T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SELEKSİYONU YAPILMIŞ *CARTHAMUS TINCTORIUS* L., TÜRÜNE AİT BAZI ÇEŞİT VE HATLARIN MOLEKÜLER VE KARYOLOJİK MARKIRLARLA TİPLENDİRİLMESİ

Betül Sena TEKKANAT

YÜKSEK LİSANS

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Temmuz-2014
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Betül Sena TEKKANAT

25.07.2014

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

SELEKSİYONU YAPILMIŞ *CARTHAMUS TINCTORIUS* L., TÜRÜNE AİT BAZI ÇEŞİT VE HATLARIN MOLEKÜLER VE KARYOLOJİK MARKIRLARLA TİPLENDİRİLMESİ

Betül Sena TEKKANAT

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tuna UYSAL
2014, 79 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Tuna UYSAL
Doç. Dr. Ahmet TAMKOÇ
Doç. Dr. Emine ARSLAN

Bu tez çalışmasıyla ülkemiz için ekonomik değere sahip olan Aspir(*Carthamus tinctorius* L.) türleri ISSR markırları aracılığıyla genotiplendirilmiştir. Araştırma konusu olan çeşitlerin bir kısmı genetik açıdan aynı atadan gelen yüksek oranda birbirleriyle benzer olan türler iken farklı soylardan köken alanlar genetik açıdan oldukça uzaklaşmıştır. Aynı zamanda aspir çeşitlerinin kromozom sayı ve morfolojisi araştırılmış ve aralarındaki kromozomal ilişkiler belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre ele alınan çeşitlerin tamamının kromozom sayısı 2n=24 olarak tespit edilmiş olup, çeşitlerin tamamı diploid kromozom sayısına sahiptir. Kromozom morfolojileri açısından çeşitler yüksek oranda benzerlik gösterirken birkaç çeşidin farklı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak seleksiyonu yapılmış aspir çeşitlerinin genetik karakterizasyonunun yapılmasında ve genotiplendirilmesinde kromozom morfolojisi ve ISSR markırlarının etkili bir biçimde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aspir, genotiplendirme, kromozom, mikrosatellit.

ABSTRACT

MS THESIS

THE TYPIFICATION OF SOME LINES AND VARIETIES BELONGING THE SELECTED *CARTHAMUS TINCTORIUS* L. SPECIES VİA MOLECULAR AND KARYOLOGICAL MARKERS

Betül Sena TEKKANAT

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY

Advisor: Doç. Dr. Tuna UYSAL

2014, 79 Pages

Jury
Doç. Dr. Tuna UYSAL
Doç. Dr. Ahmet TAMKOÇ
Doç. Dr. Emine ARSLAN

With this thesis, Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties that having economic value for our country were genotyped through ISSR markers. Some of the varieties that is the subject of this research are found genetically highly similar to each other that originated from the same ancestors but from the different strains are genetically quite away. At the same time the number of chromosomes of safflower varieties and chromosomal morphology was investigated and the relationship between them is determined. According to the results discussed all varieties of chromosome numbers has been identified 2n = 24, also all have the diploid number of chromosomes. Chromosome morphologies are showed high uniformity between several varieties but also determined difference between some varieties. As a result of this research on selection made of safflower varieties, ISSR markers and chromosome morphology can be used effectively to determined for genotyping and identification of genetic characterization.

Keywords: Chromosome, genotyping, microsatellite, safflower.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam süresince her zaman destek ve yardımlarını benden esirgemeyen her konuda desteğini gördüğüm ayrıca bilgi, beceri ve yorumlarından faydalandığım değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Tuna UYSAL'a, Arş. Gör. Ela Nur ŞİMŞEK'e ve Uzman Meryem BOZKURT'a teşekkür ederim. Çalışma materyalimi sağlayan Arş. Gör. Dr. Rahim ADA'ya teşekkür ederim. Selçuk Üniversitesi 13201053 no'lu proje ile çalışmamda maddi destek sağlayan Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğüne (BAP) teşekkür ederim.

Her zaman ve yüksek lisans çalışmalarım süresince sabırlarını, maddi ve manevi olarak yardımlarını benden esirgemeyen tüm aileme teşekkür ederim.

Betül Sena TEKKANAT
KONYA-2014

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ iii

ÖZET iv

ABSTRACT v

ÖNSÖZ vi

İÇİNDEKİLER vii

SİMGELER VE KISALTMALAR viii

1.GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 3

2.1. *Carthamus tinctorius*'un Genel Özellikleri, Orijini ve Kullanım Alanları 9
2.2. *Carthamus tinctorius*'ta Moleküler Markırlara Dayalı Çalışmalar 12
2.3. *Carthamus tinctorius*'a ait Kromozom Çalışmaları ve Karyotiplendirme 17

3.MATERYAL VE METOT 19

3.1. Materyal 19
3.2. Sterilizasyon 20
3.3. Karyolojik Metot 20
3.4. Moleküler Metot 23
3.4.1. DNA izolasyonu 23
3.4.2. DNA konsantrasyonunun tayini 23
3.5. Genetik Markır (ISSR-PCR) 25
3.6. ISSR-PCR Amplifikasyonları 26
3.7. Elektroforez 26
3.8. ISSR Verilerinin Analizi 26

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 27

4.1. Karyolojik Bulgular 27
4.2. Moleküler Bulgular 45

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 66

KAYNAKLAR 68

ÖZGEÇMİŞ 79

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

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

AG: Ayırma Gücü

bp: Baz çifti

CTAB: Setil Trimetil Amonyum Bromür

da: Dekar

dATP: Deoksi adenozin trifosfat

dCTP: Deoksi sitidin trifosfat

dGTP: Deoksi guanozin trifosfat

dTTP: Deoksi timidin trifosfat

dk: Dakika

DNA: Deoksiribo nükleik asit

EDTA: Etilendiamin tetraasetikasit

EST: Expressed Sequence Tags

ETS: Dış transkripsiyonu dizisi

g: Gram

ha: Hektar

HCl: Hidroklorik asit

HDL: İyi huylu kolesterol

ISSR: Inter Simple Sequence Repeat (Basit Diziler Arası Tekrarlar)

ITS: İç transkribe boşluklar

kg: Kilogram

l: Litre

LDL: Kötü huylu kolesterol

M: Molar

MA: Moleküler ağırlık

mA: Miliamper

MgCl2: Magnezyum klorür

ml: Mililitre

mM: Milimolar

NaCl: Sodyum klorür

ng: Nanogram

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPD: Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çogaltılmış DNA polimorfizmi)

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RIL: Rekombinant saf hatları

rpm: Dakikadaki döngü

SNP: Tek nükleotid Polimorfizmi

SRAP: Dizi ilişkili Çoğaltılmış Polimorfizm

SSR: Simple Sequence Repeat (Basit Sekans Tekrarları)

T : °C cinsinden sıcaklık

Taq: Thermus aquaticus

TAE: Tris-Asetik asit-EDTA (Tampon Çözeltisi)

TBE: Tris/borat/EDTA (tampon çözeltisi)

Tm: Erime sıcaklığı

Tris: Tris (hidroksil metil) aminometan

UV: Ultraviyole

v/v: Hacim / Hacim

V: Volt

w/v: Ağırlık / Hacim

W: Watt

B-ME : Beta-Mercaptoethanol

µl: Mikrolitre

µM: Mikromolar

1.GİRİŞ

Türkiye, birçok tarımsal üründe yeterli üretim yapmasına karşın, bitkisel yağ üretiminde kendine yeter üretim yapamamaktadır. Türkiye'nin yıllık bitkisel yağ üretimi yaklaşık 900 bin tondur. Ülkemizde üretilen bitkisel yağların % 40''ı ayçiçeğinden, % 25'i pamuk çekirdeğinden, % 20'si zeytinden ve geri kalan % 15'i soya, mısır, fındık, kanola, susam ve yerfıstığı gibi diğer yağ bitkilerinden elde edilmektedir (TÜİK, 2010).

Bitkisel yağlar temel gıdalardan olup, zeytin dışında, yağlı tohumlu bitkilerden elde edilmektedir. Dünya'da kişi başına yıllık bitkisel yağ tüketimi 24.9 kg olup, bunun % 36' sı bitkisel yağlardan, % 11' i hayvansal yağlardan ve geri kalanı ise diğer besinlerden (süt, tahıllar, et v.b.) karşılanmaktadır. Türkiye'de ise kişi başına yıllık bitkisel yağ tüketimi 17.8 kg'dır (Çelikoğlu, 2004).

Ülkemizde tüketilen yağların; yerli hammadde ile üretilen miktarı % 40 olup kalan % 60'ı yurt dışından ithal edilmektedir (Aytaç, 1999).

Türkiye'nin bitkisel yağ üretiminde sahip olduğu potansiyel kaynaklardan birisi de aspir bitkisidir. Dünyada 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 732 bin hektar alanda aspir tarımı yapılmış ve 653.791 ton tohum elde edilmiştir (FAO, 2010). Ülkemizde ise aspir tarımı son yıllarda önem kazanmış, ekim alanı 400 da' dan 21.513 da' a, üretim miktarı ise 150 tondan 20.076 tona yükselmiştir.

Aspir, dünya yağlı tohum üretiminin sadece % 0.5' ini ülkemizde ise ancak % 0.05' ini karşılamaktadır (Anonim, 2008). Aspir tohumu dünya yağlı tohum üretiminin sadece % 0.5' ini oluşturmasına rağmen, aspir yağı yüksek linoleik asit içeriği, yüksek iyot değeri, açık sarı rengi ve kendine ait karakteristik hoş tadı sebebiyle bitkisel yağlar arasında önemli bir yere sahiptir (Demirci vd., 2003).

Ülkemiz ekolojik koşullarının yetiştiriciliğine oldukça uygun olması, mekanizasyon problemi bulunmaması, yağ kalitesinin yüksek olması (Baydar ve Turgut, 1993) gibi avantajları nedeniyle aspir, ülkemizin yağ açığını kapatmaya aday bir bitki durumundadır.

Aspir, ülkemizin yağ açığını kapatma açısından ayçiçeğine alternatif yağ bitkileri arasında önemli bir potansiyele sahiptir. Özellikle GAP, Orta Anadolu ve Geçit bölgelerimizde nispeten kurak koşullarda ekim nöbetine alınarak üretimi yaygınlaştırılabilir (Bayramin ve Bayramin, 2007). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde taban arazilerde kışlık olarak yağışa dayalı aspir tarımı rahatlıkla yapılabilmektedir.

Araştırma konusu tez ekonomik açıdan oldukça önemli olan Aspir'in çeşit ve hatları ile ilgili moleküler ve sitogenetik çalışmaları kapsamaktadır. Bu çalışma süresince kendi ülkemize özgü yeni genotipler modern analizler ile belirlenmeye çalışılmıştır. Ülkemize özgü kendi gen kaynaklarımızın eldesi, patentlenmesi, etkili ve sürdürülebilir kullanımı açısından geleneksel seleksiyon ve görsel tanı yöntemlerinin yanısıra daha etkin farklı çeşit ve tiplerin belirlenmesine imkan tanıyan moleküler ve sitogenetik çalışmaların gerçekleştirilmesi hem genotip seviyesinde tanımlama hem de zaman açısından oldukça önemlidir.

Bu tez ile seleksiyonu yapılmış *Carthamus tinctorius* türlerine ait bazı çeşit ve hatların moleküler ve karyolojik belirteçler yardımıyla tiplendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda farklı genotiplerin belirlenmesi ve aralarındaki genetik ilişkilerin açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Aspir bitkisi ile gerek yurtiçinde ve gerekse yurtdışında yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bu tez özetinde bu çalışmalardan tez konusu ile ilgili olduğu düşünülen bazıları yayın yılı esasına göre aşağıda verilmiştir.

Yenice ve Bayraktar (1996) tarafından, yerli aspir *(C. tinctorius* l.) hatlarında karyotip analizi yapılmıştır. Bu araştırmada, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde yerli ve yabancı orjinli Aspir çeşitlerinden geliştirilmiş çeşide aday 01.-A-95, 308-A-95 ve N-10-A-95 hatları ile Yerli-8 çeşidinin 1995 yılı materyalleri kullanılmıştır. İncelenen hatların ve çeşidin kromozom sayısının 2n=24 olduğu tespit edilmiştir. Kromozom kol indeksleri, oransal boyları, sentromer indeksleri hesaplanarak kromozomlar isimlendirilmiş ve idiogram yapılmıştır.

Sehgal ve Raina (2005) tarafından, DNA parmak izi yöntemiyle aspir (*C. tinctorius*) çeşitlerinin genotiplendirilmesi yapılmıştır. On dört çeşit, Hindistan'ın çeşitli tarımsal-iklim bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmiş ve sırasıyla 36, 21 primer ve 4 primer kombinasyonları kullanılarak RAPD, ISSR ve AFLP işaretleyicileri tarafından parmak izlerine sahip olunmuştur. Bireysel analiz temelinde uygulanan diğer iki belirteçleri ile karşılaştırıldığında AFLP'nin en iyi markır sistemi olduğu kanıtlanmıştır.

Lei ve arkadaşları (2006) tarafından, AFLP işaretleyicileri kullanılarak Çince *C.tinctorius* 'un L. türiçi varyasyonu analizini araştırmıştır. AFLP ile Çin'de toplanan 28 aspir populasyonların genetik varyasyon analizi yürütülmüştür. Aritmetik ortalamalar ile (UPGMA) küme analizi bir dendrograma inşa etmek ve populasyonlar arasındaki genetik uzaklıkların tahmin etmek için kullanılmıştır. Tüm populasyonları benzersiz seçilen 12 primer kombinasyonu kullanılarak ayırt edilebilmiştir. Benzerlik katsayıları populasyonlar arasında 0.48 den 0.96 arasında değişmektedir. Dendrogramları bu türün üç ana gruba ayrıldığını ortaya çıkarmıştır.

Yang ve arkadaşları (2007) tarafından, ISSR analizi ile aspir (*C. tinctorius*) arasındaki genetik ilişkiler ve genetik çeşitlilik araştırılmıştır. 22 ISSR primerleri kullanılarak 48 aspir üyeleri arasındaki ilişkiler ve genetik çeşitlilik değerlendirilmiştir. Toplam 429 band amplifiye edilmiştir ve 355 bandları (yaklaşık % 82.7) polimorfik bulunmuştur. Bu kırk bir polimorfik bantlardan beşi ortalama yüzde 16.1 polimorfik bantların primeri ile her bir primer tarafından amplifiye edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, aspir germplazmlarının polimorfizmi DNA düzeyinde daha yüksek olduğunu göstermiştir. 48 üyenin hepsi ISSR belirteçleri ile ayırt edilebilir ve UPGMA yöntemi

kullanılarak ISSR GS göre 9 gruba ayrılmıştır. ISSR aspir arasındaki genetik çeşitliliğin saptanmasında etkili ve umut verici bir markır sistemidir ve onun filogenik ilişkiler üzerine bazı yararlı bilgiler vermiştir.

Johnson ve arkadaşları (2007) tarafından, AFLP moleküler işaretleyiciler ile aspir germplazmın karakterizasyonu yapılmıştır. Tam 102 polimorfik belirteçlerin sonucuna göre AFLP analiziyle aspir tamamlandı. 96 üyenin yaprak dokusu üzerindeki bulked ve 12 bitkinin her birinin 8 farklı populasyon içindeki ikili grup mesafesi oluşturularak hesaplanmıştır. 96 üye, Amerika, Çin, Doğu Afrika, Doğu Avrupa, Akdeniz, Güney Orta Asya ve Güneybatı Asya gibi yedi dünya bölgesini temsil etmiştir. Bölgeler ve populasyonlar arasındaki ve içerisindeki ortalama mesafeyi karşılaştırmak için bir ön yükleme prosedürü kullanılmıştır. Populasyon içindeki ortalama uzaklıkları, populasyon çeşitliliğin ölçümü 0.005 den 0.315 arasında değişmiştir ve 28 olası karşılaştırmanın 22'si farklı bulunmuştur. Geniş bir coğrafi gruplar arasında seçkin aspir çeşitliliği bu AFLP işaretleyicilerinin gösterdiği tüm ikili grup karşılaştırmalarda bölgeler farklı bulunmuştur. AFLP belirteçleri aspir içinde çeşitliliği tanımlamak için yararlı olduğunu ve germplazm yönetimi ve aspir özelliklerini haritalamak için değerli olacağını göstermiştir.

Chapman ve Burke (2007) tarafından, kültür aspir'in (*C. tinctorius* L.; Asteraceae) kökeni ve DNA dizi çeşitliliği araştırılmıştır. Diploid bir yağlı tohum bitkisi olan aspir'in kökeni yakın zamana kadar belirlenememiştir. Aspir kökenine dair önceki hipotezleri öncelikle *Carthamus* cinsinde yer alan ve olası bir aday olarak üçüncü bir tür olan *C.persicus* biraz ilgi çekmesine rağmen diğer iki türün üzerine en muhtemel ataları olan *C. oxyacanthus* ve *C. palaestinus'*e odaklanmıştır ve yedi nükleer genler verileri kullanılarak cinsin tamamını filogenetik analiz sonuçları açıklanmıştır. Chapman ve Burke (2007)'nin yaptıkları çalışmaya dayanarak, aspir'in büyük olasılıkla yabani tür *C. palaestinus* türetilmiş olduğu sonucunu ortaya çakarmıştır.

Dağeri ve arkadaşları (2007) tarafından, bazı Türk ilaçlarının sitogenetiğini araştırmıştır. Türkiye'de halk ilacı olarak kullanılan *Cannabis sativa* L., *Carthamus tinctorius* L., *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L. ve *Medicago sativa* L. karyotip analizi Görüntü Analiz Sistemi kullanılarak yapılmıştır. Bu türlerin somatik kromozom sayıları aşağıda sırasıyla; *Cannabis sativa* 2n=20, 2n=24 olarak *Carthamus tinctorius*, 2*n*=22 olarak *Coriandrum sativum* 2n=22, 2n=14 olarak *Cuminum cyminum* ve 2n=32 olarak *Medicago sativa* belirlenmiştir. Karyotip analizleri *Cuminum*

cyminum'daki satellitler ile mitotik metafaz kromozomları iki çift ve *Carthamus tinctorius*'ta üç çift ortaya çıkmıştır.

Sujatha (2008) tarafından, Aspir'in genetik iyileştirilmesi için biyoteknolojik çalışmalar yapmıştır. Karşılaştırmalı haritalama yoluyla genomik gelişmeleri için ideal bir aday olabilen aspir, Asteraceae' nin *Lactuca sativa* ve *Helianthus spp.* gibi diğer taksonları için zengin genomik kaynak olarak kullanılabilir. Aspirdeki, anterler ve mikrosporlar in vitro sürgün rejenerasyonu için büyük bir eğilime sahip olduğu bilinmektedir ve bu iki haploid populasyonun geliştirilmesi yoluyla markır destekli yetiştirme olanakları sunmuştur. Yabani *Carthamus* türlerin yağ kalite özellikleri yanında biyotik ve abiyotik stres genlerinin zengin repertuarı oluşturulmasını ve kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Tür içi ve işaretleyici destekli seçim ile birleştiğinde türler arası genetik geliştirme yoluyla Prebreeding ıslah programlarını hızlandırmıştır.

Sabzalian ve arkadaşları (2009) tarafından, ISSR belirteçleri ve agro-morfolojik özellikler ile *Carthamus oxyacanthus* analizi, yabani aspir'in populasyonu arasındaki genetik varyasyonu araştırılmıştır. Aspir'in yabani türleri *C. oxyacanthus* Bieb., kültür türleri *C.tinctorius* L. ile son derece geçilebilir ve biyotik ve abiyotik stres ortamları için ürün iyileştirilmesi ve aspir gen havuzunun genişletilmesinde doğrudan yararlanılabilir. Bu çalışmada, *C.oxyacanthus*'un üyeleri arasındaki genetik çeşitlilik ve onların kültür aspir ile ilişkileri agromorfolojik özellikleri ve polimorfik ISSR işaretleyicileri kullanarak değerlendirilmiştir. Agro-morfolojik özelliklere dayalı küme analizi, onların coğrafi bölgelere göre yabani üyeleri iki grupta sınıflandırılmış ve onları kültür genotiplerinden ayırmıştır. ISSR işaretleyici de üyeleri arasında yüksek bir genetik varyasyon ortaya koymuştur ve ayrı bir klada ekili olanlar ile bu işaretleyiciye dayanarak küme analizleriyle dört gruba ayrılmıştır. DNA seviyesinde yabani aspir germplazması arasında gözlenen genetik varyasyon agro-morfolojik özelliklerinden sonra daha yüksektir, aspir genotipi ve onların genetik ilişkileri arasındaki çeşitliliği saptamak için ISSR'ın etkili bir markır sistemi olduğunu göstermiştir. Kültür türler için yüksek genetik ilişkisiyle *C.oxyacanthus* üyeleri aspir'in ıslah programlarında türiçi melezleme için kullanılabilmiştir.

Chapman ve arkadaşları (2009) tarafından, EST-SSR belirteçlerini kullanarak aspir (*C. tinctorius*)'in gelişimini, polimorfizmini ve çaprazlamasını araştırmıştır. Onların son derece polimorfik ve kodominant doğasından dolayı, SSR belirteçleri genetik haritalama ve genetik çeşitlilik tayini için seçilmiştir ve ilgili türlerin ve aspir'in

genetik analizi için EST-SSR belirteçlerinin sonraki gelişimi ve yağlı tohum olan aspir için bir expressed-sequence tag (EST) koleksiyonu kuşağı tanımlanmıştır. Toplam 40,874 okuma içerisinde 19,395 tek gen bulunmuştur, ki onun 4,416 (% 22.8) en az bir SSR içeriyordu. Primer çiftleri *Carthamus* cinsinin 27 üyesi (3 tür) arasında güvenilir bir şekilde amplifiye olduğunu ve 104 polimorfik markır koleksiyonu ile sonuçlanan bu lokusların 384'ü için geliştirilmiş ve test edilmiştir. Bu markırlar, *Carthamus* türleri arasında 0.54±0.03 ortalama bir gen çeşitliliği ve her lokus başına allellerin 6.0±0.4 bir ortalama ile yüksek bir düzeyde polimorfizm olduğunu göstermiştir. Çapraz takson aktarımı açısından, bu primer çiftlerin % 50' si Asteraceae'daki en az başka türlerde bir amplikon üretilmiş ve % 28' de aspir alt familyası dışında en az bir türden (yani marul, ayçiçeği ve/veya Gerbera) bir amplikon üretmiştir.

Naresh ve arkadaşları (2009) tarafından, Aspir melez genetik saflığın değerlendirilmesi için EST-SSR markır-bazlı analizle araştırmıştır. Hindistan'ın üç ticari aspir melez ebeveyn hatları (NH-1, NH-15 ve DSH-129) toplamda 74 EST-SSR markır kullanılarak taranmış ve 5 EST-SSR markırın polimorfik olduğu bulunmuştur. Bu analizle, doğrudan kasıtlı olarak ebeveyn hatların tohumları karıştırılarak oluşturulan melez önceden tespit edilmiş bir örneğinde genetik saflığı belirleyebilir. Bu bitkilerdeki melez genetik saflığın değerlendirmesi için EST-SSR belirteçlerinin yararlarını göstermiştir.

Sehgal ve arkadaşları (2009) tarafından, Aspir'in (*C. tinctorius* L.) dünya germplazm kaynaklarının genetik çeşitliliğinin teşhisi için DNA düzeyinde polimorfizm analizi araştırılmıştır. 22 RAPD primeri, 18 SSR primeri ve 10 AFLP primer kombinasyonu değerlendirmek için kullanılmıştır. RAPD ve SSR primerleri ve AFLP primer kombinasyonları ile sırasıyla 111, 72 ve 330 üyenin amplifiye edilen genetik lokusları arasında % 57.6, % 68.0 ve % 71.2 polimorfizm ortaya çıkmıştır

Vijay ve arkadaşları (2009) tarafından, soya ve aspir'in farklı yaşlı tohumların moleküler markır analizi yapılmıştır. Bu çalışmada, moleküler markırlar iki farklı bitki türünün tohumlarında yaşlanma sürecini incelemek için kullanılmıştır. Kontrolü (yaşlı olmayan) olmak üzere üç farklı şekilde yaş tohum grupların tohumları, doğal, yaşlı ve hızlandırılmış yaşlanmayı incelemek için aspir (*C. tinctorius*)'in RAPD, AFLP ve SSR markırları kullanarak genetik çeşitliliği açısından değerlendirilmiştir ve bu bulgulara dayanarak, farklı yaş gruplarından tohumların DNA profillerinde gözlenen değişiklikler aynı büyüklüğün genetik varyasyonların birikimine katkısı olmadığı sonucuna varılabilmiştir.

Anjali ve Srivastava (2009) tarafından, *C.tinctorius* (Asteraceae) Linnaeus farklı populasyonların karyotip analizini araştırmıştır. *C. tinctorius* L. somatik kromozomları incelenmiştir. İncelenen her bir populasyon için karyotip formülü tespit edilmiştir. Tüm örneklerde 2n=24 olmasına rağmen, onların karyotip formülü ve karyotip kantitatif parametreler ile ayırt edilebilmiştir. Aynı türe ait örneklerin tür içi veya türler arası kromozomu polimorfizmi göstermiştir. Bu bulgu *Carthamus*'un evrimsel, genetik ve ıslah çalışmaları için yararlı bilgiler sağlamıştır.

Sehgal ve arkadaşları (2009) tarafından, Nükleer DNA analizi ile *Carthamus* L. (Asteraceae) cinsindeki genomik ilişkileri ve filogenetik ve poliploidi taksonu (*Carthamus*) ve evcilleştirilmiş diploid aspir (*C. tinctorius* L.)'in soyu ile ilgili sorunların çözümü araştırılmıştır. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) parmakizi, ribozomal DNA tekrar birim uzunluk polimorfizmi (RFLP), iç transkripsiyonu dizisi (ITS), RFLP ve ITS'in karşılaştırmalı dizi analizi ve dış transkripsiyonu dizisi (ETS) ile beş doğrulanmamış türler dahil 18 Carthamus taksonuna ait olan 29 üyenin bölgeleri ile ilgili yeni bilgiler elde etmek amacıyla çok yönlü bir nükleer DNA analizi yapılmıştır. 24 kromozom içeren 12 grubun kök ucu hücreleri, 9, 6 ve 2 grubunda sırasıyla 64, 44 ve 20 kromozomlar izlemiştir. *Carthamus lanatus* dışındaki, her bir takson içindeki gruplar aynı zigotik numaraya sahip olduğu bulunmuştur. Mevcut sonuçlar yabani *C. palaestinus* (2n=24) ve kültür *C. tinctorius* (2n=24) yakından ilişkili olduğu görüşünü kuvvetle desteklemiştir. *C. lanatus*, C. *lanatus ssp. lanatus, C. lanatus ssp. montanus, C. lanatus ssp. turkestanicus* ve *C. lanatus ssp. creticus* tarafından oluşturulan *C. lanatus* türler içerisinde karmaşıktır, ITS ve ETS dizilerindeki sinapomorfiklerin sayısı düşük ve otomorfik karakterlerin oranının yüksek olması türlerin kompleksi içerisinde taksonların nispeten yeniden çeşitlendirilmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Chapman ve arkadaşları (2010) tarafından, populasyon genetik analizi yapılan Aspir'in (*C.tinctorius*; Asteraceae) beş farklı merkezini ve Yakın Doğu Kökenli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Yağlı tohum ürünü olan Aspir'in verimli toprak bölgelerinde evcilleştirilmiş olduğuna inanılmıştır, fakat dünya çapındaki benzerliğin morfolojiye dayalı olarak 10 coğrafik merkez öne sürülmüştür. Önerilen 10 benzerliğin merkezlerin her birinden üyelerin nükleer mikrosatellit analizi, ata türlerin yanı sıra bireylerin, beş genetik kümelerin varlığını göstermiştir (1, Avrupa; 2, Türkiye – İran – Irak – Afganistan; 3, İsrail – Ürdün – Suriye; 4, Mısır– Etiyopya; ve 5, Uzak Doğu– Hindistan–Pakistan). Genel olarak, aspirin önceki arkeoloji buluşların yanı sıra, Yakın

Doğu Kökenli aspir üyeleri ve atası arasındaki genetik benzerliğe dayanarak teyit edilmiştir.

Bowles ve arkadaşları (2010) tarafından, mikrosatellit verileriyle *Carthamus* cinsinin bir filogenetik incelemesi yapılmıştır. Bu makalede gen dizisi ve mikrosatellit verileri incelenmiş ve katmanlı bir yaklaşım kullanarak *Carthamus* içindeki ilişkiler araştırılmıştır. Birincisi, 16 türün 37 üyelerinden nükleer ve kloroplast sekansları incelenmiştir. Dizi verileri nesillerin içinde sınırlı çözünürlük sağladığından dolayı, mikrosatellit markırları *Carthamus* seçimi içinde ilişkileri araştırmak için kullanılmıştır. Mikrosatellit verileri *C. palaestinus*'un, kültür aspirin en yakın akrabası olduğunu göstermiştir.

Tonğuç ve arkadaşları (2011) tarafından, aspirde geliştirilen rekombinant saf hat populasyonunun genetik harita populasyonu olarak kullanma imkânlarını araştırılmıştır. Mevcut çalışmada Dinçer 5-118 ile Remzibey-05 çeşitlerinin çaprazlanması ile geliştirilen ve F6 seviyesine kadar ilerletilen rekombinant saf hatların (RIL) aspirde genetik haritalama populasyonu olarak kullanılıp kullanılamayacağı incelenmiştir. Çalışmada toplam 16 RIL hattı ve anaçlar arasındaki polimorfizmler 10 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada AFLP primerleri ile toplam 439 bant gözlenmiş ve bu bantlardan 20 tanesi anaçlar ve hatlar arasında polimorfizm üretmiştir ve primer kombinasyonu başına üretilen polimorfizm sayısı 0-4 arasında değişmiştir. Elde edilen polimorfik bantlardan 9 tanesi beklenen orandan sapma göstermiştir.

Golkar ve arkadaşları (2011) tarafından, ISSR belirteçleri ve tohum kalitesiyle ilgili özellikler için aspirdeki (*C. tinctorius*) genetik çeşitlilik araştırılmıştır. İran'ın farklı coğrafik bölgelerinden kaynaklanan 16 aspir genotiplerinin genetik çeşitliliği ve egzotik kökenlerin bazısı değerlendirilmiştir. Tohumun yağı (sterik asit, palmitik asit, oleik asit ve linoeik asit) yağ asit bileşimi içeren sekiz farklı tohum kalitesi ile ilgili özellikleri, 20 ISSR polimorfik primerlerin yanı sıra tohumdaki yağ, protein, lif ve kül içeriğide bu çalışmada kullanılmıştır. Varyans analizi tohum kalitesi ile ilgili özellikler için genotiplerdeki önemli farklılıklar göstermiştir. ISSR belirteçlere göre, toplam 204 bant amplifiye edilmiş ve bu bantların 149 (yaklaşık % 70) polimorfik bulunmuştur. Coğrafi kökeni ile moleküler verilere dayanan genotip kümeler arası mantıksal benzerlik gözlenmiştir.

Hamdan ve arkadaşları (2011) tarafından, aspir (*C. tinctorius* L.)'deki genomik mikrosatellit belirteçlerin karakterizasyonu ve gelişimi araştırılmıştır. Mevcut araştırma

genomik mikrosatellit (SSR) belirteçlerin bir koleksiyonu geliştirmeyi amaçlamış ve onların bilgilendiriciliğini değerlendirmiştir. Aspir DNA'sından AC ve AG-tekrarları için zenginleştirilmiş bir genomik kütüphane oluşturulmuştur ve 768 klonun yaklaşık % 35'i izole edilmiş ve içerdiği SSR dizileri sekanslanmıştır. Bunlardan, 108 benzersiz primer çifti tasarlanmıştır. On aspir hattının, bir dizisindeki 108 SSR'ler amplifiye edilmiş ve on aspir hatları genotipleri arasında başarılı bir şekilde amplifiye edilen 88 SSR belirteçinden 64'ünde polimorfizm tespit edilmiştir. Lokus başına allel sayısı 2 ile 8 (ortalama 3.2) arasında değişmektedir, oysa heterozigotluk 0.18 ile 0.86 (ortalama 0.52) arasında değişmektedir. Bu genomik SSR belirteçleri aspir moleküler ıslahta ilerlemede katkı sağlamıştır.

Anjali ve Srivastava (2012) tarafından, *C. tinctorius*'un 12 üyesinin karyolojisi incelenmiştir. Diploid kromozom sayıları ve çalışılan grupların temel kromozom sayısı sırasıyla 2n=24 ve x=12 olarak elde edilmiştir. Kromozomlar kol oranı temelinde farklı kategorilere çeşidine göre ayrılmıştır. Bunların kromozomun toplam uzunluğu esas alınarak, farklı tipler içerisinde altbölümlere ayrılmıştır. Bu bulgular *Carthamus*'u evrimsel, genetik ve ıslah çalışmaları için yararlı bilgiler sağlayabilir.

2.1. *Carthamus tinctorius*'un Genel Özellikleri, Orijini ve Kullanım Alanları

Aspir (*Carthamus tinctorius*), Papatyagiller (Asteraceae) familyasından 50-100(-200) cm boyunda, yaz sonuna doğru (Haziran sonuna doğru-Temmuz Başı) sarı, krem, beyaz, kırmızı veya turuncu çiçekler açan bir bitki türüdür. Ayrıca *kır safranı, papağan yemi, boyacı aspiri, haspir* gibi isimlerle de anılır.

Aspir, kuraklığa dayanıklı, yazlık karakterde ve ortalama 110-140 gün arasında yetişebilen tek yıllık bir uzun gün yağ bitkisidir. Aspir, genellikle 80-100 cm arasında boylanabilir, dikenli ve dikensiz formları olan, dikenli formların dikensizlere göre daha fazla yağ içerir. Yaklaşık 2.5–3.0 m derinlere gidebilen bir kazık kök sistemine sahiptir. Tohumları, beyaz, kahverengi ve üzerinde koyu çizgiler bulunan beyaz taneler şeklindedir. Dallanan ve her dalın ucunda içerisinde tohumları bulunan küçük tablalar oluşturur.

Compositeae familyasında yer alan Aspir bitkisi (*C. tinctorius* L., 2n=24), tek yıllık, geniş yapraklı bir endüstri bitkisidir (Uysal ve ark., 2006). Aspir bitkisinin Güney Asya orijinli olduğu ve ilk olarak Asya Kıtasının güneyinde, Ortadoğu ve Akdeniz

Bölgesinde ekildiği ve Dünya'ya buradan yayıldığı, Anadolu'ya Orta Asya'dan göçler yoluyla ve 20. Yüzyılın başında Balkanlar'dan gelen göçmenler aracılığıyla geldiği rapor edilmiştir (Babaoğlu, 2006).

Aspir'in (*C. tinctorius* L.) 4000 yıl önce Bereketli Hilal bölgesinde bir yerde evcilleştirildiğine inanılmaktadır (Ashri, 1975; Knowles 1969). Knowles, 1969, Uzak Doğu, Hindistan-Pakistan, Ortadoğu, Mısır, Sudan, Etiyopya ve Avrupa dahil aspir germplazm evrimi için yedi değişik tür merkezleri önermiştir. Ortadoğu merkezi İran-Afganistan, İsrail-Ürdün-Irak-Suriye ve Türkiye üç gen havuzları içerisinde alt bölüme ayrılmıştır (Ashri, 1975). Son zamanlarda, aspirin Yakın Doğu kökenli olduğu Chapman ve arkadaşları tarafından desteklenmiştir (Chapman ve ark., 2010). Her bir merkezin yerli aspir hatlarının yüksekliği, dallanma, dikenleri, çiçek rengi ve baş büyüklüğü oldukça benzer iken, merkezler arasında tutarlı morfolojik değişimler korunmaktadır (Knowles, 1995). Bütün tohumların normal tipleri, % 32-34 ham lif, % 2-7 kül, % 14-15 protein, % 5-8 nem ve % 27-32 yağ içermektedir (Weiss, 2000; Gecgel, 2007). Aspir, tohum yağı bileşimindeki yağ asidinin en değişkenliği ile bir türdür (Singh, 2007; Camas, 2007). Yalancı safran yağı stearik (C18:0) ve palmitik (C16:0) doymuş yağ asitlerini ve linoleik (C18:2), oleik (C18:1) ve linolenik (C18:3) doymamış yağ asitlerini içerir (Camas, 2007; Dajue, 1996). Geleneksel aspir yağı % 6-8 palmitik asit, % 2-3 stearik asit, % 16-20 oleik asit ve % 71-75 linoleik asitin oluşturduğu bir yağlı asit profiline sahiptir (Hamdan ve ark., 2008).

Cumhuriyetin ilk yıllarında Bulgaristan'dan gelen göçmen soydaşlarımız tarafından Türkiye'ye getirilen aspir; ilk olarak 1931 yılında Yenice adıyla tescil edilmiş, bunu 1977 yılında Dinçer, 2005 yılında Remzibey-05 çeşitleri takip etmiştir. Tescilli bu üç çeşit içerisinde yaygın olarak Dinçer ve Remzibey-05, Balıkesir, Eskişehir, Isparta ve Konya gibi birkaç ilimizde geleneksel olarak yetiştirilmektedir (Öztürk ve ark., 2009). Aspir'in diğer yağ bitkilerine göre düşük yağış alan kurak bölgelere adaptasyon yeteneğinin daha yüksek olması, bu bitkinin yakın bir gelecekte tarımının gelişeceği ve öneminin artacağı umudunu vermektedir (Beg, 1993). Özellikle kuraga, tuzluluğa ve nispeten de soğuğa olan yüksek toleransı nedeniyle Türkiye'nin kurak tarım alanlarında değerlendirilebilecek alternatif ürünlerden biri olarak görülmektedir. FAO raporlarına göre, Türkiye'de ekilebilir tarım alanları arasında 2-2.5 milyon ha'da tuzluluk sorunu yaşanmaktadır. Bu tip sorunlu tarım alanları üzerinde

tarımsal faaliyette bulunulmasına izin verebilecek birkaç önemli kültür bitkisinden birisi de aspirdir (Francois ve Bernstein, 1964).

Aspir, yetişme isteği bakımından diğer yağ bitkilerine göre daha az seçici olan bir bitkidir (Beg, 1993). Soğuğa ve kurağa karşı yüksek tolerans göstermesi sayesinde kuru tarım alanlarının, tuzluluğa karşı tolerans ve yabancı otlara karşı olan rekabet avantajları sayesinde de sulu tarım alanlarında değerlendirilebilecek en önemli bitkilerden birisidir (Weiss, 2000; Kaya ve ark., 2003; Koutroubas ve ark., 2004; Uysal ve ark., 2006). Bu özellikleri sayesinde yetiştirileceği kurak bölgelerde, nadas alanlarının azaltılmasına katkıda bulunabileceği gibi (Karaca ve ark., 1989), kıraç alanlarda buğday, arpa, mercimek ve tütün ile ekim nöbetine girerek bitkisel yağ açığımızın kapatılmasına önemli derecede katkı sağlayabilir.

Aspir yetişme istekleri açısından hem seçici değildir, hem de diğer yağlı tohumlulara göre düşük sıcaklıklara daha dayanıklıdır (–12 °C'ye kadar) (Bayraktar 1991). Kurağa dayanıklı olması ve sulanmadan yetiştirilmesi değişik koşullarda üretim imkanını sağlamakta, özellikle su faktörünün kısıtlayıcı etkisinden dolayı nadas uygulanan kuru tarım alanlarında önerilecek bir bitki olmuştur (Öztürk ve ark., 1999).

İnsanoğlunun kültüre aldığı en eski bitkilerden olan aspir (*C. tinctorius* L.), tohumları için kültürü yapılan Compositaea familyasına ait bir bitkidir. Tohumlarında ortalama % 30-45 yağ bulunduran, yağı yemeklik yağ ve biyoyakıt üretiminde kullanılan, yalancı safran olarakta bilinen aspir, dikenli ve dikensiz formları, sarı, kırmızı, turuncu ve krem renkli çiçekleri ile önemli bir endüstri bitkisidir (Kıllı, 2007).

Aspir yağının yağ asidi bileşiminde, toplam doymuş yağ asidi oranı düşük (% 10'dan az), toplam doymamış yağ asidi oranı ise yüksek (% 90'dan fazla) olup, başlıca doymamış yağ asitleri linoleik asit ve oleik asit, doymuş yağ asitleri ise palmitik asit ve stearik asittir (Demirci ve ark., 2003). Geleneksel aspir çeşitlerinde en yüksek çoklu doymamış yağ asidi / doymuş yağ asidi oranları ve ıslah edilmiş çeşitlerde tekli doymamış yağ asidi /doymuş yağ asidi oranlarına sahip olması, kalp ve damar sağlığı üzerinde olumlu etkilerde bulunmaktadır. İyi huylu kolesterole (HDL) etki etmezken, kötü huylu kolesterol (LDL) içeriğini azaltma eğilimindedir. Ayrıca trigliserit, kolesterol ve insülin düzeylerini ayarlayıcı etkisi yanında, obezite, koroner kalp hastalıkları, arterioskleroz ve yüksek kan basıncı gibi rahatsızlıkların giderilmesinde iyileştirici etkisi bulunmaktadır. En yüksek linoleik asit içeriğine sahip olup ayrıca oleik asit içeriğinin yüksekliği ve linolenik asit içeriğinin düşük (% 1 veya iz miktarda) seviyelerde olması aspir yağının oksidatif stabilitesiyle, raf ömrünü de yükseltmektedir.

Linolenik asit miktarının çok az veya hiç bulunmaması yağın hidrojenasyonu yoluyla elde edilecek margarinin kalitesini yükseltmektedir. Yağda herhangi bir renk koyuluğu görülmediği için mayonez ve salata yağı olarak da tüketilmektedir (Kırıcı ve İnan, 2001).

Geçmişte sap, yaprak, tohum ve çiçeklerinden yararlanmak amacıyla yetiştirilen (Dajue ve Mündel, 1996) aspir bitkisi günümüzde daha çok tohumundan yağ elde etmek amacıyla yetiştirilmektedir. Ayrıca aspir tohumunun yağı alındıktan sonra geri kalan küspesi % 22-25 oranında ham protein ihtiva etmesi nedeniyle hayvan beslemede de kullanılmaktadır (Landau ve ark., 2004; 2005).

Zengin E vitamini ve yüksek tokoferol ihtiva ettiği için aspir yağı, kalp ve damar hastalarının uyguladıkları diyetlerde başvurulan önemli bir kaynaktır (Pongracz ve ark., 1995; Uysal ve ark., 2006).

Biyodizel üretimine uygun özelliklere sahip olan aspir yağından biyodizel üretmek amacıyla son yıllarda yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Ögüt ve Özel, 2006).

Aspir çiçeklerinden elde edilen kartamin (carthamine) maddesi, doğal boya hammaddesi olarak kullanılmaktadır (Nagaraj ve ark., 2001; Uysal ve ark., 2006).

Yalancı safran olarak bilinen aspir çiçeğinin taç yapraklarından sarı-kırmızı renkli boyar madde içeren Kartamin elde edilir. Kartamin'in tıbbi olarak menapoz problemlerinde, kalp-damar hastalıkları ve travmaya bağlı şişliklerde kullanıldığı, ayrıca hipertansiyonu ve kolestrolü düşürüp, kan akışını hızlandırdığı bildirilmiştir (Özel, 2004).

2.2. *Carthamus tinctorius*'ta Moleküler Markırlara Dayalı Çalışmalar

Moleküler yöntemlerin geliştirilmesine kadar bitki ıslahçıları istenilen karakterleri seçmek için klasik ıslah metotlarını kullanmışlardır fakat bu metotların kullanımında bazı sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Moleküler tekniklerin geliştirilmesi ortaya çıkabilecek problemlerin en aza indirilmesinde yardımcı olmaktadır (Tanksley ve ark., 1989). Bitki genetiği ve ıslahında kullanılabilen pek çok moleküler markır sistemi (RFLP, RAPD, SCAR, SSR, AFLP, ISSR vb) geliştirilmiş ve kullanılmaktadır.

Genetik çeşitliliğin tüm çevresindeki morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve (veya) sitogenetik işaretleri ile bağlantılı iyi bilinen çeşitli birkaç sınırlamalar ile DNA belirteçlerinin gelişiyle moleküler düzeyde tohumun genetik materyalinin tam karakterizasyonuna karşı büyük bir adım olmuştur. Bu DNA belirteçleri, analizin

tekrarlanabilirliği ve (ya da) otomasyon kolaylığı, lokuslarının çoklu allellik / iki allellik doğası ve (veya) dominant / ko-dominantlık polimorfizmin tespitinin seviyesinde her biri diğerinden farklıdır (Sehgal ve ark., 2008a). Onların kullanımı çok sayıdaki bitki taksonunun genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi için önemli ölçüde bilgilendirici olduğu kanıtlanmıştır (Yee ve ark., 1999; Bornet ve ark., 2002; Ghebru ve ark., 2002; Ude ve ark., 2003; Zeid ve ark., 2003; Zhebentyayeva ve ark., 2003; Negi ve ark., 2004; Portis et al. 2005; Tam ve ark., 2005; Zhao ve ark., 2005; Sehgal ve ark., 2008b; Sehgal ve Raina, 2008c).

Moleküler markır ile genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilgili DNA parçası temsil edilmektedir. Polimer Zincir Reaksiyonunun (PCR) keşfinden sonra Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm (AFLP), Basit Dizi Tekrarları (SSR), Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (SRAP), Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) ve Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) gibi yaygın olarak kullanılan çok sayıda moleküler markör teknikleri geliştirilmiştir. Bu markır teknolojileri fiziksel haritalama, gen keşfi ve etiketleme, filogenetik çalışmalar, evrimsel genetik ve genetik çeşitlilik çalışmaları gibi pek çok alanda etkin şekilde kullanılmaktadırlar.

Çeşitli belirteçler - morfolojik, biyokimyasal ve moleküler - bitkinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek için kullanılır. DNA belirteçlerinin gelişiyle birlikte, bitkinin büyüme aşaması ve çevreden bağımsız ve yüksek polimorfizm gibi avantajlarına sahip olduklarından genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılmıştır (Li, 2009). Basit dizi tekrarı (ISSR) dinükleotid'in, tetranükleotidin veya pentanükleotidin tekrarlarına dayalı tasarlanmış primerler ile bir DNA belirtecidir (Godwin, 1997). ISSR belirteçleri, parmak izi yapımında, germplazm tanımlamada, gen haritalamada yüksek tekrarlanabilirlik ve kabul edilebilir stabilite, basitlilik gibi avantajları ile başarılı bir şekilde genetik varyasyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Basha, 2009; Blair, 1999; Jin, 2007). Daha fazla tekrarlanabilir bandların amplifikasyonlarını sağlayan, daha yüksek primer birleştirme sıcaklığı ile daha uzun SSR dayalı primerlerden dolayı, RAPD markırlardan sonra en spesifik ISSR markırlarıdır (Pivoriene, 2008).

Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR: Inter Simple Sequence Repeat); ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) tekniğinde, ikili, üçlü, dörtlü ve beşli tekrarlanan nükleotitlere sahip primerler kullanılmakta, bu primerlerle iki mikrosatellit arası bölge çoğaltılabilmekte ve elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde yürütülerek

etidyum bromür ile boyandıktan sonra belirlenebilmektedir (Zietkiewicz ve ark., 1994). Kullanılan primerlerle genomik lokuslar farklı bant büyüklüklerinde çoğaltılmakta, primerler genelde 3' veya 5' uçlarının sonlarındaki mikrosatellit bölgelerine uzanan 1-4 dejenere nükleotit içermekte ve uzunlukları 15–30 nükleotit arasında değişmektedir. Primerlerdeki GC oranının fazla olması bağlanma sıcaklığının yüksek olmasına yol açarken buna karşılık kararlı bağlanmayı sağlar ve bu nedenle her bir primerin DNA'ya yapışma sıcaklığı içeriğindeki baz kompozisyonuna göre belirlenir. Çoğaltılmış ürünler genelde 200–2000 bç arası uzunluktadır. ISSR, dominant markırdır ve dizi bilgisi gerekmeden primer dizaynı yapılabilmesi avantajlarından biridir (Joshi ve ark., 2000). Yüksek polimorfizm ve üretkenlik göstermesi ISSR analizlerini genetik benzerlik, gen haritalama ve taksonomi çalışmalarında uygulanabilir kılmaktadır (Gupta ve ark., 1994; Zietkiewicz ve ark., 1994). Bu markır sisteminde de RAPD markır sisteminde olduğu gibi tekrarlanabilirliğinin düşük olması ve benzer büyüklükteki parçacıkların homolog olmaması dezavantajları arasında sayılabilir (Kesawat ve Das, 2009). ISSR-PCR ile çoğaltılan diziler DNA parmak izlemesinde kullanılabilir. ISSR bölgesindeki dizinin evrimsel olarak korunmuş olma olasılığı vardır, bu yüzden kişileri ayırdetmekte kullanılmaz, onun yerine filo-coğrafî analizlerde veya biyolojik türleri ayırdetmede kullanılır. Bu bölgelerdeki dizi çeşitliliği mikrosatelitlerdekinden daha düşüktür ama belli bir genin dizisindekinden daha fazladır. Mikrosatelit dizilemesi ve ISSR dizilemesi birbirini destekler çünkü birinin sağladığı bilgi ile öbürünün gerek duyduğu primerler üretilebilir.

Genlerin genetik haritalar üzerindeki yerlerini belirlemek için açılım gösteren populasyonlar gereklidir. Genetik haritalamalar için genelde F2, double haploid hatlar ve geri melez (BC) populasyonları kullanılmaktadır. F2 ve BC populasyonları her ne kadar hızlı bir şekilde geliştirilebilse de bu populasyonları kullanmanın sakıncası DNA kullanıldıktan sonra bu populasyonların kullanım imkânının kalmamasıdır. Bu problemi çözmek için melezleme sonucu populasyon F2 seviyesinde bırakılmayarak F6 ve sonrasına getirilmiş ve elde edilen durulmuş populasyonlar rekombinant saf hatlar (RIL) olarak adlandırılmışlardır (Burr ve Burr, 1991). RIL populasyonları homozigot halde oldukları için sürekli olarak kendilenip kullanılabilir ve diğer araştırmacılar da aynı populasyonu kullanabilir. Ayrıca çıkan sonuçlar ortak bir platformda değerlendirilebilir (Burr ve Burr, 1991; Alanso-Blanco ve ark., 2000).

Şimdiye kadar aspirin germplazma kaynaklarının biyokimyasal karakterleri ya da biyotik ve abiyotik stresi, tarımsal karakterleri ve morfolojik özellikleri temelinde

tümüyle karakterize edilmiştir (Ashri, 1971a,b, 1974, 1975; Aslam & Hazara, 1993; Fernandez-Martinez ve ark., 1993; Futehally, 1982; Han & Li, 1992). Ancak bu yaklaşımlar istenilen hedeflere ulaşmak için mümkün olmamıştır.

Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm (ISSR) PCR, dinükleotidin, tetranükleotidin veya pentanükleotidin tekrarlarına dayalı primerler kullanılarak, araştırmacılar arasında şimdi moda haline gelmiştir (Zietkiwicz ve ark., 1994). ISSR'ın avantajları içinde yüksek tekrarlanabilirliği, iyi bir kararlılık, düşük maliyet, basit bir prosedür olmasından dolayı ISSR markırları genetik haritalamada (Tanyolac 2003; Casaoli ve ark., 2001; Cekic ve ark., 2001), germplasmayı tanımlama (Nagaoka ve ark., 1997; Fang ve ark., 1998; Potter ve ark., 2002) ve genetik çeşitlilik analizinde (Wu ve ark., 2005; Joshi ve ark., 2000; Ash ve ark., 2003) başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Şimdiye kadar, RAPD belirteçleri (Guo ve ark., 2003; Amiri ve ark., 2001) ve izoenzimleri (Zhang ve ark., 2000) kullanılarak *C. tinctorius* L. genetik varyasyonları üzerinde birkaç çalışma yapılmıştır.

Birleştirilen biyokimyasal ve moleküler markör veri kullanıldığında, genetik çeşitlilik değerlendirmesinin etkinliği bir yetiştirme programında kullanılmak üzere geliştirilecektir (Khan, 2008; Basha, 2009). Aspir genotipleri dünyanın farklı coğrafi bölgeler arasında önemli bir çeşitlilik göstermiştir (Knowles 1969). Tohum yağının yağ asidi bileşimi, yağ asitlerinin hem zincir uzunluğu hem de desatürasyon derecelerindeki değişimi ile hem türler arasında hem de içerisinde dikkat çekecek derecede çeşitlenmiştir. Yağlı asit bileşimi için genetik varyasyon yağlı tohum ürünleri içindeki yağ kalitesinin genetik iyileştirilmesi için çok önemlidir (Hamdan ve ark., 2008).

Aspir bitkisi için geliştirilen bir harita bulunmamasına karşın aspirde genetik haritalama çalışmalarını yapmak üzere populasyonlar geliştirilmeye başlanmıştır. Mayerhofer ve ark., (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, 138 bireyden oluşan F2 haritalama populasyonu Centennial ve NP-12 anaçlarının melezlenmesinden ve 120 bireyden oluşan interspesifik BC1 populasyonu *C. oxycanthus* ve Centennial (yüzyıllardır aspir melezlemesinde kullanılan bir hat)'ın melezlemesi ile üretilmiştir. Haritalama için kodominant RFLP ve SSR markırları kullanılmış ve her iki haritalama populasyonunda 12 bağlantı grubu oluşturulmuştur. F2 populasyonunda bağlantı grupları 9-379 cM, BC1 populasyonunda ise 3-44 cM uzunluğunda değişmiştir.

Aspirdeki genetik varyasyon agro-morfolojik özellikleri (Dwiedi, 2005; Pascual-Villalobos, 1996), tohumun biyokimyasal özellikleri (Rojas, 1993; Han, 1992) ve EST-SSR (Chapman, 2009), AFLP (Ash, 2003), ISSR (Yang, 2007; Sabzalian, 2009) ve

RAPD (Mahasi, 2009; Amin, 2008) dahil olmak üzere moleküler belirteçler kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca, aspir melezlerinin genetik saflığı aspirde EST-SSR belirteçleri kullanılarak tahmin edilmiştir (Naresh, 2009).

Bassiri (1977) izozimleri kullanarak, yabani aspir ekotiplerini tanımlamış ve Carapetian ve Estilai (1997)' da aspir melezlerini tanımlamıştır. Zhang (2001)' de izozimler ile çok sayıda ülkeden gelen 89 aspir üyelerini karakterize etmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleri kullanımı aspir için daha az rapor edilmiştir. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) belirteçleri, İran yerel çeşitlerinde dahil olmak üzere 28 aspir üyesinin varyasyonunu tespit etmek için Yazdi- Samadi ve ark., (2001) tarafından kullanmıştır. Yazdi-Samadi ve ark., (2001), RAPD belirteçlerinin DNA seviyesindeki aspir çeşitlilik özelliklerinin belirlenmesi için yararlı olduğu sonucuna varmışlardır. Sehgal ve Raina (2005), RAPD, basit dizi tekrarlar ve fragmanı uzunluk polimorfizmi (AFLP) kullanılarak 14 Hint aspir çeşitlerinin karakterize etmiştir. AFLP belirteçlerinin çeşitlerin genotipi için yeterli iki primer çifti ile çalışmadaki en etkili sistem olduğu bulunmuştur.

Naresh ve ark., (2009) tarafından aspir melezinin tanımlanması için beş EST-SSR işaretleyicisi yayınlanmış ve bunların marker seleksiyonunda yararlı olduğu rapor edilmiştir. Buna ek olarak, Mayerhofer ve ark., (2010) tarafından, bugüne kadar aspirdeki SSR'lerin detaylı koleksiyonu (1000'den fazla) oluşturulmuş ve bu türün ilk büyük bağlantılı analizi yapılmıştır. Bu yazarlar bir aspir genomik kütüphanesinden 32 polimorfik SSR'ın bir dizisi ve 153 polimorfik aspir EST-SSR'ın bir dizisi haritalanmış, karakterize edilmiş ve *Carthamus* içerisindeki türlerin filogenetik analizi için başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Bowles ve ark., 2010). Tanımlanan gen (örneğin EST-türevli) ve genomik-SSR'ın daha fazla polimorfik olan genomik SSR'lar ile tamamlayıcı olma eğilimindedir, fakat gen-zengini bölgelerde yoğunlaşmış değildir (Varshney ve ark., 2005). Ayrıca, bütün bir genetik harita elde etmek aspirdeki markır yoğunluğunu artırmak gerekmektedir.

Tarımsal özellikleri (Amini ve ark., 2008; Ashri 1975; Jaradat ve Shahid 2006) ve moleküler özellikleri (Amini ve ark., 2008; Johnson ve ark., 2007; Sehgal ve Raina 2005; Yang ve ark., 2007) için aspirdeki genetik varyasyon önceden rapor edilmiştir.

Basit diziler arası tekrarlar primer başına çok sayıda polimorfik parçaları ile baskın bir markır olarak genom çeşitliliğini karakterize edilmesi için (Yang ve ark., 1996) ve genetik varyasyonu (Joshi ve ark., 2000; Kantetky ve ark., 1995) ortaya çıkarmak için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Son zamanlarda, ekili (Yang ve ark.,

2007) ve vahşi (Ash ve ark., 2003) aspir germplazması arasındaki genetik çeşitlilik konusunda etkili bir şekilde bilgi sağlanmıştır.

2.3. *Carthamus tinctorius*'a ait Kromozom Çalışmaları ve Karyotiplendirme

Kromozom karyotipleri bitki taksonomisi, hibrid populasyonların analizi, tür tespitinde, ıslah bilgisi ve genetik çalışmalarda yararlıdır.

Kromozomlar şekil, büyüklük ve sentromerin bulunduğu bölgeler yönünden birbirlerinden farklıdırlar. Kromozomların morfolojik yapıları göz önüne alınarak yapılan gruplamaya **karyotip** adı verilir. Burada sentromerin lokalizasyonu en önemli kriterdir. Metafaz safhasında her bir kromozom duplike olmuş haldedir. Meydana gelen yeni kromozomlara **kromatit** denir. Aynı kromozomun meydana getirdiği iki kromatit birbirinden ayrılmaz.

Bunlar sentromer vasıtasıyla bir arada tutulurlar. Kromozomlar sentromerin bulunduğu bölgeye göre gruplandırılır ve isimlendirilir. Sentromeri ortada bulunanlara **metasentrik**, orta ile bir uç arasında yerleşmiş bulunanlara **submetasentrik**, uca yakın olanlara **akrosentrik** ve sentromeri tam uçta bulunanlara da **telosentrik** kromozomlar adı verilir.

Bir türe ait fertlerin karyotipleri incelenerek, sayı, şekil, büyüklük farklılıkları, kopma, kırılma gibi anormallikler belirlenerek söz konusu fertlerdeki fenotipik varyasyonların nedenleri bulunmaya çalışılır. İşte bu amaçla kromozom inceleme teknikleri geliştirilmiştir.

C. tinctorius (2n = 2x = 24), genellikle aspir olarak bilinen, kabile Cynareae, alt familyası Tubulifloreae ve aile Asteraceae'nın bir üyesidir. Akdeniz Bölgesi'nin doğu bölümü cinsin orijin merkezi olarak kabul edilir (Ashri & Knowles, 1960).

Aspir (*C. tinctorius* L. 2n = 24 x = 12, aile Asteraceae) dalladeğişken sayılı dallara ve güçlü bir merkezi dallı gövdeye sahiptir. Brakte ve yaprakların üzerinde genellikle devedikeni gibi birçok uzun sivri dikenlere sahiptir ve otsu tipik bir bitkidir (Helm ve ark., 1991). Küresel olarak, 60 ülkede yıllık üretimi 0.79 milyon ton ile yaklaşık 1.2 milyon hektar alanda aspir üretilmektedir (Singhal, 1999). Hindistan yüksek dönüm (%60, 0.43 milyon hektar) ile dünyadaki aspir çiçeğinin (%68, 0.2 milyon ton) en büyük üreticisidir ve iç bitkisel yağ pazarında ağırlıklı olarak üretilir (Johnson ve Marter, 1993). Aspir türleri ile geniş alana sahiptir. *Carthamus* cins içinde, 4 bölüme ayrılmış 20'den fazla türü bulunmaktadır (Knowles 1988). Birinci bölüm

(*C.oxyantha ve C.palaestinus*) 2n=20'e sahip, ikinci bölüm (*C.tinctorius, C.alexandrius, C.glaucus, C.syriacus ve C.tenuis*) 2n=24'e sahip, üçüncü bölüm (*C.lanatus* 2n=44) ve dördüncü bölüm (*C.baeticus* 2n=64) sahiptir. İlk iki bölüm diploitleri, üçüncü bölüm bir tetraploid ve dördüncü bölüm hekzaploit türlerinden oluşmuştur (Khidir, 1969).

Taksonun % 40'ı x=12 temel sayısı ile diploid türlerden oluşmuştur. Taksonun % 44' ü x=10 ve x=11 ile diploit türlerden oluşmuştur. Sadece % 16 oranında taksonda poliploidlerden oluşmuştur. x=10 veya x=11 veya x=12 üzerinde kurulan hiçbir poliploidi takson yoktur.

Yalancı safran, 12 kromozom çifti ile bir diploid (Ashri ve Knowles, 1960), baskın olarak kendi kendine tozlanabilen bir türdür, fakat çeşitli böcekler (Butler ve ark., 1966) ile polen transferi ile önemli ölçüde kendi soyu dışından üreme potansiyeline sahiptir.

Ekonomik öneme sahip bir yağ bitkisi olan *C. tinctorius* L. 'da çalışmalar daha çok verim (Bayraktar 1984), morfolojik (Toğan ve ark., 1979), kimyasal yapı ve mayotik çalışmalara (Prasad ve ark., 1990, 1991) yönelik olmuştur. Kromozomlar ile ilgili çalışma yapan Darlington ve ark., (1961), *Carthamus* L.'nin temel kromozom sayısının x=8-12 arasında bulunduğunu, diploid *C. tinctorius* L. 'nin 2n=24 kromozoma sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ashri (1957), 19 *Carthamus* L. türünde yaptığı sitogenetik araştırmalarında 2n=20, 24, 44, 64 kromozom tespit etmiştir. *C. tinctorius* L. 'da yaptığı çalışmalarda kromozom sayısını 2n=24 bulan Knowles (1958) kromozomların büyüklükçe çok farklı olmadığını ve medyan sentromerli olduğunu bildirmiştir. Khıdır ve Knowles (1970 a), *C. tinctorius* L. türünün n=12 kromozomu bulunduğunu tespit etmişlerdir. Morfolojik olarak n=10 kromozomlu seksiyon üyelerine benzeyen *C. tinctorius* L. (2n=24)'nin n=10 kromozomlularla akrabalığının tetkiki Schank ve Knowles (1964)'in çalışmalarında görülmektedir. Imrie ve Knowles (1970), *C. tinctorius x C. flavescens* melezleme çalışmalarında bu türlerin çok yakın akraba olduklarını ve kromozom sayılarını da 2n= 24 olarak bildirmişlerdir.

Aydem (1979), Türkiye'den topladığı *Carthamus* L. cinsine ait türleri 4 seksiyona ayırmıştır. *Carthamus* seksiyonundan *C. flovescens* Willd'in kök ucu hücrelerinde yapılan sitolojik incelemelerde kromozom sayısını 2n=24, diğer *Carthamus* türlerinde ise 2n=20, 44, 64 arasında değişen sonuçlar bulmuştur. Fakat kromozom morfolojisinde detaya inmemiştir. Daha ziyade morfolojik ve anatomik çalışmalar yapmıştır.

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırma materyalini oluşturacak *C. tinctorius* L. türüne ait bazı çeşit ve hatlar Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkiler Bölümü, Arş. Gör. Dr. Rahim ADA tarafından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bazı çeşitler patentli olan bitkisel gen kaynaklarından oluşmaktadır. Hatlar ise ilgili öğretim elemanı tarafından klasik seleksiyon ile oluşturulmuş kaynaklara aittir. Toplam 31 örnek bu çalışmada genotiplendirilmiştir. Aspir türüne ait bazı çeşit ve hatların kodları tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Aspir türüne ait bazı çeşit ve hatların kodları

Örnek No	Örnek Kodu	Çeşitlerin Kodu
1	**Tcar 1**	Black sun 2
2	**Tcar 2**	J-41
3	**Tcar 3**	CB
4	**Tcar 4**	F4
5	**Tcar 5**	KS03
6	**Tcar 6**	KS07
7	**Tcar 7**	CT-8-3
8	**Tcar 8**	G8
9	**Tcar 9**	J-19
10	**Tcar 10**	A13
11	**Tcar 11**	A29
12	**Tcar 12**	H3
13	**Tcar 13**	E12
14	**Tcar 14**	C12
15	**Tcar 15**	J51
16	**Tcar 16**	G16
17	**Tcar 17**	Black sun 1
18	**Tcar 18**	F6
19	**Tcar 19**	C11
20	**Tcar 20**	Y 11-8-14-1
21	**Tcar 21**	A30
22	**Tcar 22**	F5
23	**Tcar 23**	J29
24	**Tcar 24**	C 2-8-1
25	**Tcar 25**	E5
26	**Tcar 26**	H7
27	**Tcar 27**	H14
28	**Tcar 28**	Dinçer
29	**Tcar 29**	Remzibey
30	**Tcar 30**	E1
31	**Tcar 31**	KS06

3.2. Sterilizasyon

Çalışmada kullanılacak tüm çözeltiler, tamponlar, kullanılan tüpler ve pipet uçları 121ºC de 20 dakika otoklavda sterilize edilerek kullanılmış ve sterilizasyonun gerçekleştiğini ve kontaminasyonun olmadığını kontrol amaçlı deneylerin her aşamasında kontrol grubu eklenmiştir.

3.3. Karyolojik Metot

C. tinctorius türüne ait bazı çeşit ve hatlardan elde edilen tohumlar çimlendirilmiş ve aralarındaki ilişkiler kromozom sayıları ve sentromer indekslerine göre belirlenmiştir. Kromozom sayımları ezme tekniği kullanarak somatik metafazda yapılmıştır (Goldblatt & Johnson, 1996). Bunun için özel çimlendirme dolabında çimlendirilen tohumların kök uçlarındaki meristemler kullanılmıştır.

Yaklaşık 1 cm uzunluktaki kök uçları alınarak önce sekiz saat 4°C'de 8-hidroksiguinolinle muamele edildikten sonra düşük sıcaklıkta 24 saat Karnoy ile fikse edilmiştir. Daha sonra materyal oda sıcaklığında 1 saat 5 N HCI ile hidroliz edilmiştir. Boyama işlemi % 45 asetik asit eklenmiş % 1'lik asetik orsein ile yapılmıştır. Uygun metafaz elde edildikten sonra kromozomların resimleri çekilmiştir. Daimi preparat haline getirmek amacıyla numune nitrojen ile muamele edildikten sonra alkol serilerinden geçirilerek entellan ile kapatılmıştır.

Her bir çeşit için en az beş örneğe ait iyi dağılmış metafaz resimleri kullanılarak KAMERAM programıyla karyotip ölçümleri otomatik olarak hesaplanmıştır ve çeşitli simetri indeksleri kullanılarak çeşitler karyomorfolojileri bakımından karşılaştırılmıştır. Kromozom morfolojisinde Levan ve ark., (1964) tarafından ileri sürülen terminoloji kullanılmıştır. Her bir tür için diploid kromozom sayısı, değişim genişliği (range), en uzun/en kısa kromozom oranı, ortalama kısa kol uzunluğu, ortalama uzun kol uzunluğu, ortalama kromozom uzunluğu, toplam kromozom uzunluğu, ortalama sentromerik indeks ve karyotip formülleri verilmiştir. Ayrıca her çeşit için intrakromozomal asimetri (A1), interkromozomal asimetri (A2), kromozom uzunluğu değişim katsayısı (CV_{CL}), sentromerik indeks değişim katsayısı (CV_{CI}) ve asimetri indeksi (AI) değerleri hesaplanmıştır.

$$CG = \frac{ortalama\ kısa\ kol\ uzunluğu}{ortalama\ kromozom\ uzunluğu} X\ 100$$

CG: Sentromerik gradient

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{q_i}{p_i}}{n}$$

A_1: Kromozom içi asimetri indeksi (0 ile 1 arası değer alır)

n : Homolog kromozom çiftlerinin veya gruplarının sayısı

qi : Homolog kromozom çifti veya grubunun kısa kol uzunluklarının ortalaması

pi : Homolog kromozom çifti veya grubunun uzun kol uzunluklarının ortalaması

$$A_2 = \frac{s_{CL}}{x_{CL}}.$$

A2 : Kromozomlar arası asimetri indeksi

S_{CL} : Kromozom uzunluğu standart sapması

X_{CL}: Kromozom uzunluğu ortalaması

$$CV = \frac{s_{CL}}{x_{CL}} \times 100,$$

CV: Kromozom uzunluğu değişim katsayısı

S_{CL} : Kromozom uzunluğu standart sapması

X_{CL}: Kromozom uzunluğu ortalamsı

$$CV_{CI} = \frac{s_{CI}}{x_{CI}} \times 100.$$

CV_{CI} : Sentromerik indeks değişim katsayısı

S_{CI} : Sentromerik indeks standart sapması

X_{CI} : Ortalama sentromerik indeksi

$$CV_{CL} = A_2 \times 100 = \frac{s_{CL}}{x_{CL}} \times 100.$$

CV_{CL} : Kromozom uzunluğu değişim katsayısı

S_{CL} : Kromozom uzunluğu standart sapması

X_{CL} : Kromozom uzunluğu ortalamsı

$$(AI) = \frac{CV_{CL} \times CV_{CI}}{100}.$$

AI : Asimetrik indeksi

CV_{CL} : Kromozom uzunluğu değişim katsayısı

CV_{CI} : Sentromerik indeks değişim katsayısı

3.4. Moleküler Metot

3.4.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu Soltis tarafından modifiye edilen Doyle'nin metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Soltis ve ark., 1991). Bitki materyalinden genomik DNA`nın elde edilmesi için toplanan bitki örneklerinin her birinin kuru yapraklarından 0,01 gr alınarak sıvı azot ile porselen havanda ezilerek toz haline getirilmiş, ependorf tüpüne konulmuş daha sonra 65 ºC`da ısıtılmış DNA ekstraksiyon tamponundan [2 X CTAB] 500µ ilave edilerek aralıklarla karıştırılarak 60°C de 4 saat inkübe edilmiş ve 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 500 µl kloroform ilave edilmiş, 5 dakika 14.000 rpm'de santrifüjden sonra sıvı kısım yeni bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Üzerine tekrar 500 µl kloroform ilave edilmiştir. 5 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilip açık krem renkli sıvı kısım tekrar yeni bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 32 µl amonyum asetat, 233.3 µl izopropanol eklenip 3 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve sıvı kısım atılıp eppendorf tüpünün dibindeki pellete 1 ml % 70'lik etanol eklenmiştir. 3 dakika 14.000 rpm de santrifüj edilip sıvı kısım tekrar atılmış pellet kısmının kuruması için eppendorf tüpü 30 dakika vakumda bekletilmiştir. Bunun sonunda eppendorf tüpüne 50 µl 1x TE (Tris-EDTA) ilave edilmiş ve 15 dakika 65 ºC'de su banyosunda tutulmuştur. Daha sonra % 0,7'lik agaroz jele yüklenerek bantlar gözlenmiştir ve PCR amplifikasyonlarına kadar -20ºC'da saklanmıştır.

3.4.2. DNA konsantrasyonunun tayini

Sağlıklı bir PCR gerçekleşmesi için DNA konsantrasyonları ND 2000 ile spektral ölçümleri yapılmış olup veriler Tablo 1'de görülmektedir. DNA saflığı için ise A260/ A280= 1,8 formülü kullanılarak bulunan değere yakın olanlar saf DNA olarak düşünülmüş, çok büyük ve çok küçük değerler ise saf olmayan DNA elde edildiğine karar verilip tekrar izolasyonu yapılmıştır.

Tablo 2. Aspir çeşitlerine ait spektral sonuçlar

Örnek numarası	Nükleik Asit Konsantrasyonu	A260	A280	A260/280	A260/230
Tcar 1	3136,7	62,734	30,934	2,03	1,87
Tcar 2	2079,7	41,595	20,059	2,07	1,88
Tcar 3	2956,1	59,122	29,954	1,97	1,78
Tcar 4	2644,9	52,898	25,967	2,04	1,9
Tcar 5	2019,9	40,397	19,274	2,1	1,94
Tcar 6	1589,5	31,789	15,315	2,08	1,85
Tcar 7	1476,3	29,526	14,369	2,05	1,61
Tcar 8	2478,4	49,568	27,613	1,8	1,58
Tcar 9	2536,8	50,735	26,824	1,89	1,63
Tcar 10	2374,4	47,488	25,16	1,89	1,63
Tcar 11	1311,2	26,223	12,836	2,04	1,7
Tcar 12	1341,9	26,839	14,855	1,81	1,45
Tcar 13	2895,7	57,915	31,097	1,86	1,59
Tcar 14	4159	83,18	41,003	2,03	1,95
Tcar 15	4882,5	97,65	46,983	2,08	2,02
Tcar 16	2602,2	52,043	25,451	2,04	1,76
Tcar 17	2295	45,9	21,803	2,11	1,98
Tcar 18	1830	36,599	17,431	2,1	1,86
Tcar 19	776	15,521	7,525	2,06	1,34
Tcar 20	2220,6	44,412	21,139	2,1	2,04
Tcar 21	2416,2	48,323	24,87	1,94	1,67
Tcar 22	2202,3	44,045	22,499	1,96	1,37
Tcar 23	1286,5	25,729	12,492	2,06	1,41
Tcar 24	1247,5	24,949	12,242	2,04	1,19
Tcar 25	2433,5	48,671	23,634	2,06	1,64
Tcar 26	2596,3	51,926	26,887	1,93	1,67
Tcar 27	864,6	17,291	8,234	2,1	1,68
Tcar 28	1625,9	32,519	16,118	2,02	1,62
Tcar 29	2052,4	41,047	20,136	2,04	1,64
Tcar 30	1347,3	26,946	12,952	2,08	1,66
Tcar 31	8612,8	172,256	91,465	1,88	1,98

3.5. Genetik Markır (ISSR-PCR)

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ve bir türe ait farklı çeşit ve hatların genotiplendirilmesinde genellikle Polimeraz zincir Reaksiyonu prensibine bağlı çalışan moleküler belirleyiciler (markırlar) kullanılmaktadır. Bu belirleyici tekniklere RAPD, ISSR, AFLP örnek olarak verilebilir. Bu yöntemlerin genetik varyasyonu belirlemede az çok duyarlılık farkları bulunsa da temel ödevler açısından hepsi aynı rolü üstlenir. DNA'ları izole edilen çeşitler 10 ISSR primeri ile ISSR-PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR reaksiyonu 0.2 ml'lik tüplerde 25µl'lik toplam reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler, primerlerin no'su, nükleotid dizilimleri ve baz sayıları tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan Primerler, Primerlerin No'su, Nükleotid Dizilimleri ve Baz Sayıları

Sıra No	Primer No	Nükleotid Dizilimi (5'-3')	Baz Sayısı
1	UBC808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	17
2	UBC810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17
3	UBC824	TCT CTC TCT CTC TCT CG	17
4	UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	17
5	UBC834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	18
6	UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	18
7	UBC840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	18
8	UBC847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	18
9	UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	18
10	UBC857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	18

3.6. ISSR-PCR Amplifikasyonları

Öncelikli olarak seçilen primerlerden her biri için $MgCl_2$, Primer ve Taq polimeraz enzim miktarlarını kullanılacak en uygun yöntem araştırılmış ve araştırmalar sonucunda Zietkiewicz ve ark. (1994)'nın belirttiği ISSR protokolü kullanılmıştır. Denemelerde en uygun ve optimize Tm sıcaklıklarını belirlemek için gradient uygulanmıştır.

ISSR analizi 25 mikrolitre amplifikasyon reaksiyon çözeltisi**;** 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM $(NH4)_2SO_4$, 2 mM $MgCl_2$, 100 mM dATP, 100 mM dTTP, 100 mM dGTP, 100 mM dCTP, 0.2 mM primer, 1.0 unite Taq DNA polymerase ve 40 ng DNA içermektedir**.**

Amplifikasyonlarda; 94°C'de 2 dakika, 94 °C'de 1 dakika, 50-55 °C'de 60 saniye, 72°C'de 2 dakika oluşan döngü 45 kez tekrarlanmış ve son uzama basamağı 72 °C 10 dakikada gerçekleştirilerek PCR ürünleri elde edilmiştir.

3.7. Elektroforez

Yatay elektroforezde elde edilen PCR ürünlerinin elektroforezi 3.5 µl EtBr ile hazırlanan %1.2 (w/v) agaroz jele 3 µl PCR ürünü ve 2 µl yükleme solüsyonundan toplam 5 µl yükleyerek 1 X TAE tampon çözeltisinde içinde 100 V'da 45 dk, 1 saat yürütülmüş ve jeller UV transilluminatör yardımı ile görüntülenmiş ve UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir.

3.8. ISSR Verilerinin Analizi

ISSR primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PCR amplifikasyonları sonucunda elde edilen bantlar örneklerde bulunup bulunmadığı esas alınarak var/yok durumuna göre 1 ve 0 olarak skorlanmış, bu skorlar bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra genetik analizler NTSYS-pc 2.1 programı ile yapılmış ve örneklerin birbirlerine olan genetik uzaklıkları belirlenerek bu genetik uzaklıklara göre dendogramlar oluşturulmuştur.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Karyolojik Bulgular

Tcar 1- Black sun 2 (*C.tinctorius* L.)

Black sun 2 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **1A.** Metafaz, **1B.** Karyogram, **1C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 2- J-41 (*C. tinctorius* L.)

J-41 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **2A.** Metafaz, **2B.** Karyogram, **2C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 4- F4 (*C. tinctorius* L.)

F4 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **4A.** Metafaz, **4B.** Karyogram, **4C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 5- KS03 (*C. tinctorius* L.)

KS03 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan

çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **5A.** Metafaz, **5B.** Karyogram, **5C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 6- KS07 (*C. tinctorius* L.)

KS07 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **6A.** Metafaz, **6B.** Karyogram, **6C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 7- CT-8-3 (*C. tinctorius* L.)

CT-8-3 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **7A.** Metafaz, **7B.** Karyogram, **7C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 8- G8 (*C. tinctorius* L.)

G8 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **8A.** Metafaz, **8B.** Karyogram, **8C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 9- J19 (*C. tinctorius* L.)

J19 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **9A.** Metafaz, **9B.** Karyogram, **9C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 10- A13 (*C. tinctorius* L.)

A13 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **10A.** Metafaz, **10B.** Karyogram, **10C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 11- A29 (*C. tinctorius* L.)

A29 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **11A.** Metafaz, **11B.** Karyogram, **11C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 12- H3 (*C. tinctorius* L.)

H3 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 2 ve tablo 3'te verilmiştir. Şekil 1'de **12A.** Metafaz, **12B.** Karyogram, **12C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 13- E12 (*C. tinctorius* L.)

E12 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **13A.** Metafaz, **13B.** Karyogram, **13C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 14- C12 (*C. tinctorius* L.)

C12 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **14A.** Metafaz, **14B.** Karyogram, **14C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 15- J51 (*C. tinctorius* L.)

J51 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **15A.** Metafaz, **15B.** Karyogram, **15C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 16- G16 (*C. tinctorius* L.)

G16 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **16A.** Metafaz, **16B.** Karyogram, **16C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 17- Black sun 1 (*C. tinctorius* L.)

Black sun 1 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **17A.** Metafaz, **17B.** Karyogram, **17C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 18- F6 (*C. tinctorius* L.)

F6 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **18A.** Metafaz, **18B.** Karyogram, **18C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 19- C11 (*C. tinctorius* L.)

C11 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **19A.** Metafaz, **19B.** Karyogram, **19C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 20 - Y11-8-14-1 (*C. tinctorius* L.)

Y11-8-14-1 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **20A.** Metafaz, **20B.** Karyogram, **20C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 21- A30 (*C. tinctorius* L.)

A30 çeşdinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **21A.** Metafaz, **21B.** Karyogram, **21C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 22- F5 (*C. tinctorius* L.)

F5 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **22A.** Metafaz, **22B.** Karyogram, **22C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 23- J29 (*C. tinctorius* L.)

J29 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **23A.** Metafaz, **23B.** Karyogram, **23C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 24- CL-8-1 (*C. tinctorius* L.)

CL-8-1 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **24A.** Metafaz, **24B.** Karyogram, **24C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 25- E5 (*C. tinctorius* L.)

E5 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **25A.** Metafaz, **25B.** Karyogram, **25C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 26- H7 (*C. tinctorius* L.)

H7 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **26A.** Metafaz, **26B.** Karyogram, **26C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 27- H14 (*C. tinctorius* L.)

H14 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **27A.** Metafaz, **27B.** Karyogram, **27C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 28- Dinçer (*C. tinctorius* L.)

Dinçer çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **28A.** Metafaz, **28B.** Karyogram, **28C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 29- Remzibey (*C. tinctorius* L.)

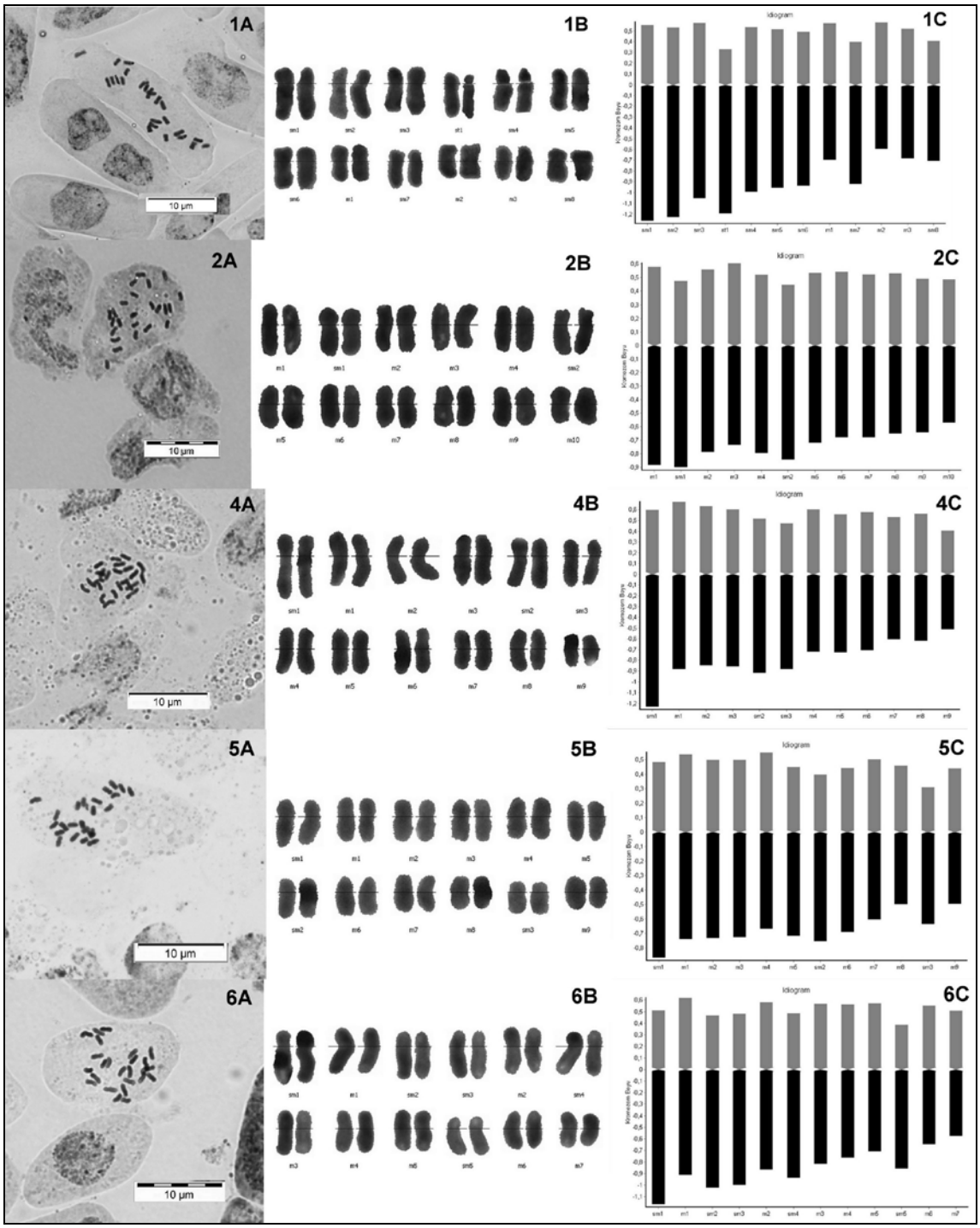
Remzibey çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **29A.** Metafaz, **29B.** Karyogram, **29C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 30- E1 (*C. tinctorius* L.)

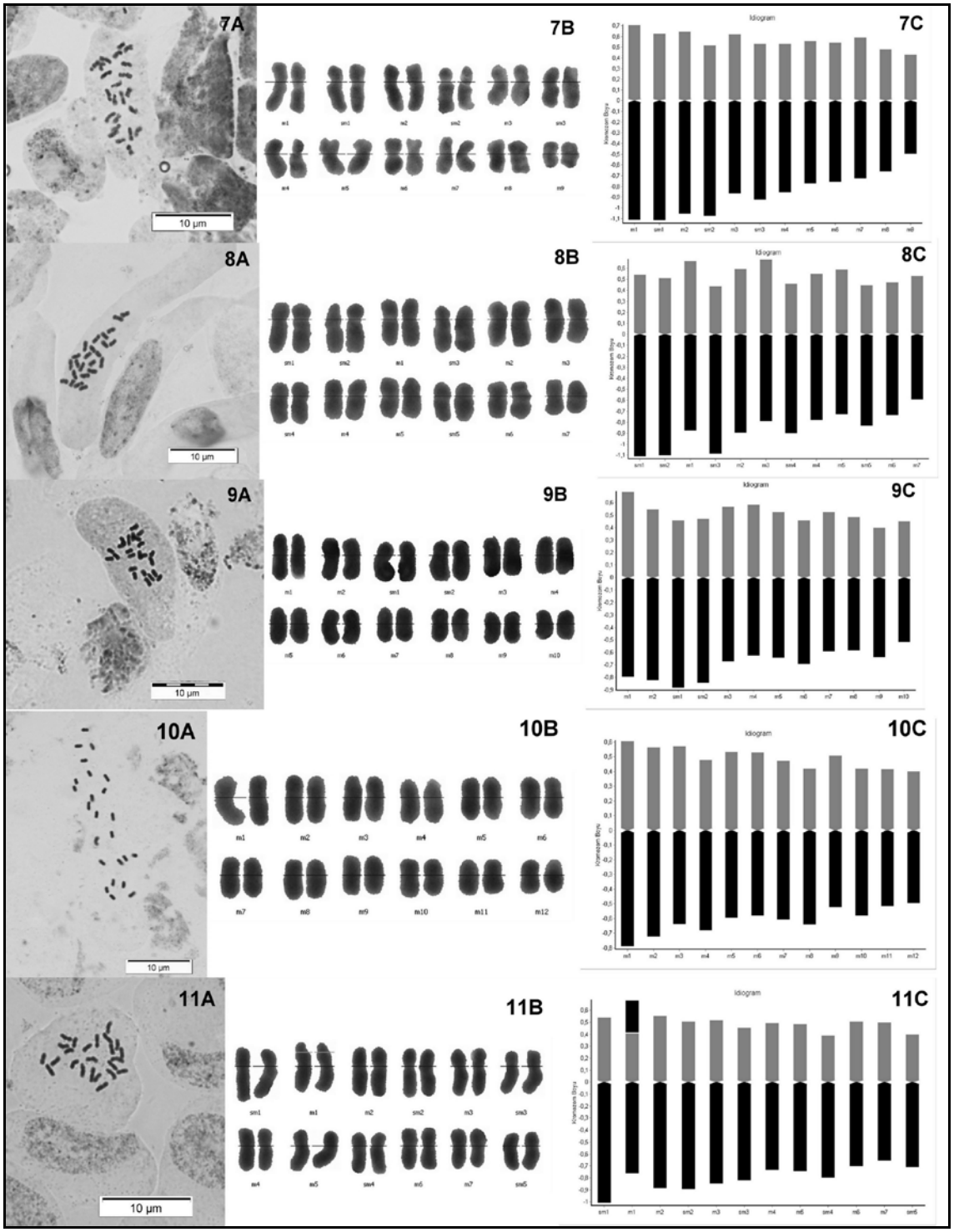
E1 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **30A.** Metafaz, **30B.** Karyogram, **30C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.

Tcar 31- KS06 (*C. tinctorius* L.)

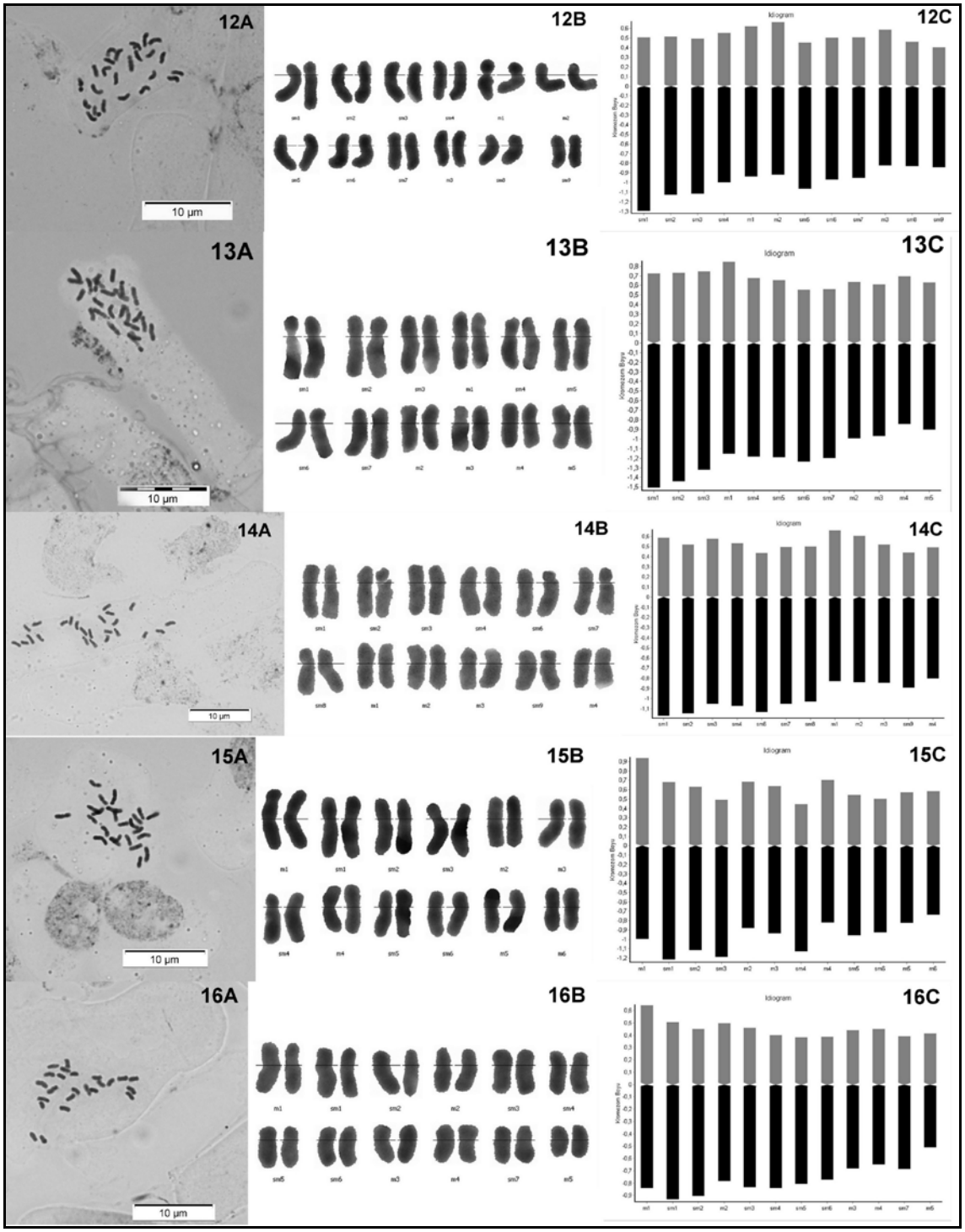
KS06 çeşidinin kromozom sayısı 2n=24 olarak belirlenmiştir. Karyotip analizlerine göre kromozomları metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşmaktadır. Temel kromozom sayısı x=12'dir. Diploid kromozom sayısına sahip olan çeşidin kromozom formülü ve asimetri indeksleri ile ilgili bilgiler tablo 4 ve tablo 5'te verilmiştir. Şekil 1'de **31A.** Metafaz, **31B.** Karyogram, **31C.** İdiogram görünümleri verilmektedir.



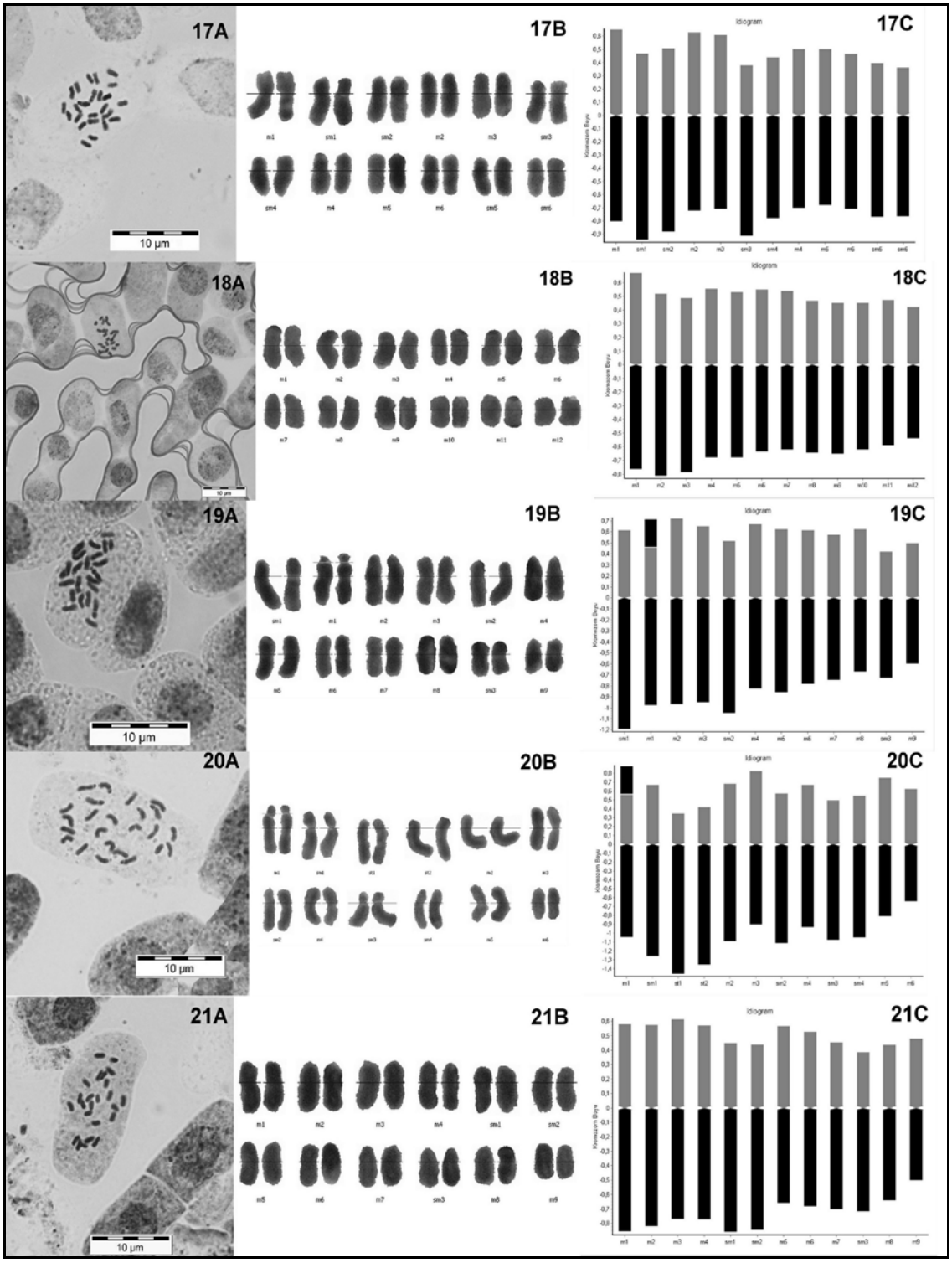
Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B.** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri



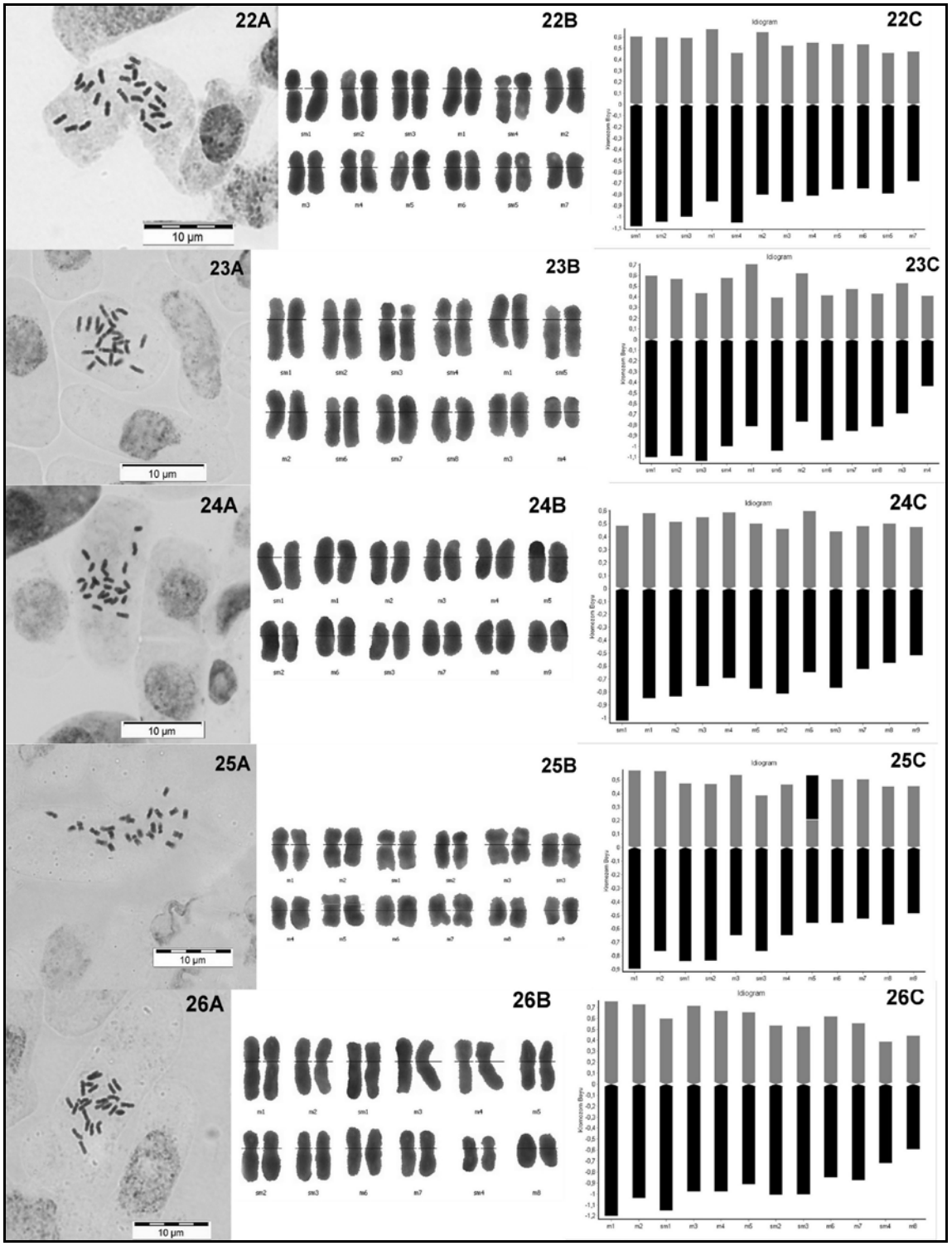
Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B.** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri



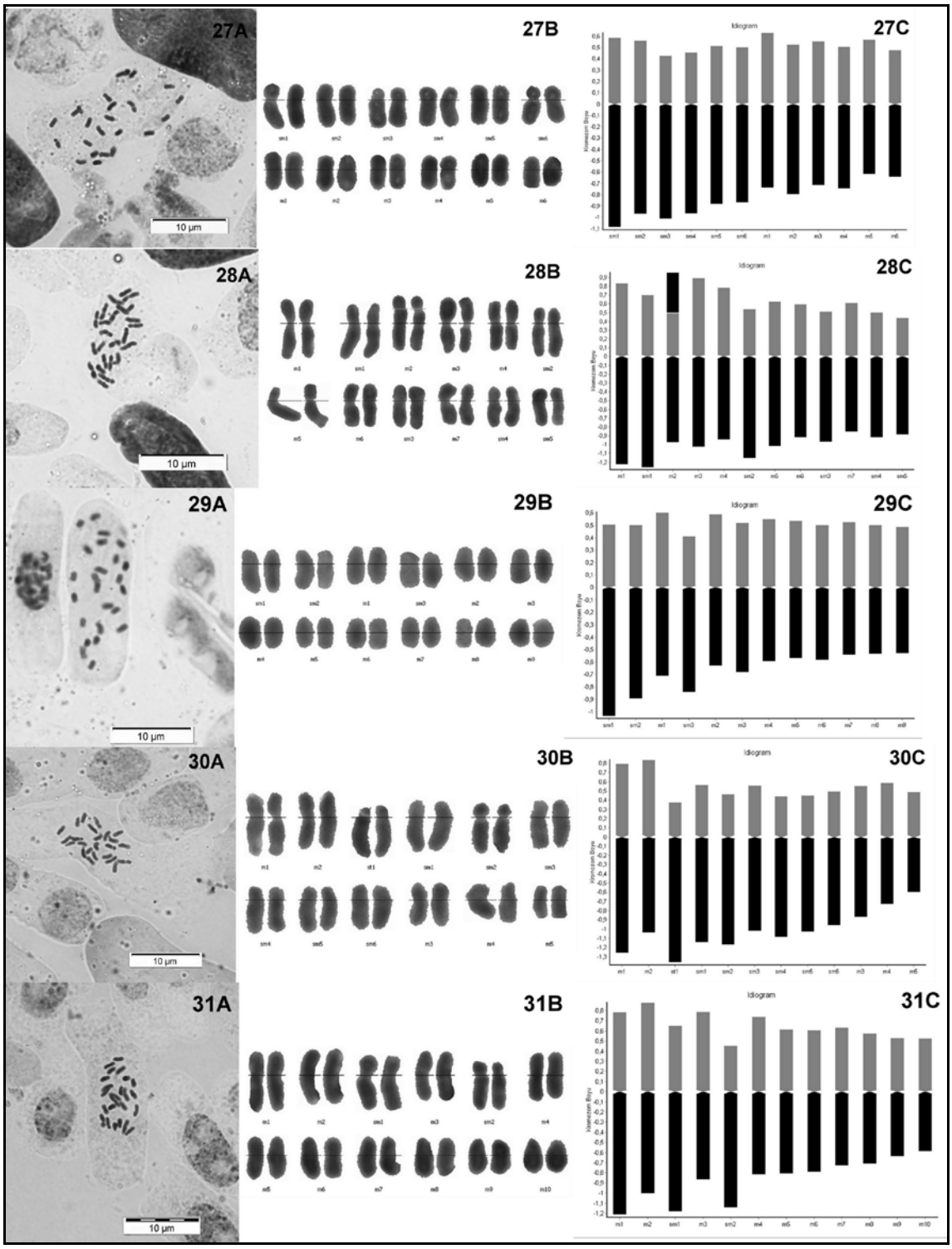
Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B.** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri



Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B.** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri



Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B.** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri



Şekil 1. *C. tinctorius* L. çeşitlerine ait **A.** Metafaz, **B,** Karyogram, **C.** İdiogram görünümleri

Tablo 4. Aspir *(C. tinctorius L.)* çeşitlerine ait kromozom ölçümleri **D**-Değişim katsayısı **DO**-En uzun kromozomun en kısa kromozoma oranı **KKU**-Kısa kol uzunluğu **UKU**-Uzun kol uzunluğu **KU**-Kromozom uzunluğu **TKU**-Toplam kromozom uzunluğu **SI**- Sentromerik indeks **KF**-Karyotip formülü **Ss**-Standart sapma **m**-metasentrik **sm**-submetasentrik **st**-subtelosentrik

No	Örnek Kodu	Çeşitlerin Kodu	2n	D Min-Maks	DO Maks /Min	KKU (µm) Ort±Ss	UKU (µm) Ort±Ss	KU(µm) Ort±Ss	TKU (µm)	SI Ort±Ss	KF
1	**Tcar 1**	**Black sun2**	24	1,11 - 1,81	1,637	0,50 (±0,08)	0,94 (±0,22)	1,43 (±0,22)	17,21	0,35 (±0,07)	16 sm + 2 st + 6m
2	**Tcar 2**	**J-41**	24	1,06 - 1,46	1,382	0,52 (±0,04)	0,74 (±0,10)	1,27 (±0,11)	15,19	0,42 (±0,04)	20 m + 4 sm
3	**Tcar 4**	**F4**	24	0,91 - 1,83	2,005	0,56 (±0,07)	0,79 (±0,18)	1,35 (±0,22)	16,25	0,42 (±0,05)	6 sm + 18 m
4	**Tcar 5**	**KS03**	24	0,93 - 1,35	1,443	0,46 (±0,06)	0,68 (±0,10)	1,14 (±0,13)	13,68	0,41 (±0,05)	6 sm + 18 m
5	**Tcar 6**	**KS07**	24	1,08 - 1,67	1,551	0,52 (±0,06)	0,86 (±0,16)	1,38 (±0,16)	16,55	0,38 (±0,06)	10 sm + 14 m
6	**Tcar 7**	**CT-8-3**	24	0,92 - 1,82	1,971	0,56 (±0,07)	0,87 (±0,19)	1,43 (±0,25)	17,16	0,40 (±0,04)	18 m + 6 sm
7	**Tcar 8**	**G8**	24	1,12 - 1,65	1,466	0,54 (±0,08)	0,87 (±0,16)	1,41 (±0,16)	16,88	0,38 (±0,06)	10 sm + 14 m
8	**Tcar 9**	**J-19**	24	0,97 - 1,48	1,532	0,51 (±0,07)	0,69 (±0,11)	1,20 (±0,14)	14,44	0,43 (±0,05)	20 m + 4 sm
9	**Tcar 10**	**A 13**	24	0,90 - 1,40	1,558	0,49 (±0,07)	0,61 (±0,08)	1,11 (±0,14)	13,28	0,44 (±0,03)	24 m
10	**Tcar 11**	**A 29**	24	1,10 - 1,54	1,396	0,50 (±0,07)	0,80 (±0,09)	1,30 (±0,13)	15,56	0,38 (±0,04)	10 sm + 14 m
11	**Tcar 12**	**H3**	24	1,24 - 1,80	1,448	0,52 (±0,07)	0,99 (±0,13)	1,51 (±0,15)	18,13	0,35 (±0,04)	18 sm + 6 m
12	**Tcar 13**	**E 12**	24	1,53 - 2,23	1,455	0,67 (±0,08)	1,16 (±0,20)	1,83 (±0,23)	21,99	0,37 (±0,04)	14 sm + 10 m
13	**Tcar 14**	**C 12**	24	1,29 - 1,75	1,357	0,53 (±0,06)	0,99 (±0,13)	1,52 (±0,13)	18,23	0,35 (±0,04)	16 sm + 8 m
14	**Tcar 15**	**J 51**	24	1,32 - 1,94	1,465	0,62 (±0,13)	0,98 (±0,15)	1,59 (±0,18)	19,14	0,39 (±0,06)	12 m + 12 sm
15	**Tcar 16**	**G 16**	24	0,92 - 1,48	1,609	0,45 (±0,07)	0,77 (±0,11)	1,22 (±0,15)	14,66	0,37 (±0,04)	10 m + 14 sm
16	**Tcar 17**	**Black sun 1**	24	1,13 - 1,45	1,292	0,49 (±0,09)	0,78 (±0,08)	1,27 (±0,11)	15,27	0,38 (±0,06)	12 m + 12 sm
17	**Tcar 18**	**F 6**	24	0,96 - 1,43	1,494	0,51 (±0,06)	0,67 (±0,08)	1,18 (±0,12)	14,13	0,43 (±0,03)	24 m
18	**Tcar 19**	**C 11**	24	1,10 - 1,81	1,647	0,60 (±0,09)	0,86 (±0,16)	1,46 (±0,21)	17,58	0,41 (±0,04)	6 sm + 18 m
19	**Tcar 20**	**Y11-8-14-1**	24	1,27 - 1,92	1,519	0,62 (±0,15)	1,06 (±0,22)	1,68 (±0,17)	20,19	0,37 (±0,09)	12 m + 8 sm + 4 st
20	**Tcar 21**	**A 30**	24	0,98 - 1,43	1,461	0,50 (±0,07)	0,74 (±0,10)	1,24 (±0,14)	14,89	0,41 (±0,04)	18 m + 6 sm
21	**Tcar 22**	**F 5**	24	1,15 - 1,69	1,47	0,55 (±0,07)	0,88 (±0,13)	1,43 (±0,16)	17,11	0,39 (±0,04)	10 sm + 14 m
22	**Tcar 23**	**J 29**	24	0,85 - 1,70	2,013	0,51 (±0,10)	0,89 (±0,19)	1,40 (±0,22)	16,83	0,37 (±0,07)	16 sm + 8 m
23	**Tcar 24**	**C 2-8-1**	24	0,99 - 1,50	1,523	0,51 (±0,05)	0,74 (±0,13)	1,25 (±0,14)	15,02	0,41 (±0,05)	6 sm + 18 m
24	**Tcar 25**	**E 5**	24	0,94 - 1,47	1,559	0,49 (±0,05)	0,68 (±0,13)	1,17 (±0,15)	13,99	0,43 (±0,05)	18 m + 6 sm
25	**Tcar 26**	**H7**	24	1,04 - 1,96	1,887	0,60 (±0,11)	0,94 (±0,16)	1,54 (±0,25)	18,48	0,39 (±0,03)	16,m + 8,sm
26	**Tcar 27**	**H 14**	24	1,12 - 1,67	1,493	0,52 (±0,05)	0,84 (±0,14)	1,36 (±0,14)	16,33	0,39 (±0,05)	12,sm + 12,m
27	**Tcar 28**	**Dinçer**	24	1,32 - 2,05	1,55	0,66 (±0,16)	1,01 (±0,13)	1,67 (±0,23)	20,081	0,39 (±0,05)	14,m + 10,sm
28	**Tcar 29**	**Remzibey**	24	1,02 - 1,54	1,508	0,52 (±0,05)	0,68 (±0,16)	1,20 (±0,15)	14,36	0,44 (±0,06)	6 sm + 18 m
29	**Tcar 30**	**E 1**	24	1,09 - 2,05	1,891	0,55 (±0,13)	1,02 (±0,21)	1,57 (±0,25)	18,85	0,35 (±0,07)	10 m + 2 st + 12 sm
30	**Tcar 31**	**KS06**	24	1,11 - 2,00	1,795	0,65 (±0,12)	0,87 (±0,20)	1,52 (±0,27)	18,24	0,43 (±0,06)	20 m + 4 sm

Tablo 5. Aspir *(C.tinctorius L.)* çeşitlerine ait karyotip simetrileri **A_1**- İntrakromozomal Asimetri **A_2**- **i**nterkromozomal Asimetri **CV_{CL}**-Kromozom Uzunluğu Varyasyon Katsayısı **CV_{CI}**-Kromozomal İndeks Varyasyon Katsayısı **AI**- Asimetri İndeksi

Örnek No	Örnek Kodu	Çeşitlerin Kodu	A_1	A_2	$C V_{CL}$	$C V_{CI}$	AI
1	**Tcar 1**	**Black sun 2**	0,43	0,153	15,284	20,255	3,096
2	**Tcar 2**	**J-41**	0,279	0,085	8,51	8,883	0,756
3	**Tcar 4**	**F4**	0,27	0,163	16,257	10,947	1,78
4	**Tcar 5**	**KS03**	0,303	0,113	11,261	11,513	1,296
5	**Tcar 6**	**KS07**	0,363	0,113	11,268	15,515	1,748
6	**Tcar 7**	**CT-8-3**	0,334	0,172	17,242	9,523	1,642
7	**Tcar 8**	**G8**	0,359	0,111	11,135	15,316	1,705
8	**Tcar 9**	**J-19**	0,248	0,12	11,98	10,791	1,293
9	**Tcar 10**	**A 13**	0,194	0,124	12,38	6,258	0,775
10	**Tcar 11**	**A 29**	0,368	0,1	10,023	10,095	1,012
11	**Tcar 12**	**H3**	0,464	0,096	9,64	12,584	1,213
12	**Tcar 13**	**E 12**	0,411	0,126	12,586	11,457	1,442
13	**Tcar 14**	**C 12**	0,455	0,089	8,888	12,865	1,143
14	**Tcar 15**	**J 51**	0,355	0,114	11,411	15,795	1,802
15	**Tcar 16**	**G 16**	0,406	0,125	12,5	11,008	1,376
16	**Tcar 17**	**Black sun 1**	0,362	0,083	8,29	14,539	1,205
17	**Tcar 18**	**F 6**	0,234	0,105	10,536	6,305	0,664
18	**Tcar 19**	**C 11**	0,285	0,144	14,421	10,678	1,54
19	**Tcar 20**	**Y11-8-14-1**	0,371	0,103	10,335	24,827	2,566
20	**Tcar 21**	**A 30**	0,302	0,109	10,94	10,968	1,2
21	**Tcar 22**	**F 5**	0,361	0,113	11,29	9,74	1,1
22	**Tcar 23**	**J 29**	0,397	0,16	15,957	18,506	2,953
23	**Tcar 24**	**CL-8-1**	0,284	0,112	11,186	11,934	1,335
24	**Tcar 25**	**E 5**	0,245	0,128	12,781	12,384	1,583
25	**Tcar 26**	**H 7**	0,364	0,164	16,377	8,518	1,395
26	**Tcar 27**	**H 14**	0,353	0,106	10,569	13,594	1,437
27	**Tcar 28**	**Dinçer**	0,342	0,139	13,901	13,756	1,912
28	**Tcar 29**	**Remzibey**	0,199	0,126	12,576	13,872	1,745
29	**Tcar 30**	**E 1**	0,439	0,156	15,602	20,037	3,126
30	**Tcar 31**	**KS06**	0,233	0,178	17,773	13,133	2,334

Aspir çeşit ve hatlarının karyolojik ve karyotip analizlerine göre seleksiyon ve melezleme çalışmaları açısından sitotiplerin oldukça yüksek bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Tcar 10 (A13) ve Tcar 18 (F6) kodlu aspir çeşitleri kromozomal açıdan varyasyonu en düşük olanlardır. Her ikisinin kromozomları tamamen metasentrik kromozomlardan oluşmaktadır (24m). Bu iki çeşidin aynı zamanda asimetri indeksleride oldukça düşük olup seleksiyon bakımından melezlemede anaç olarak kullanılabilecek yüksek potansiyelli çeşitler olduğu düşünülmektedir. Her iki çeşitde aynı noktadan toplanmış olması nedeniyle birbirleriyle oldukça yakın sitotiplerdir. Bunlar aynı zamanda bitki boyu, tohum ve yağ verimi açısından tamamen benzer çeşitlerdir. Tcar 1 (Black Sun 2) isimli Amerikan patentli çeşit karyotip formülü açısından eşsizdir (16sm+2st+6ms). Bu çeşidin kromozomal varyasyon açısından oldukça yüksek değişkenlik içerdiği belirlenmiştir. Bu değer aynı zamanda asimetri

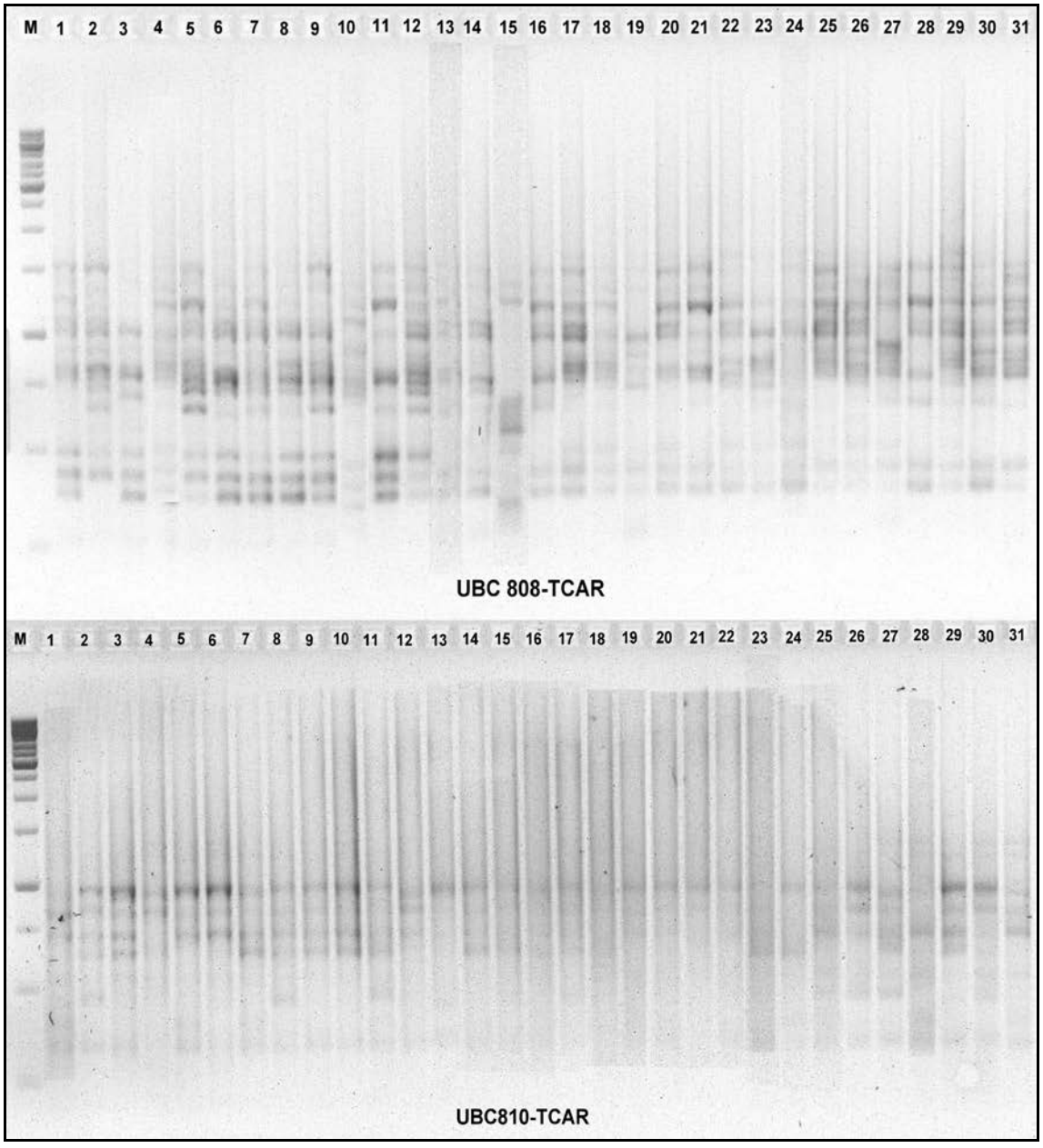
indeksine yansımıştır (3,096). Dolayısıyla karyotip formülündeki çeşitlilik, asimetri indeksinin yüksek olması çeşidin verim açısından potansiyeliyle korelasyon göstermektedir. Bu çeşit bitki boyu, tohum ve yağ verimi açısından istenilen niteliktedir. Buna benzer bir durum Tcar 30 (E1) içinde geçerlidir. İlk kez bu çalışma ile genotiplendirilen menşei ülkemize ait bu çeşidin asimetri indeksi yüksek olup (3,126), karyotip formülü çeşitli tipdeki kromozomları içermektedir (10m+2st+12sm). Bu çeşidin bitki boyu, tohum ve yağ verimliliği istenilen düzeydedir. Tcar 20 (Y11-8-14-1) çeşidi nispeten yüksek asimetri indeksine sahip olup (2,566), karyotip formülü diğer tüm çeşitlerden farklılık göstermektedir (12m+8sm+4st). Bu çeşidinde bitki boyu, tohum ve yağ verimliliği istenilen düzeydedir. İstenilen karakterler açısından yüksek potansiyele sahip bu üç çeşidinde melezleme çalışmalarından istenilen bir özelliği geliştirmede anaç olarak kullanılma potansiyeli görülmektedir. Tcar 28 (Dinçer) [14m+10sm] kendine özgü bir karyotip formülüne sahiptir. Türkiye menşei bu çeşidin asimetri indeksi (1,912) yukarıda söz edilen çeşitlere kıyasla daha düşük olup aranan karakterler açısından verimi birçok sitotipimizde olduğu gibi vasattır. Tcar 12 (H3) [18sm+6m] kendine özgü bir karyotip formülüne sahiptir. Türkiye menşei bu çeşidin asimetri indeksi (1,442) yukarıda söz edilen çeşitlere kıyasla daha düşük olup aranan karakterler açısından verimi birçok sitotipimizde olduğu gibi parelellik göstermektedir. Tcar 27 (H14) [12sm+12m], kendine özgü bir karyotip formülüne sahiptir. Türkiye menşei bu çeşidin asimetri indeksi (1,437) yukarıda söz edilen çeşitlere kıyasla daha düşük olup aranan karakterler açısından verimi birçok sitotipimizde olduğu gibi parelellik göstermektedir. Tcar 26 (H7) [16m+8sm], Türkiye menşei bu çeşidin asimetri indeksi (1,395) yukarıda söz edilen çeşitlere kıyasla daha düşük olup aranan karakterler açısından verimi birçok sitotipimizde olduğu gibi parelellik göstermektedir. Tcar 16 (G16) [10m+16sm] kendine özgü bir karyotip formülüne sahiptir. Türkiye menşei bu çeşidin asimetri indeksi (1,376) yukarıda söz edilen çeşitlere kıyasla daha düşük olup aranan karakterler açısından verimi birçok sitotipimizde olduğu gibi parelellik göstermektedir. Tcar 13 (E12) [14sm+10m] kendine özgü bir karyotip formülüne sahiptir. Asimetrik indeksi (1,143) yukarıda söz edilen çeşitlere göre düşüktür. Klasik seleksiyona göre soğuğa en dayanıklı, tohum ve yağ verimi açısından en yüksek performansa sahiptir. Bu çeşidin melezleme çalışmalarında istenilen bir çizelliği geliştirmede anaç olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Ortak karyotip formüllere sahip olan çeşitlerimiz Tcar 2 (J41), Tcar9 (J19), Tcar 31 (KS06) [20m+4sm]; Tcar 4 (F4), Tcar 5 (KS03), Tcar 19 (C11), Tcar 24 (CL-8-1), Tcar29 (Remzibey) [6sm+18m];

Tcar 6 (KS07), Tcar 8 (G8), Tcar 11 (A29), Tcar22 (F5) [10sm+14m]; Tcar 7 (CT-8-3), Tcar 21 (A30), Tcar 25 (E5) [18m+6sm]; Tcar 13 (E12) [14sm+10m]; Tcar 14 (C12), Tcar 23 (J29) [16sm+8m]; Tcar 15 (J51), Tcar 17 (Black sun1) [12m+12sm]'dır. Amerika patentli Tcar 31 (KS06), Tcar 5 (KS03), Tcar 6 (KS07), Tcar 17 (Black sun1) çeşitlerin diğer ortak karyotip formülüne sahip Türkiye menşei çeşitlere göre bitki boyu, tohum ve yağ verim açısından daha yüksek potansiyele sahiptir. Türkiye menşeyli satellit bulunduran çeşitlerimiz Tcar 11 (A29) [10sm+14m]; Tcar 19 (C11) [6sm+18m]; Tcar20 (Y11-8-14-1) [12m+8sm+4st]; Tcar 25 (E5) [18m+6sm]; Tcar 28 (Dinçer) [14m+10sm]'dir. Türkiye menşeyli bu çeşitler bitki boyu, tohum ve yağ verimi açısından parelellik göstermektedir.

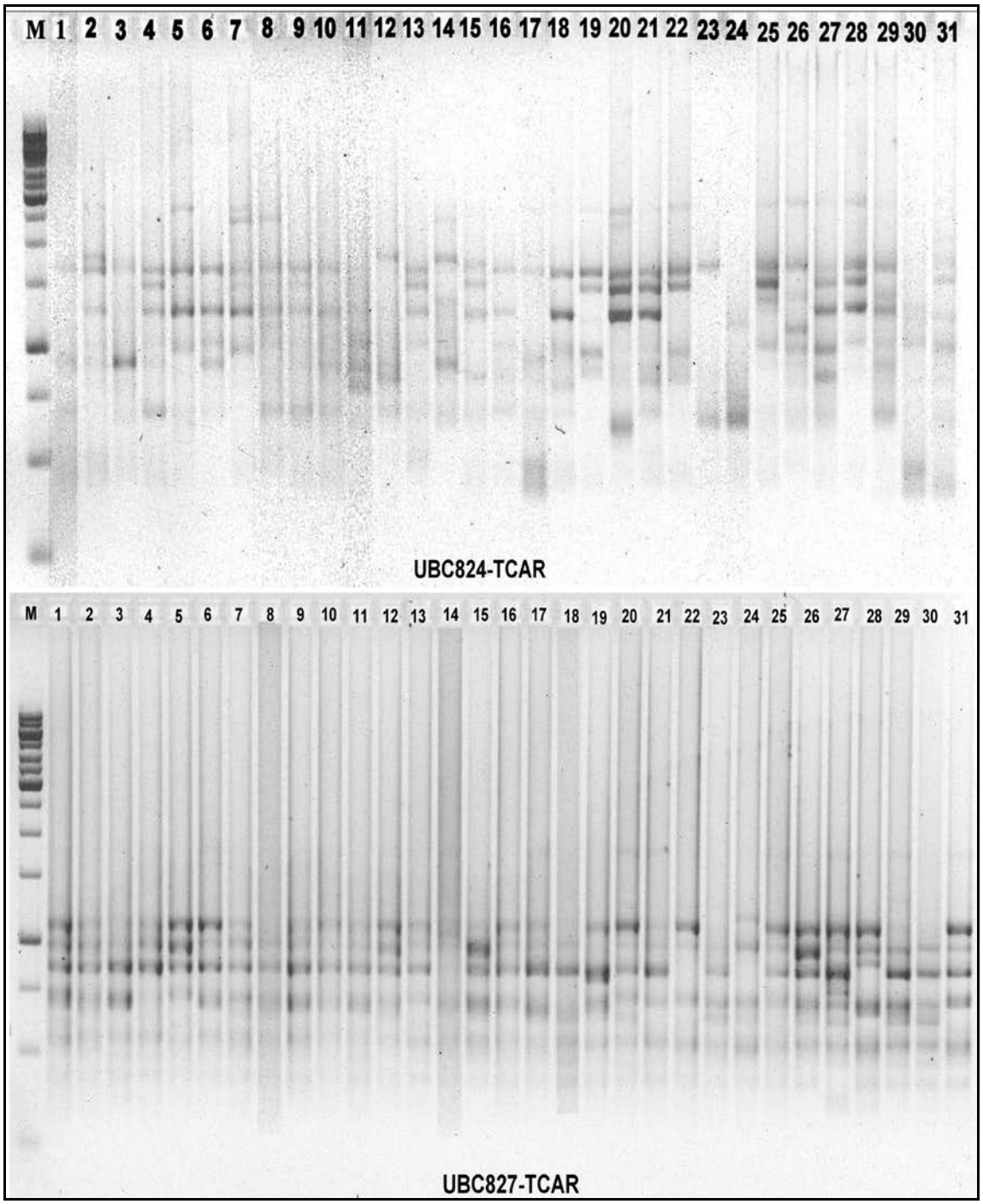
Verilerimiz daha önce bu konuda yapılan çalışmalarla [Knowles,1958; Ashri ve Knowles, 1960; Darlington ve ark., 1961; Khıdır, 1969; Imrie ve Knowles, 1970; Khıdır ve Knowles, 1970 a; Knowles 1988; Helm ve ark., 1991; Yenice ve Bayraktar 1996; Dağeri ve ark., 2007; Sehgal ve ark., 2009; Anjali ve Srivastava 2009, 2012] örtüşmekte olup tüm çeşitlerimiz için kromozom sayısı 2n=24 (diploid) olarak belirlenmiştir. Ayrıca kromozomal çalışmalarımız kromozom morfolojisi ile ilgili önceki bilgileri teyit etmekle birlikte bu çalışmada yeni karyotip formüllerine sahip sitotipler tarafımızdan belirlenmiştir.

4.2. Moleküler Bulgular

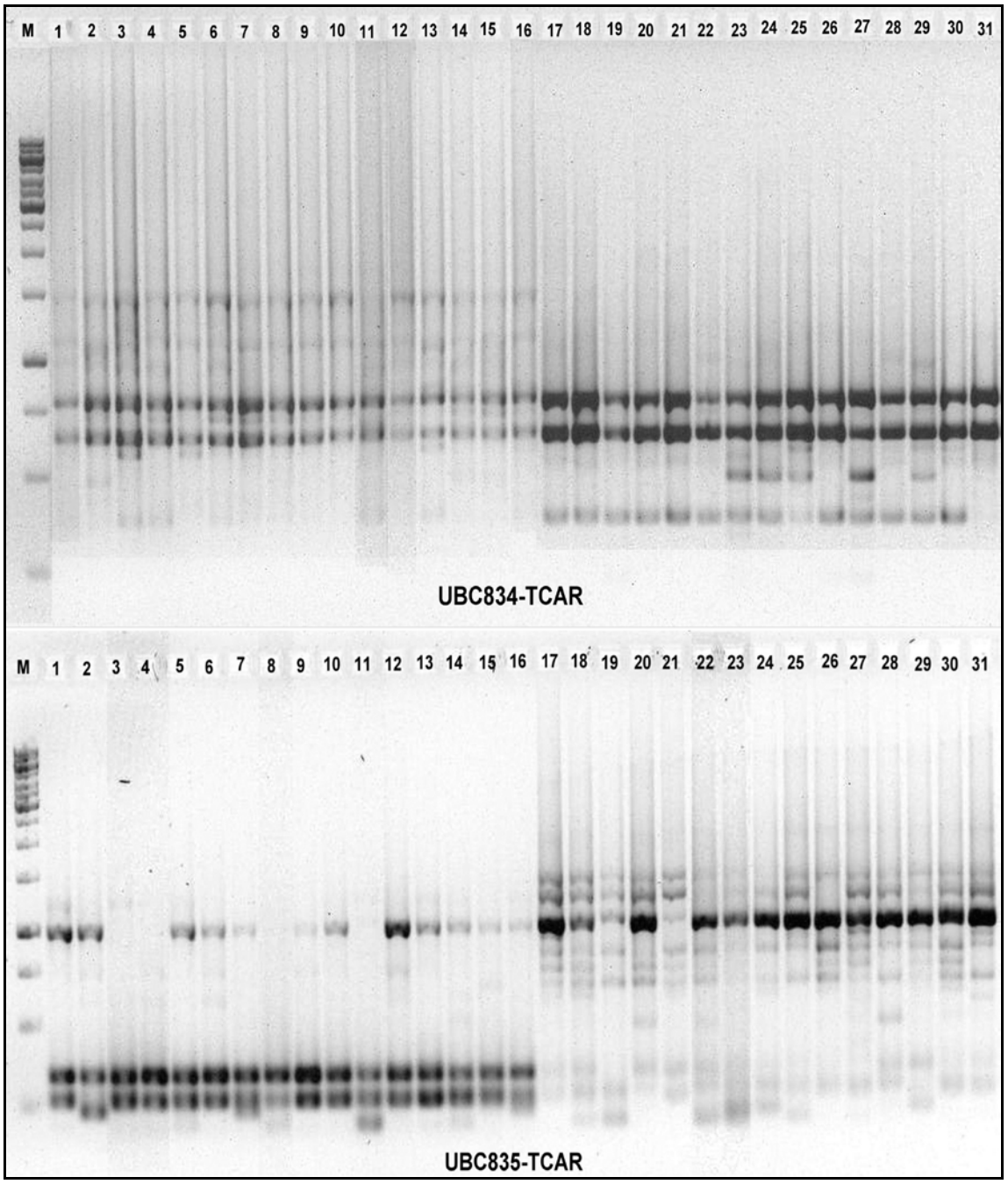
ISSR analizleri, *C. tinctorius* L.'a ait 31 çeşidin genotipini karakterize etmek ve aralarındaki genetik ilişkiyi tanımlama amacı ile kullanılmıştır. PCR amplifikasyonları sonunda yapılan agaroz jel görüntüsü şekil 2'de verilmiştir. *C. tinctorius* L.'a ait 31 çeşidin agaroz jel görüntüsü tablo 1'deki örnek no ve örnek koduna göre yüklenmiştir.



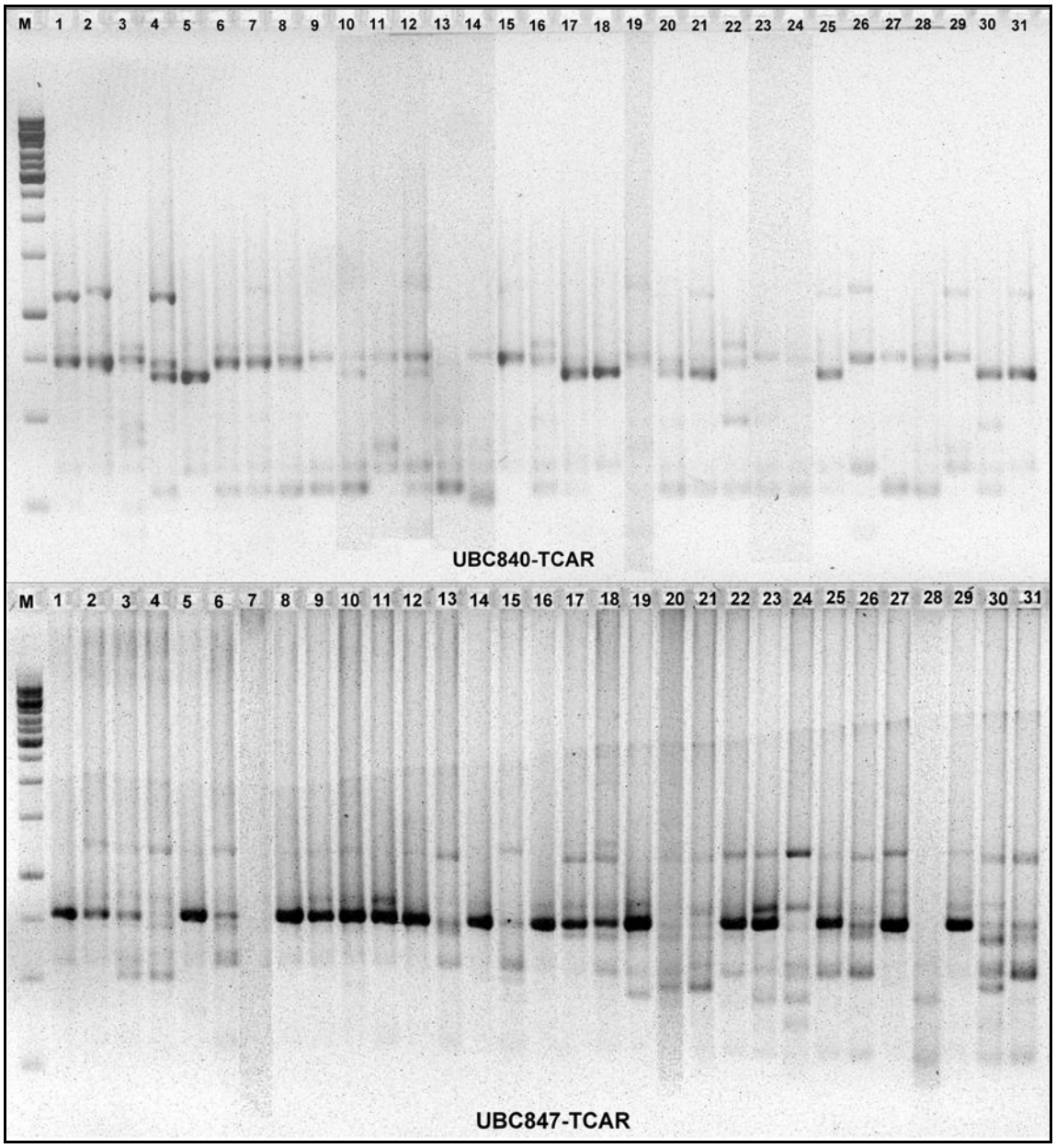
Şekil 2. UBC808-UBC810 primerleriyle elde edilen aspir çeşitlerine ait DNA profilleri



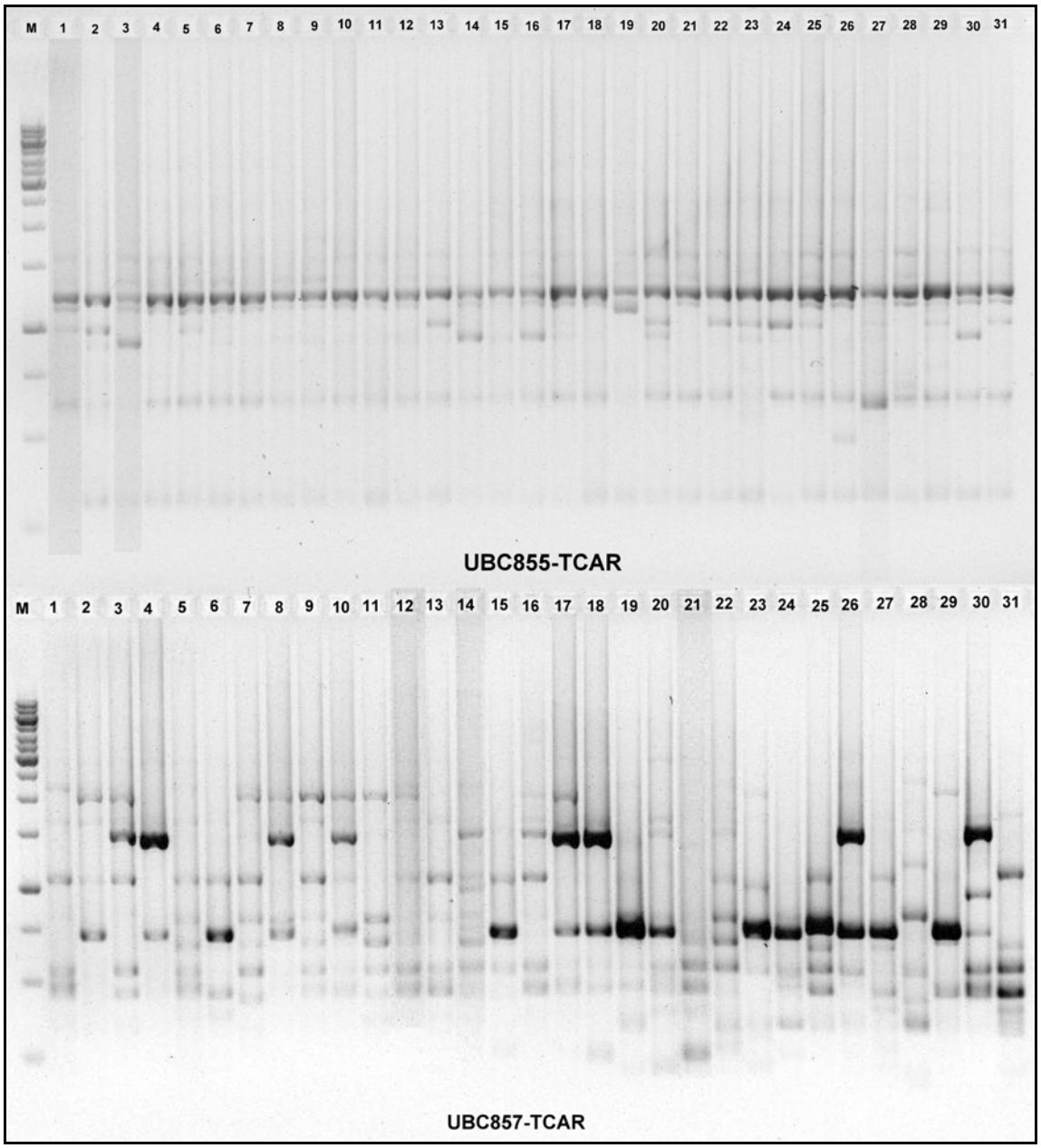
Şekil 2. UBC824-UBC827 primerleriyle elde edilen aspir çeşitlerine ait DNA profilleri



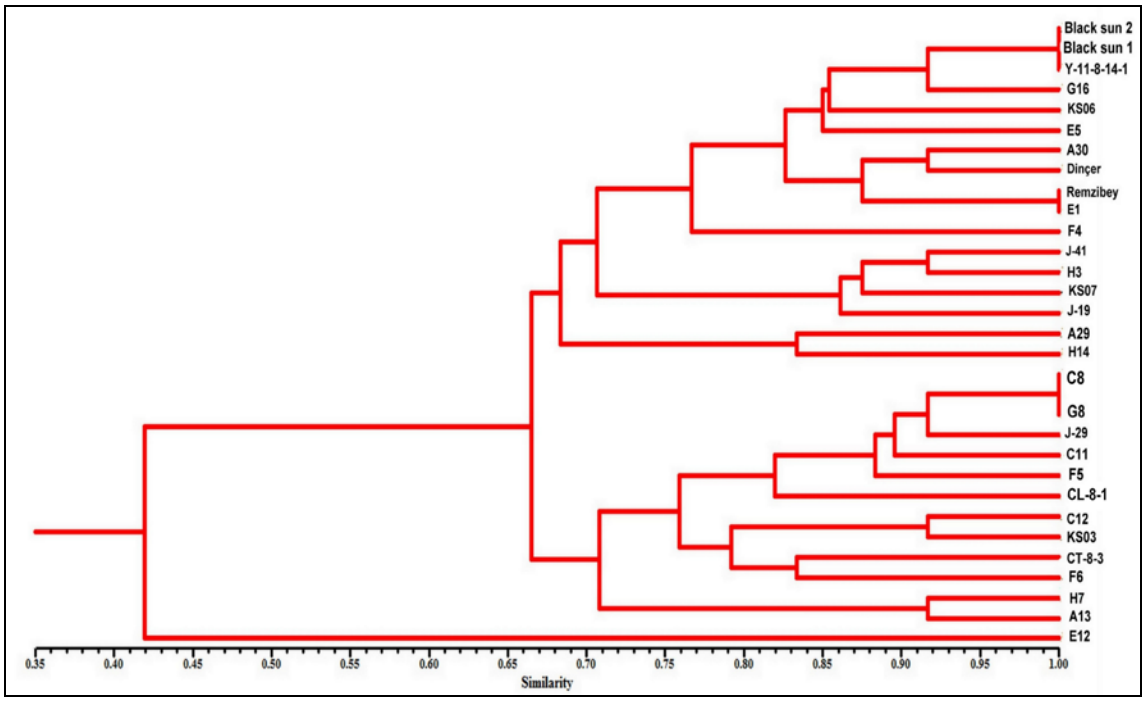
Şekil 2. UBC834-UBC835 primerleriyle elde edilen aspir çeşitlerine ait DNA profilleri



Şekil 2. UBC840-UBC847 primerleriyle elde edilen aspir çeşitlerine ait DNA profilleri



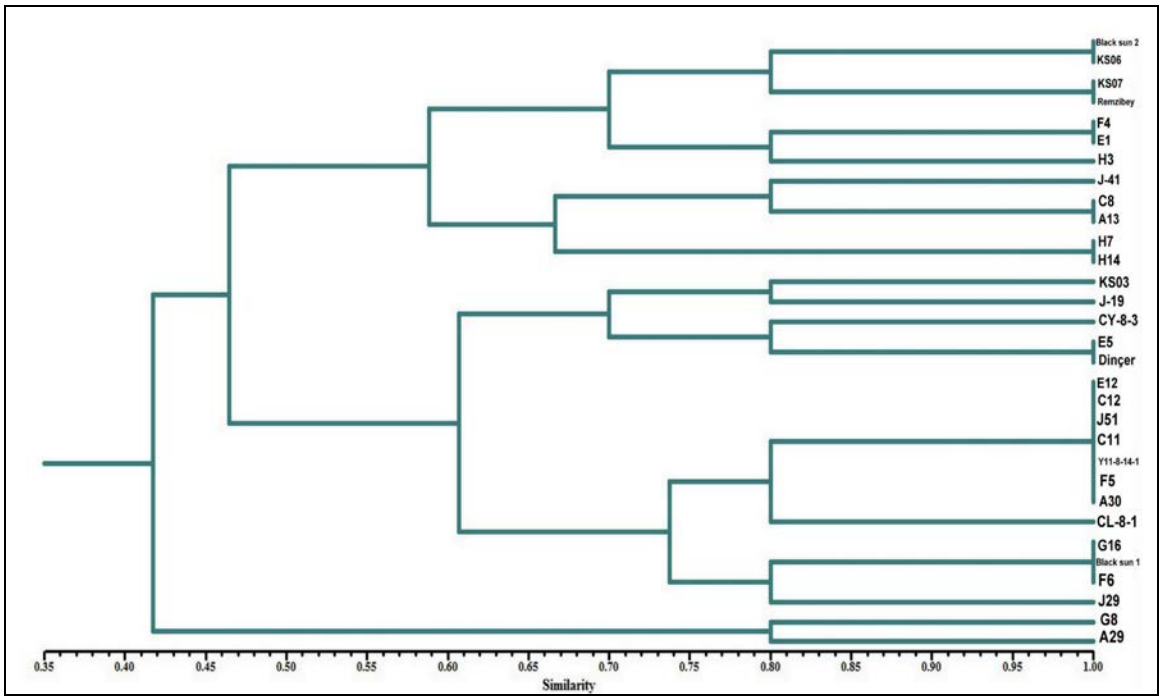
Şekil 2. UBC855-UBC857 primerleriyle elde edilen aspir çeşitlerine ait DNA profilleri



Şekil 3. ISSR 808 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 808 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 3). Bu iki ana klad birbirine % 42 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda E12 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. Dolayısıyla bu çeşidin bu primere göre diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu çıkarılabilir. Klasik seleksiyona göre soğuğa en dayanıklı, tohum ve yağ verimi açısından en yüksek performansa sahip olan bu çeşit böylece bu primer yardımıyla kolayca diğerlerinden seçilebilmektedir. Daha sonra yapılacak benzer özellikleri taşıyan aspir çeşitlerinin seleksiyonunda bu primer ile yapılacak taramaların önemli olacağı düşünülmektedir. İkinci ana kladda diğer çeşitler yer almaktadır. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 66 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt klad içerisinde sırasıyla A13, H7, C8, G8, J29, C11, F5, CL-8-1, C12, KS03, CT-8-3 ve F6 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 29 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci alt kladda A29, H14, Black sun 2, Black sun 1, Y11-8-14-1, G16, KS06, E5, A30, Dinçer, Remzibey, E1, F4, J41, H3, KS07 ve J19 çeşitleri yer almaktadır. Black sun 2, Black sun 1, Y11-8-14-1 çeşitleri bu primer ile yapılan analize göre birbirleriyle genetik açıdan yüzde yüz benzer görülmektedir. Bu üç

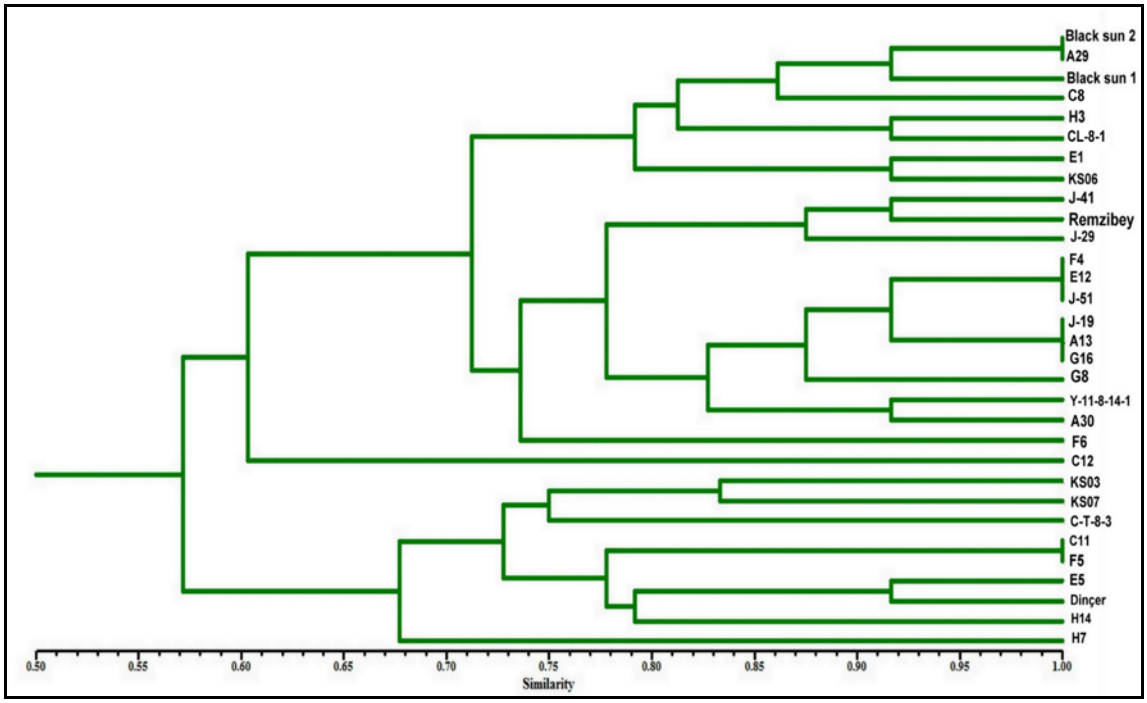
çeşidin ortak özelliği ortalama yağ oranlarının ve tohum verimlerinin yüksek olmasıdır. Dolayısıyla kendi gen kaynağımız olan Y11-8-14-1 çeşidi ile devam edilecek seleksiyonların önemli olacağı düşünülmektedir. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 33 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içerisinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir.



Şekil 4. ISSR 810 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 810 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 4). Bu iki ana klad birbirine % 41,5 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda G8 ve A29 çeşitleri yer almaktadır. Klasik seleksiyona göre soğuğa dayanıklı, tohum ve yağ verimi açısından G8 çeşidine göre yüksek performansa sahip olan A29 çeşiti bu primer yardımıyla kolayca diğerlerinden seçilebilmektedir. Bu ana klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 20 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. Dolayısıyla bu çeşidin bu primere göre diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu çıkarılabilir. İkinci

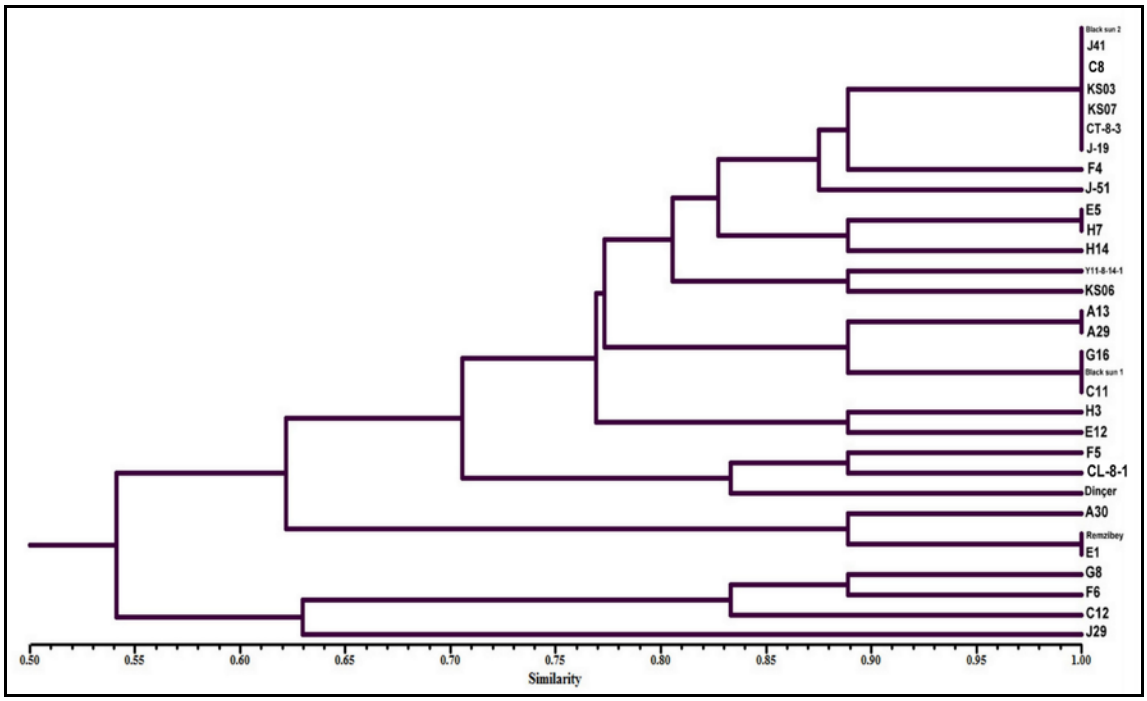
ana kladda diğer çeşitler yer almaktadır. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 46 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır Birinci alt klad içerisinde sırasıyla KS03, J19, CT-8-3, E5, Dinçer, E12, C12, J51, C11, Y11-8-14-1, F5, A30, CL-8-1, G16, Black sun 1, F6 ve J29 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 39,5 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci alt kladda Black sun 2, KS06, KS07, Remzibey, F4, E1, H3, J41, C8, A13, H7 ve H14 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 41 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içerisinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 810 primiyle elde edilen dendogramda Black sun 2 ile KS06; KS07 ile Remzibey; F4 ile E1; C8 ile A13; h7 ile H14; E5 ile Dinçer; E12, C12, J51, C11, Y11-814-1, F5 ile A30; G16, Black sun 1 ile F6 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. Dinçer ve E5 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 5. ISSR 824 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 824 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 5). Bu iki ana klad birbirine % 57 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda kendi içerisinde % 67,5 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda H7 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. H7 çeşidi tohum ve yağ verimi açısından diğer çeşitlere göre yüksek performansa sahip değildir. İkinci alt klad içerisinde sırasıyla KS03, KS07, CT-8-3, C11, F5, E5, Dinçer ve H14 çeşitleri yer almaktadır. Bu iki alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 32,5 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 60,5 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda C12 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. İkinci alt kladda Black sun 2, A29, Black sun 1, C8, H3, CL-8-1, E1, KS06, J41, Remzibey, J29, F4, E12, J51, J19, A13, G16, G8, Y11-8-14-1, A30 ve F6 çeşitleri yer almaktadır. Bu iki alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 39,5 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki ana klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci ana klad içerisinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları

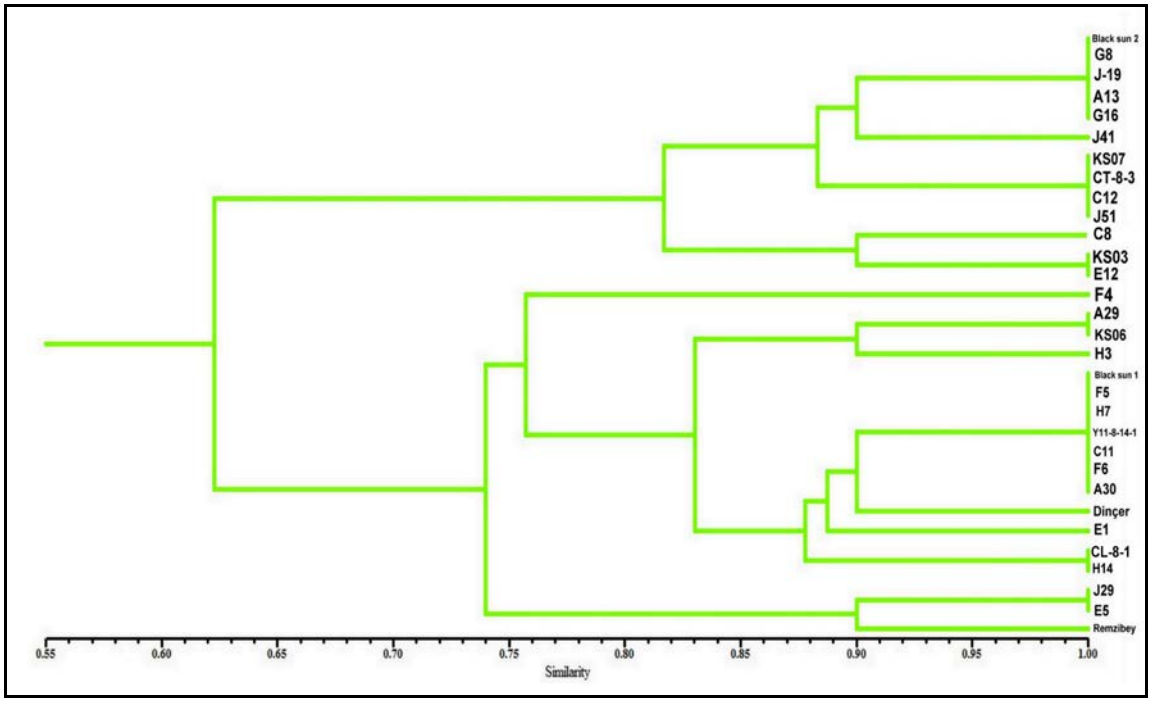
söylenebilir. ISSR 824 primiyle elde edilen dendogramda Black sun2 ile A29; F4, E12 ile J51; J19, A13 ile G16; C11 ile F5 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. Black sun2 ve A29 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 6. ISSR 827 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 827 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 6). Bu iki ana klad birbirine % 54 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana klad kendi içerisinde % 63 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda J29 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. J29 çeşidi tohum ve yağ verimi açısından diğer çeşitlerle yakınlık göstermektedir. İkinci alt kladda G8, F6 ve C12 çeşitleri yer almaktadır. Bu iki alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 37 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci ana kladda diğer çeşitler yer almaktadır. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 62 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda A30, Remzibey ve E1 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 11 oranında çeşitlenmiş

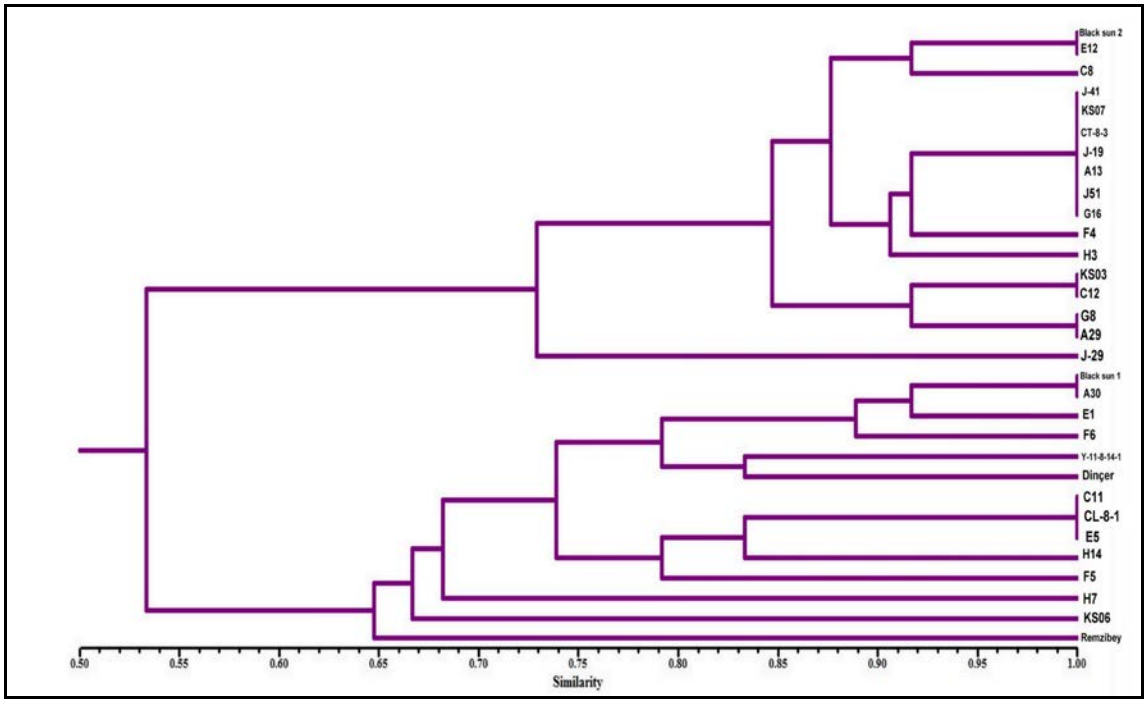
görülmektedir. İkinci alt kladda Black sun 2, J41, C8, KS03, KS07, CT-8-3, J19, F4, J51, E5, H7, H14, Y11-8-14-1, KS06, A13, A29, G16, Black sun 1, C11, H3, E12, F5, CL-8-1 ve Dinçer çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 29,5 oranında farklılaşma görülmektedir. İkinci ana kladda yer alan bu iki alt klad içerisindeki çeşitlerin genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 827 primiyle elde edilen dendogramda Black sun 2, J41, C8, KS03, KS07, CT-8-3 ile J19; E5 ile H7; G16, Blacksun 1 ile C11; Remzibey ile E1 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. G16, Blacksun 1 ile C11 çeşitleri sadece genetik açıdan da benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir. Remzibey ile E1 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 7. ISSR 834 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 834 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 7). Bu iki ana klad birbirine % 62 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda kendi içerisinde % 74 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda sırasıyla Remzibey, E5, J29 çeşitleri yer almaktadır. Remzibey çeşidi E5 ve J29 çeşitlerine göre tohum ve yağ verimi açısından yüksek performansa sahiptir. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 10 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci alt kladda sırasıyla F4, A29, KS06, H3, Black sun 1, F5, H7, Y11-8-14-1, C11, F6, A30, Dinçer, E1, CL-8-1 ve H14 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 24 oranında farklılaşma görülmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 82 benzerlikle iki alt klada ayrılmıştır. Birinci alt kladda sırasıyla C8, KS03 ve E12 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 10 oranında çeşitlenmiş görünmektedir. İkinci alt

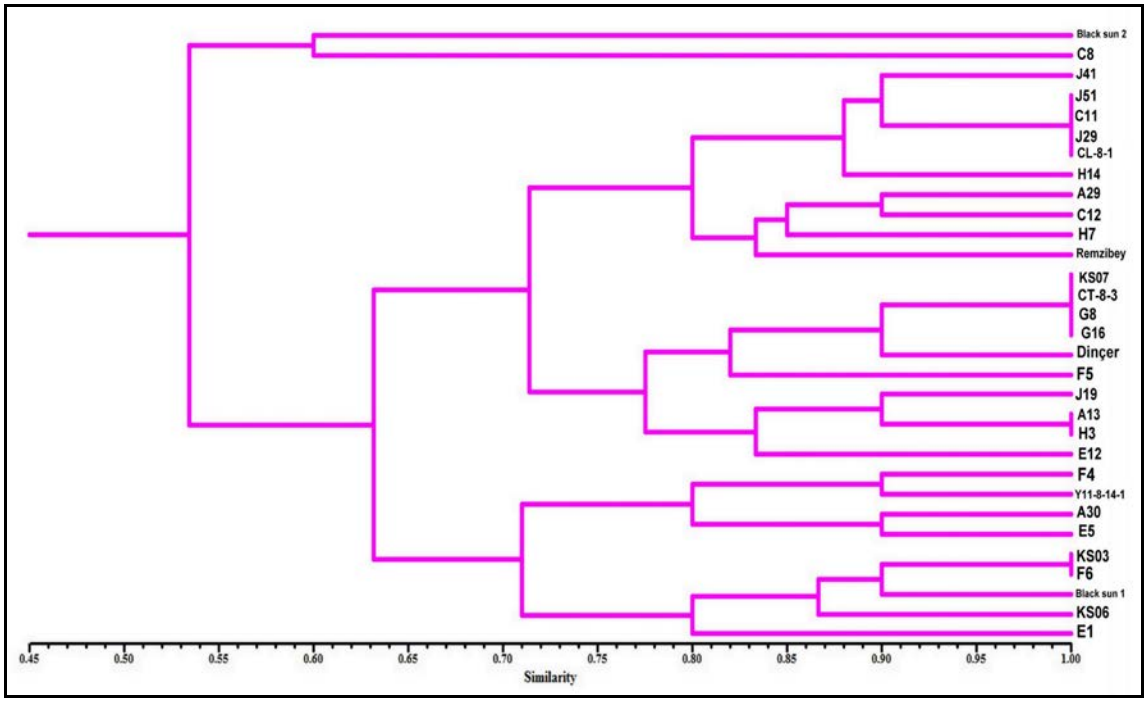
kladda sırasıyla Black sun 2, G8, J19, A13,G16, J41, KS07, CT-8-3, C12, J51 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 12 oranında farklılaşmış görülmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 834 primiyle elde edilen dendogramda Black sun 2, G8, J19, A13 ile G16; KS07, CT-8-3, C12 ile J51; KS03 ile E12; A29 ile KS06; Black sun 1, F5, H7, Y11-8-14-1, C11, F6 ile A30; CL-8-1 ile H14; J29 ile E5 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. KS03 ile E12 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 8. ISSR 835 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 835 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 8). Bu iki ana klad birbirine % 53 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana klad kendi içerisinde % 65 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda Remzibey çeşidi yer almaktadır. Dolayısıyla bu çeşidin bu primere göre diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış

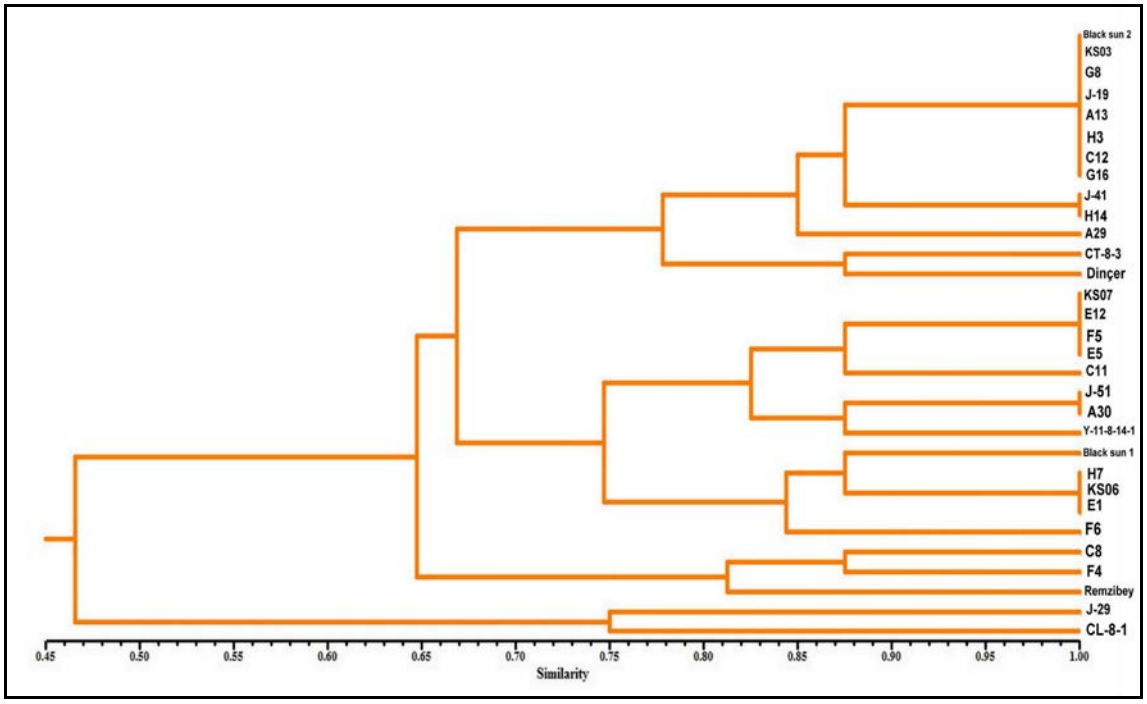
olduğu çıkarılabilir. Remzibey çeşidi tohum ve yağ verimi açısından en yüksek performansa sahip olan bu çeşit böylece bu primer yardımıyla kolayca diğerlerinden seçilebilmektedir. İkinci alt kladda sırasıyla Black sun 1, A30, E1, F6, Y11-8-14-1, Dinçer, C11, CL-8-1, E5, H14, F5, H7 ve KS06 çeşitleri yer almaktadır. Bu iki alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 35,5 oranında farklılaşmış görünmektedir İkinci ana kladda kendi içerisinde % 73 benzerlikle iki alt klada ayrılmıştır. Birinci alt kladda J29 çeşidi yer almaktadır. İkinci alt kladda sırasıyla Black sun 2, E12, C8, J41, KS07, CT-8-3, J19, A13, J51, G16, F4, H3, KS03, C12, G8 ve A29 çeşitleri yer almaktadır. Bu iki alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 27 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki ana klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde birinci ana klad içerisinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 835 primiyle elde edilen dendogramda Black sun 2 ile E12; J41, KS07, CT-8-3, J19, A13, J51 ile G16; KS03 ile C12; G8 ile A29; Black sun1 ile A30; C11, CL-8-1 ile E5 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. Black sun 2 ile E12 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 9. ISSR 840 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 840 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 9). Bu iki ana klad birbirine % 53 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana klad kendi içerisinde % 63 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda sırasıyla F4, Y11-8-14-1, A30, E5, KS03, F6, Black sun 1, KS06, E1 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 29 oranında farklılaşmış görünmektedir. İkinci alt kladda J41, J51, C11, J29, CL-8-1, H14, A29, C12, H7, KS07, CT-8-3, G8, G16, Dinçer, F5, J19, A13, H3, E12 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 28,5 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde birinci ve ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan aynı seviyede farklılaştıkları söylenebilir. İkinci ana klad kendi içerisinde % 59 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt klad C8 çeşidi, ikinci alt kladda Black sun 2 çeşidinden oluşmaktadır. Black sun 2 çeşidi C8 çedine göre tohum ve yağ verimi açısından yüksek performansa sahiptir. ISSR 840 primiyle elde edilen dendogramda J51, C11, J29 ve CL-

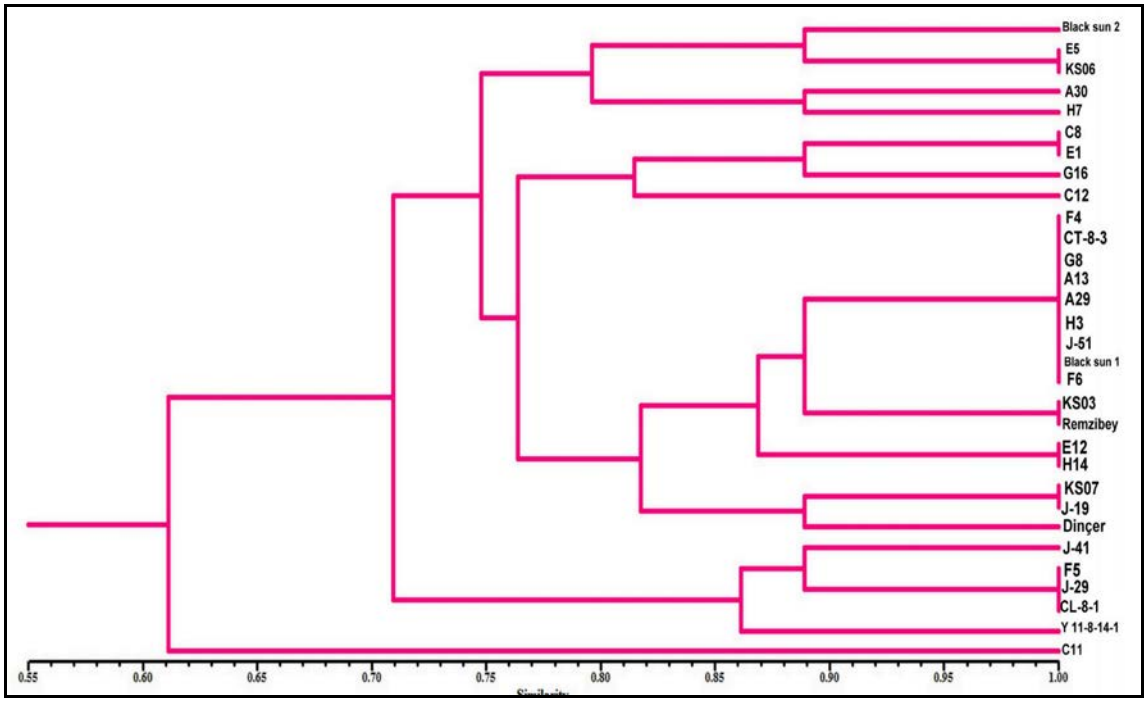
8-1; KS07, CT-8-3, G8 ile G16; A13 ile H3; KS03 ile F6 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. KS03 ile F6 çeşitleri sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 10. ISSR 847 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 847 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 10). Bu iki ana klad birbirine % 46,5 benzemektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda kendi içerisinde % 75 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt klad CL-8-1 çeşidi ve ikinci alt kladda J29 çeşidi yer almaktadır. Bu iki çeşit tohum ve yağ verimi açısından birbirine yakınlık göstermektedir Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 25 oranında farklılaşmış görünmektedir. İkinci ana klad kendi içerisinde % 65 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda sırasıyla C8, F4 ve Remzibey çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 19 oranında farklılaşmış görünmektedir. İkinci alt kladda sırasıyla Black sun 2, KS03, G8, J19, A13, H3, C12, G16, J41, H14, A29, CT-8-3, Dinçer, KS07, E12, F5, E5, C11, J51, A30, Y11-8-14-1, Black sun 1, H7, KS06, E1, F6 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad

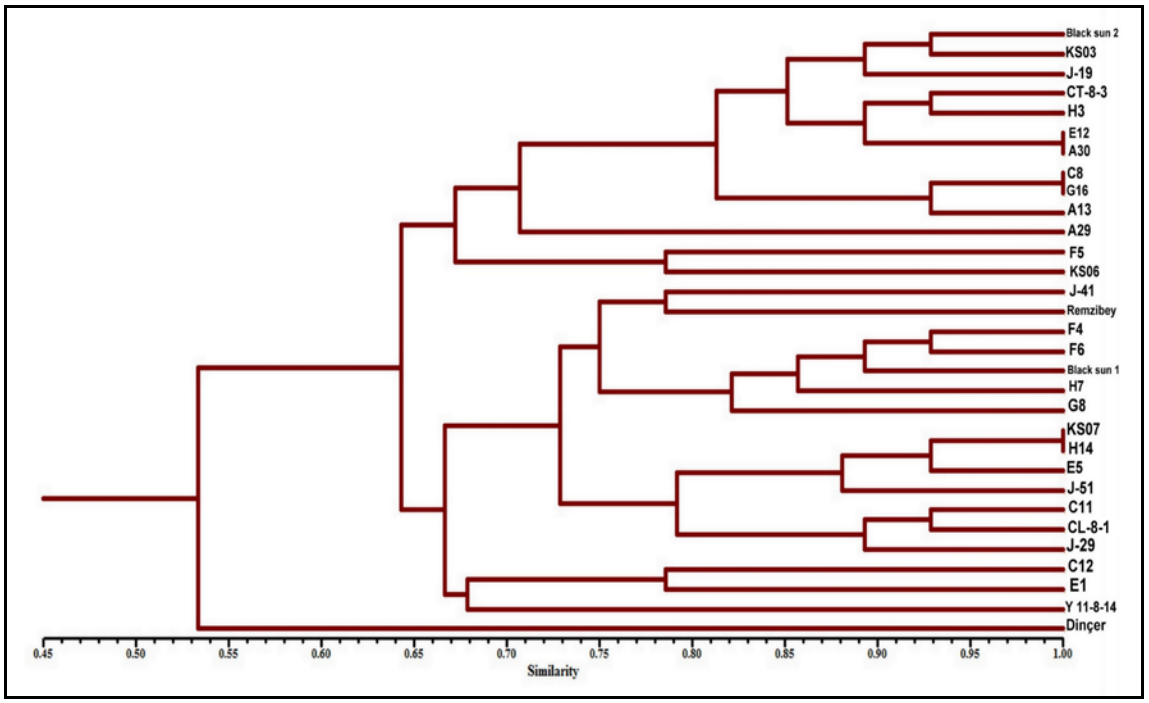
içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 33,5 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 847 primiyle elde edilen dendogramda Black sun 2, KS03, G8, J19, A13, H3, C12 ile G16; J41 ile H14; KS07, E12, F5 ile E5; J51 ile A30; H7, KS06 ile E1 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. J41 ile H14 sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 11. ISSR 855 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 855 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 11). Bu iki ana klad birbirine % 61 benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda C11 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. Dolayısıyla bu çeşidin bu primere göre diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu çıkarılabilir. İkinci ana klad kendi içerisinde % 71 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt kladda J41, F5, J29, CL-8-1, Y11-8-14-1 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en

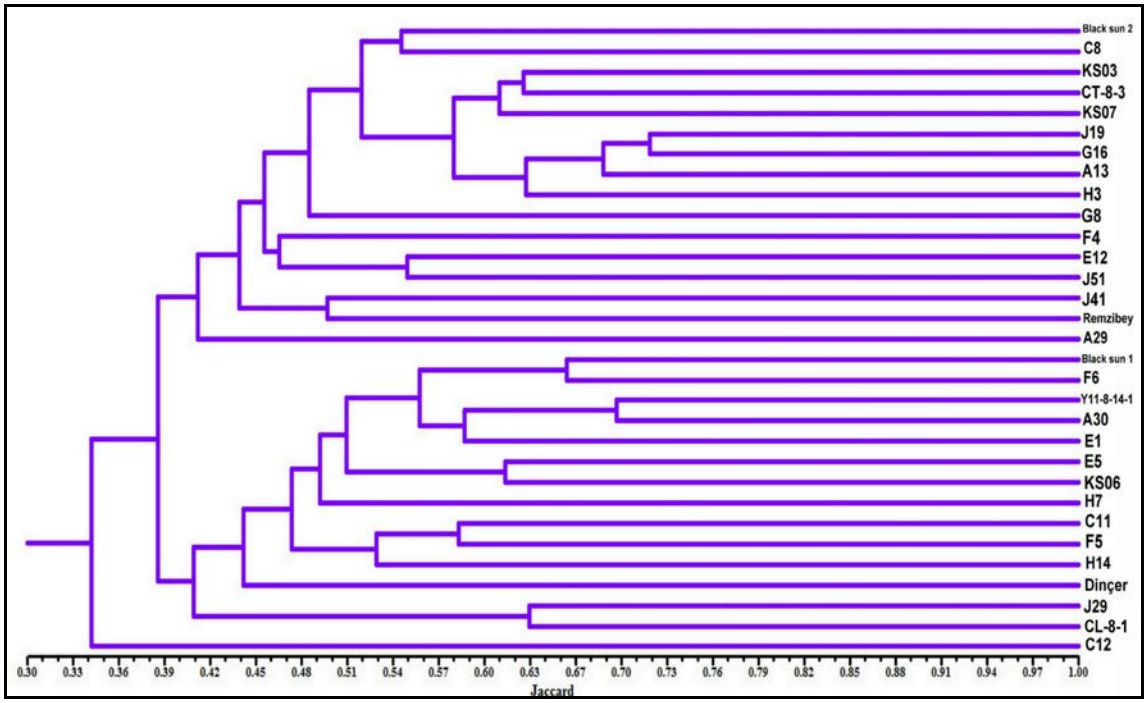
fazla % 14 oranında çeşitlenmiş görülmektedir. İkinci alt kladda sırasıyla Black sun 2, E5, KS06, A30, H7, C8, E1, G16, C12, F4, CT-8-3, G8, A13, A29, H3, J51, Black sun 1, F6, KS03, Remzibey, E12, H14, KS07, J19 ve Dinçer çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 25 oranında farklılaşmış görünmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde ikinci alt klad içerisinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan daha yüksek seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 855 primiyle elde edilen dendogramda E5 ile KS06; C8 ile E1; F4, CT-8-3, G8, A13, A29, H3, J51, Black sun 1 ile F6; KS03 ile Remzibey; E12 ile H14; KS07 ile J19; F5,J29 ile CL-8-1 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. KS03 ile Remzibey sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 12. ISSR 857 primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

ISSR 857 primeriyle yapılan PCR amplifikasyon çalışmalarından elde edilen patternlere göre üretilen dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 12). Bu iki ana klad birbirine % 53 benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda Dinçer çeşidi yalnız başına yer almaktadır.

Dolayısıyla bu çeşidin bu primere göre diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu çıkarılabilir. İkinci ana kladda kendi içerisinde % 64 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt klad J41, Remzibey, F4, F6, Black sun 1, H7, G8, KS07, H14, E5, J51, C11, CL-8-1, J29, C12, E1, Y11-8-14-1 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 33,5 oranında farklılaşmış görünmektedir. İkinci alt klad Black sun 2, KS03, J19, CT-8-3, H3, E12, A30, C8, G16, A13, A29, F5, KS06 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 33 oranında farklılaşmış görünmektedir İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde birinci ve ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan aynı seviyede farklılaştıkları söylenebilir. ISSR 857 primiyle elde edilen dendogramda E12 ile A30; C8 ile G16; KS07 ile H14 çeşitleri genetik açıdan % 100 benzerlik göstermektedir. C8 ile G16 sadece genetik açıdanda benzememekte aynı zamanda yağ ve tohum verimi açısındanda benzerlik göstermektedir.



Şekil 13. ISSR primeriyle elde edilen verilere göre oluşturulan aspir çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

Çalışılan tüm primerlerden elde edilen verilere göre oluşan dendogramda iki ana klad oluşmuştur (Şekil 13). Bu iki ana klad birbirine % 34 benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla bu iki ana klad içerisinde yer alan aspir çeşitlerinin birbirlerinden yüksek oranda ayrıldığı ve farklı yönde seleksiyona uğradığı söylenebilir. Birinci ana kladda C12 çeşidi yalnız başına yer almaktadır. Dolayısıyla bu çeşidin tüm uygulanan ISSR primerleriyle diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu çıkarılabilir. İkinci ana kladda diğer aspir çeşitleri yer almaktadır. İkinci ana klad kendi içerisinde % 39 benzerlikle iki alt klada ayrılmaktadır. Birinci alt klad Black sun 1, F6, Y11-8-14-1, A30, E1, E5, KS06, H7, C11, F5, H14, Dinçer, J29, CL-8-1 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 59 oranında farklılaşma görülmektedir. İkinci alt kladda sırasıyla Black sun 2, C8, KS03, CT-8-3, KS07, J19, G16, A13, H3, G8, F4, E12, J51, J41, Remzibey ve A29 çeşitleri yer almaktadır. Bu alt klad içerisinde yer alan çeşitler genetik açıdan en fazla % 59 oranında farklılaşma görülmektedir. İki alt klad içerisinde yer alan çeşitleri genetik farklılaşma seviyeleri açısından değerlendirdiğimizde birinci ve ikinci alt klad içersinde yer alan çeşitlerin genetik açıdan aynı seviyede farklılaştıkları söylenebilir.

Çalışmamızda 10 ISSR primeri kullanılarak aspir çeşitleri arasındaki genetik çeşitlilik tespit edilmiş ve dendrogram oluşturulmuştur. Bu dendograma göre çeşitler

arasındaki varyasyon derecesi belirlenmiştir. Çeşitler arasında varyasyon derecesi en az % 30 ve en fazla % 66' dır. Bu varyasyon derecesi (% 30 - % 66 arası) ileriye dönük belirli özellik ve karakterleri geliştirmeye yönelik melezleme çalışmaları için çeşitlerin ve hatların yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Uygulanan tüm primerler aracılığıyla toplam 101 band amplifiye edilmiştir. 98 polimorfik band (yaklaşık % 97) ve 3 monomorfik band (yaklaşık % 3) bulunmaktadır. Kombine edilen verilere göre aspir çeşitleri için ele alınan lokusların (uygulanan tüm primerler aracılığıyla belirlenen) polimorfizmi oldukça yüksek olup varyasyonu belirlemede oldukça etkin görülmüştür.

Yang ve arkadaşları (2007) tarafından, 22 ISSR primerleri kullanılarak 48 aspir üyeleri arasındaki ilişkiler ve genetik çeşitlilik değerlendirilmiştir. Toplam 429 band amplifiye edilmiştir ve 355 bandları (yaklaşık % 82.7) polimorfik bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, aspir germplazmlarının polimorfizmi DNA düzeyinde daha yüksek olduğunu göstermiştir. ISSR aspir arasındaki genetik çeşitliliğin saptanmasında etkili bir markır sistemi olduğunu tespit edilmiştir. Bu çalışmayla birlikte bizim yaptığımız çalışmada da aspir germplazmlarının yüksek polimorfizme sahip olduğu belirlenmiştir.

Golkar ve arkadaşları (2011) tarafından, ISSR belirteçleri ve tohum kalitesiyle ilgili özellikler için aspirdeki (*C. tinctorius*) genetik çeşitlilik araştırılmış ve ISSR belirteçlere göre, toplam 204 bant amplifiye edilmiş ve bu bantların 149 (yaklaşık % 70) polimorfik bulunmuştur. Bu çalışmayla birlikte bizim yaptığımız çalışmada aspir germplazmlarının yüksek polimorfizme sahip olduğu belirlenmiştir.

Lei ve arkadaşları (2006) tarafından, AFLP işaretleyicileri kullanarak Çin'de toplanan 28 aspir populasyonunun türiçi genetik varyasyon analizi araştırılmıştır. Tüm populasyonu benzersiz seçen 12 primer kombinasyonu kullanarak populasyonlar arasında benzerlik katsayısını 0.48 ile 0.96 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Kombine edilen verilere göre polimorfizm yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda, DNA markırlarının kullanılmasıyla çeşitli ürünlerde hastalıklara dirençlilik konusunda yapılan ıslah çalışmalarında verimliliğin arttırılması sağlanmıştır (Baum ve ark., 2000). Elde edilen markırlara (mikrosatellit ve AFLP) dayalı seleksiyon direnç genlerinin klonlanmasına yardımcı olmaktadır (Hamwieh ve ark., 2005). Bu çalışmada elde edilen markırlar aspir bitki ıslahı ile ilgili yapılan genotiplendirme çalışmalarına yardımcı veriler sağlanmıştır.

RFLP, RAPD, AFLP, SSR gibi moleküler belirteç yöntemleri tek bir tür içerisinde genetik haritalamalar yapmışlardır (Soller ve Beckman, 1983; Williams ve ark,. 1990; Vos ve ark., 1995; Rafalski ve Tingey, 1993). RAPD, ISSR ve SCAR moleküler yöntemleri kullanılarak bezelye üzerine yapılan çalışmada, bu moleküler markırların bezelye türünün genetik saflığının belirlenmesinde ve çeşitlerinin saptanması için kullanılabileceğini belirtilmişlerdir (Gostimsky ve ark., 2005).

Bu çalışmada ele aldığımız çeşitlerimizi karyomorfolojik açıdan incelediğimizde metasentrik ve submetasentrik kromozomla başlayan iki farklı grup olduğu görülmüştür. Aynı zamanda analizlerimizde A29, C11, Y11-8-14-1, E5 ve Dinçer çeşitlerimizde satellit olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda ISSR yöntemleri kullanılarak çalışılan aspir genotipleri arasında yeterli sayıda polimorfik bant elde edilmiştir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz DNA profillerine göre oluşturduğumuz dendogramda da C12 kodlu çeşidimizin en dışta yer aldığı, diğer çeşitlerden oldukça farklı görülmektedir. Dolayısıyla bu çeşidin tüm uygulanan ISSR primerleriyle elde edilen dendogramda da görüldüğü gibi, diğer tüm seleksiyonu yapılan çeşitlerden genetik açıdan farklılaşmış olduğu sonucu çıkarılabilir.

UBC808 primeri ile yapılan dendogramda yalnız başına yer alan ve klasik seleksiyona göre soğuğa en dayanıklı, tohum ve yağ verimi açısından en yüksek performansa sahip olan E12 çeşidi seleksiyonu yapılan diğer çeşitlerden ileri seviyede farklılaşmış olduğu görülmüştür. Bu veri bize kışlağa dayanıklı genotipleri belirlemede ISSR markırlarından UBC808 primerinin bu amaç doğrultusunda etkili bir biçimde kullanılabileceğini göstermiştir. Dolayısıyla istenen çeşitlerin belirlenmesinde ve ıslah çalışmalarında verimliliğin arttırılmasında moleküler markırların oldukça faydalı olarak kullanılabileceği görülmüştür.

Morfolojik olarak seleksiyonu yapılan tohum ve yağ açısından en yüksek verime sahip olduğu bilinen çeşit E12'dir. Bu çeşidi tüm özellikler açısından en verimli hale getirmek için çeşitler arası çaprazlamalar yapılabilir. Örneğin; iki farklı kladdan oluştuğu görülen dendogramda E12 çeşidine göre diğer kladda yer alan Y11-8-14-1 çeşidi ile çaprazlanarak tohum verimi artırılabilir. Ancak, kalıtılabilirlik kuralına göre daha iyi bir genetik optimizasyon için E12 çeşidi kendine daha uzak olan C12 çeşiti ile çaprazlanırsa tohum verimi daha da fazla artırılabilir. Çünkü, C12 çeşidi lokalite açısından farklı, tohum verimi daha yüksek olmakla birlikte, yağ oranı düşük ve bitki boyu daha kısadır. Bu yapay seleksiyonla yağ oranı, tohum verimi ve bitki boyu gibi karakterlere sahip daha dayanıklı E12 çeşiti elde edilebilir.

Ayrıca yapılacak benzer özellikleri taşıyan aspir çeşitlerinin seleksiyonunda bu moleküler markır çalışmalar için önemli olacağı ve tohum ve yağ verimi açısından çeşitlerin ıslahı için katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Ayrıca mitoz kromozomlarının detaylı olarak incelenmesi ve mikrosatellit gen bölgelerinin parmakizi analizlerinin önem kazandığı ve araştırmacılar arasında hem tartışma hem de mukayese imkânı ortaya koyarak çalışmalara yeni boyutlar kazandırılacağı söylenebilir. Bu çalışmalar bitki yetiştiriciliği ve ıslahı açısından önemli kaynak oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

Alanso-Blanco, C., Koornneef, M., Stam, P., 2000, The Use of Recombinant Inbred Lines (RILs) for Genetic Mapping. In: Arabidopsis Protocols. (Ed. Martinez-Zapater, J., Salinas, J.), Humana Pres Inc., Totowa, NJ.

Amini, F., Saeidi, G., Arzani, A., 2008, Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers, *Euphytica*, 163, 21–30.

Amiri, R. M., Azdi, S.B., Ghanadha, M.R., Abd, M.C., 2001, Detection of DNA polymorphism in landrace populations of safflower in Iran using RAPD-PCR technique, *Iranian J Agri Sci* 32(4):737–745.

Anjali, M. and Srivastava, A. K., 2012, Karyological studies in twelve accessions of *Carthamus tinctorius*, *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics,* Vol. 65, No. 1, 1–6.

Anonim, 2008, Tarım ürünleri ihracatı, Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü' nün internet sitesi, www. die.com.tr.

Ash, G.J., Raman, R., Crump, N.S., 2003, An investigation of genetic variation in *Carthamus lanatus* in New South Wales, Australia, using intersimple sequence repeats (ISSR) analysis, *Weed Res Oxford*, 43(3):208–213.

Ashri, A., 1971a, Evaluation of world collection of safflower *C. tinctorius* L.1 Reaction to several diseases and association with morphological characters in Israel, *Crop Sci*, 11: 253–257.

Ashri, A., 1971b. Evaluation of world collection of *C.tinctorius* L. 11 resistance to safflower fly A. helianthi R. Euphytica, 20: 410– 415.

Ashri, A., 1975, Evaluation of the germplasm collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) V. Distribution and regional divergence for morphological characters, *Euphytica*,24, 651–659.

Aslam, M., Hazara, G.R., 1993, Evaluation of world collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L) for yield and other agronomic characters In: L. Dajue & H. Yuanzhou (Eds.), *Third International Safflower Conference, Beijing, China*, June 9–13, 1993, p. 238.

Aytaç, S., 1999, Azotlu gübrelemenin kolzanın verim ve verim unsurlarına etkisi. *Türkiye 3. Tarla bitkileri kongresi*, Cilt II, Endüstri Bitkileri, s.115-120, Adana.

Basha, S. D., Francis, G., Makkar, H. S. P., Becker, K., Sujatha, M. A., 2009, comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. *Plant Sci.*, 176, 812–823.

Bassiri, A., 1977, Identification and polymorphism of cultivars and wild ecotypes of safflower based on isozyme patterns, *Euphytica*, 26:709–719.

Baum M., Weeden N.F., Muehlbauer F., Kahl G., Udupa S.M., Eujayl I., Weigand F., Harrabi M., Bouznad Z., 2000, Markör technology for plant breeding. In: Knight R (ed) Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century. Kluwer, Dordrecht, pp 421–427.

Baydar, H., Turgut, İ., 1993, Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'in Antalya Koşullarında Kışlık Olarak Yetiştirilebilme Olanakları Üzerine Araştırmalar. Akdeniz Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5 (1–2): 75–92, Antalya.

Bayraktar, N., 1991a, Seçilmiş bazı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) döllerinde tohum verimi, yan sayısı ve tabla sayısının belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1213, 12, Ankara.

Bayramin, S., Bayramin, İ., 2007, Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Tarımının Önemi ve İç Anadolu Bölgesinde Potansiyel Ekim Alanları, *1.Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biodizel Sempozyumu*, 28-31 Mayıs 2007, Samsun, 222-228.

Beg, A., 1993, Status and Potential of Some Oilseed Crops in the WANA Region. Aleppo, ICARDA, 38 p.

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.), *Theor. Appl. Genet*, 98, 780–792.

Bornet, B., Goraguer, F., Joly, G., Branchard, M., 2002, Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (*Solanum tuberosum subsp. tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs), *Genome*, 45:481–484. doi:10.1139/g02-002

Bozkurt, M., 2009, İç Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinde Yayılış Gösteren Bazı Vicia L. Türleri Arasındaki Akrabalık İlişkilerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi, Yüksek Lisans, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 18-20.

Bowles, V., Hall, J. C., Good, A., 2008, Development of Microsatellite Markers for investigation of relationships among closely related *Carthamus* species, *7th International Safflower Conference*, Wagga Wagga Australia.

Bowles, V. G., Mayerhofer, R., Davis, C., Good, A.G., Hall, J. C., 2010, A phylogenetic investigation of Carthamus combining sequence and microsatellite data, *Plant Syst Evol*., 287:85–97.

Burr, B., Burr, F.A., 1991, Recombinant Inbreds for Molecular Mapping in Maize: Theoretical and Practical Considerations, *Trends Genet.*, 7: 55- 60.

Camas, N., Cirak C., Esendal, E., 2007, Seed yield, oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown in northern Turkey conditions, *J. Fac. Agric., OMU, 22*, 98–104.

Carapetian, J., Estilai, A., 1997, Genetics of isozyme coding genes in safflower. p. 235-237. *In* A Corleto and H.-H. Mundel (ed.) Proc. of the 4th Int. Safflower Conf., Bari, Italy. 2-7 June 1997. Adriatica Editrice, Bari, Italy.

Casaoli, M., Mattion, C., Cherubini, M., Villani, F., 2001, A genetic linkage map of European chestnut (Castanea sativa Mill.) based on RAPD, ISSR and isozyme markers, *Theor Appl Genet*., 102(8):1190–1199.

Cekic, C., Battey, N. H., Wilkinson, M. J., 2001, The potential of ISSR-PCR primer-pair combinations for genetic linkage analysis using the seasonal flowering locus in Fragaria as a mode, *Theor Appl Genet.*, 103(4):540–546.

Chapman, M. A., Burke, J. M., 2007, DNA sequence diversity and the origin of cultivated safflower (*Carthamus tinctorius* L.; Asteraceae), *BMC Plant Biology*, 7:60.

Chapman, M. A., Hvala, J., Strever, J., Matvienko, M., Kozik, A., Michelmore, R. W., Tang, S., Knapp, S. J., Burke J. M., 2009, Development, polymorphism, and cross-taxon utility of EST–SSR markers from safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Theor Appl Genet*, 120:85–91.

Chapman, M. A., Hvala, J., Strever, J. and Burke, J. M., 2010, Population Genetic Analysis Of Safflower (*Carthamus tinctorius* ; Asteraceae) Reveals A Near Eastern Orıgın And Fıve Centers Of Dıversıty, *American Journal of Botany*, 97(5): 831–840.

Çelikoğlu, F., 2004, Bazı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) hatlarının verim ve yağ özelliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans tezi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (basılmamış); 69 s.

Dağeri, A., Martin, E., Şahin, A., 2007, Cytogenetics of some of the Turkish drogs, *International Journal of Natural and Engineering Sciences,* 1 (3): 49-53.

Dajue, L., Mundel, H. H., 1996, *Safflower (Carthamus tinctorius* L.*)*, IPGRI: Rome, Italy, p. 83.

Dajue, L., Mfindel, H. H., 1996, Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Promoting the conservation and use of under utilized and neglected crops, 7. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Reasarch, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy (ISBN92-9043- 297-7), 85p.

Demirci, M., Esendal, E., Geçgel, Ü., Tasan, M., 2003, Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) yağının yağ asidi kompozisyonu ve besin değeri, Türkiye I. Yağlı tohumlar, bitkisel yağlar ve teknolojileri sempozyumu bildirileri (22 -23 Mayıs 2003), s.140-144, İstanbul.

Dwiedi, S., Upadhyaya, H. D., Hegde, M. D., 2005, Development of core collection in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 52, 821–830.

Fang, D. Q., Krueger, R. R., Roose, M.L., Fang, D. Q., 1998, Phylogenetic relationships among selected Citrus germplasm accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers, *J Am Soc Hort Sci*, 123(4):612–617.

FAOSTAT, Database, http://www.fao.org (erisim Ekim 2010).

Fernandez-Martinez, J., M. Rio & A. Haro, 1993, Survey of safflower (*Carthamus tinctorius* L) germplasm for variants in fatty acid composition and other seed characters, *Euphytica*, 19(1/2): 115–122.

Filiz, E., 2011, Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler, GOÜ, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.

Francois, L. E., Bernstein, L., 1964, Salt Tolerance of Safflower, *Agron. J.*, 54, 38-40.

Futehally, S., 1982, Inheritance of very high levels of Linoleic acid in the seed oil of safflower (*Carthamus tinctorius* L). M.S. thesis, University of California, Davis.

Gecgel, U., Demirci, M., Esendal, E., 2007, Seed yield, oil content and fatty acids composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter. *Int. J. Nat. Eng. Sci.*, 1, 11–15.

Ghebru, B., Schmidt, R. J., Bennetzen, J. L., 2002, Genetic diversity of Eriterian sorghum landraces assessed with simple sequence repeat (SSR) markers, *Theor Appl Genet*., 105:229–236. doi: 10.1007/s00122-002-0929-x

Guo, M. L., Jiang, W., Zhang, Z. Z., Zhang, G., Mao, J. F., Yin, M., Su, Z. W., 2003, Randomly amplified polymorphic DNA technique in molecular identification of germplasms of *Carthamus tinctorius* L., *Acad J Sec Mil Med Univ*., 24(10):1116–1119 (In Chinese).

Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., Owen, J. L., 1994, Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats, *Theor. Appl. Genet*., 89, 998-1006.

Godwin, I. D., Aitken, E. A. B., Smith, W., 1997, Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics, *Electrophoresis*, 18, 1524–1528.

Goldblatt, P., Johnson, D.E., 1996, Index to plant chromosome numbers 1992-1993, Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 58.

Golkar, P., Arzani, A. and Rezai, A. M., 2011, Genetic Variation in Safflower (*Carthamus tinctorious* L.) for Seed Quality-Related Traits and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 2664-2677.

Gostimsky, S. A., Kokaeva, Z. G., Konovalov, F. A., 2005, Studying plant genome variation using molecular markers. *Russian Journal of Genetics,* 41(4): 378-388.

Hamdan, Y. A. S., Perez-Vich, B., Fernandez-Martinez, J. M., Velasco, L., 2008, Inheritance of very high linoleic acid content and its relationship with nuclear male sterility in safflower, *Plant Breeding*, 127, 507–509.

Hamdan, Y. A. S., Garcia-Moreno, M. J., Redondo-Nevado, J., Velasco, L., Perez-Vich, B., 2011, Development and characterization of genomic microsatellite markers in safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Plant Breeding* 130, 237-241.

Hamwieh, A., Udupa, S.M., Choumane, W., Sarker, A., Dreyer, F., Jung, C. and Baum, M., 2005, A genetic linkage map of *Lens sp*. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance, Theor. Appl. Genet., 110: 669- 677.

Han, Y., Li, D., 1992, Evaluation of safflower (*Carthamus tinctorius* L) germplasm-analysis in fatty acid composition of seeds of domestic and exotic safflower varieties, *Bot Res*, 6: 28–35.

http://tr.wikipedia.org/wiki/Aspir [12.01.2014].

Jaradat, A. A., Shahid, M., 2006, Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of *Carthamus tinctorius* L. from the Middle East, *Genet Resour Crop Evol*, 53:225-244. doi:10.1007/s10722-004-6150-9

Jin, Z., Li, J., 2007, ISSR analysis on genetic diversity of endangered relicshrub *Sinocalycanthus chinensis*, *Chin J. Appl. Ecol.*, 18, 247–253.

Johnson, R. C., Kisha, T. J., Evans, M. A., 2007, Characterizing Safflower Germplasm with AFLP Molecular Markers, *Crop Scıence*, Vol. 47, 1728-1736.

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*, *Theor. Appl. Genet.*, 100(8), 1311–1320.

Kantetky, R. V., Zhang, X., Bennetzen, J. L., Zehr, B. Z., 1995, Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification, *Mol. Breed.*, 1:365–372. doi:10.1007/ BF01248414

Karaca, M., Giller, M., Durutan, N., Meyveci, K., Avci, M., Eyüboğlu, H., Avcin, A., 1989, Effect of rotation systems wheat yield and water use efficiency in dryland areas of Anatolia, *Tarla Bitkileri Merkez Araş. Enst.,* Genel Yayın No: 1990/1, Ankara.

Kaya, M. D., İpek, A., Özdemir, A., 2003, Effect of different soil salinty levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *T. J. Agri. And Forestry*, 27:221-227.

Kesawat, M.S., Das, B.K., 2009, Molecular Markers: It's Application in Crop Improvement, *J. Crop Sci. Biotech.*, 12 (4),169 -181.

Kıllı, F., 2007**,**Yağ ve Yakıt olarak Aspir, Biyoyakıt Dünyası, Sayı:7, 60-63.

Kırıcı, S., İnan, M., 2001, Farklı çiçek hasat tarihlerinin çiçek ve tohum verimleri ile toplam boyar madde ve yağ oranlarına etkileri, *Türkiye 4. Tarla Bitkileri Kongresi*, s.67-71, Tekirdağ.

Khan, M. A., Von Witzke-Ehbrecht, S., Maass, B. L., Becher, H.C., 2008, Relationships among different geographical groups, agro-morphology, fatty acid composition and RAPD marker diversity in safflower (*Carthamus tinctorius*), *Genet. Resour. Crop Evol.*, 56, 19–30.

Knowles, P.F., 1969, Centers of plant diversity and conservation of crop germplasm: Safflower, *Econ. Bot*., 23, 324–329.

Knowles, P.F., Ashri, A., 1995, Safflower *Carthamus tinctorius* (Compositae). In *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed.; Smartt, J., Simmonds, N.W., Harlow. K., Eds.; Longman: Harlow, UK, pp. 47–50.

Koutroubas, S.D., Papadoska, D.K., Doitsinis, A., 2004, Cultivar and seasonal effects on the contribution of preanthesis assimilates to safflower yield, *Field Crops Research*, 90, 263-274.

Landau, S., Friedman, S., Brenner, S., Bruckental, I., Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Hen, Y., Dvash, L., Lehsem, Y., 2004, The value of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) hay and silage grown under Mediterranean conditions as forage for dairy cattle, *Livestock Prod. Sci.*, 88, 263-271.

Landau, S., Molle, G., Foisb, N., Friedman, S., Barkai, D., Decandia, M., Cabiddu, A., Dvasha, L., Sitzia, M., 2005, Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) as a novel pasture species for dairy sheep in the Mediterranean conditions of Sardinia and Israel, *Small Ruminant Res*., 59, 239-249.

Lei, Z., Bei-bei, H., Guo-yin, K., Mei-li, G., 2006, Analysis of intraspecific variation of CHİNESE *Carthamus tinctorius* L.using AFLP markers, *Acta Pharmaceutica Sinica*, 41(1), 91-96.

Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. (1964). Nomenculature for Centromeric Position on Chromosomes, Hereditas, 52, p. 201-220.

Li, P., Yangdong, W., Chen, Y., Zhang, S.H., 2009, Genetic diversity and association of ISSR markers with the eleostearic content in tung tree (*Vernicia fordii*). *Afr. J. Biotechnol*., *8*, 4782–4788.

Mahasi, M.J., Wachira, F.N., Pathak, R.S., Riungu, T.C., 2009, Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using RAPD markers. *J. Plant Breed. Crop Sci. 1*, 8–12.

Malik, A., Srivastava, A. K., 2009, Karyotypic analysis of different populations of *Carthamus tinctorius* Linnaeus (Asteraceae), *Comparative Cytogenetics*, Vol. 3, No. 1, P. 51-55.

Mayerhofer, R., Bowles, V., Mayerhofer, M., Good, A.G., 2008, Genetic Linkage Maps of *Carthamus* Species Based on SSR and RFLP Markers. 7th International Safflower Conferance, Wagga-Australia, 89-94.

Mayerhofer, R., Archibald, C., Bowles, V., Good, A.G., 2010, Development of molecular markers and linkage maps for the Carthamus species *C. tinctorius* and *C. Oxyacanthus*, *Genome*, 53, 266-276.

Nagaoka, T., Ogihara, Y., 1997, Applicability of inter-simple sequence repeat markers in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet.,* 94(5):597–602.

Nagaraj, G., Devi, G. N., Srinivas, C.V.S., 2001, Safflower petals and their chimical composition, *Proc. V. Internatioanla Safflower Conference.,* July 23-27, USA.

Naresh, V., Yamini, K. N., Rajendrakumar, P., Kumar, V. D., 2009, EST-SSR marker-based assay for the genetic purity assessment of safflower hybrids, *Euphytica*, 170:347–353.

Negi, M. S., Sabharwal, V., Bhat, S.R., Lakshmikumaran, M., 2004, Utility of AFLP markers for the assessment of genetic diversity within *Brassica nigra* germplasm, *Plant Breed*,123:13–16. doi:10.1046/ j.0179-9541.2003.00926.x

Ögüt, H., Özel, H., 2006, Biyodizel: Üçüncü milenyum yakıtı. Nobel Yayınları No: 745:55-60.

Özel, A., Demirbilek, T., Çopur, O., Gür, A., 2004, Harran Ovası Kuru Koşullarında Farklı Ekim Zamanları ve Sıra Üzeri Mesafelerinin Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'in Taç Yaprak Verimi ve Bazı Bitkisel Özelliklerine Etkisi, *Harran Ün.Z.F.Dergisi,* 8 (3/4):1-7.

Öztürk, Ö., Uyanöz, R., Çetin, Ü., Ada, R., 2009, Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'de Azotlu Gübre Form ve Uygulama Zamanlarının Verim ve Verim Unsurlarına Etkileri. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, 183–187, Hatay.

Öztürk, Ö., Akınerdem, F., Gönülal, E., 1999, Konya ekolojik şartlarında aspir (*Carthamus tinctorius* L.)' de farklı ekim zamanı ve sıra aralarının tohum ve yağ verimine etkisi. *Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, Cilt II, Endüstri Bitkileri, s.368-371, Adana.

Pascual-Villalobos, M.J., 1996, Alburquerque, N. Genetic variation of a safflower germplasm collection grown as a winter crop in southern Spain. *Euphytica*, 92, 327–332.

Pivoriene, O., Pasakinskiene, I., Brazauskas, G., Lideikyte, L., Jensen, L.B., Lubberstedt, 2008, Inter-simple sequence repeat (ISSR) loci mapping in the genome of perennial ryegrass. *Biologija*, 54, 17–21.

Pongracz, G., Weiser, H., Matzinger, D., 1995, Tocopherole, antioxidation der natur. Fat. *Sci. Technol.*, 97:90-104.

Portis, E., Barchi, L., Acquadro, A., Macua, J. I., Lanteri, S., 2005, Genetic diversity assessment in cultivated cardoon by AFLP (amplified fragment length polymorphism) and microsatellite markers. Plant Breed 124:299–304. doi:10.1111/j.1439-0523.2005.01098.x

Potter, D., Gao, F.Y., Aliello, G., Leslie, C., McGranahan, G., 2002, Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of walnut (Juglans regia) cultivars. *Am Soc Hort Sic* 127(1):75–81.

Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1993, Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *TIG*. 9(8):275-280.

Rojas, R., Ruso, J., Osorio, J., Haro, A., Fernandez-Martinez, J.M., 1993, Variability in protein and hull content of the seed of a world collection of safflower. *Sesame Safflower Newsl.*, 8, 122–126

Sabzalian, M. R., Mirlohi, A., Saeidi, G. and Rabbani, M. T., 2009, Genetic variation among populations of wild safflower, *Carthamus oxyacanthus* analyzed by agro-morphological traits and ISSR markers, *Genet Resour Crop Evol*, 56:1057–1064.

Sehgal, D. and Raina, S. N., 2005, Genotyping safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars by DNA fingerprints, *Euphytica*, 146: 67–76.

Sehgal, D., Raina, S. N., Devarumath, R. M. and Sasanuma, T., 2009, Nuclear DNA assay in solving issues related to ancestry of the domesticated diploid safflower (Carthamus tinctorius L.) and the polyploid (Carthamus) taxa, and phylogenetic and genomic relationships in the genus Carthamus L. (Asteraceae), *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53, 631–644.

Sehgal, D., Rajpal, V.R., Raina, S. N., Sasanuma, T. and Sasakuma, T., 2009, Assaying polymorphism at DNA level for genetic diversity diagnostics of the safflower (Carthamus tinctorius L.) world germplasm resources, Genetica, 135:457–470.

Sehgal, D., Bhat, V., Raina S.N., 2008a, Advent of DNA markers to decipher genome sequence polymorphism. In: Kirti PB (ed) Handbook of new technologies for genetic improvement of grainlegumes, CRC Press, New York, pp 477–495.

Sehgal , D., Bhat, V., Raina, S.N., 2008b, Applicability of DNA markers for genome diagnostics of grain legumes. In: Kirti PB (ed) Handbook of new technologies for genetic improvement of grainlegumes, CRC Press, New York, pp 497–557.

Sehgal, D., Raina, S.N., 2008c, DNA markers and germplasm resource diagnostics: new perspectives in crop improvement and conservation strategies. In: Arya ID,

Arya S (eds) Utilization of biotechnology in plant sciences. Rastogi Press, Meerut, India, pp 39–54.

Sabzalian, M.R., Mirlohi, A., Saeidi, G., Rabbani, M.T.,2009, Genetic variation among populations of wild safflower, *Carthamus oxyacanthus* analyzed by agro-morphological traits and ISSR markers. *Genet. Resour. Crop Evol.,56*, 1057–1064.

Sehgal, D., and Raina, S.N., 2005, Genotyping safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars by DNA fingerprinting. Euphytica 146:67–76.

Singh, R.J., 2007, Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement; *CRC Press Inc.: Boca Raton*, FA, USA, p. 320.

Soller, M., Beckmann, J. 1983, Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet*., 67 :25-33.

Soltis, D.E., Collıer, T.G., Edgerton, M.L., 1991, The Heuchera group (*Saxifragaceae)*: Evidence for chloroplast transfer and paraphyly.-*Amer.J.Bot*., 78:1091-1112.

Sujatha, M., 2008, Biotechnological interventions for genetic improvement of safflower, *7th International Safflower Conference*, Wagga Wagga Australia.

Tam, S.M., Mhiri, C., Vogelaar, A., Kerkveld M., Pearce, S.R., Grandbastien, A, 2005, Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposonsbased SSAP, AFLP and SSR. Theor Appl Genet 110:819–831. doi:10.1007/s00122-004-1837-z

Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H., Bonierbale, M.W., 1989, RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tool for an Old Science. Bio/Technology. 7: 257-264.

Tanyolac, B., 2003, Inter-simple sequence repeat (ISSR) and RAPD variation among wild barely (Hordeum vulgare subsp. spontaneum) populations from west Turkey. Genet Resour Crop Evol 50(6):611–614.

TÜİK, http://www.tuik.gov.tr (erişim Ekim 2010).

Tonguç, M., Erbaş, S., Baydar, H., 2011, Aspirde Gelistirilen Rekombinant Saf Hat Populasyonunun Genetik Harita Populasyonu Olarak Kullanma imkânlarının Araştırılması, *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (2):1-7.

Ude, G., Pillay, M., Ogundiwin, E., Tenkouano, A., 2003, Genetic diversity in an African plantain core collection using AFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet.*, 107:248–255. doi: 10.1007/s00122-003-1246-8

Uysal, N., Baydar, H., Erbaş, S., 2006, Isparta popülasyonundan geliştirilen aspir (*Carthamus tinctorius* L.) hatlarının tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. S.D.U., Zir. Fak. Derg., 1(1):52-63.

Varshney, R. K., Graner, A., Sorrells, M. E., 2005, Genic microsatellite markers in plants: features and applications. Trends Biotech. 23, 48-55.

Vijay, D., Dadlani, M., Kumar, P. A., Panguluri, S. K., 2009, Molecular Marker Analysis of Differentially Aged Seeds of Soybean and Safflower, *Plant Mol Biol Rep*, 27:282–291.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995, AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids. Res*., 23(21):4407-4414.

Yang, Y., Wu, W., Zheng, Y., Chen, L., Liu, R., Huang, C., 2007, Genetic diversity and relationships among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) analyzed by inter-simple sequence repeats (ISSRs), *Genet Resour Crop Evol*, 54:1043–1051.

Yang,W.P., Oliveira, A.C., Godwin, I., Schertz, K., Bennetzen, J.L., 1996, Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity: variability in Chinese sorghums. Crop Sci 36:1669–1676

Yazdi-Samadi, B., R. Maali Amiri, M.R., Ghannadha, and C. Abd-Mishani., 2001, Detection of DNA polymorphism in landrace populations of safflower in Iran using RAPD-PCR technique. p. 163. *In* J. Bergman and H.-H. Mundel (ed.) Proc. of the 5th Int. Safflower Conf., Williston, ND, Sidney MT. 23–27 July 2001. North Dakota State Univ., Fargo.

Yee, E., Kidwell, K.K., Sills, G.R., Lumpkin, T.A. 1999, Diversity among selected *Vigna angularis* (Azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. Crop Sci 39:268–275

Yenice, N., Bayraktar, N., 1996, Yerli Aspir *(Carthamus tinctorius* L.) Hatlarında Karyotip Analizi,*Tarım Bilimler Dergisi* , 2 (2) 81-86.

Zhang, Z. W., 2000, Studies on genetic diversity and classification of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm by isozyme techniques. *J Plant Gene Res*, 1(4):6–13 (In Chinese)

Zhang, Z., 2001, Genetic diversity and classification of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm by isozyme techniques. p. 157–162. *In* J. Bergman and H.-H. Mundel (ed.) Proc. of the 5th Int. Safflower Conf., Williston, ND, Sidney, MT. 23–27 July 2001. North Dakota State Univ., Fargo.

Zeid, M., Schön, C., Link, W., 2003, Genetic diversity in recent elite faba bean lines using AFLP markers. *Theor Appl Gene.,t* 107:1304–1314. doi:10.1007/s00122-003-1350-9

Zhao, J., Wang, X., Deng, B., Lou, P., Wu, J., Sun R et al ., 2005, Genetic relationships within Brassica rapa as inferred from AFLP fingerprints. *Theor Appl Genet*., 110:1301–1314. doi:10.1007/ s00122-005-1967-y

Zhebentyayeva, T.N., Reighard, G.L., Gorina, V.M., Abbott, A.G., 2003, Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in apricot germplasm, *Theor Appl Genet*, 106: 435–444.

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

Weiss, E.A., 2000, Safflower. *Oilseed Crops,* Blackwell Sci. Ltd., Victoria, Australia, 93-129.

Weiss, E.A., 2000, *Oil Seed Crops*, 2nd ed.; Blackwell Science Ltd.: Oxford, UK, 364.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. Tingey, S. 1990, DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers as useful as genetic markers**.** *Nucleic Acids Res.*, 18: 6531-6535.

Wu, W., Zheng,Y.L., Chen, L., Wei ,Y.M,, Yang, R.W., Yan, Z.H., 2005, Evaluation of genetic relationships in the genus Houttuynia Thunb. in China based on RAPD and ISSR markers. *Biochem Syst Ecol*, 33:1141–1157.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Betül Sena TEKKANAT
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : KONYA/1988
Telefon : 5066776028
Faks : -
e-mail : betultekkanat@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	**MERAM KONYA LİSESİ**	**2005**
Üniversite	:	**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**	**2011**
Yüksek Lisans	:	**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**	**-**
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR