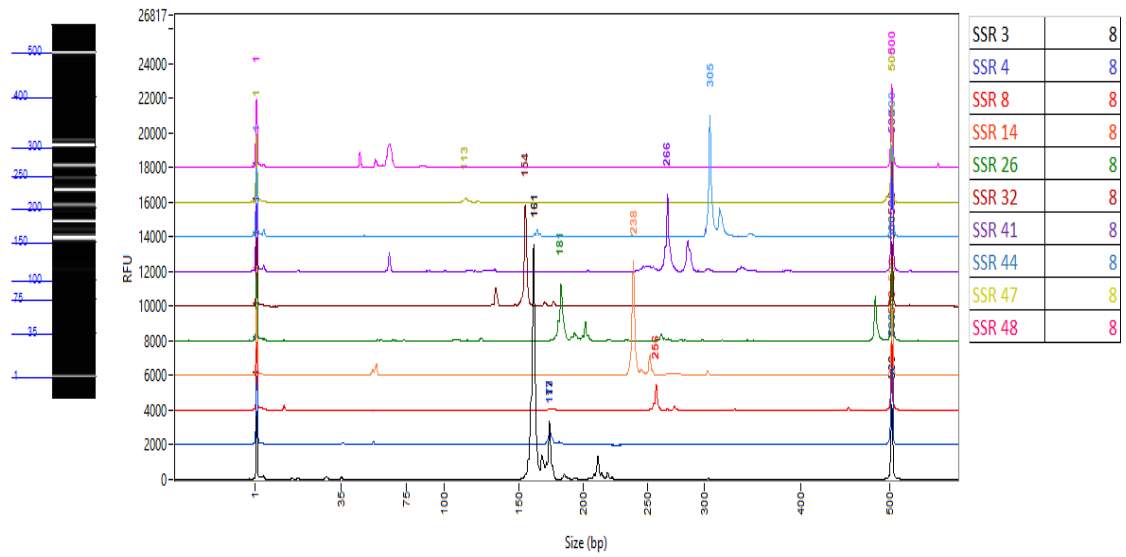
6) Ranballi çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



7)ALTINYAZI

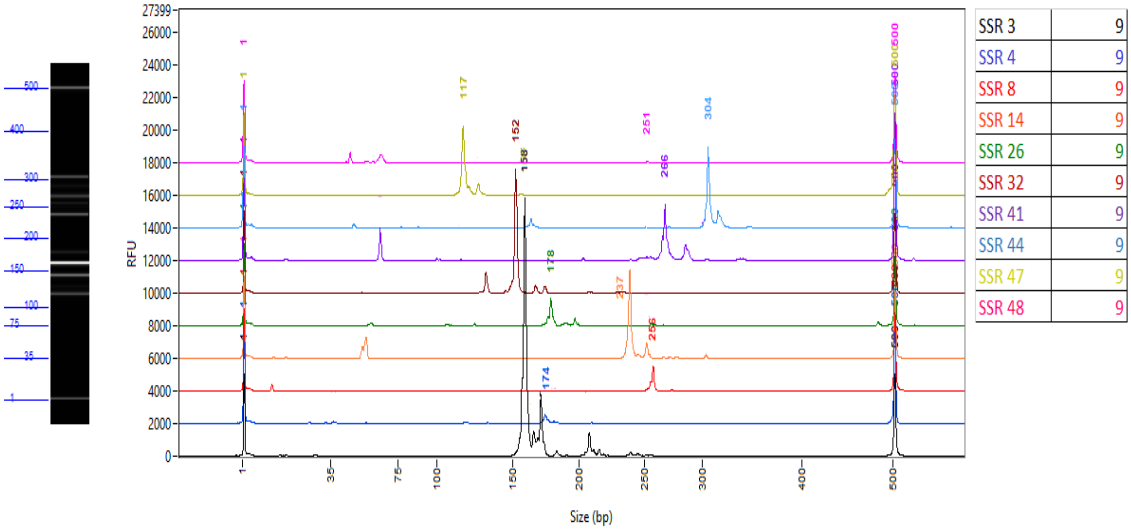
7) Altınyazı çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



8)HAMZADERE

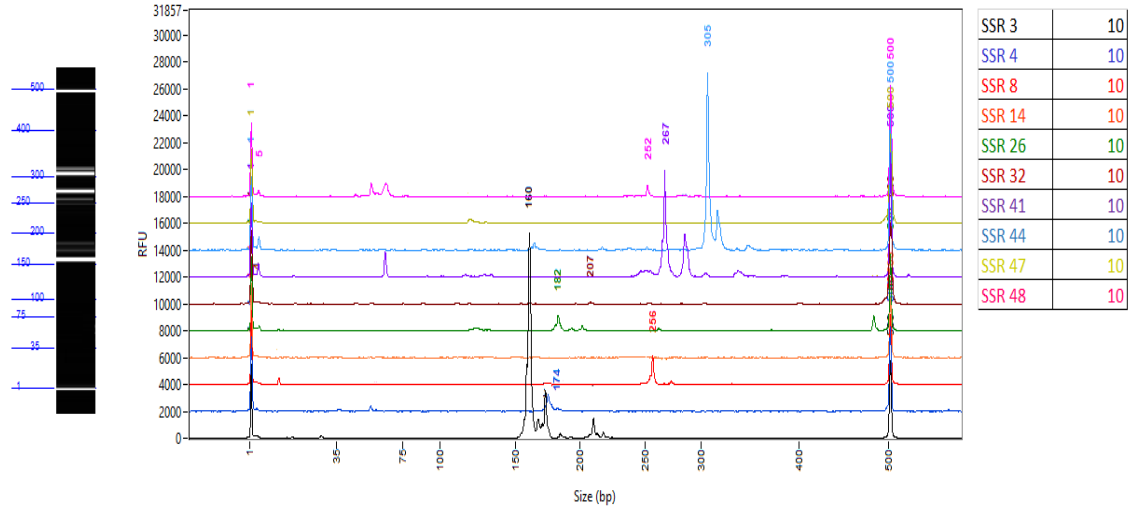
8) Hamzadere çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



9)KALE

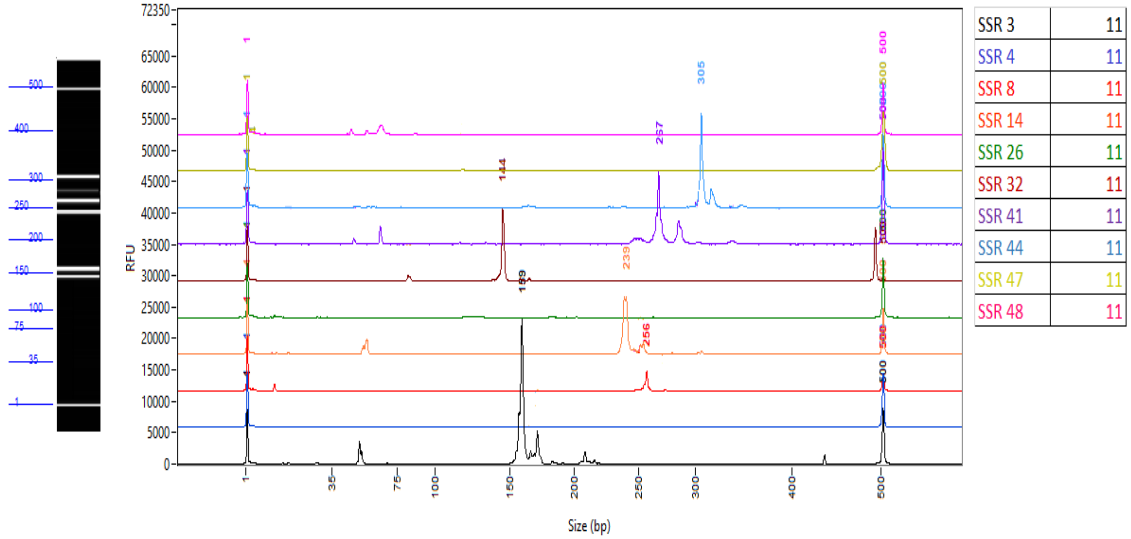
9)Kale çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



10)PAŞALI

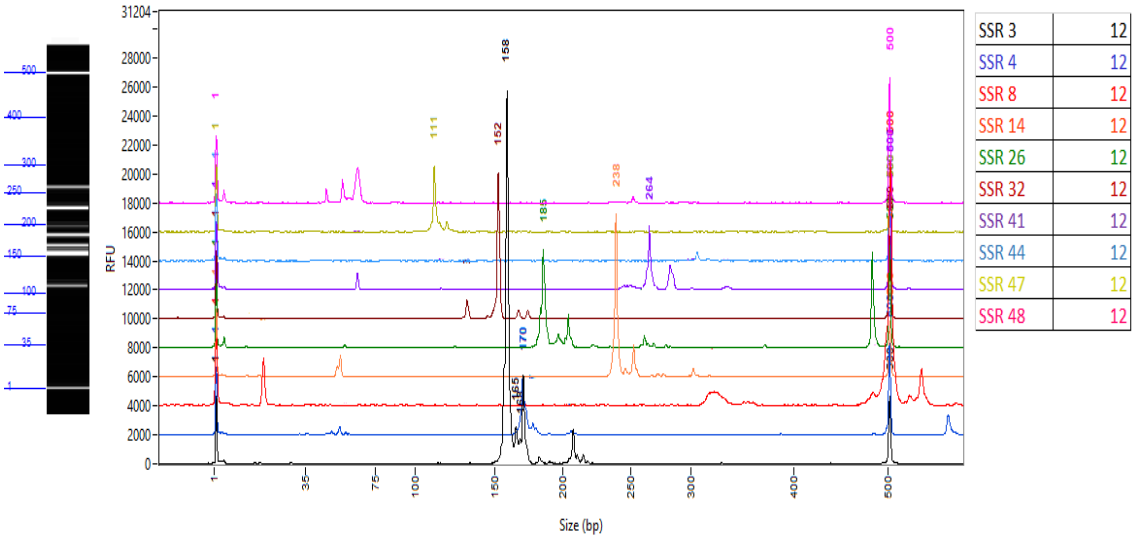
10) Paşalı çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



11)İPSALA

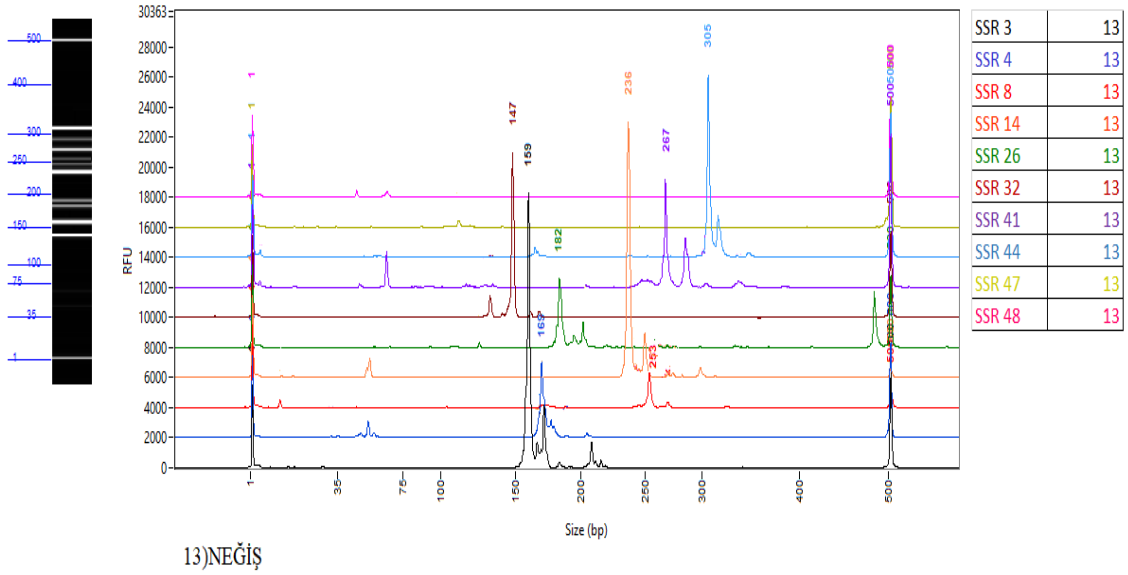
11) İpsala çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



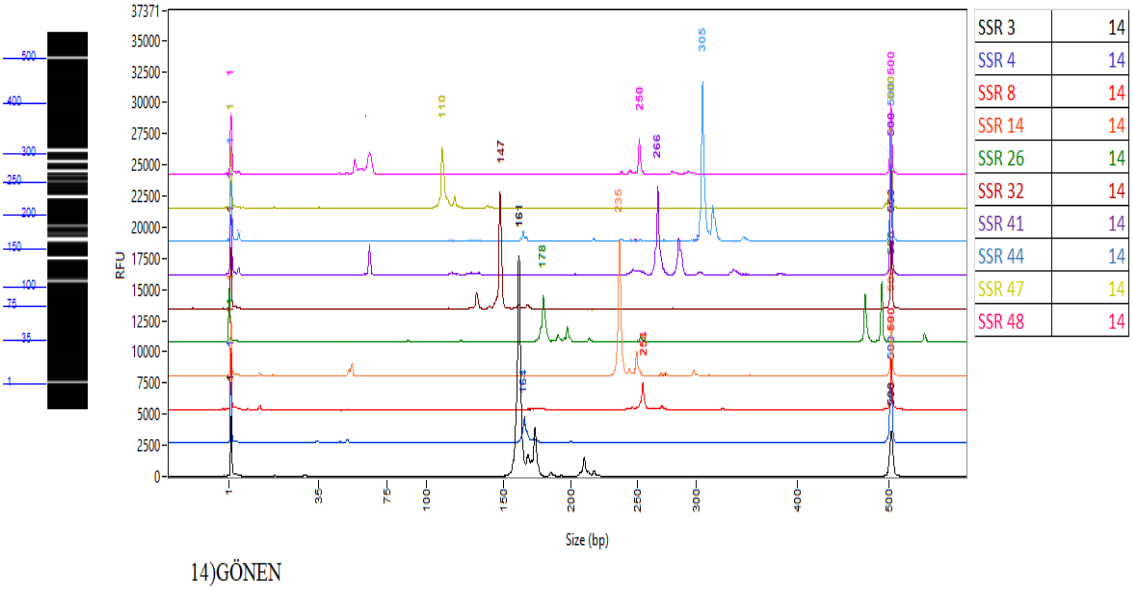
12)CAMMEO

12) Cammeo çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**

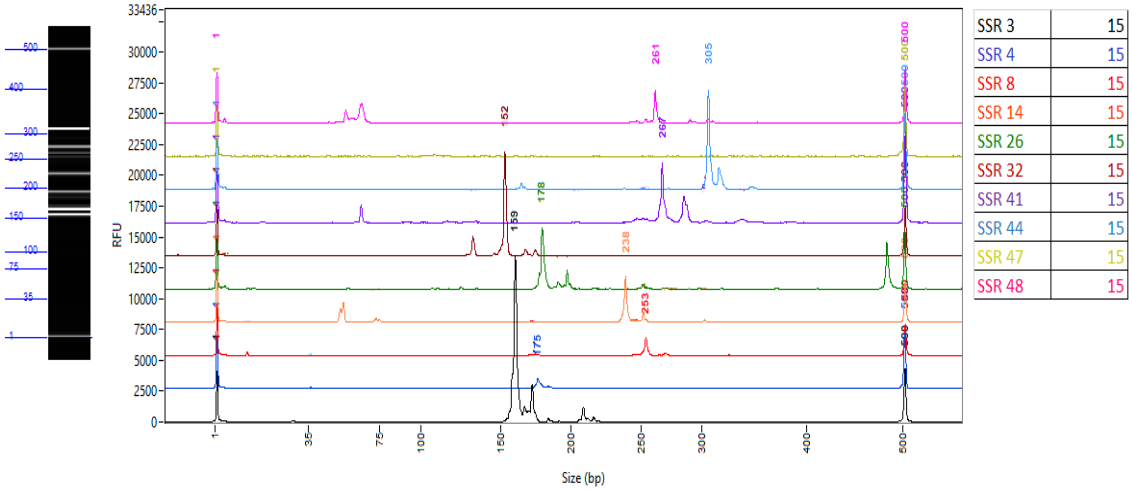


13) Neğiş çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



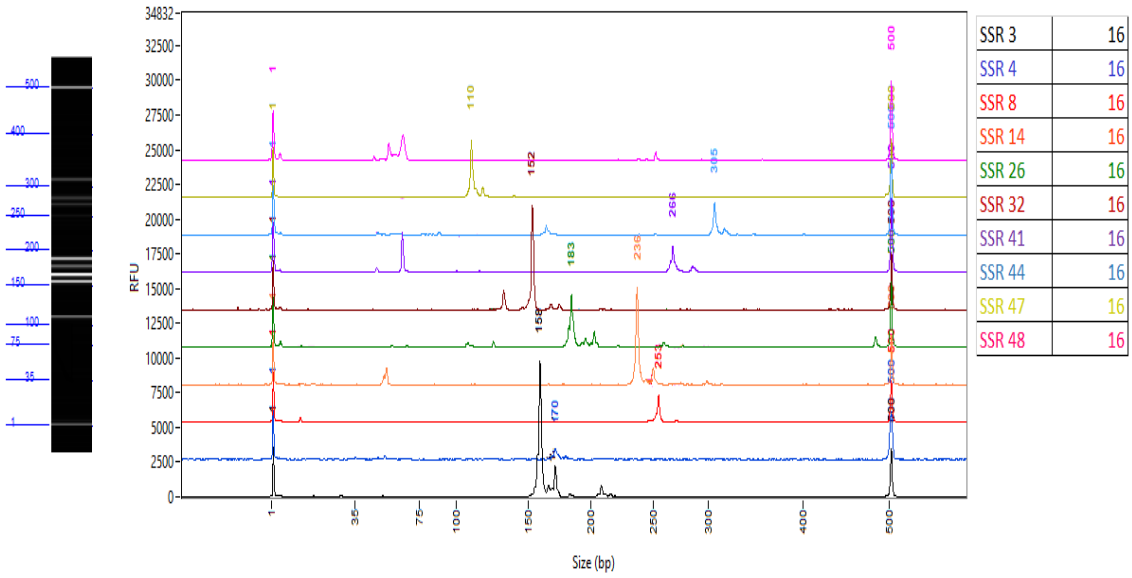
14) Gönen çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



15)DEMİR

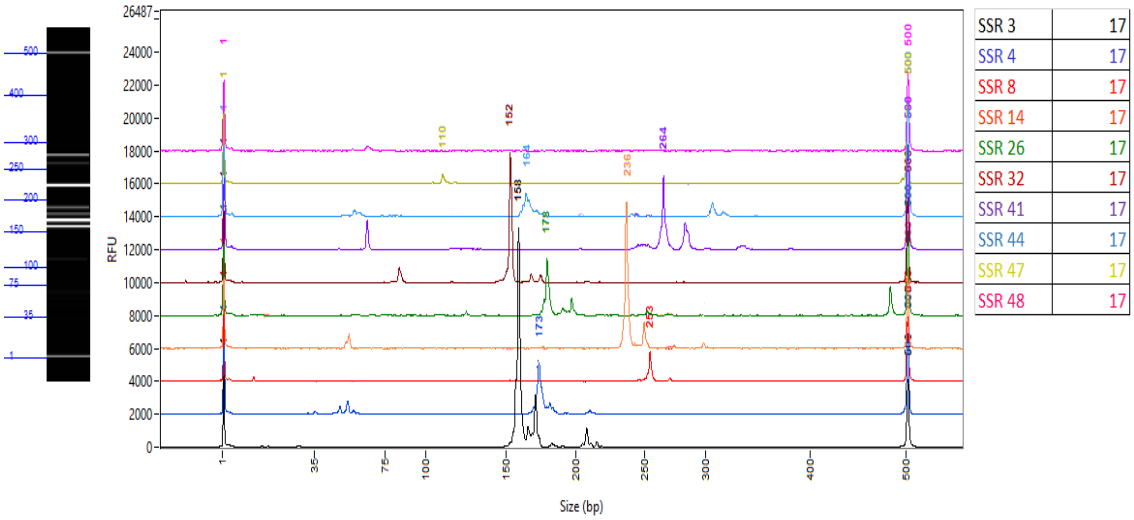
15- Demir çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



16)ÜLFET

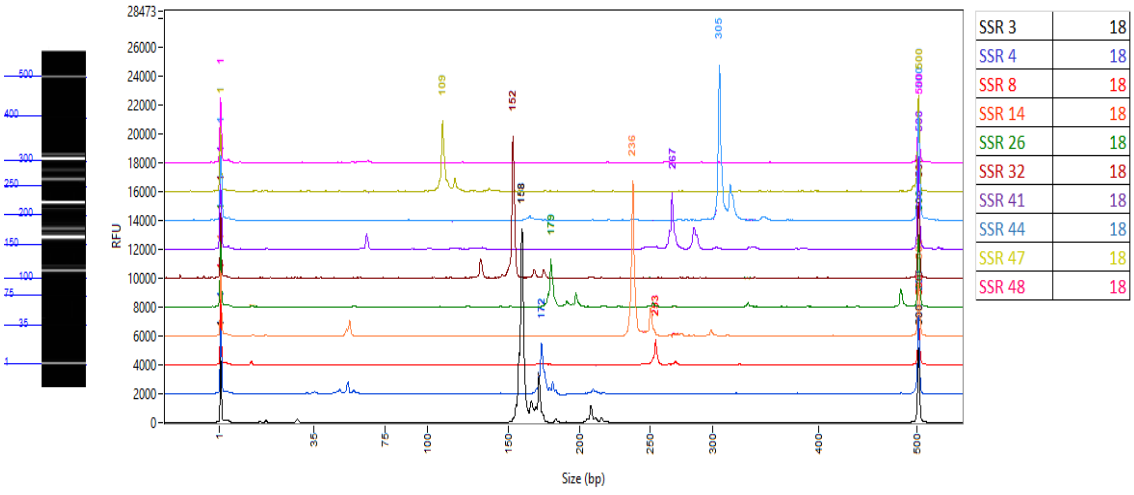
16) Ülfet çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



17)BALABAN

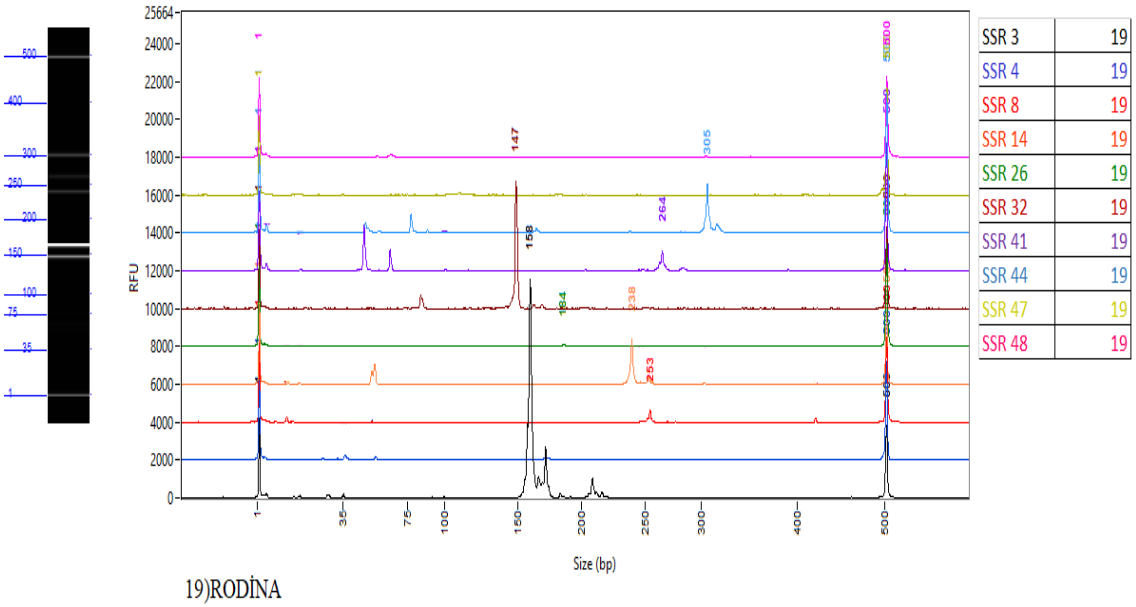
17) Balaban çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



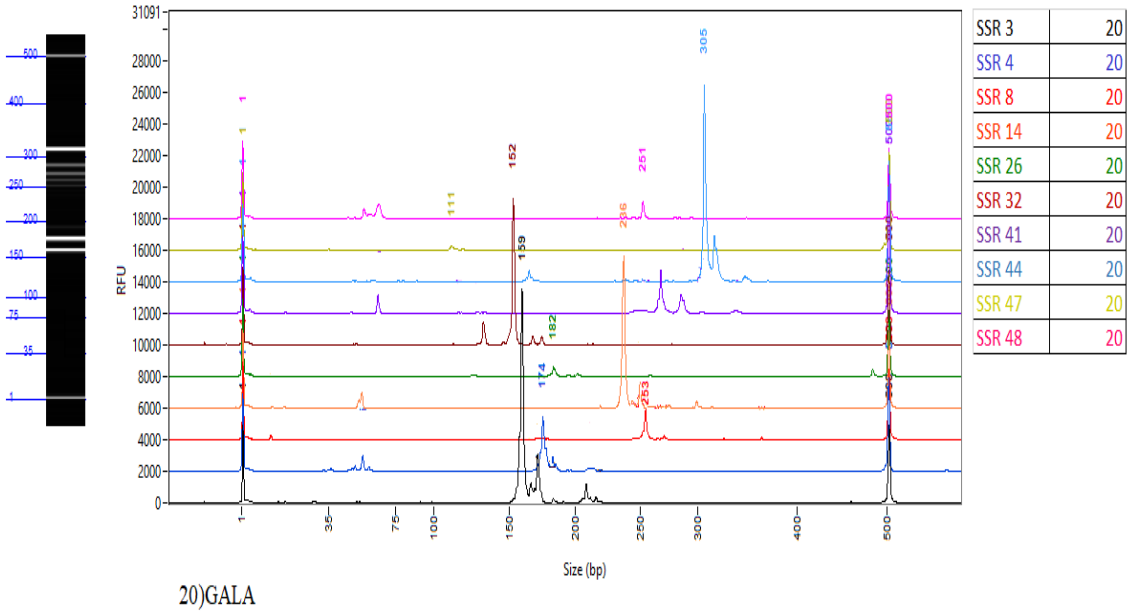
18)OSMANCIK-97

18) Osmancık-97 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**

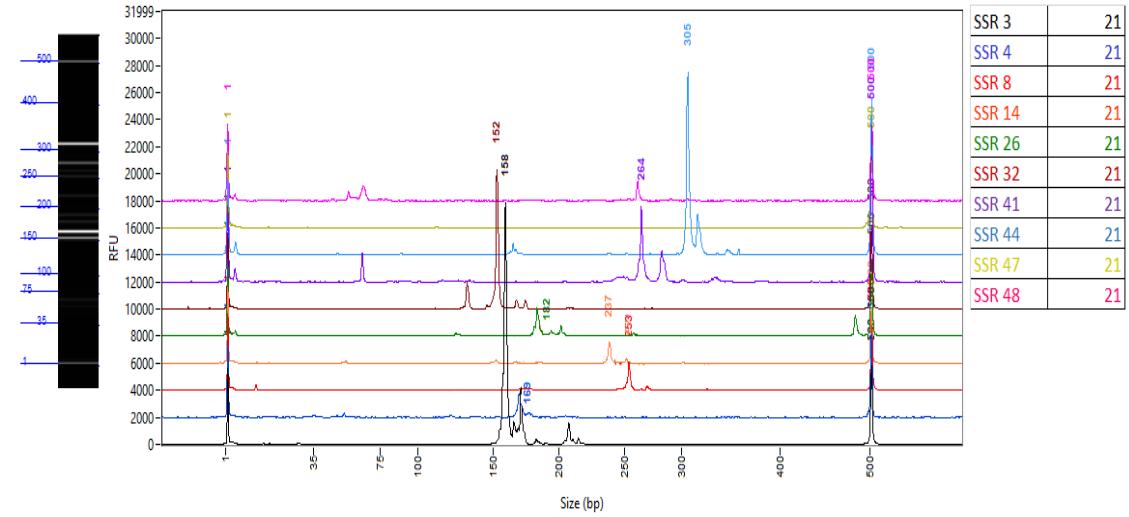


19) Rodina çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



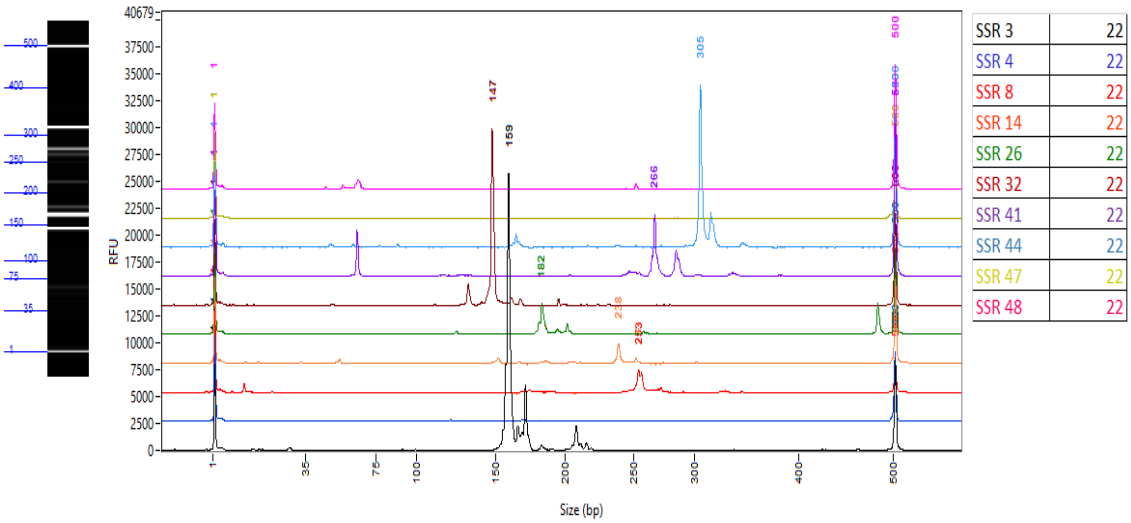
20) Gala çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



21)ŞUMNU

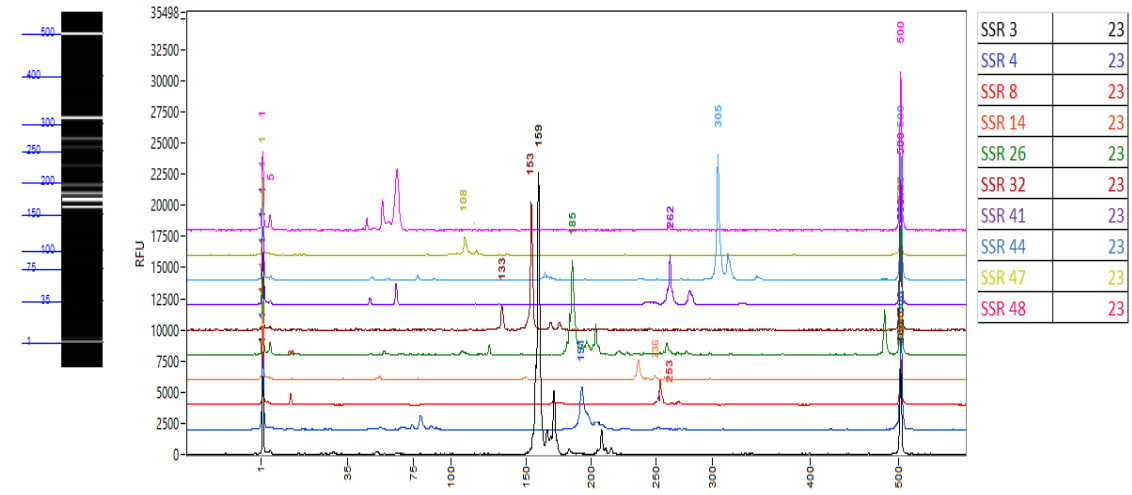
21) Şumnu çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



22)YATKIN

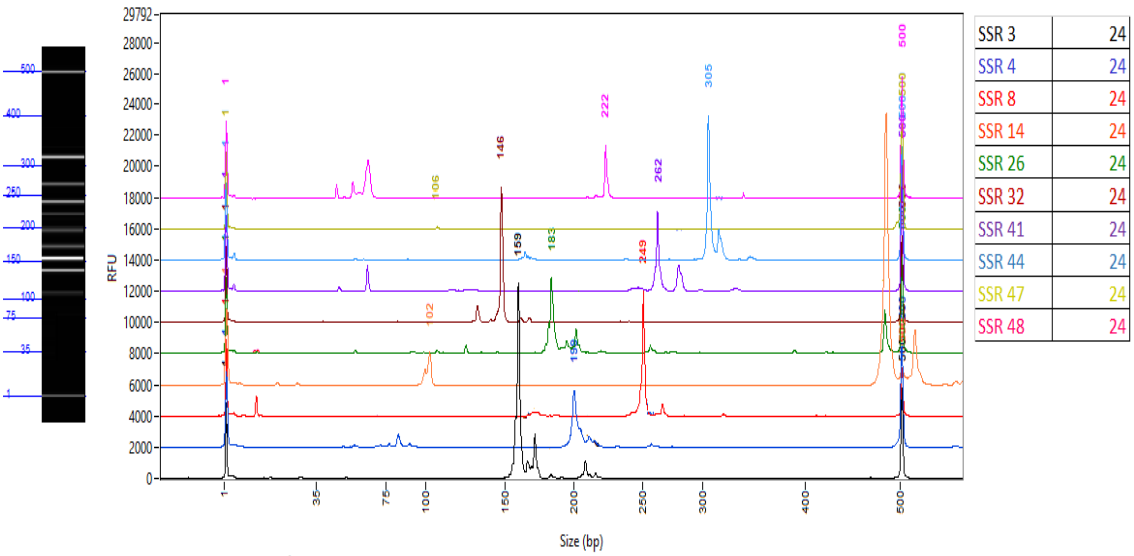
22) Yatkın çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



23)SÜREK-M711

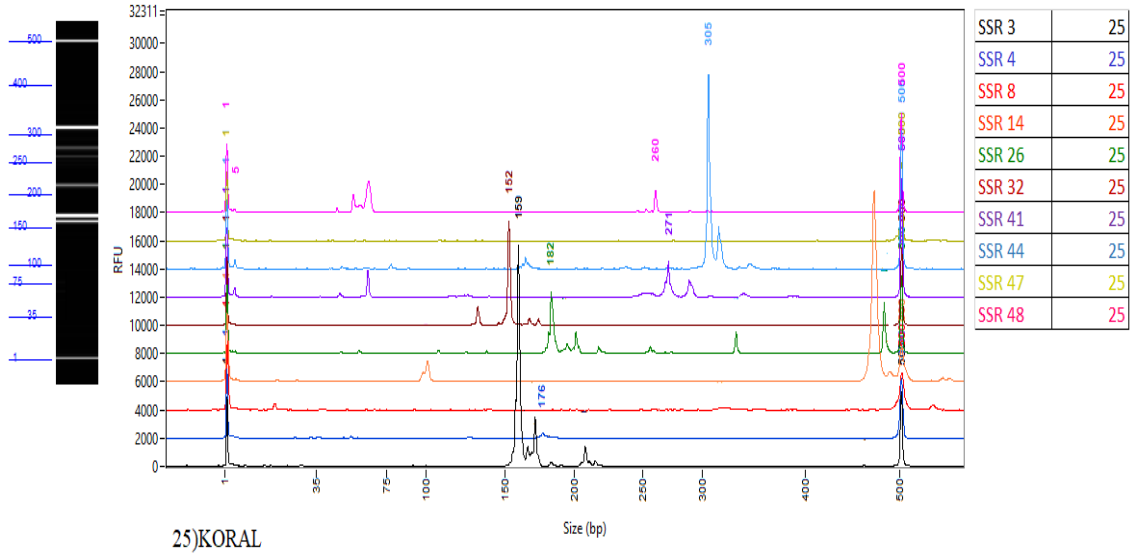
23) Sürek-M711 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



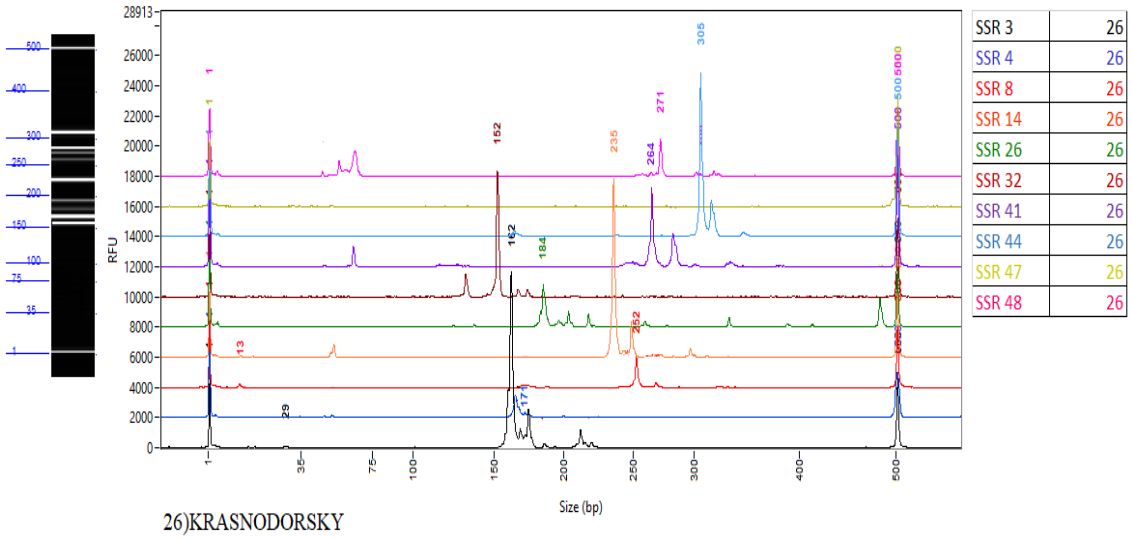
24)SARIÇELTİK

24) Sarıçeltik çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**

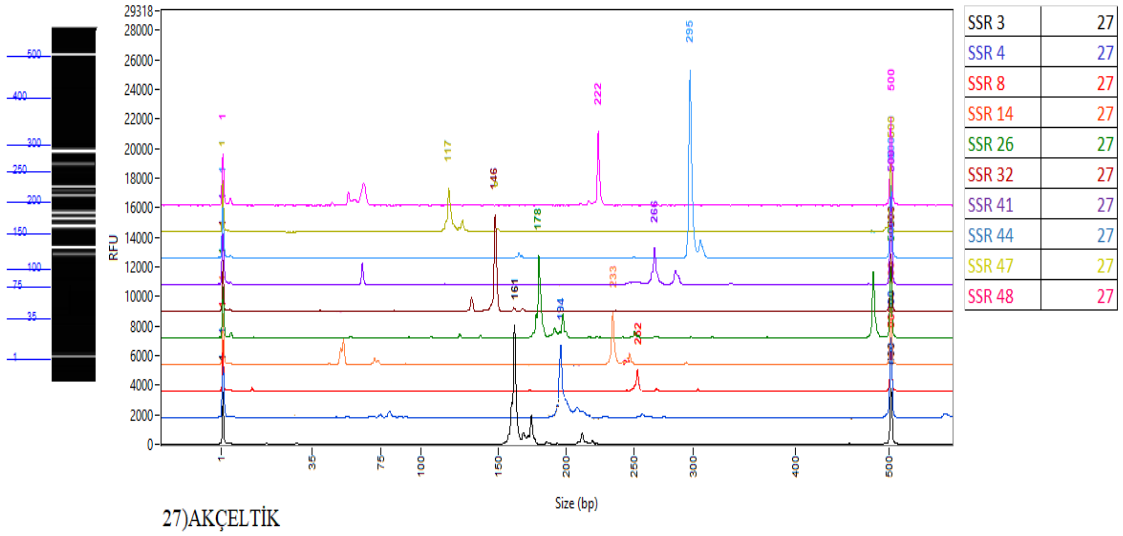


25) Koral çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



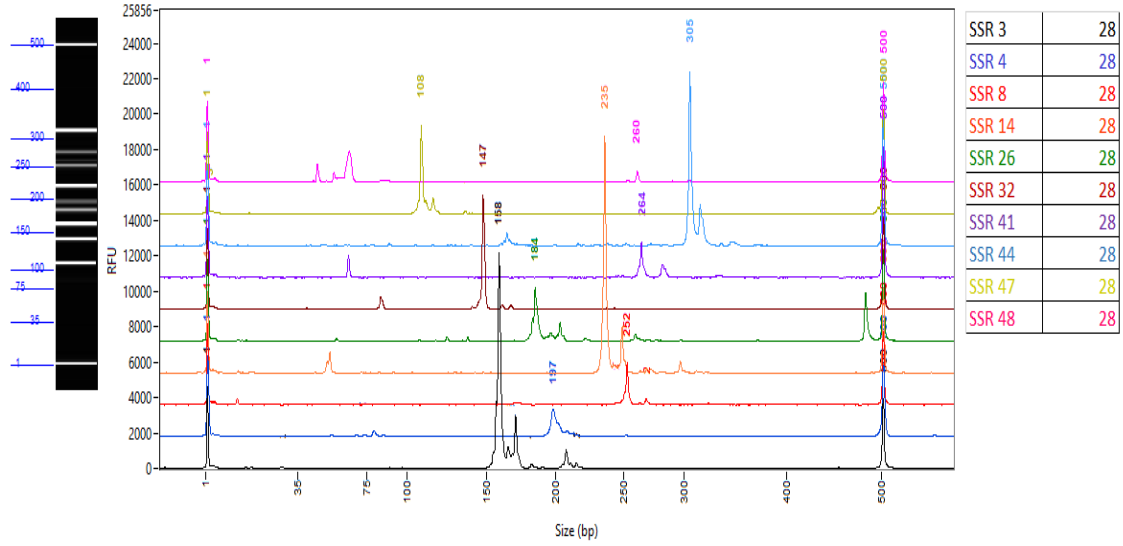
26- Krasnodarsky-424 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



27)AKÇELTİK

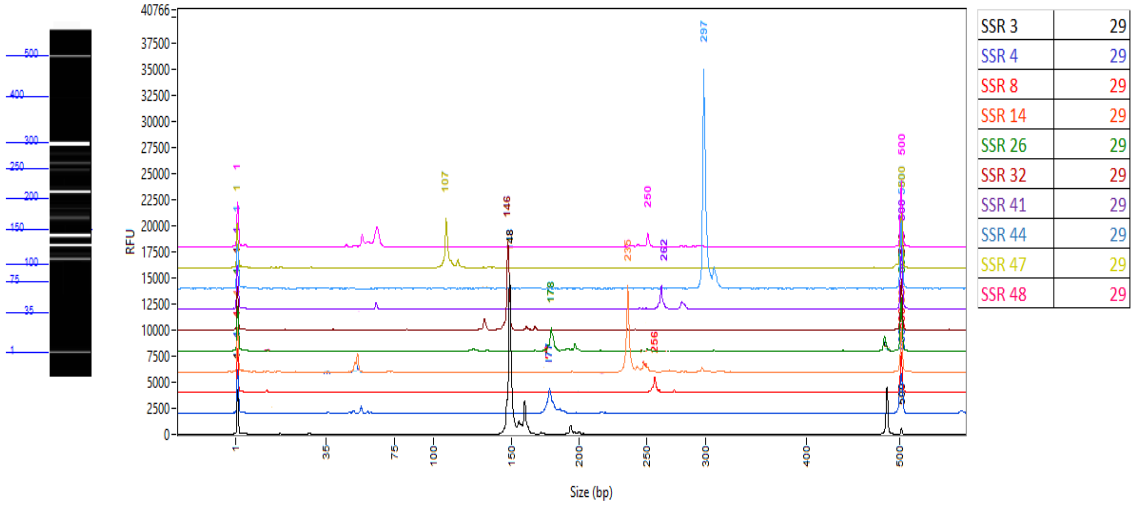
27) Akçeltik çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



28)PLOVDIV

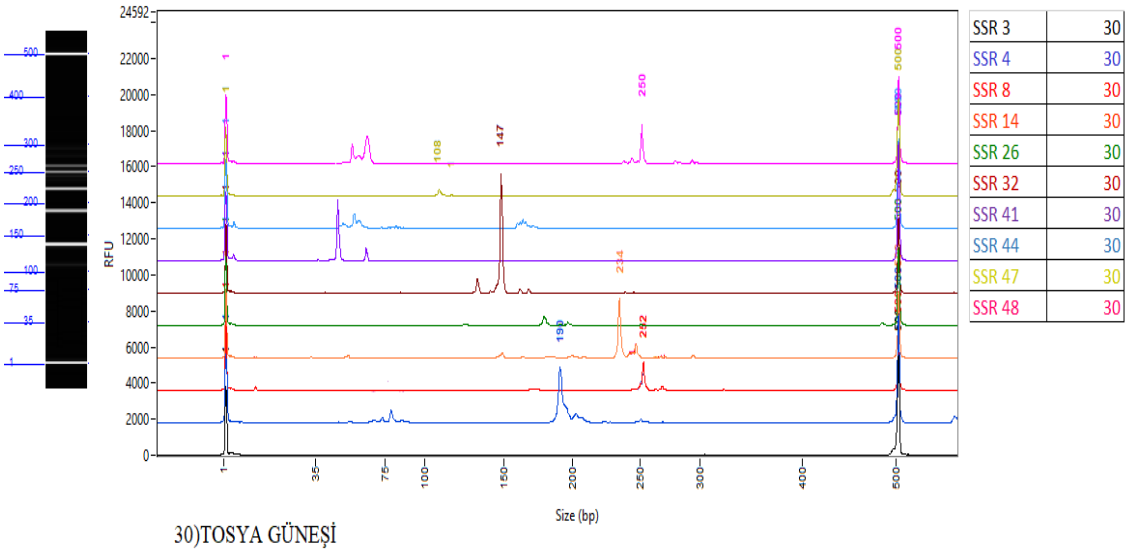
28- Plovdiv çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



29)RONALDO

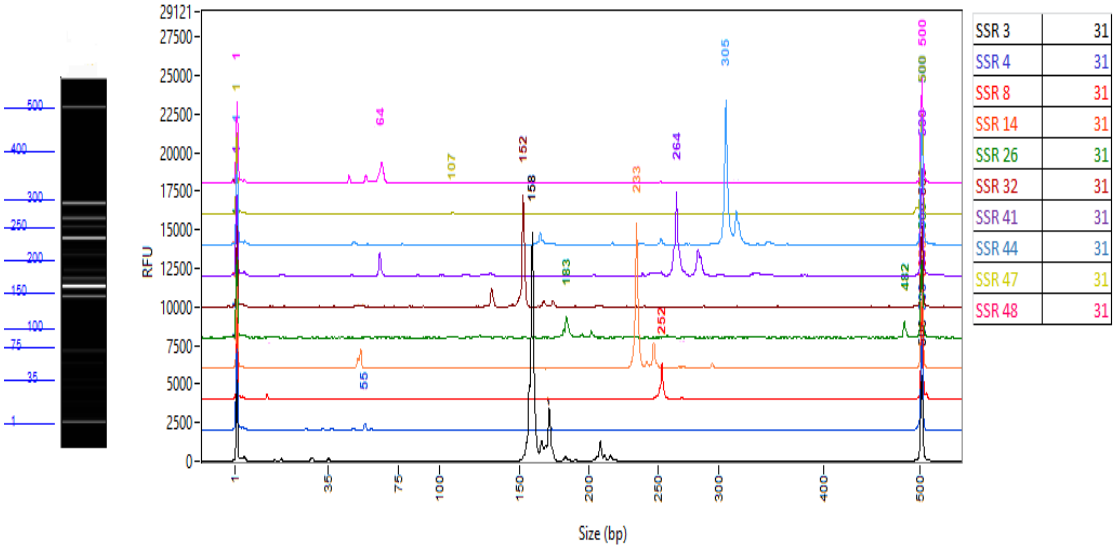
29) Ronaldo çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



30)TOSYA GÜNEŞİ

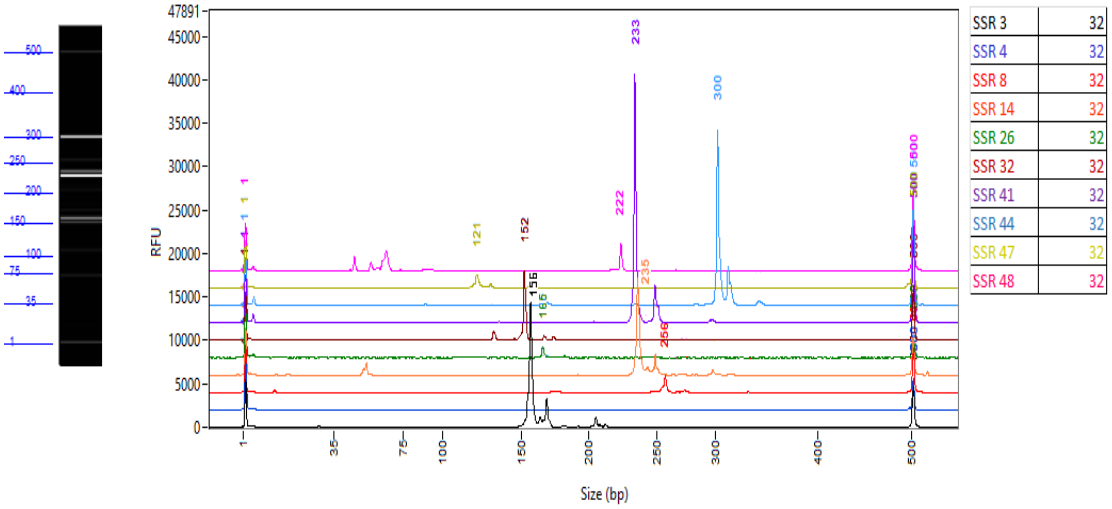
30) Tosya Güneşi çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



31) SARHAN

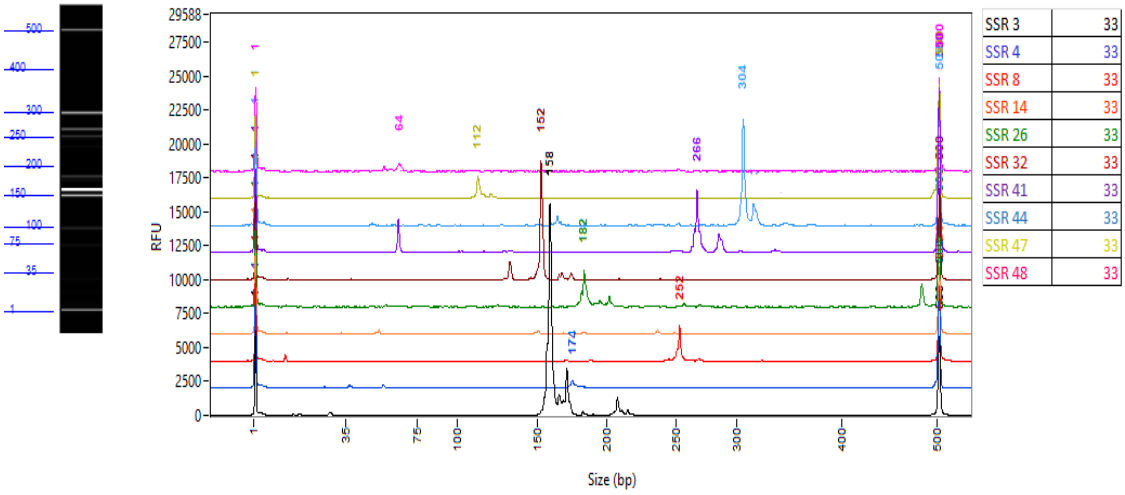
31) Sarhan çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



32) AROMATİK-I

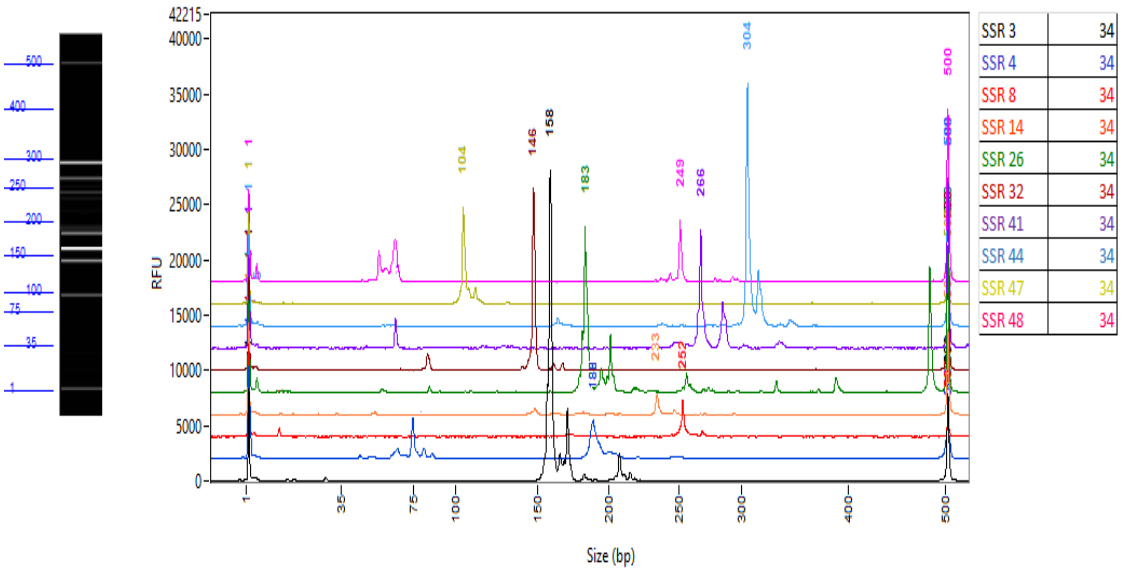
32) Aromatik-1 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



33) EFE

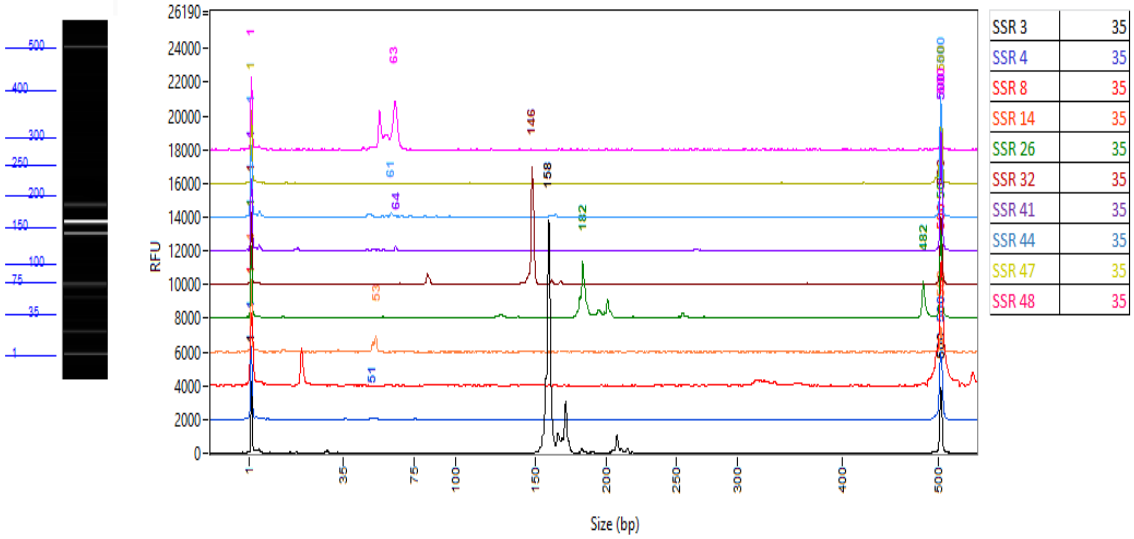
33) Efe çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



34) BEŞER

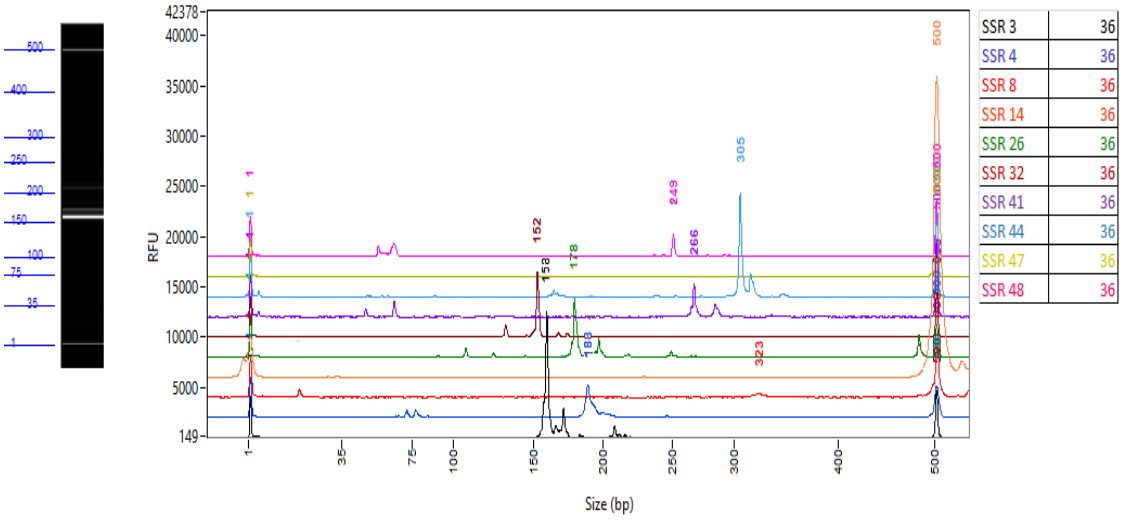
34) Beşer çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



35) VENERİA

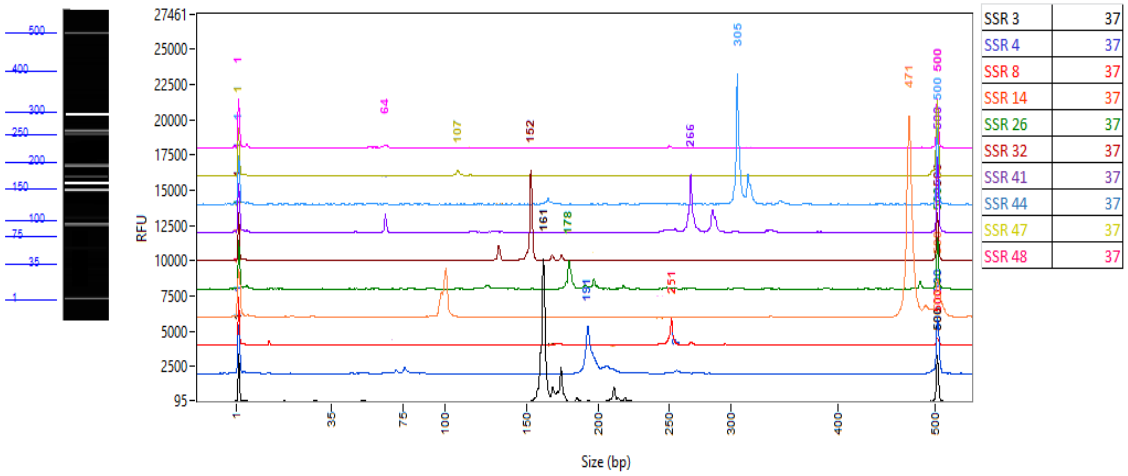
35) Veneria çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



36) RİBE

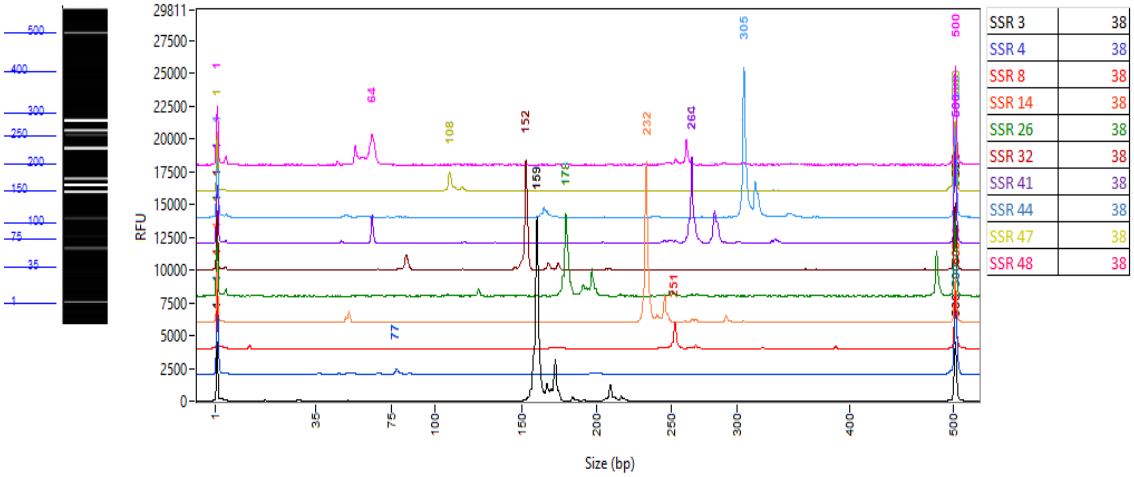
36) Ribe çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



37) MİS-2013

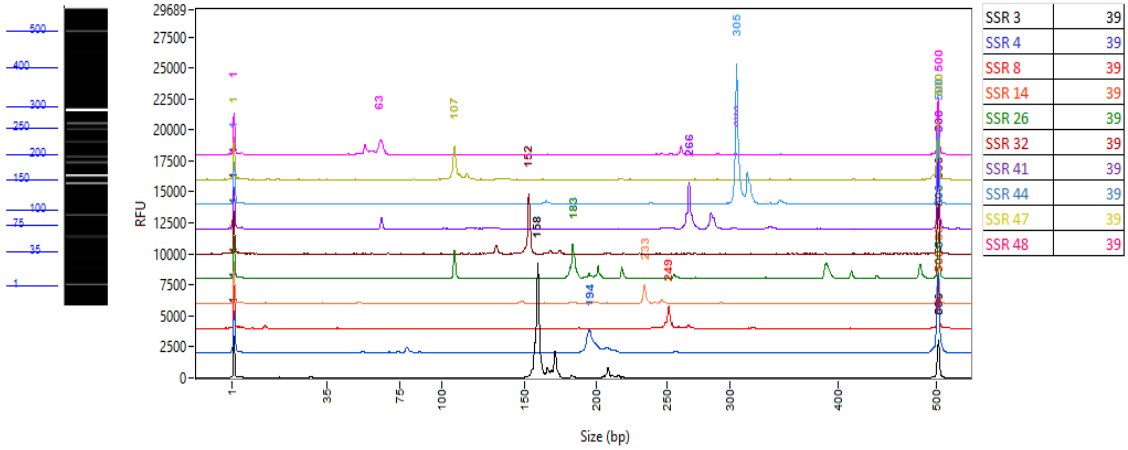
37) MİS-2013 çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



38) ÇAKMAK

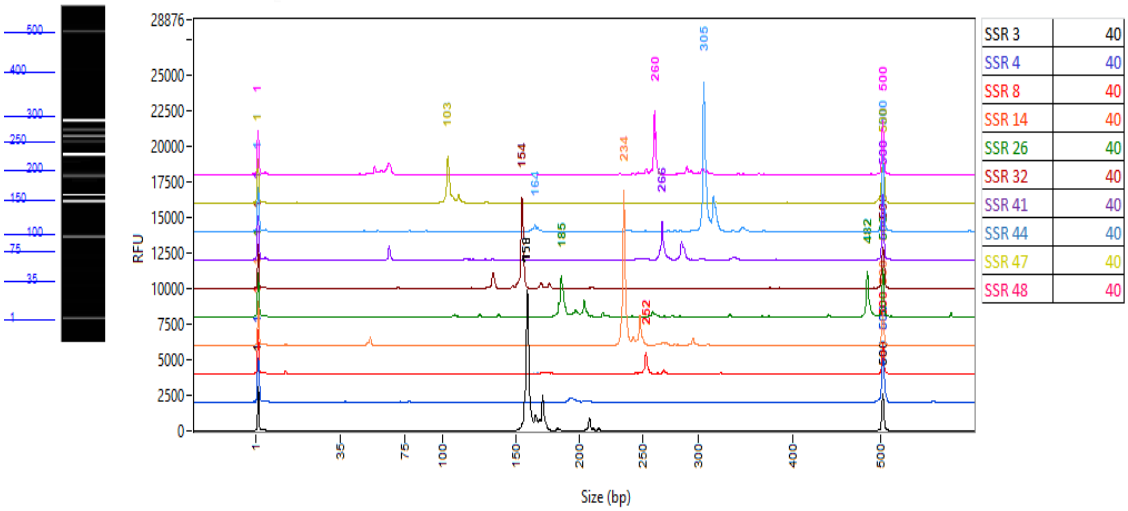
38) Çakmak çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



39) HALİLBEY

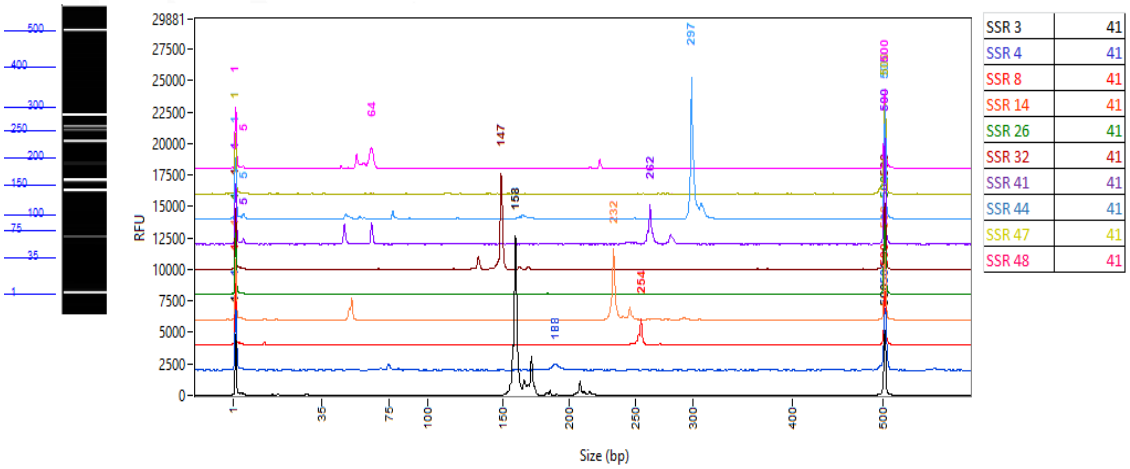
39) Halilbey çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



40) YAVUZ

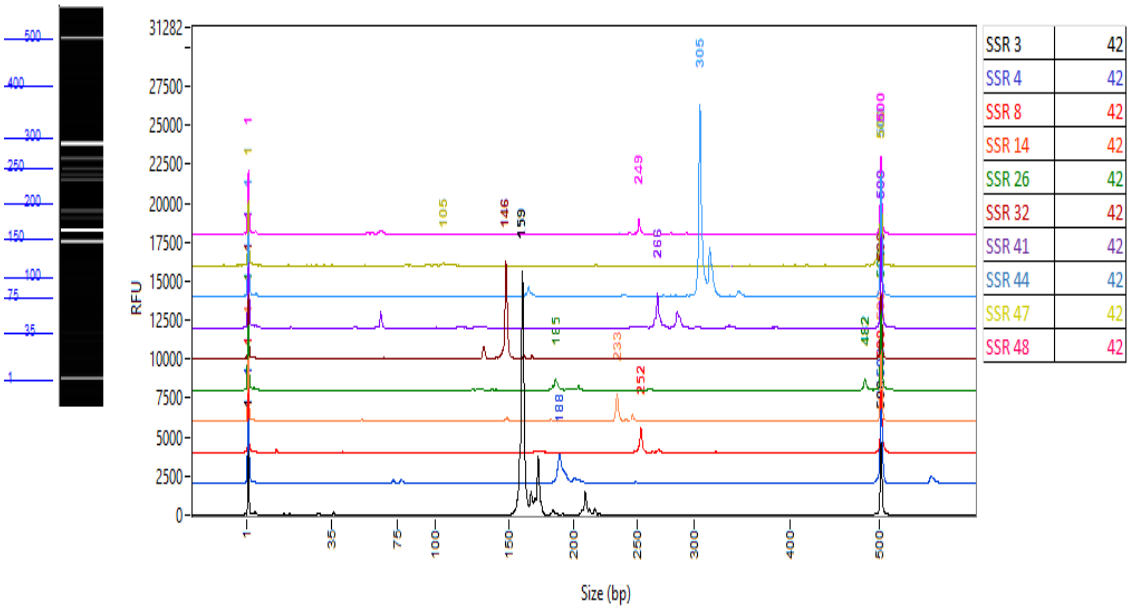
40) Yavuz çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



41) D.BAKIR YERLİSİ

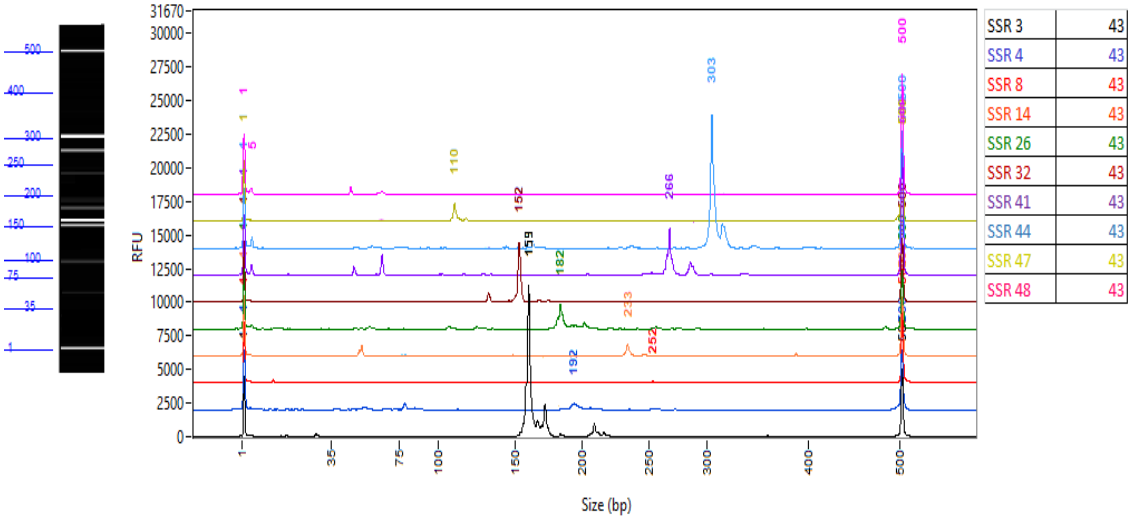
41) D.Bakır Yerlisi çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



42) MARATELLİ

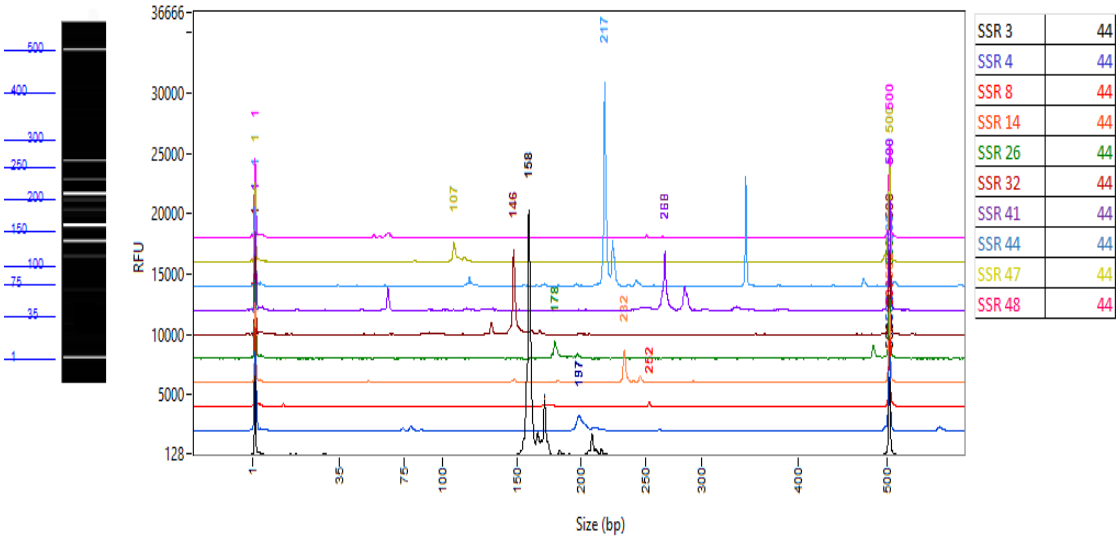
42) Maratelli çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



43) DURAĞAN

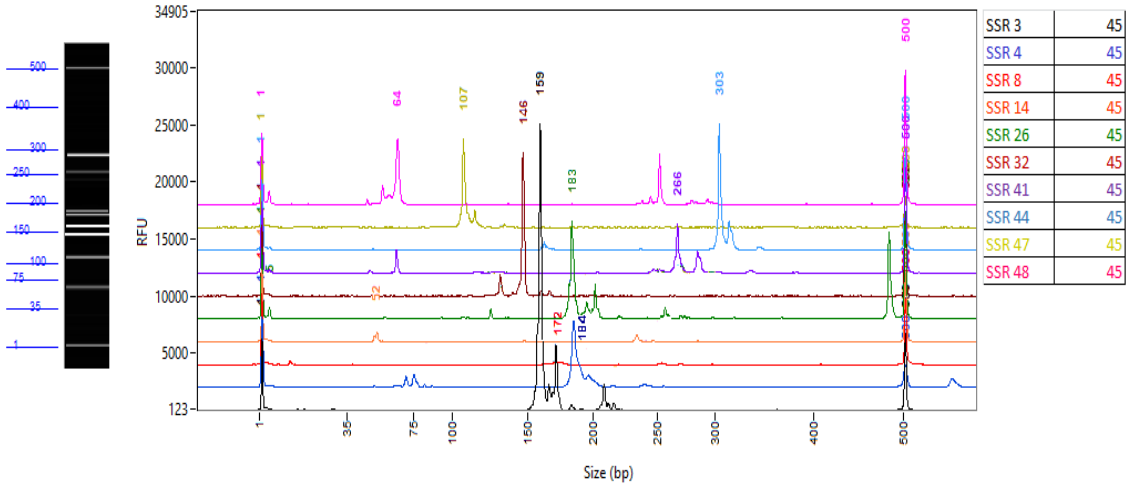
43) Durağan çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



44) MANYAS YILDIZI

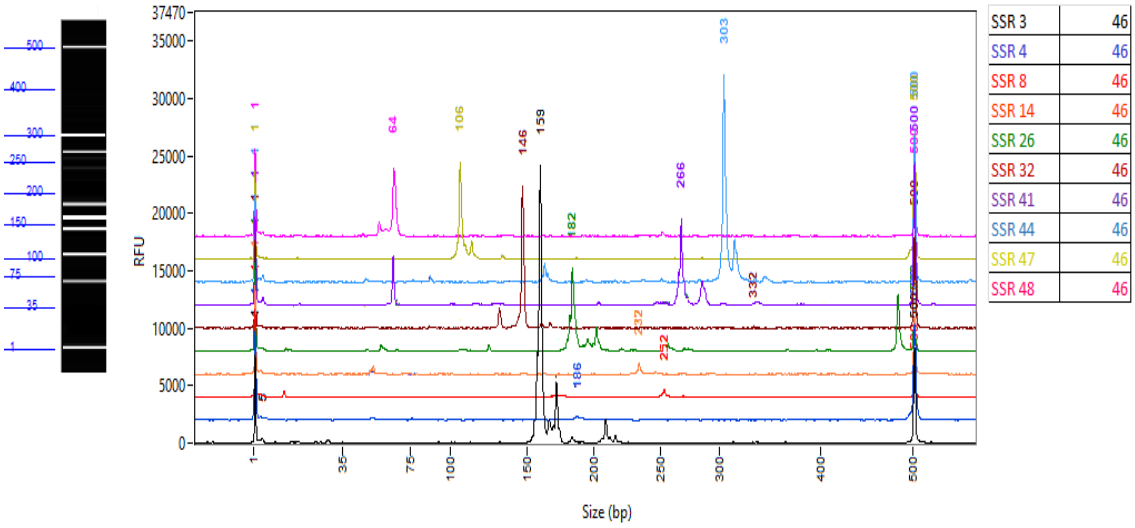
44) Manyas yıldızı çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



45) BİGA İNCİSİ

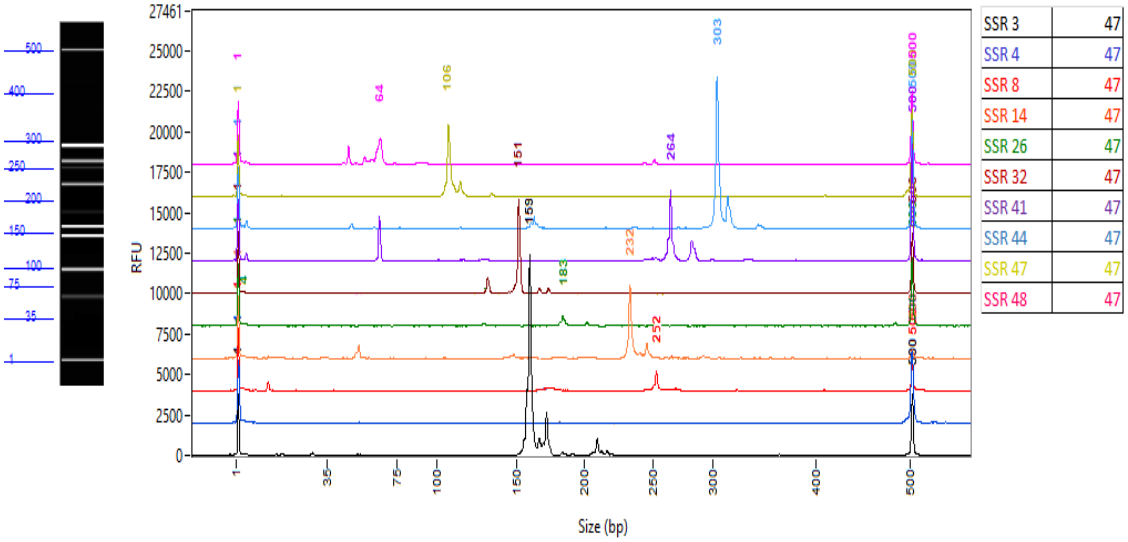
45) Biga İncisi çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



46) KIRKPINAR

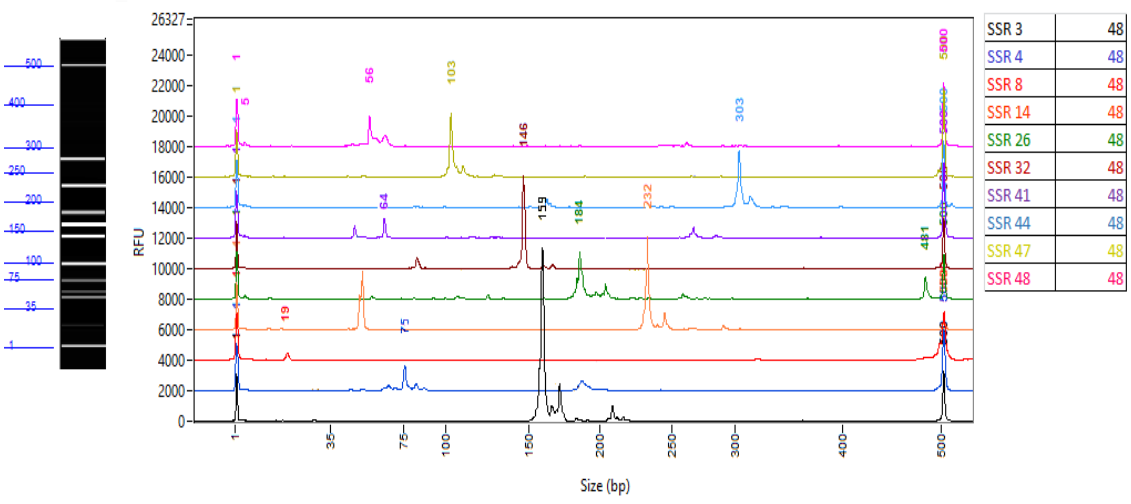
46) Kırkpınar çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



47) KRAL

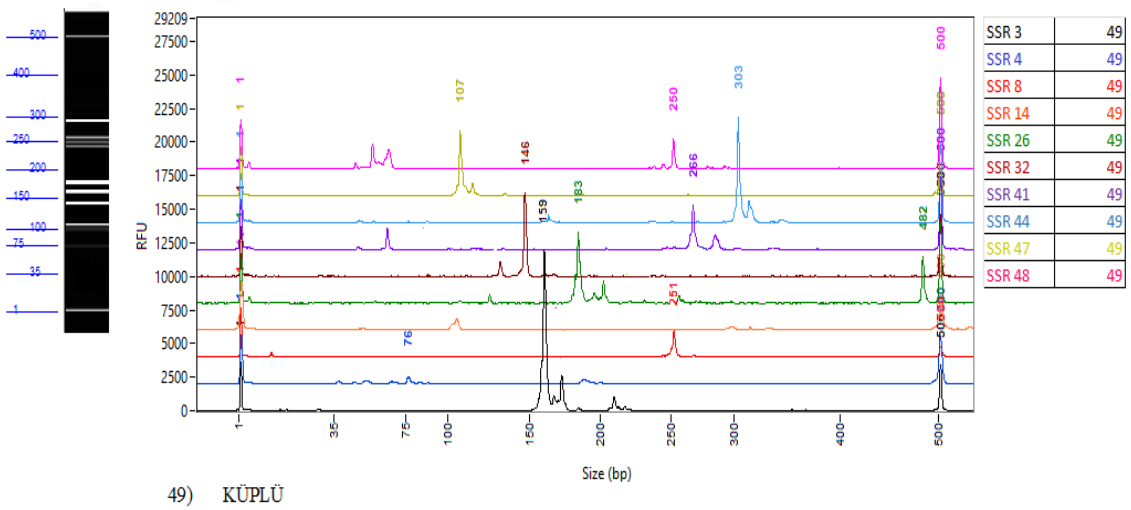
47) Kral çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



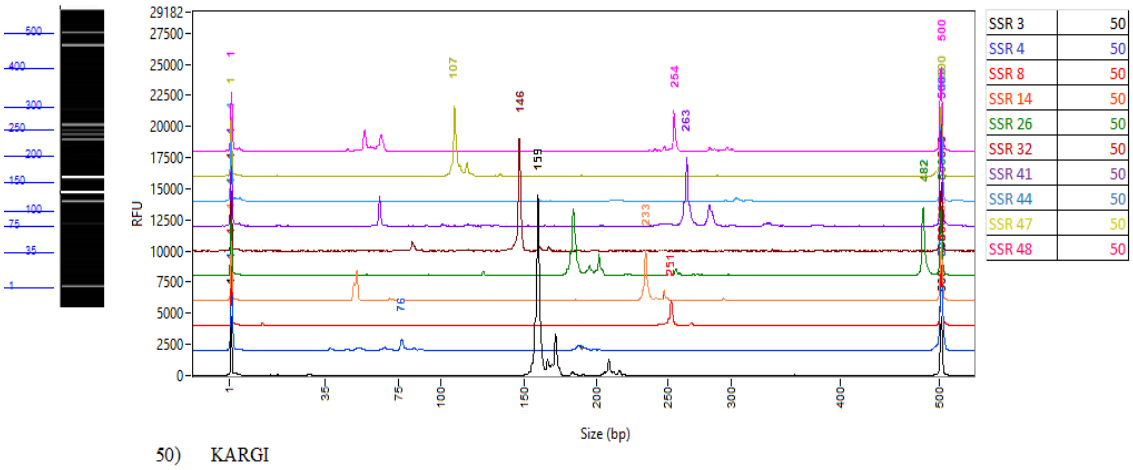
48) MERİÇ

48) Meriç çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**

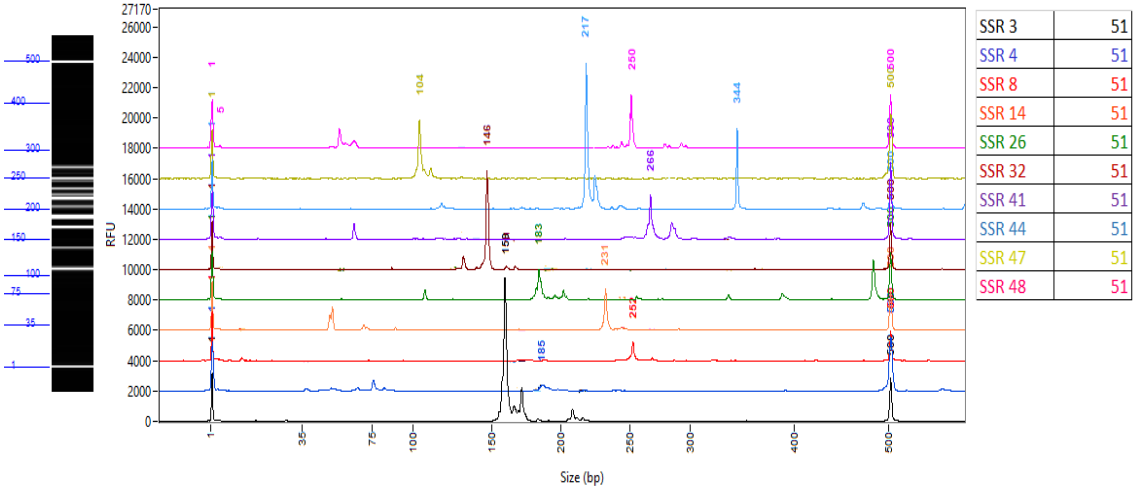


49) Küplü çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



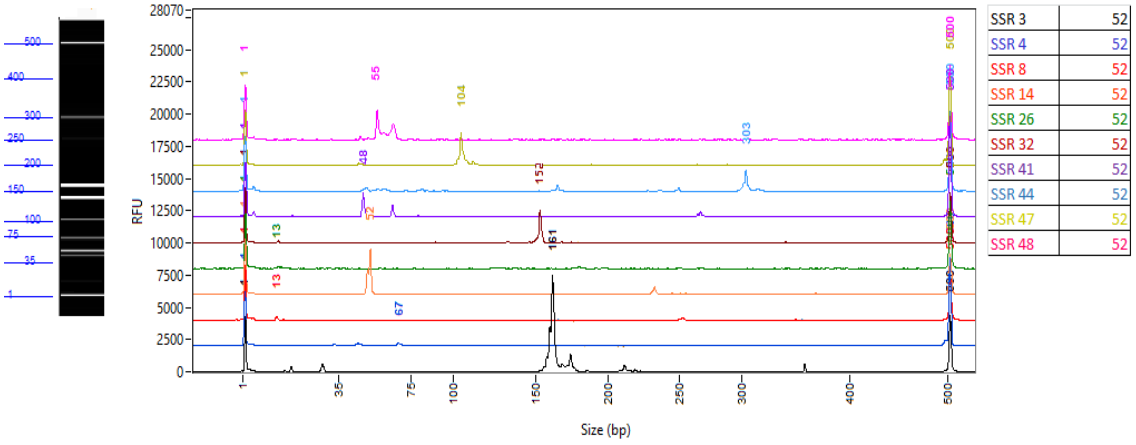
50) Kargı çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



51)BALDO

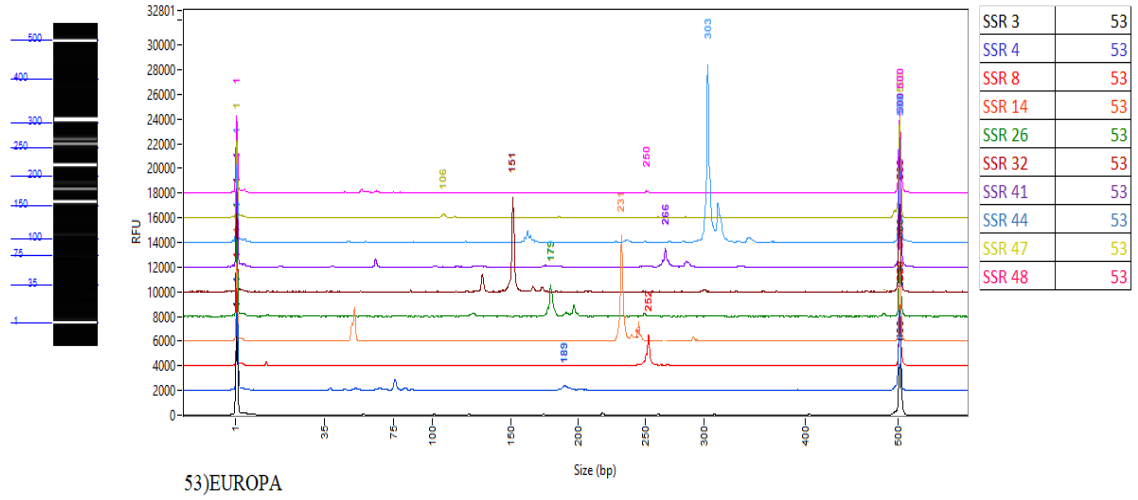
51) Baldo çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



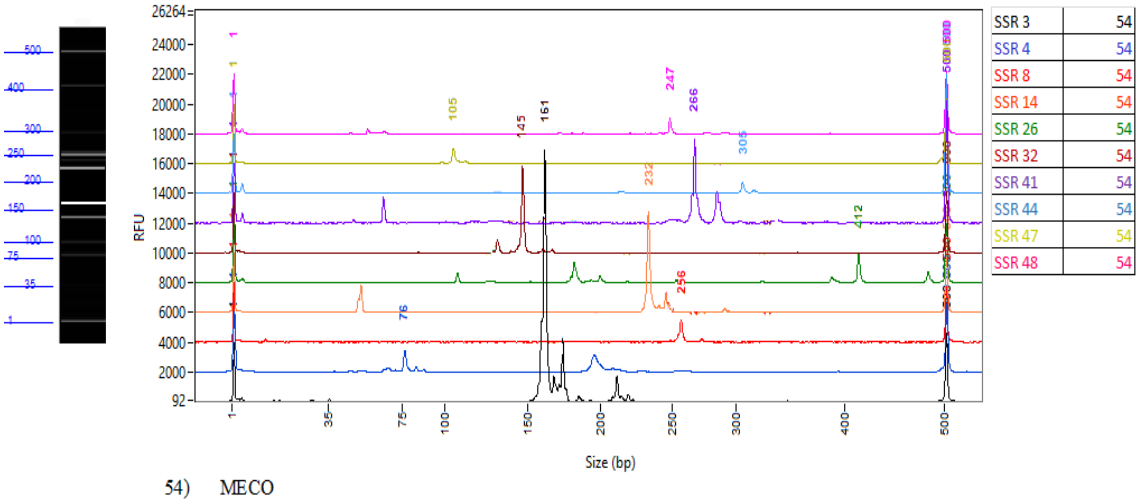
52) N1-4IT-IT-OT

52) N1-4IT-IT-OT çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**

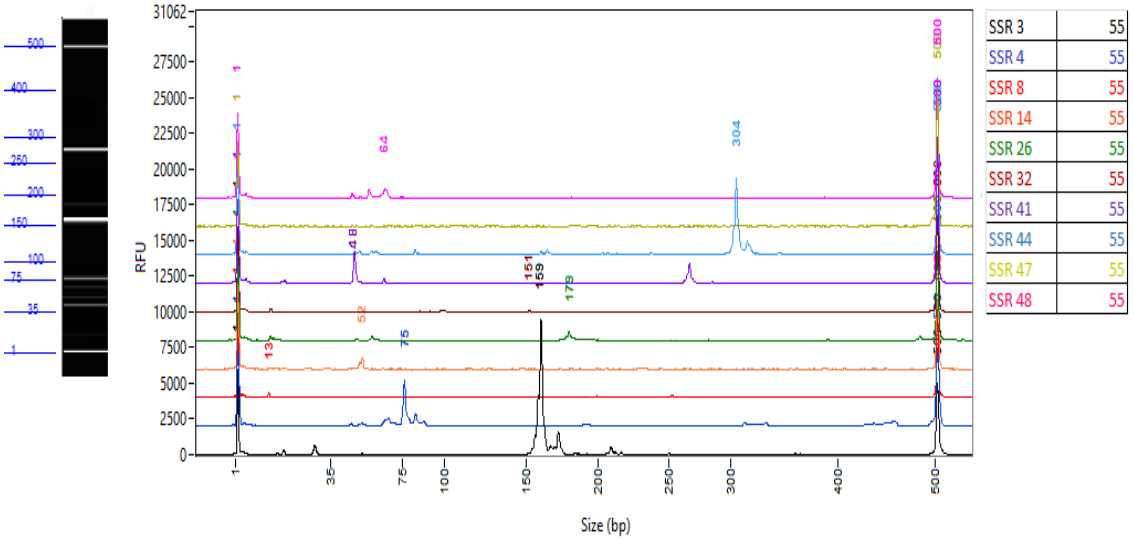


53) Europa çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



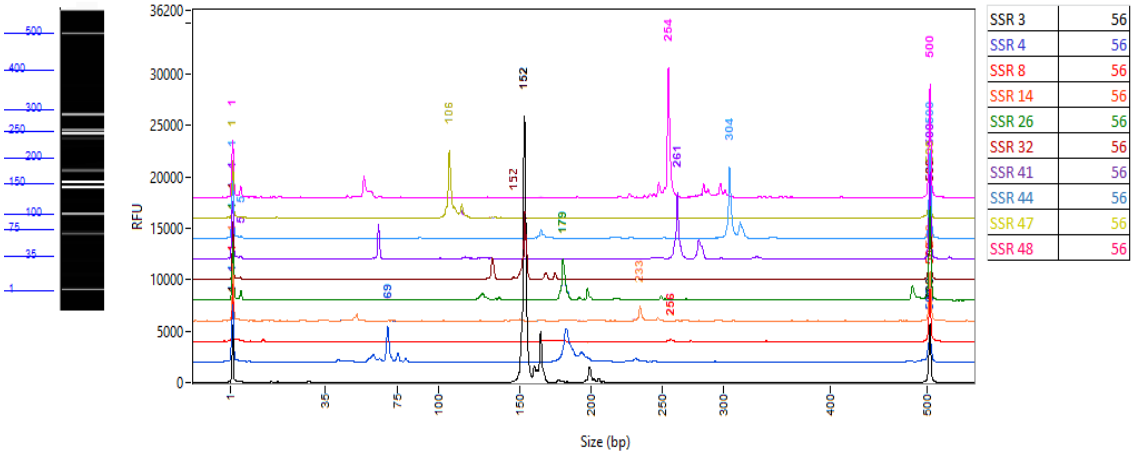
54) Meco çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



55) MEVLÜTBEY

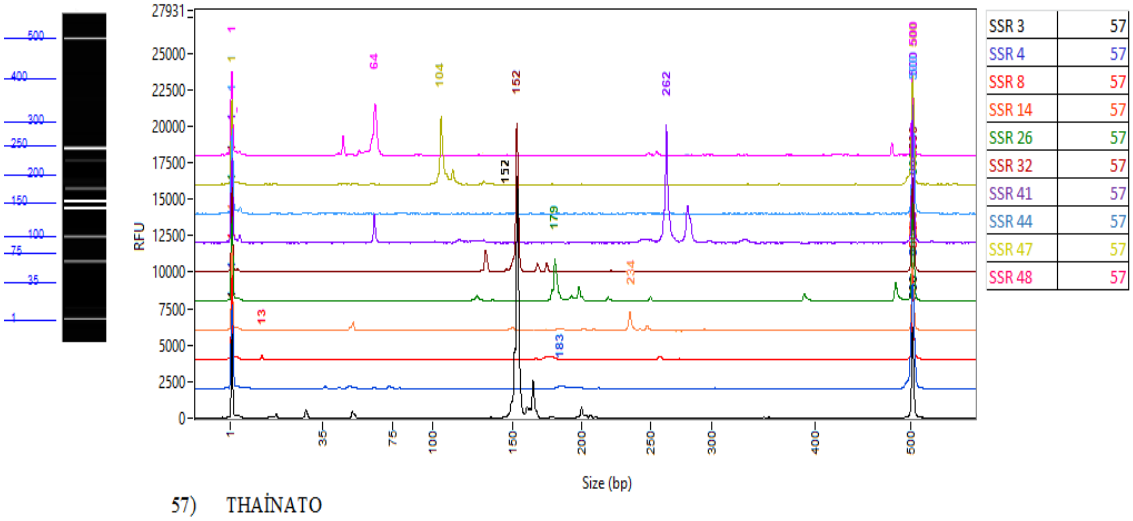
55) Mevlütbey çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



56) TUNCA

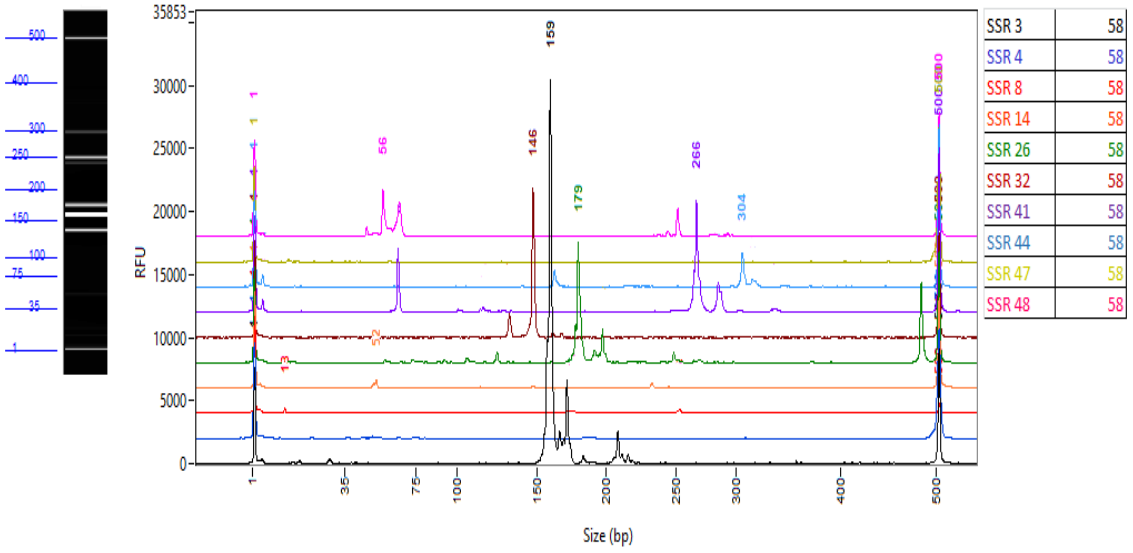
56) Tunca çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



57) THAİNATO

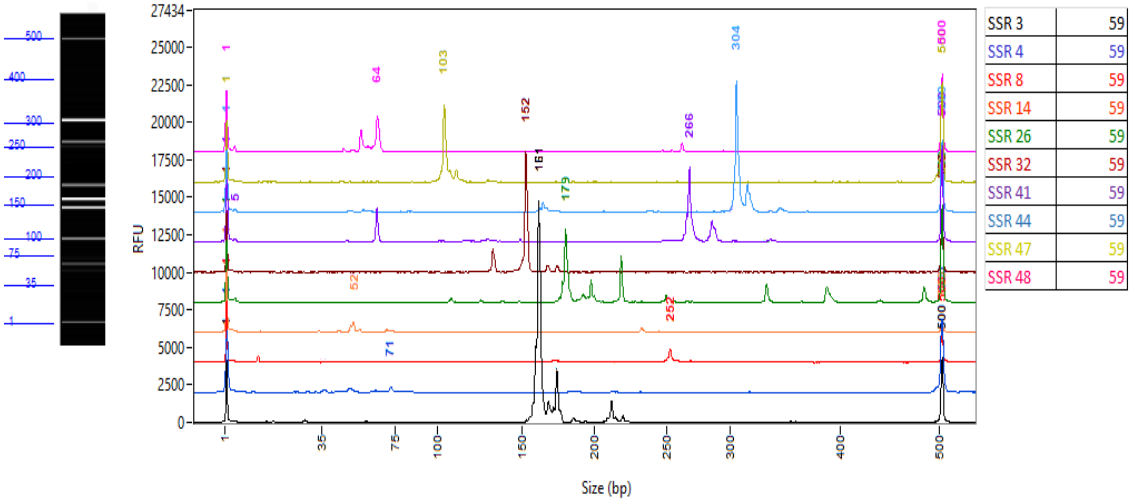
57) Thainato çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



58) BAFRAYILDIZI

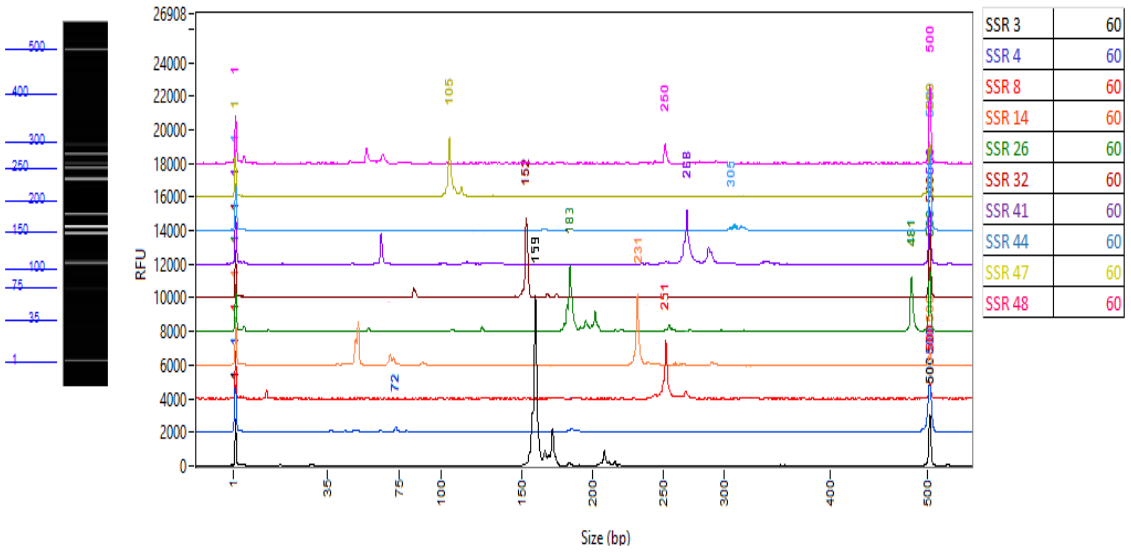
58) Bafrayıldızı çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

Ek-3: **(Devam)**



59) KIZILIRMAK

59) Kızılırmak çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili



60) KARADENİZ

60) Karadeniz çeltik çeşidinin 10 SSR markırı ile DNA parmakizi profili

ÖZGEÇMİŞ

Zeynep Çisem MUTAFÇILAR 1993 yılında Edirne'de doğdu. İlköğretim, ortaöğretim ve lise eğitimini Edirne'de tamamladı. 2015 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme bölümünden mezun oldu. 2016 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında 19. Uluslararası Dünya Ayçiçeği Konferansında organizasyon komitesinde yer aldı. TÜBİTAK 1130926 Proje No'lu ***Ayçiçeğinde (Helianthus annuus L.) Kuraklığa Dayanıklı Genetik Materyalin Belirlenmesi ve Islah Programlarında Kullanılması*** adlı projede 1 yıl bursiyer öğrenci olarak çalışmıştır.

TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER

Tez çalışması kapsamında aşağıda belirtilen kongrelere sözlü sunum ile katılmıştır.

Mutafçılar, Z.,Ç., Beşer, N., Hasançebi, S., 2017. Türkiye'de Tescilli Çeltik Çeşitlerinin Moleküler Karakterizasyonu Trakya Üniversiteler Birliği İkinci Lisansüstü Öğrenci Kongresi, 15-16 Mayıs 2017, Edirne.

Mutafçılar, Z.,Ç., Beşer, N., Hasançebi, S., 2017. To Improve SSR Markers For Cultivar Identification in Turkey Polished Rice (Oryza sativa L.) Market III. Internatıonal Plant Breeding Congresss 15-19 October 2017

Mutafçılar, Z.,Ç., Beşer, N., Hasançebi, S., 2018. Türkiye'de Tescilli Çeltik Çeşitlerinin Moleküler Karakterizasyonu Trakya Üniversiteler Birliği Üçüncü Lisansüstü Öğrenci Kongresi, 3 Mayıs 2018, Tekirdağ.