



T.C.
Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ENDEMİK *Verbascum bombyciferum* Boiss.
TÜRÜNÜN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR
YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

MERVE GÜVEN

Yüksek Lisans Tezi

**ENDEMİK *Verbascum bombyciferum* Boiss.
TÜRÜNÜN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR
YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

MERVE GÜVEN



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENDEMİK *Verbascum bombyciferum* Boiss. TÜRÜNÜN GENETİK
ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

MERVE GÜVEN

Yrd. Doç. Dr. Figen ERSOY
(Danışman)

Doç. Dr. Özer YILMAZ
(İkinci Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA - 2017

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Merve Güven tarafından hazırlanan "ENDEMİK *Verbascum bombyciferum* Boiss. TÜRÜNÜN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Figen ERSOY

İkinci Danışman : Doç. Dr. Özer YILMAZ (Uludağ Üniversitesi)

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Figen ERSOY
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı



İmza

Üye: Yrd. Doç. Dr. Elif UZ
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı



İmza

Üye: Doç. Dr. Aslıhan GÜNEL
Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı



İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım



Prof. Dr. Ali BAYRAM

Enstitü Müdürü

11/07/2017

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahriyat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

.././....

Merve GÜVEN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENDEMİK *Verbascum bombyciferum* Boiss. TÜRÜNÜN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN ISSR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Merve GÜVEN

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Figen ERSOY

İkinci Danışman: Doç. Dr. Özer YILMAZ (Uludağ Üniversitesi)

Verbascum bombyciferum Boiss. Marmara Bölgesi'nde yayılış gösteren Türkiye endemiği bir bitki türüdür. Bu çalışmada Bursa ve çevresinden toplanan *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait 82 bireyden oluşan 16 popülasyon moleküler markör tekniklerinden ISSR yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu güne kadar bu türe ait morfoloji çalışmalarının dışında herhangi bir genetik varyasyon çalışması yapılmamıştır. 13 adet ISSR primeri kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonları sonucunda 86 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Polimorfik bantlar Popgen32 programına aktarılarak genetik uzaklıklar, genetik çeşitlilik ve genetik farklılaşma parametreleri belirlenmiştir. 82 bireye ait toplam polimorfizm % 100 olarak belirlenmiştir. Popülasyonlara ait ortalama polimorfik bant yüzdesi, Nei' ye göre genetik çeşitlilik (H) ve Shannon bilgi indeksi (I) sırasıyla % 58,21, 0,2025 ve 0,3046 olarak belirlenmiştir. Toplam genetik çeşitlilik (Ht), popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (Hs), Nei' ye göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma indeksi (Gst) sırasıyla 0,2880, 0,2025 ve 0,2970 olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda birey ve popülasyonların genetik ilişki dendrogramları oluşturulmuştur. Sonuçlar NTSYSpc programında çizilen PCA (Principal Component Analysis) haritası ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Verbascum bombyciferum* Boiss., Moleküler markör, ISSR, Genetik çeşitlilik, Polimorfizm, PCR

2017, viii + 38 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

IDENTIFICATION OF GENETIC DIVERSITY OF ENDEMIC *Verbascum bombyciferum* Boiss. USING ISSR

Merve Güven

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetic

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Figen ERSOY

Second Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özer YILMAZ (Uludağ University)

Verbascum bombyciferum Boiss. is a plant species endemic to Turkey, spreading in the Marmara Region. In this study, 16 populations from 82 individuals *Verbascum bombyciferum* Boiss. were collected from Bursa and its province. Plants were analyzed by a molecular marker technique, ISSR. Up to date, except morphology studies no other study was performed related to genetic variation of this species. 86 polymorphic bands were obtained as a result of polymerase chain reactions using 13 ISSR primers. Polymorphic bands were analyzed using Popgen32 program and genetic distances, genetic diversity and genetic differentiation parameters were calculated by this program. The total polymorphism of 82 individuals was determined as 100%. Within the populations, average values of percentage of polymorphic bands (PPB), Nei's genetic diversity (H) and Shanon's diversity index (I) was calculated as 58,21%, 0,2025 and 0,3046, respectively. Total genetic variation (Ht), genetic diversity (Hs) and genetic differentiation among the populations were found to be 0,2880, 0,2025 and 0,2970 respectively. As a result of this study genetic relationships of individuals and populations were shown as dendograms. The results were also supported by the PCA (Principal Component Analysis) using the NTSYSpc program.

Key Words: *Verbascum bombyciferum* Boiss., Molecular marker, ISSR, Genetic diversity, Polymorphism, PCR

2017, viii + 38 pages.

TEŞEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde bütün ilgi ve rehberliğini esirgemeyen, kibar davranışları, desteği ve anlayışı ile öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Figen ERSOY'a,

Çalışmamda *Verbascum bombyciferum* Boiss. yaprak örneklerinin toplanıp getirilmesini sağlayan ve destekleriyle tezime katkıda bulunan eş danışman hocam Doç. Dr. Özer YILMAZ'a,

Bölümümüzün kurulmasında ve devamlılığında gösterdiği çabalarını ve çalışmalarındaki azmini örnek aldığım Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Sezai TÜRKEL'e,

Hayatımın her döneminde desteklerini daima yanımda hissettiğim ve evlatları olmaktan kıvanç duyduğum sevgili annem ve babama,

Birlikte mutlu bir yaşama adımlarımızı attığımız ve bana sonsuz sevgiyle bakan eşim Enes Güven'e,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Merve GÜVEN

.../.../....

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. <i>Verbascum</i> Tarihi	1
2.2. <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss.	2
2.3. Bursa İline Ait Coğrafi Bilgiler.....	4
2.4. DNA Markör Teknikleri ve Bitki Biyoteknolojisindeki Yeri	5
2.4.1. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm).....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	8
3.1. Materyal	8
3.1.1. İncelenen <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. türünün popülasyon hatları	8
3.2. Yöntem	11
3.2.1. ISSR primer seçimi	11
3.2.2. DNA izolasyonu	12
3.2.3. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi	12
3.2.4. PZR reaksiyonu	13
3.2.5. Elektroforez.....	13
3.2.6. Verilerin değerlendirilmesi	14
4. BULGULAR.....	15
4.1. ISSR Analizi İçin Genomik DNA İzolasyon Miktarları	15
4.2. PZR ve Elektroforez Sonucu.....	16
4.3. Verilere Ait Genetik Analizler	16
4.4. ISSR Çalışması Analiz Sonuçları ve Polimorfik Bölgelerin Değerlendirilmesi.	21
5. SONUÇ	29
KAYNAKLAR	31
EKLER.....	33
EK 1. <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. türüne ait genetik çeşitlilik parametreleri... ..	34
EK 2. <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. türüne ait genetik farklılık parametreleri	36
ÖZGEÇMİŞ	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µM	Mikromolar
µL	Mikrolitre

Açıklama

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphisms
bç	Baz çifti
bkz	Bakınız
cm	Santimetre
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi-nükleotid trifosfat
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik asit
EtBr	Etidyum Bromür
g	Gram
GC	Guanin-sitozin
Gst	Nei'ye göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma indeksi
H	Nei'ye göre genetik çeşitlilik çeşitlilik
Hs	Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik
Ht	Toplam genetik çeşitlilik
I	Shannon bilgi indeksi
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeat
km	Kilometre
m	Metre
mg	Milligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
Na	Gözlenen alel numarası
ng	Nanogram
Nm	Popülasyonlar arasındaki tahmini gen akışı
nt	Nükleotit
PBB%	Polimorfik alellerin yüzdesi
PCA	Principal Component Analysis
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi
rpm	Dakikadaki devir
sn	Saniye

Açıklama

SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarlaması)
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
U	Ünite
UPGMA	Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average
UV	Mor ötesi



ŞEKİLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. çiçek oluşumu ve genel görünümü.....	3
Şekil 2.2. Herbaryum örneği olan <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. yaprağı	3
Şekil 2.3. Bursa iline ait çalışma haritası	5
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. popülasyonlarının topladığı bölgelerin coğrafi haritası.....	8
Şekil 4.1. % 1'lik agaroz jelde 13 adet ISSR primeri ile koşturulan DNA'ların UV ortamdaki görüntüsü	16
Şekil 4.2. 82 adet <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. bireyine ait UPGMA metodu ile çizilen bireyler arası dendrogram	22
Şekil 4.3. 82 adet <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. bireyine ait UPGMA metodu ile çizilen bireyler arası dendrogram radyal dağılımı.....	23
Şekil 4.4. 16 adet <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. popülasyonuna ait UPGMA metodu ile çizilen popülasyonlar arası dendrogram	24
Şekil 4.5. 16 adet <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. bireyine ait UPGMA metodu ile çizilen popülasyonlar arası dendrogram radyal dağılımı.....	25
Şekil 4.6. <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. 16 popülasyonu arasında PCA (Principal Component Analysis) gösterimi	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. türünün lokalite hatları ve her popülasyonda kullanılan birey sayısı.....	9
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. türünün lokalite hatları ve her popülasyonda kullanılan birey sayısı.....	10
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri ve özellikleri	11
Çizelge 3.4. PZR reaksiyon karışımı için kullanılan miktarlar ve son konsantrasyon değerleri	13
Çizelge 3.5. 5X TBE çözeltisi için kullanılan solüsyonlar ve miktarları.....	14
Çizelge 4.1. İzolasyon sonucunda bireylere ait konsantrasyon miktarları.....	15
Çizelge 4.2. <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. türüne ait ISSR çalışmasında belirlenen alel sayısı ve belirlenen alel büyüklükleri.....	17
Çizelge 4.3. <i>Verbascum bombyciferum</i> Boiss. bireylerinin polimorfik bant gösterimi	18
Çizelge 4.4. 16 adet <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss. popülasyonuna ait Nei 1978 genetik kimlik (diagonal üzerinde) ve genetik uzaklık (diagonal altında) tarafsız sonuçları	20
Çizelge 4.5. <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss.'e ait popülasyon içi genetik çeşitlilik ve popülasyonlar arası genetik farklılaşma parametreleri	26
Çizelge 4.6. <i>Verbascum bomyciferum</i> Boiss.'e ait toplam genetik çeşitlilik ve toplam genetik farklılaşma değerleri	27

1. GİRİŞ

Türkiye'nin sahip olduğu zengin bitki çeşitliliği yerli ve yabancı araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Türkiye Florası, Avrupa kıtasına yakın tür çeşitliliğine sahiptir. Bugüne kadar Türkiye Florası üzerinde pek çok çalışma yapılmış olup bunlardan en çok bilinenleri Boissier'in editörlüğünü yaptığı '*Flora Orientalis*' (1867) ve Davis ve ark.'ın yazmış olduğu '*Flora of Turkey and East Aegean Islands*' kitaplarıdır (1965). Türkiye'de *Astragalus* L. (Geven) cinsinden sonra en çok tür sayısına sahip olan ikinci cins *Verbascum* L. (Sığırkuyruğu) cinsidir. Tür sayısının fazla ve endemizm oranının yüksek olması nedeniyle Anadolu *Verbascum* cinsi için bir gen merkezi konumundadır.

Verbascum türlerinin gruplandırılmasında stamen (erkek organların) sayısı önemlidir. 4 stamene sahip olanlar geçmişte *Celsia* L., 5 stamenli olanlar *Verbascum* cinsi altında toplanmıştır (Linnaeus 1753). *Celsia* cinsinde yer alan türler daha sonra *Verbascum* cinsine aktarılmıştır (Huber-Morath 1971).

Bu çalışma 2014 yılında Bursa ve çevresinden toplanan *Verbascum bombyciferum* Boiss. türünün, popülasyon ve birey düzeyinde moleküler karakterizasyonunu belirlemek ve bireylerin genetik çeşitliliğini saptamak için yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Verbascum* Tarihi

Verbascum terimi, anlamını Yunanca'da sakal tüylü bitki anlamına gelen *barbascum* kelimesinden almaktadır (Karavelioğulları 2004). *Verbascum* cinsi *Scrophulariaceae* familyasından olup dünya üzerinde önemli bir floraya sahiptir. Günümüze kadar dünyada 360 taksonu tespit edilmiştir (Heywood 1993). Türkiye'de ise son verilere göre 244 tür ve 129 hibrit bulunmaktadır (Davis ve ark. 1965, Huber-Morath 1978, Aytaç ve Duman 2012). Türkiye'de bulunan *Verbascum* türlerinin 193'ü endemiktir (Karavelioğulları ve ark. 2011). *Verbascum* cinsi dünyada *Bothrospermae* Murb. ve *Aulacospermae* Murb. olmak üzere iki seleksiyona ayrılır. Bu iki seleksiyon arasındaki

en önemli fark tohum morfolojilerinin birbirinden farklı olmasıdır (Karavelioğulları ve ark. 2011). Türkiye'deki *Verbascum* türlerinin hepsi *Bothrospermae* Murb. seleksiyonunda bulunur (Murbeck 1925, 1933, Huber-Morath 1971).

Dünyanın her yerinde *Verbascum* cinsine farklı isimler verilmiştir. Türkiye'de bu isimler buldukları yörelere göre farklılaşmış olup bunlar Sığırcık kuyruğu, Sığır Kuyruğu, Yılan Yastığı, Kuzukulağı, Balık Bitkisi gibi ifade edilmektedir (Karavelioğulları 2004). Türker ve Gürel (2005) yaptıkları araştırmalarda Yunanlılar ve Romalılar döneminden bu yana *Verbascum* türlerinin çiçek ve yapraklarının; boğaz ağrısı, öksürük, bronşit, tüberküloz, astım gibi hastalıklarda kullanıldığına değinmiştir. *Verbascum* bitkisinin içerisindeki müsilaj yapısı ve diğer saponinler üst solunum yollarına iyi geliyor olduğu bilinse de dolaşım faaliyetleri yakın zamanda incelenmeye başlanmıştır. *Verbascum*, antiviral çalışmalara da konu olmuş ve Mehrotra (1989) tarafından tavuk embriyolarındaki influenza hastalıklarına karşı tedavi edici olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Türker ve Camper (2002) hemoroid ve diyarenin tedavisinde kullanılan *Verbascum* türlerinin egzama gibi deri yaraları ve aynı zamanda migren gibi hastalıkların tedavisinde de kullanıldığını belirtmiştir.

Bazı *Verbascum* tohumlarının yaptığı zehir etkisinden dolayı halk tarafından kullanıldığı bilinmektedir. *Verbascum speciosum* Schrad bitki ekstraktlarının, *Drosophila melanogaster*'de gelişim bozukluklarına neden olarak ölüm oranlarını arttırdığı tespit edilmiştir (Uysal ve ark. 2012).

2.2. *Verbascum bombyciferum* Boiss.

Türkiye için endemik olan *Verbascum bombyciferum* Boiss. yalnızca Bursa ve çevresinde yayılış göstermektedir. *V. bombyciferum* türünün gövde boyları 50-150 cm arasında değişmektedir. Bitkinin tümü yoğun tüy örtüsü ile kaplıdır. Çiçekleri 5 stamenli olup sarı renklidir (Şekil 2.1, Şekil 2.2). Açık alanlarda ve yol kenarlarında yetişmektedir. Çiçeklenmesi Nisan ve Temmuz ayları arasında gerçekleşmektedir. *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait daha önceden yapılmış genetik çeşitlilik

çalışması bulunmamaktadır. Bu türün gram (+) bakterilere antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve aktivite artışı gözlenmiştir (Dülger ve ark. 2002).



Şekil 2.1. *Verbascum bombyciferum* Boiss. çiçek oluşumu ve genel görünümü (Çenil 2007)



Şekil 2.2. Herbarium örneği olan *Verbascum bombyciferum* Boiss. yaprağı (Çenil 2007)

2.3.Bursa İline Ait Coğrafi Bilgiler

Bursa kuzeyde Kocaeli, Yalova, İstanbul ve Marmara Denizi, doğuda Bilecik, Adapazarı, batıda Balıkesir, güneyde Eskişehir, Kütahya ile çevrelenmiştir. Bursa'nın Marmara Denizi'ndeki kıyı uzunluğu 135 km'dir. Bu kıyılarda doğuya gidildikçe Mudanya ve Gemlik, batıda Bandırma, kuzeyde Armutlu, Narlı, Fıstıklı gibi beldeler yer almaktadır (Daşkın 2001). Bursa'nın en önemli oluşumları Uludağ, İznik Gölü ve Uluabat Gölü olup Şekil 2.3'te gösterilmektedir.

Bursa bölgelere göre iklim farklılıkları gösterirken, genel itibariyle ılıman iklime sahiptir. Uludağ etekleri sert iklime sahip ve kar yağışı alırken, kuzeye daha yumuşak bir iklim hâkim olmaktadır. Bursa'da yılın en sıcak ayları Temmuz ve Eylül iken en soğuk Şubat ve Mart aylarıdır.

Bursa üzerinde birçok bitki türünü barındırmakta ve bunlardan önemli bir kısmını endemik bitkiler oluşturmaktadır. Dünyadaki çeşitli araştırmacılar bunu öğrenerek, Bursa'da bitki toplamak için bulunmuştur (Çenil 2007). Endemik bitkilerde büyük bir grup içeren *Verbascum* türleri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Mehrotra 1989, Türker ve Camper 2002, Uysal ve ark. 2012).

bulunmasından sonra tarımsal açıdan gen tespiti, filogenetik analizler ve gen etiketleme gibi markör destekli seleksiyon çalışmaları kolaylaşmıştır (Joshi ve ark. 2000).

Markör çalışmaları PZR bağımlı ve PZR bağımlı olmayan olarak iki gruptan oluşturmaktadır. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) PZR bağımlı olmayan moleküler markör tekniğidir. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) ve SSR (Simple Sequence Repeats) ise PZR bağımlı moleküler markör tekniklerindedir. SSR bölgeleri arasındaki DNA sekansları ise ISSR (Inter-simple Sequence Repeat) dizilerini oluşturmaktadır.

2.4.1. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

DNA dizilerinde mikrosatellit olarak bilinen, tekrarlanan gen bölgeleri bulunmaktadır. Bunlar basit dizi tekrarları olarak adlandırılırlar (SSR). Mikrosatellitler, gen bölgesi içine dağılmış olup yüksek derecede korunmaktadır (Thomas ve ark. 2006). Bu mikrosatellit sekanslarında ikili, üçlü, ve dördü şeklinde tekrar eden nükleotitler bulunmaktadır. Basit dizi tekrarları arasında kalan DNA sekansları ise Inter Simple Sequence Repeat (Basit Tekrarlı Diziler Arası) olarak tanımlanmaktadır. Bilinen mikrosatellit dizilerinden yola çıkılarak hazırlanan primerler ile iki bölge arası çoğaltılır. Bu primerler genellikle yaklaşık 15-30 nükleotit uzunluğunda seçilmektedir. Daha sonra agaroz jel elektroforezinde koşturularak belirli boyalar ile çoğaltılan DNA bantlarının işaretlenmesi yapılır. Seçilen primerlere bağlı olarak farklı büyüklükte bantlar belirlenir. Belirlenen bantlar sonucunda gen haritalaması yapılmasının yanı sıra DNA bölgelerindeki değişkenlikler karşılaştırmalı olarak gözlenebilmektedir.

ISSR yönteminde primer seçimi önemlidir. İçeriğindeki GC miktarı yüksek olan primerler bağlanma sıcaklığının fazla olmasını yol açar. Bağlanma sıcaklığı yükseldikçe daha kararlı bağlanmalar oluşur.

ISSR kullanımının çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Herhangi bir dizi içeriği bilinmeden primerlerin oluşturulabilmesi ISSR yönteminin en önemli avantajıdır.

ISSR markörleri ile çalışırken az miktar örnek doku yeterli olmaktadır ve diğer moleküler markörlere göre daha hızlı uygulanabilir. ISSR tekniği diğer yöntemlere göre maliyeti az olan bir tekniktir. AFLP tekniğine göre daha az adıma sahip olması ve çalışma kolaylığı sağladığı için ISSR yöntemi daha çok tercih edilir. Benzer uzunluktaki dizi parçalarının homolog olmaması ve RAPD yöntemine benzer şekilde tekrarlanabilirliğin düşük olması dezavantajlarıdır (Kesawat ve Das 2009). Düşük genomik DNA kalitesinden kolaylıkla etkilenir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. İncelenen *Verbascum bombyciferum* Boiss. türünün popülasyon hatları

Bu çalışmada Marmara Bölgesi'nin farklı arazilerinden toplanan *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait 16 popülasyon materyal olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Örnekler Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Özer Yılmaz tarafından temin edilmiştir. Bütün çalışmalar laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Örnek yapraklar -20 °C saklama koşullarında muhafaza edilmiştir. Her popülasyonda en az 3, en fazla 7 birey kullanılmıştır. Toplam *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait 82 birey analiz edilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan *Verbascum bombyciferum* Boiss. popülasyonlarının topladığı bölgelerin coğrafi haritası

Örnekleme yapılan bölgelere ait popülasyonların lokalitelerini gösteren ayrıntılı bilgi Çizelge 3.1’de verilmiştir. Her bölgeden *Verbascum bombyciferium* Boiss. türüne ait birden fazla birey toplanmıştır. Birey kayıt numaraları ve isimleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Verbascum bombyciferium* Boiss. türünün lokalite hatları ve her popülasyonda kullanılan birey sayısı

HARİTA NO	POPÜLASYON İSMİ	POPÜLASYON LOKALİTESİ	Kullanılan örnek sayısı
1	62/2014	BURSA: Nilüfer, Orhaneli Barajı çevresi, 312 m, 25.06.2014	6
2	72/2014	BURSA: Nilüfer, Uludağ, Gökdere, Misi karşı, 24.07.2014	5
3	73/2014	BURSA: Nilüfer, Çalı, Çalı – Atlas, 24.07.2014	4
4	77/2014	BURSA: Gürsu, Barakfakih – Dışkaya, 255 m, 25.07.2014	3
5	78/2014	BURSA: Gürsu, Barakfakih – Ağlaşan, 303 m, 25.07.2014	6
6	80/2014	BURSA: Gemlik, Gemlik – Kumla, 65 m, 14.08.2014	5
7	81/2014	BURSA: Gemlik, Kumla – Haydariye, 2. km, 14.08.2014	4
8	82/2014	BURSA: Narlı, 52 m, 14.08.2014	7
9	95/2014	BURSA: Gemlik, Narlı çevresi, 29 m, 27.08.2014	6
10	96/2014	BURSA: Narlı – Fıstıklı, 27 m	5
11	97/2014	BURSA: Narlı, Karayolları Kampı arkasındaki yamaçlar	5
12	98/2014	YALOVA: Narlı – Armutlu, 25 m, 27.08.2014	5
13	99/2014	YALOVA: Kapaklı – Armutlu, Kapaklı çevresi, 63 m, 27.08.2014	5
14	101/2014	YALOVA: Kapaklı – Armutlu, 63 m, 27.08.2014	6
15	118/2014	BURSA: Osmangazi, Gündoğdu, 320 m, 28.08.2014	5
16	119/2014	BURSA: Mudanya, Mudanya – Kumyaka, 56 m, 05.09.2015	5

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan *Verbascum bombyciferium* Boiss. türüne ait birey kayıt numaraları

No	Birey kayıt no	No	Birey kayıt no	No	Birey kayıt no	No	Birey kayıt no
1	OrhaneliB1	24	Ağlaşan6	47	Fıstıklı1	70	Kapaklı4
2	OrhaneliB2	25	Kumla1	48	Fıstıklı2	71	Kapaklı5
3	OrhaneliB3	26	Kumla2	49	Fıstıklı3	72	Kapaklı6
4	OrhaneliB4	27	Kumla3	50	Fıstıklı4	73	Gündoğdu1
5	OrhaneliB5	28	Kumla4	51	Fıstıklı5	74	Gündoğdu2
6	OrhaneliB6	29	Kumla5	52	KarayollarıK1	75	Gündoğdu3
7	Misi1	30	Haydariye1	53	KarayollarıK2	76	Gündoğdu4
8	Misi2	31	Haydariye2	54	KarayollarıK3	77	Gündoğdu5
9	Misi3	32	Haydariye3	55	KarayollarıK4	78	Kumyaka1
10	Misi4	33	Haydariye4	56	KarayollarıK5	79	Kumyaka2
11	Misi5	34	Narlı1	57	Armutlu1	80	Kumyaka3
12	ÇalıAtlas1	35	Narlı2	58	Armutlu2	81	Kumyaka4
13	ÇalıAtlas2	36	Narlı3	59	Armutlu3	82	Kumyaka5
14	ÇalıAtlas3	37	Narlı4	60	Armutlu4		
15	ÇalıAtlas4	38	Narlı5	61	Armutlu5		
16	Dışkaya1	39	Narlı6	62	KapaklıÇev1		
17	Dışkaya2	40	Narlı7	63	KapaklıÇev2		
18	Dışkaya3	41	NarlıÇev1	64	KapaklıÇev3		
19	Ağlaşan1	42	NarlıÇev2	65	KapaklıÇev4		
20	Ağlaşan2	43	NarlıÇev3	66	KapaklıÇev5		
21	Ağlaşan3	44	NarlıÇev4	67	Kapaklı1		
22	Ağlaşan4	45	NarlıÇev5	68	Kapaklı2		
23	Ağlaşan5	46	NarlıÇev6	69	Kapaklı3		

3.2. Yöntem

3.2.1. ISSR primer seçimi

Bu çalışmada 13 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin DNA dizilimleri, nükleotid uzunlukları ve bağlanma sıcaklıkları Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri ve özellikleri

Primer Adı	DNA dizilimi (5’-3’)	Nükleotid uzunluğu	Bağlanma sıcaklığı (°C)
ISSR1	(GA) ₈ -C	17 nt	42
ISSR2	(GA) ₈ -G	17 nt	47
ISSR3	(GA) ₈ -T	17 nt	55
ISSR4B	(AC) ₈ -T	17 nt	56
ISSR5	(AC) ₈ -G	17 nt	53
ISSR6	(AC) ₈ -C	17 nt	51
ISSR7	(AC) ₈ -A	17 nt	51
ISSR10	(GTG) ₅	15nt	55
ISSR 11	(GAC) ₅	15 nt	55
ISSR 12	(CAC) ₅	15 nt	58
ISSR 13	(GATA) ₄	16 nt	40
ISSR 14	(CTC) ₅	15 nt	51
ISSR15	(GACA) ₅	20 nt	57

3.2.2. DNA izolasyonu

DNA izolasyonunda QIAGEN firmasının “DNeasy Bitkiden DNA İzolasyon Mini Kiti” kullanıldı.

Yaprak örnekleri sıvı azot yardımıyla havanda ezilerek 2 mL’lik eppendorf tüplere alındı. Üzerine 400 µL AP1 tamponu ve 4 µl RNase A ilave edilip 65 °C’de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında eppendorf tüpünün içerisine 130 µL AP2 tamponu ilave edilerek çalkalandı. Ardından 5 dk buz kalıbında bekletilerek 14 000 rpm’de ScanSpeed marka Mini model santrifüjde santrifüj yapıldı. Oluşan sıvı faz pelletten ayrılarak QIAshredder mini çalkalama kolonuna alındı. 14 000 rpm’de 2 dk santrifüj yapıldıktan sonra filtre atıldı ve sıvı faz temiz bir tüpe alındı. Oluşan sıvı fazın 1,5 katı kadar AP3 tamponu ilave edilerek pipet yardımıyla karıştırıldı. Karışımın 650 µL’si DNeasy mini çalkalama kolonuna alınıp 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj yapıldı. Filtrenin alt kısmına geçen sıvı faz dökülerek kalan karışıma da aynı işlem uygulandı. Filtrenin altına biriken sıvı faz tekrar döküldü. Bu sayede bitki DNA’sı filtrede tutulmuş olmaktadır. Üzerine 500 µL AW tamponu ilave edildi ve 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj yapılarak birinci yıkama işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra filtrenin altına toplanan sıvı faz dökülerek tekrar 500 µL AW tamponu ilave edildi ve 15 000 rpm’de 2 dk santrifüj yapıldı. Sıvı faz tekrar döküldü ve DNA’yı tutan filtre temiz bir eppendorf tüpünün üzerine koyuldu. Üzerine 75 µL AE tamponu ilave edilerek 5 dk oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj yapıldı. Filtreden serbest hale geçen DNA, filtrenin altındaki tüpte toplandı. Bu lizat alındı ve tekrar filtrenin üzerine koyularak bu işlem tekrarlandı. Bu yöntem, stok DNA oluşturmak üzere her birey için tek tek uygulandı.

3.2.3. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

İzolasyonu sonucunda elde edilen stok DNA’lardan 2 µL örnek alınarak Thermo Nanodrop ND-2000 spektrofotometre ile DNA konsantrasyon ölçümlü yapılmıştır. 260/280 absorbans oranı ~1,6-2,11 olan DNA örnekleri PZR işlemi için seçilmiştir. Bütün DNA örnekleri -20 °C saklama koşullarında tutulmuştur.

3.2.4. PZR reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonları New England Biolabs PZR protokolünden optimize edilerek yapıldı. ISSR analizi için hazırlanan PZR karışımının toplam hacmi 25 µL olacak şekilde hazırlandı. Çalışmada 200 µL steril PZR tüpü kullanıldı. Toplam 25 µL'lik PZR karışımını oluşturmak için kullanılan solüsyonlar Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. PZR reaksiyon karışımı için kullanılan miktarlar ve son konsantrasyon değerleri

PZR reaksiyon karışımı	25 µl reaksiyon	Son konsantrasyon
10X Standart tampon çözeltisi	2,5 µL	1X
10 mM dNTP karışımı	0,5 µL	200 µM
25 mM MgCl ₂	1,5 µL	1,5 mM
10 µM (10 pmol/µL) Primer	2 µL	0,8 µM (0,05–1 µM)
Stok DNA	2 µL	200 ng
5 U/µL <i>Taq</i> DNA Polimeraz	0,25 µL	1,25 U
PZR distile suyu	16,25 µL	

Reaksiyona 94 °C'de 3 dk ön denatürasyon işlemiyle başlanmıştır. Ardından örnekler denatürasyon için 94 °C'de 45 sn, primerlerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı için çizelge 3.2'de optimizasyon sonucu gösterilen sıcaklıklarda 45 sn, uzama aşaması için 72 °C'de 1,30 sn 35 döngü gerçekleştirilmiştir. Son uzama aşaması için 72 °C'de 5 dk bekletilmiştir.

3.2.5. Elektroforez

Tris, borik asit ve EDTA kullanılarak 5X TBE çözeltisi hazırlandı. 5X TBE çözeltisi oluşturma miktarları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Ardından 5X çözeltisinden 200 mL alınıp üzerine 800 mL distile su ile tamamlanarak 1X çözeltisi hazırlandı. Sonra 1X çözeltisinden 100 mL alındı ve içerisine 1 g agaroz ilave edilerek konsantrasyon % 1 olacak şekilde agaroz jel hazırlandı. Yeterli miktar ısıtılarak hazırlanan jele etidyum bromür ilave edildikten sonra elektroforez tankına döküldü ve 40 dk bekletildi. Örneklerle 5 µL jel görüntüleme boyası ilave edildikten sonra 1X tamponu doldurulan

tanktaki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde 100 V'da 1 saat koşturuldu.

Çizelge 3.5. 5X TBE çözeltisi için kullanılan solüsyonlar ve miktarları

5X TBE	Madde miktarı
Tris	54 g
Borik asit	27,5 g
EDTA (pH 8)	20 mL

3.2.6. Verilerin değerlendirilmesi

Çalışmada elektroforez işleminden sonra DNA bantlarının görüntüsü jel görüntüleme sistemi kullanılarak tespit edilmiştir. Polimorfik bantlar 1 (var) ve 0 (yok) olarak skorlanmıştır. 82 birey ve bunların oluşturduğu 16 popülasyon, Popgen32 genetik analiz programı kullanılarak oluşturulan matris üzerinden benzerlik katsayısı hesaplanmıştır. Sonuçlar birey ve popülasyon düzeyinde ayrıntılı olarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. ISSR Analizi İçin Genomik DNA İzolasyon Miktarları

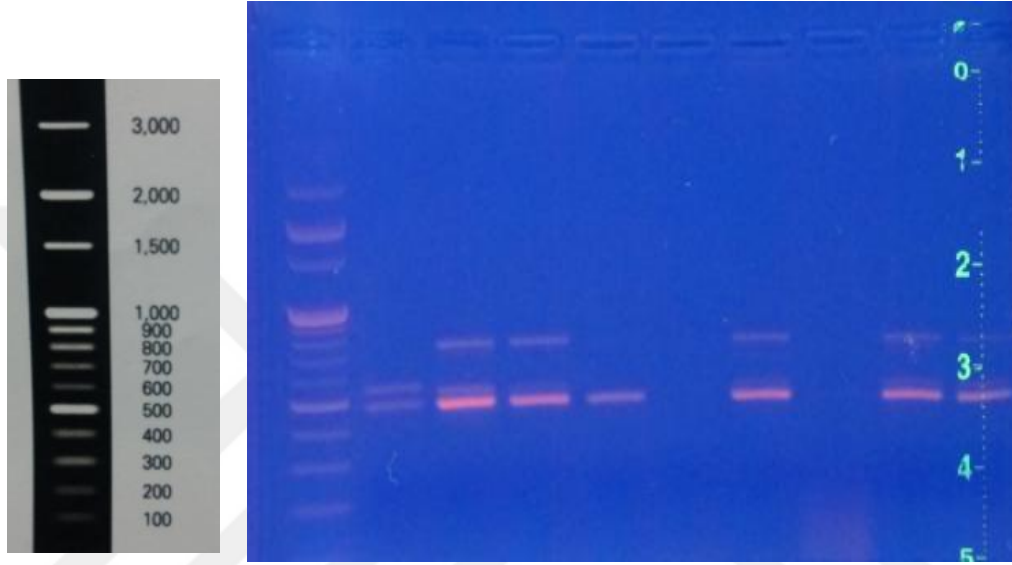
Verbascum bombyciferum Boiss. bitkisinin yapraklarından DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra Nanodrop ND-1000 spektrofotometrede ölçümleri yapıldı ve konsantrasyonları mikrolitredeki ng miktarına göre kayıt edildi. Bireylerin konsantrasyon miktarları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Çalışma sonucuna göre en az DNA miktarı 15,8 ng/μL olup, en fazla DNA miktarı 1061,2 ng/μL olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.1. İzolasyon sonucunda bireylere ait konsantrasyon miktarları

Birey no	Kons. ng/μL	Birey no	Kons. ng/μL	Birey no	Kons. ng/μL	Birey no	Kons. ng/μL
1	106,5	24	416,3	47	205,3	70	170,9
2	39,5	25	358,1	48	262,1	71	77,7
3	253,9	26	32,3	49	311,1	72	32,1
4	58,8	27	15,8	50	202,9	73	158,9
5	52,3	28	76,4	51	469,7	74	167,5
6	28,7	29	93,4	52	223,2	75	650,1
7	149,9	30	876,2	53	79,8	76	1061,2
8	42,8	31	439,4	54	70,6	77	88,0
9	49,3	32	79,1	55	77,1	78	32,3
10	21,3	33	271,2	56	266,5	79	17,9
11	50,8	34	250,5	57	350,8	80	34,7
12	254,8	35	40,6	58	642,1	81	49,8
13	52,9	36	45,3	59	20,5	82	354,3
14	58,8	37	42,5	60	232,2		
15	23,8	38	52,7	61	39,0		
16	91,8	39	36,2	62	267,4		
17	240,1	40	40,5	63	548,6		
18	49,0	41	117,5	64	95,6		
19	177,8	42	137,9	65	41,8		
20	41,1	43	62,3	66	111,9		
21	39,8	44	268,2	67	56,4		
22	24,7	45	269,9	68	146,7		
23	30,0	46	40,8	69	87,7		

4.2. PZR ve Elektroforez Sonucu

İzolasyon işlemi yapılarak elde edilen DNA'lar, seçilen primerleri içeren 25 µL'lik PZR karışımı ile polimeraz zincir reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Reaksiyon sonucunda alınan her tüp etidyum bromür ile boyanıp % 1'lik agaroz jelde koşturuldu. İşaretleyici olarak New England Biolabs 100 bç DNA ladder kullanılarak bant büyüklükleri belirlendi. Agaroz jel elektroforezi sonrasında UV ortamda izlenen jel görüntüleme sonucu Şekil 4.1'de örnek olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.1. %1'lik agaroz jelde ISSR 13 primeri ile koşturulan DNA'ların UV ortamdaki görüntüsü

4.3. Verilere Ait Genetik Analizler

Verbascum bomyciferum Boiss. türüne ait Marmara Bölgesi'nden toplanan 82 adet bireyin (16 popülasyon), 13 adet ISSR primeri ile çalışılması sonucunda her bireyde toplam 86 tane alel tespit edilmiştir. Tespit edilen alel sayıları ve büyüklükleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. ISSR primerlerden elde edilen alel büyüklükleri referans işaretleriyiciyle karşılaştırılarak yaklaşık 300 ile 1500 bç arasında belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. *Verbascum bomyciferum* Boiss. türüne ait ISSR çalışmasında belirlenen alel sayısı ve belirlenen alel büyüklükleri

Primer Adı	Alel Sayısı	Alel Büyüklükleri (bp)
ISSR1	9	300, 400, 500, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200
ISSR2	4	500, 600, 800, 1000
ISSR3	8	300, 400, 450, 500, 600, 800, 900, 1100
ISSR4B	10	350, 450, 500, 600, 650, 800, 900, 1100, 1300, 1500
ISSR5	7	350, 450, 500, 600, 700, 900, 1000
ISSR6	10	450, 500, 550, 600, 650, 700, 800, 900, 1100, 1300
ISSR7	5	400, 500, 600, 750, 1000
ISSR10	11	300, 350, 400, 490, 520, 640, 760, 880, 930, 1250, 1400
ISSR 11	7	380, 470, 550, 680, 730, 850, 950
ISSR 12	3	500, 800, 1050
ISSR 13	3	500, 530, 770
ISSR 14	2	1300, 1400
ISSR 15	8	370, 450, 600, 750, 950, 1350, 1500
TOPLAM	86	
ORTALAMA	6,6	

Primerlere ait aleller (toplam bant sayısı) incelendiğinde en fazla polimorfik alel ISSR10’da 11 adet, en az polimorfik alel ise ISSR14’te 2 adet olarak bulunmuştur. ISSR1, ISSR2, ISSR3, ISSR4B, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR10, ISSR11, ISSR12, ISSR13, ISSR14, ISSR15 primerlerinden elde edilen toplam 86 bandın polimorfik olduğu belirlenmiştir. Primer başına düşen ortalama polimorfik alel sayısı 6,6 olarak hesaplanmıştır. Agaroz jel elektroforezinden alınan görüntüler bant olması durumunda 1 (var), olmaması durumunda 0 (yok) şeklinde belirlenmiştir ve sonuçların tablosu oluşturulmuştur. 82 adet *Verbascum bombyciferum* Boiss. bireyine ait polimorfik bantların 1 ve 0 olarak skorlama sonucu tek bir tablo yapılarak Çizelge 4.3’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. *Verbascum bombyciferum* Boiss. bireylerinin polimorfik bant gösterimi

No	Polimorfik bantlar (1-86)
1	1111100011011101011111100110100111110000000000011010111110010001111011110010000101000

filogenetik analiz grubuna dahil olan Unweigted Pair Group Method Arithmetic Average (UPGMA) metodundan yararlanılmıştır. Popgen32 programındaki analiz sonucundan elde edilen benzerlik matrisi alınarak bireylere ve popülasyonlara ait dendrogramlar ve dendrogramların radyal dağılımı FigTree v1.4.2 programı kullanılarak elde edilmiştir. Dendrogramlar, Nei 1978 tarafsız hesaplamasına ait genetik kimlik ve genetik mesafe temeline dayandırılmıştır. Bireyler arası dendrogram Şekil 4.2’de, popülasyonlar arası dendrogram Şekil 4.4’te gösterilmiştir. Bireylere ve popülasyonlara ait radyal dağılım ise sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.5’te gösterilmiştir.



Çizelge 4.4. 16 adet *Verbascum bomyciferum* Boiss. popülasyonuna ait Nei 1978 genetik kimlik (diagonal üzerinde) ve genetik uzaklık (diagonal altında) tarafsız sonuçları

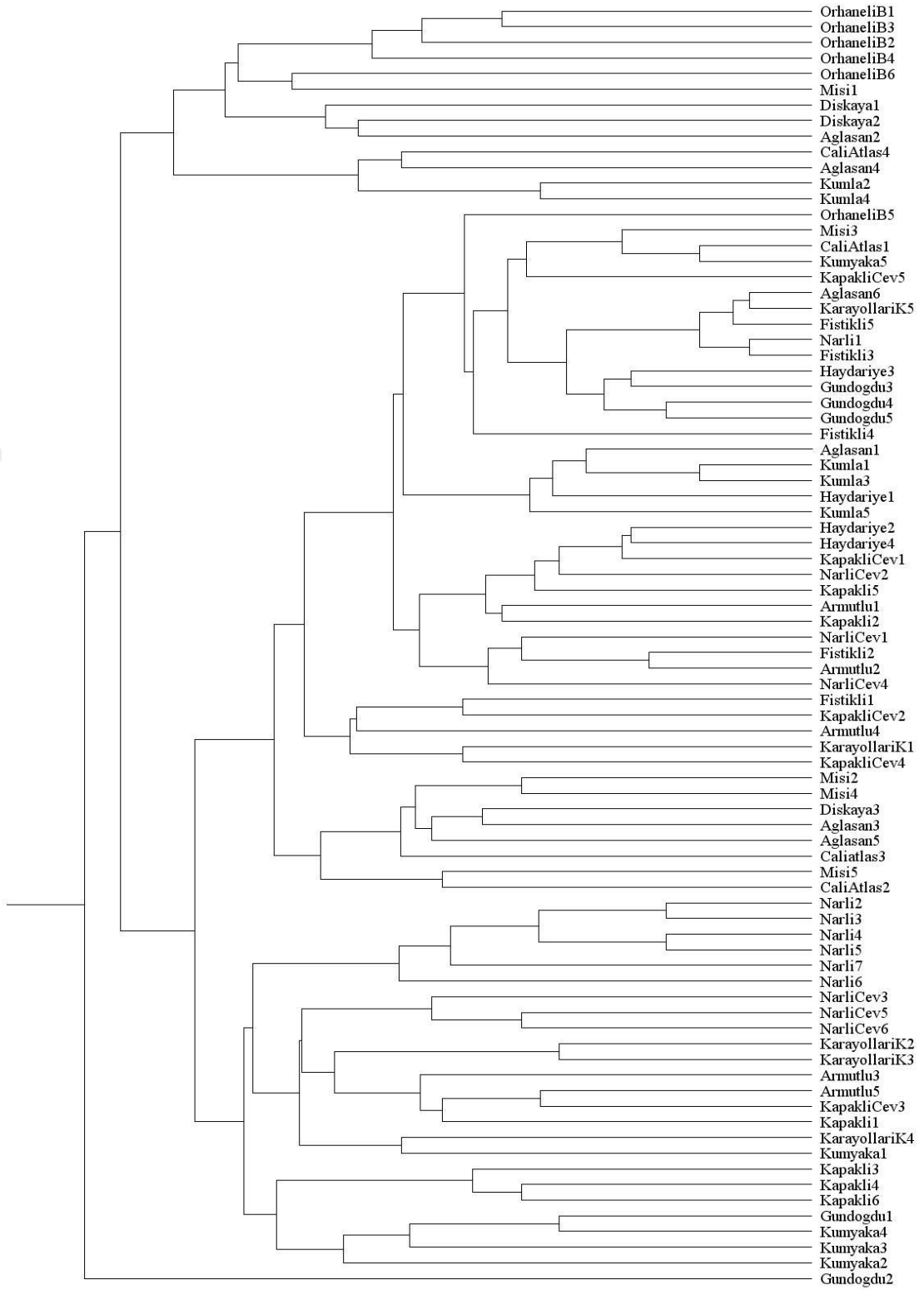
Popülasyon Adı	OrhaneliB	Misi	Çalı-Atlas	Dışkaya	Ağlaşan	Kumla	Haydariye	Narlı	Narlı Çev.	Fıstıklı	KarayollarıK	Armutlu	Kapaklı Çev.	Kapaklı	Gündoğdu	Kumyaka
OrhaneliB	*****	0,9446	0,9316	0,9202	0,9364	0,8804	0,8749	0,8772	0,8495	0,8751	0,8936	0,8831	0,8813	0,9211	0,8821	0,8932
Misi	0,0570	*****	0,9769	0,9155	0,9543	0,8946	0,9197	0,8820	0,8623	0,8897	0,8857	0,8864	0,9120	0,9296	0,9182	0,9287
Dışkaya	0,0709	0,0234	*****	0,8874	0,9605	0,9293	0,9131	0,8839	0,8683	0,9077	0,9035	0,9071	0,9348	0,9411	0,9023	0,9493
Çalı-Atlas	0,0831	0,0883	0,1195	*****	0,9210	0,8424	0,8388	0,8499	0,8333	0,8149	0,8714	0,8401	0,8394	0,8826	0,8270	0,8503
Ağlaşan	0,0657	0,0468	0,0403	0,0823	*****	0,9263	0,9624	0,9290	0,8917	0,9658	0,9478	0,9410	0,9267	0,9497	0,9580	0,9332
Kumla	0,1274	0,1113	0,0733	0,1714	0,0766	*****	0,8915	0,8689	0,8467	0,8620	0,8803	0,8814	0,8933	0,9055	0,8557	0,8917
Haydariye	0,1336	0,0837	0,0909	0,1758	0,0383	0,1149	*****	0,9347	0,9026	0,9829	0,9567	0,9424	0,9429	0,9595	0,9673	0,9153
Narlı	0,1310	0,1256	0,1234	0,1626	0,0737	0,1406	0,0675	*****	0,9383	0,9254	0,9548	0,9252	0,9323	0,9437	0,8944	0,9002
Narlı Çev.	0,1632	0,1481	0,1412	0,1823	0,1146	0,1664	0,1025	0,0637	*****	0,9000	0,9334	0,9384	0,9490	0,9357	0,8637	0,9102
Fıstıklı	0,1334	0,1169	0,0968	0,2046	0,0348	0,1485	0,0172	0,0775	0,1054	*****	0,9618	0,9376	0,9399	0,9385	0,9861	0,9136
KarayollarıK	0,1125	0,1213	0,1015	0,1376	0,0536	0,1275	0,0443	0,0463	0,0689	0,0390	*****	0,9694	0,9565	0,9562	0,9163	0,9246
Armutlu	0,1243	0,1205	0,0975	0,1743	0,0608	0,1263	0,0593	0,0778	0,0636	0,0644	0,0311	*****	0,9628	0,9352	0,9039	0,9214
Kapaklı Çev.	0,1264	0,0922	0,0674	0,1751	0,0761	0,1128	0,0588	0,0701	0,0523	0,0620	0,0445	0,0379	*****	0,9651	0,9013	0,9196
Kapaklı	0,0822	0,0730	0,0607	0,1249	0,0516	0,0992	0,0414	0,0580	0,0665	0,0635	0,0448	0,0670	0,0355	*****	0,9227	0,9441
Gündoğdu	0,1255	0,0853	0,1028	0,1899	0,0429	0,1558	0,0333	0,1116	0,1465	0,0140	0,0875	0,1010	0,1039	0,0804	*****	0,9180
Kumyaka	0,1129	0,0740	0,0520	0,1621	0,0691	0,1146	0,0885	0,1051	0,0941	0,0904	0,0784	0,0819	0,0838	0,0575	0,0856	*****

4.4. ISSR Çalışması Analiz Sonuçları ve Polimorfik Bölgelerin Değerlendirilmesi

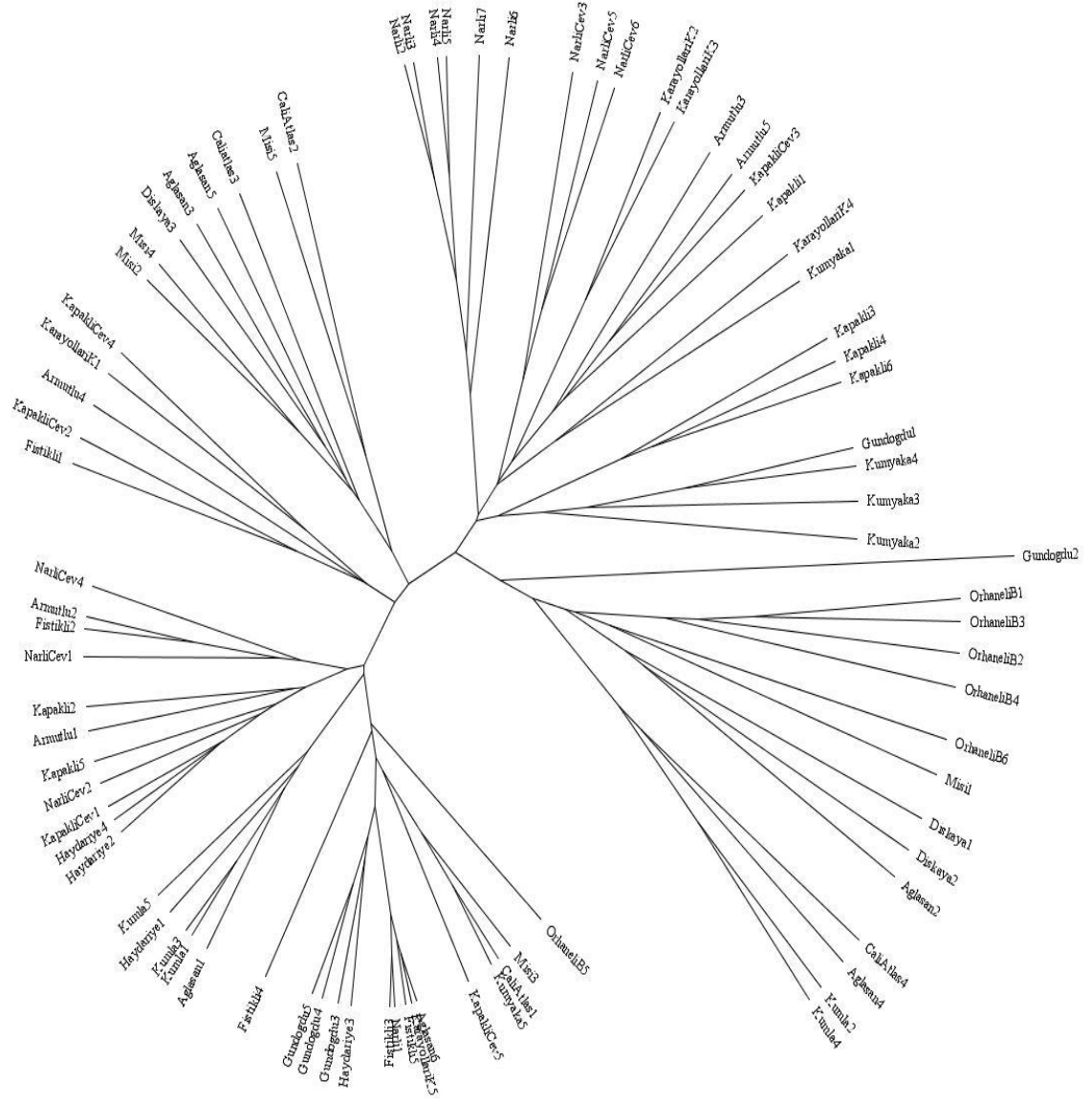
Verbascum bomyciferum Boiss. türünün 82 örneği, bireyler arasında incelendiğinde Karayolları Kampı Çevresi 5 ve Ağlaşan 6 yakınlık gösterirken, Fıstıklı 3 ve Narlı 1 bireylerinin de genotipsel olarak en yakın mesafeyi koruduğu ortaya koyulmuştur. Bu sonuç coğrafi konumu desteklemekle birlikte Şekil 4.2'deki dendrogramda gözlenmektedir. Gündoğdu bölgesinden toplanan Gündoğdu 2'nin ise diğer bireylere en uzak genetik kimliğe sahip olduğu bulunmuştur.

Verbascum bomyciferum Boiss. türüne ait popülasyonlar Orhaneli Baraj Çevresi, Misi, Çalı-Atlas, Dışkaya, Ağlaşan, Kumla, Haydariye, Narlı, Narlı Çevresi, Fıstıklı, Karayolları Kampı Çevresi, Armutlu, Kapaklı Çevresi, Gündoğdu ve Kumyaka-Mudanya lokasyonlarından toplanmıştır (bkz. Çizelge 3.1). Nei 1978 tarafsız sonuçlara göre genetik kimlik ölçümü en fazla 0,9861 ile Fıstıklı ve Gündoğdu popülasyonlarında görülmüştür. En az genetik kimlik ölçümü ise 0,8270 (Nei 1978) ile Gündoğdu ve Dışkaya popülasyonları arasında olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.4'te verilen dendrogramda detaylı olarak gözlenmiştir.

Popülasyon düzeyinde Kapaklı Çevresi ve Kapaklı 0,9651 genetik kimlik değeri ile kendi içinde benzerlik gösterirken, Armutlu ve Karayolları Kampı Çevresi de 0,9694 genetik kimlik düzeyi ile coğrafi konumdaki yakınlığıyla örtüşmüştür. Misi ve Çalı-Atlas bölgesi de 0,9769 değeri ile popülasyonlar arası benzerliğinde ikinci sırada yer alarak coğrafi konumunu doğrulamıştır. Dışkaya popülasyonunun ana kümeden ayrılarak, genetik olarak diğer popülasyonlara daha uzak olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, dendrogramda gözlenmesiyle birlikte PCA (Principal Component Analysis) haritasında da doğrulanmıştır (Şekil 4.6).

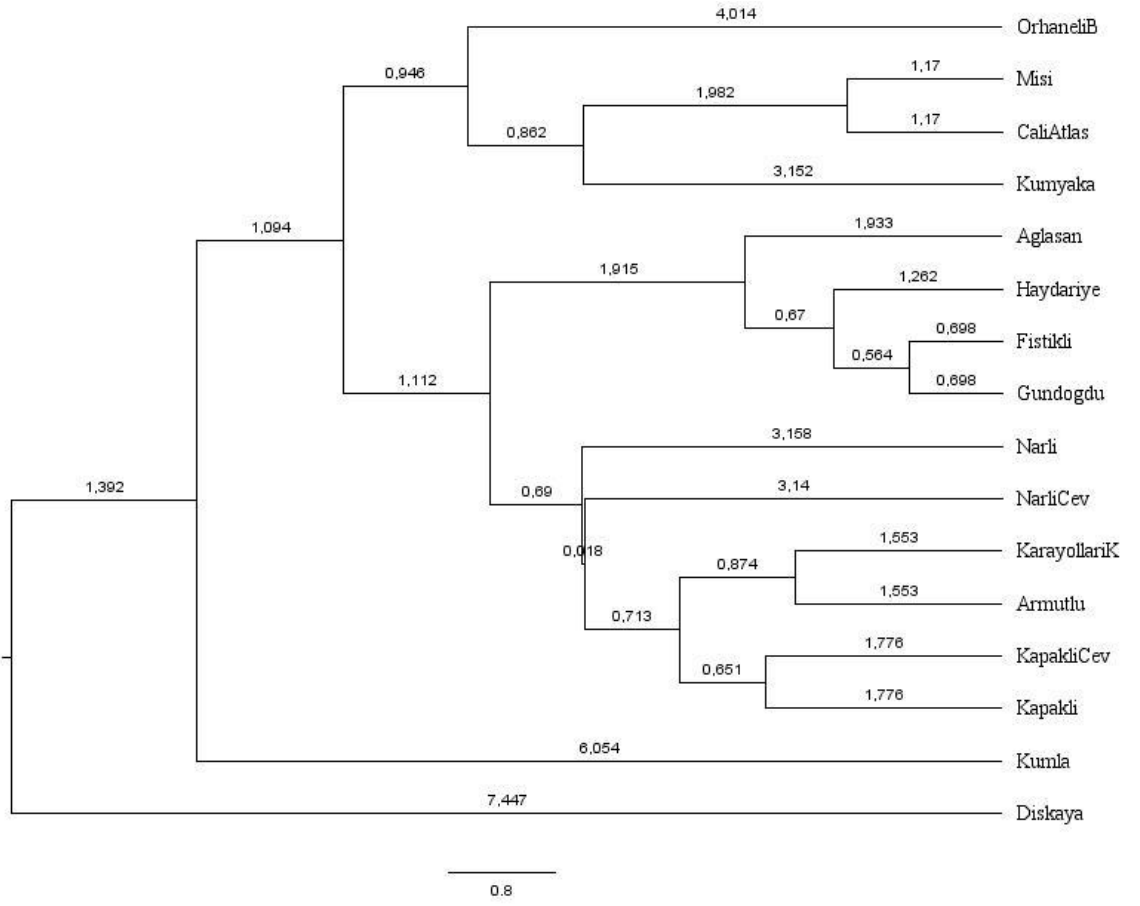


Şekil 4.2. *Verbascum bomyciferum* Boiss. bireylerine ait UPGMA metodu ile çizilen bireyler arası dendrogram

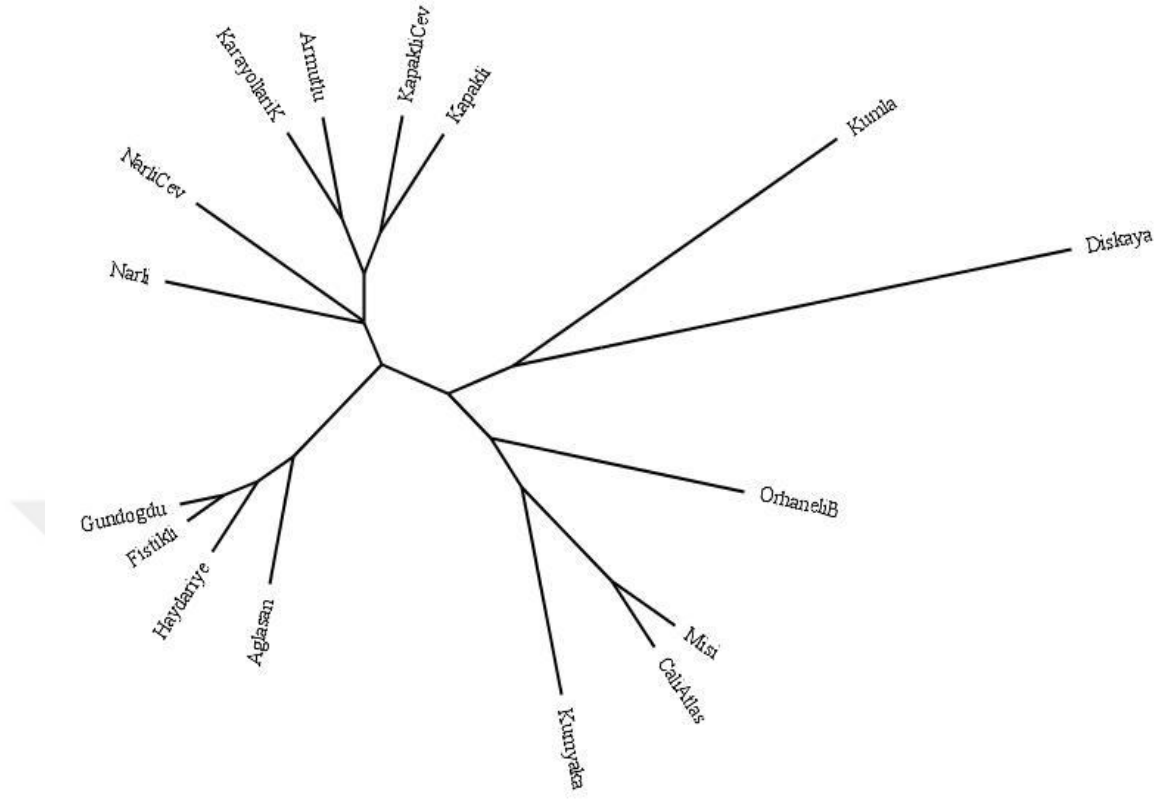


3.0

Şekil 4.3. *Verbascum bomyciferum* Boiss. bireylerine ait UPGMA metodu ile çizilen bireyler arası dendrogram radyal dağılımı



Şekil 4.4. *Verbascum bomyciferum* Boiss. popülasyonlarına ait UPGMA metodu ile çizilen popülasyonlar arası dendrogram



Şekil 4.5. *Verbascum bomyciferum* Boiss. popülasyonlarına ait UPGMA metodu ile çizilen popülasyonlar arası dendrogram radyal dağılımı

Polimorfik alellerin yüzdesi (PBB%), gözlenen alel numarası (Na), alel efektiflik numarası (Ne), Nei' ye göre genetik çeşitlilik (H), Shannon bilgi indeksi (I), toplam genetik çeşitlilik (Ht), popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (Hs), Nei' ye göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma indeksi (Gst), popülasyonlar arasındaki tahmini gen akışı (Nm) Popgen32 programı ile tespit edilmiştir. Bu sonuçlara ait genel durum Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5. *Verbascum bomyciferum* Boiss.'e ait popülasyon içi genetik çeşitlilik ve popülasyonlar arası genetik farklılaşma parametreleri

Popülasyon Adı	Na	Ne	H	I	Polimorfik Bant Sayısı	PPB%
OrhaneliB	1,6744	1,4494	0,2569	0,3789	58	67,44
Misi	1,5814	1,3493	0,2049	0,3075	50	58,14
Çalı-Atlas	1,5698	1,3428	0,2036	0,3058	49	56,98
Dışkaya	1,4651	1,3151	0,1810	0,2669	40	46,51
Ağlaşan	1,6628	1,3520	0,2146	0,3285	57	66,28
Kumla	1,4535	1,2771	0,1611	0,2410	39	45,35
Haydariye	1,4767	1,2877	0,1704	0,2559	41	47,67
Narlı	1,6860	1,4110	0,2348	0,3512	59	68,60
Narlı Çevresi	1,5000	1,3028	0,1763	0,2639	43	50,00
Fıstıklı	1,4767	1,2295	0,1457	0,2270	41	47,67
KarayollarıK	1,6512	1,4204	0,2399	0,3557	56	65,12
Armutlu	1,6047	1,3739	0,2184	0,3262	52	60,47
Kapaklı Çev.	1,5930	1,3876	0,2221	0,3289	51	59,30
Kapaklı	1,7209	1,4050	0,2378	0,3604	62	72,09
Gündüğüdu	1,5698	1,2509	0,1638	0,2592	49	56,98
Kumyaka	1,6279	1,3462	0,2081	0,3169	54	62,79
Ortalama	1,5821	1,3438	0,2025	0,3046	50,06	58,21
Popülasyon Düzeyi	2,000	1,4650	0,2881	0,4480	86	100

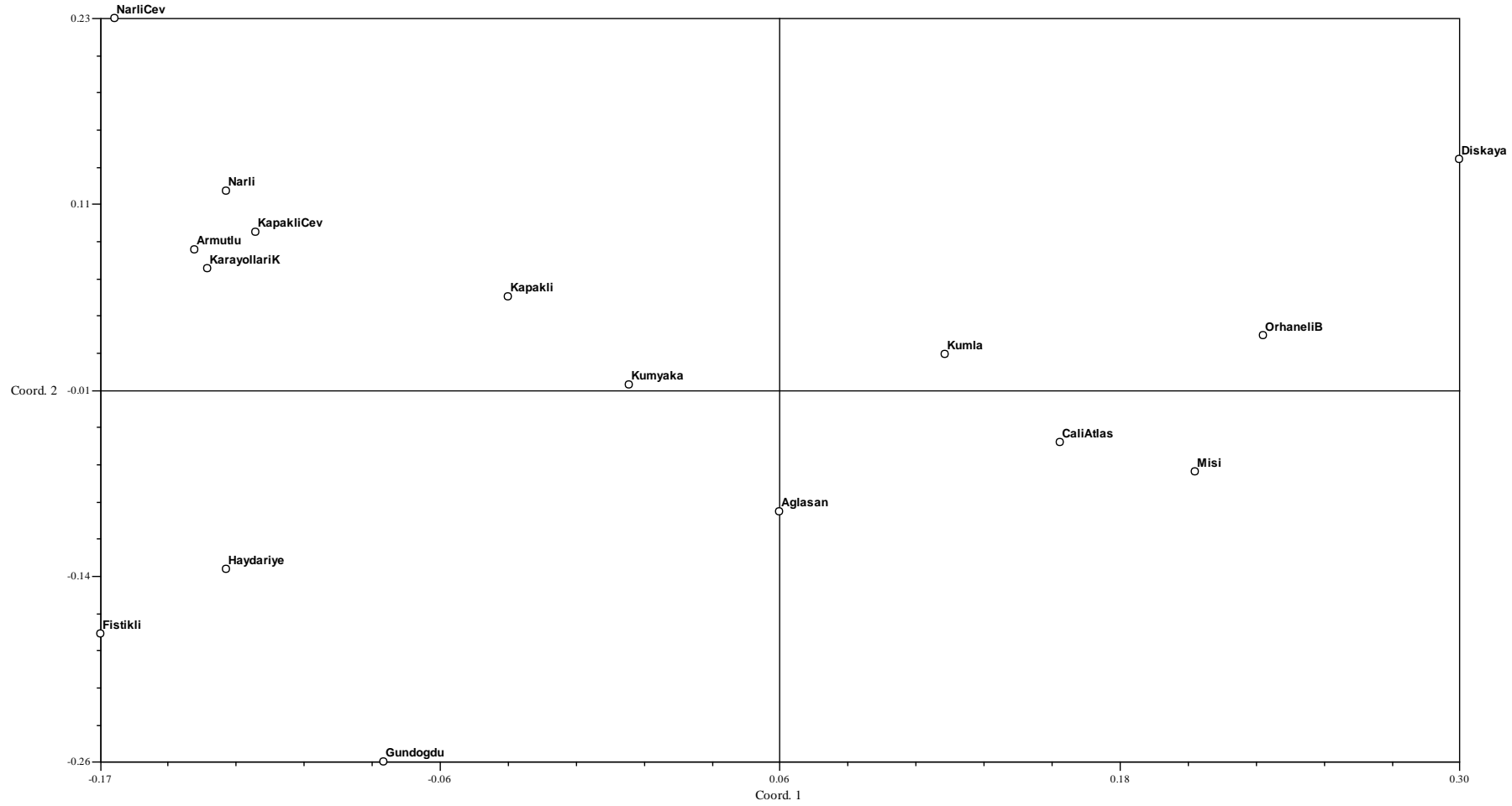
Her popülasyonun kendi bireyleri içinde genetik parametreleri incelendiğinde polimorfik bant yüzdesi % 45,35 ile % 72,09 arasında değiştiği ve ortalama polimorfik bant yüzdesinin % 58,21 olduğu tespit edilmiştir. Kapaklı popülasyonu 62 adet polimorfik bant ile en yüksek polimorfik bant yüzdesine sahip olmuştur. Yüksek genetik varyasyon gösteren *Verbascum bomyciferum* Boiss. için popülasyonlar arası Na, Ne, H ve I sonuçları sırasıyla 2,000, 1,4650, 0,2881 ve 0,4480 bulunmuştur (Çizelge 4.5). 16 popülasyonun popülasyonlar arası polimorfizmi % 100 olarak Popgen32 programı tarafından hesaplanmıştır.

Verbascum bomyciferum Boiss.'e ait popülasyon içi gözlenen alel sayısı (Na) 1,7209 ile 1,4535 arasında ve ortalaması 1,5821 olarak belirlenmiştir. Alel etkinliği sayısı (Ne) 1,2295 ile 1,4494 ve ortalaması 1,3438'dir. Nei'ye göre genetik çeşitlilik (H) en az Fıstıklı 0,1457 ve en fazla 0,2399 değeri ile Karayolları Kampı Çevresi'nde görülmüş olup ortalamaları 0,2025'tir. Shannon bilgi indeksi (I) 0,3789 ve 0,2270 arasındadır ve ortalaması 0,3046 olarak belirlenmiştir. % 45,35 ile Kumla popülasyonu popülasyonlar arası en düşük genetik varyasyonu gösterirken, Kapaklı ve Narlı popülasyonları %72,09 ile % 68,60 en yüksek genetik çeşitliliği göstermiştir.

Çizelge 4.6. *Verbascum bomyciferum* Boiss.'e ait toplam genetik çeşitlilik ve toplam genetik farklılaşma değerleri

Popülasyon Düzeyi	Ht	Hs	Gst	Nm
Toplam Değerler	0,2880	0,2025	0,2970	1,1833

Toplam genetik çeşitlilik (Ht) ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (Hs) sırasıyla, 0,2880 ve 0,2025 bulunmuştur. Nei' ye göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma indeksi (Gst) 0,2970 olarak belirlenirken, popülasyonlar arasındaki tahmini gen akışı (Nm) 1,1833 değerinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).



Şekil 4.6. *Verbascum bomyciferum* Boiss. populasyonları arasında PCA (Principal Component Analysis) gösterimi

5. SONUÇ

Yapılan araştırmada Marmara Bölgesi'ndeki çeşitli alanlardan toplanan 82 adet *Verbascum bombyciferum* Boiss. bireyi ve bunlardan oluşan 16 popülasyon moleküler markör tekniklerinden ISSR kullanılarak karakterize edilmiştir. Orhaneli Baraj Çevresi, Misi, Çalı-Atlas, Dışkaya, Ağlaşan, Kumla, Haydariye, Narlı, Narlı Çevresi, Fıstıklı, Karayolları Kampı Çevresi, Armutlu, Kapaklı Çevresi, Gündoğdu ve Kumyaka-Mudanya lokasyonlarından *Verbascum bombyciferum* Boiss. yaprak örnekleri alınmıştır. Yapraklardan elde edilen DNA'lar jel elektroforezinde yürütüldükten sonra elde edilen bantlar 1 ve 0 olarak skorlanmıştır. Skorlama sonrasında bireyler ve popülasyonlar arası genetik mesafeler belirlenerek genetik çeşitlikleri saptanmıştır. Elde edilen genetik mesafe matrisinden yararlanılarak bireyler ve popülasyonlar için dendrogramlar oluşturulmuştur.

82 adet *Verbascum bombyciferum* Boiss. bireyinin oluşturduğu dendrogram incelendiğinde, Ağlaşan 6 ve Karayolları Kampı Çevresi 5'in en yakın genetik mesafede olduğu saptanmıştır. Fıstıklı 3 ve Narlı 1 bireyleri de kendi arasında aynı yakınlığı göstermiştir. Genotipsel olarak en uzak mesafede Gündoğdu 2 bireyi tespit edilmiştir.

Popülasyona ait dendrograma bakıldığında Ağlaşan, Haydariye, Fıstıklı ve Gündoğdu birinci grup, Orhaneli Baraj Çevresi, Misi, Çalı-Atlas ve Kumyaka ikinci grup, Narlı, Narlı Çevresi, Karayolları Kampı Çevresi, Armutlu, Kapaklı Çevresi ve Kapaklı popülasyonları üçüncü grup olarak belirlenmiş ve bu popülasyonların Kumla bölgesinden yayılış gösterdiği sonucuna varılmıştır. Coğrafik olarak en uzak olan popülasyon Dışkaya olup, genotipsel olarak da dendrogram üzerinde doğrulanmıştır. Fıstıklı ve Gündoğdu popülasyonlarının en yakın genotipte olduğu gözlenmiştir. Ağlaşan bölgesi coğrafik olarak Dışkaya bölgesine yakın olmasına rağmen, genotipik olarak Haydariye, Fıstıklı ve Gündoğdu popülasyonları ile daha fazla yakın mesafede yer almıştır.

Nei'ye göre genetik çeşitlilik (H) değeri en yüksek Orhaneli Barajı Çevresi'nde tespit edilmiştir. Bu değer heterozigotluğun en yüksek olduğu yer olup *Verbascum bombyciferum* Boiss. türünün Orhaneli Barajı Çevresi'nden orjinlendiğini düşünmemize sebep olmuştur.

Atasal harita belirlemek ve genetik varyasyonu tespit etmek için sıkça kullanılan ISSR yöntemi, *Verbascum bombyciferum* Boiss. türü ile yapılan bu çalışmada da bireyler ve popülasyonlara ait genetik çeşitlilik hakkında detaylı bilgi vermiştir. 13 ISSR primeri belirlenerek kullanılan programda uygulanan UPGMA metodu (Ağırlıklı olmayan çift grup yöntemi) dizi çiftlerinin en benzer mesafe matrisine dayanıp aritmetik ortalamayı tespit ederek dendrogram çizilmesine kolaylık sağlamıştır.

Çalışmada kullanılan ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) yöntemi *Verbascum bombyciferum* Boiss. türü için yapılan ilk genetik analiz olmuştur. Moleküler markör tekniklerinden olan ISSR yönteminin, *Verbascum*'un bir çok değişik türünde genetik çeşitlilik ortaya çıkarma çalışmalarında da başarıyla kullanılabilceği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile son zamanlarda daha seyrek rastlanan *Verbascum bombyciferum* Boiss. türünün neslini çoğaltmak için yapılacak ıslah programlarına katkıda bulunacağı düşünülmüştür. Bu çalışmanın halk arasında bazı tedavi yöntemlerinde uygulanan *Verbascum bombyciferum* Boiss. ile ilgili yapılması muhtemel gen ekspresyon analizleri için temel çalışma olacağı ön görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Aytaç, Z., Duman, H. 2012.** *Verbascum hasbenlii* (Scrophulariaceae), a new species from Turkey. *Turk J Bot*, 36: 322-327.
- Boissier, E. 1867.** *Flora Orientalis*. Geneve, 1068 pp.
- Çenil, T. 2007.** Bursa ve çevresinde yayılışı olan *Verbascum* L. türleri üzerinde morfolojik ve taksonomik araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Daşkın, R. 2001.** Bursa Şehir Florası. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek lisans tezi*, Bursa.
- Davis, P. H., Mill, R. R., Tan, K. 1965.** Flora Of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg University Press, Edinburg, 567 pp.
- Dülger, B., Kırmızı, S., Arslan, H., Güteryüz, G. 2002.** Antimicrobial Activity of Three Endemic *Verbascum* Species. *Pharmaceutical Biology*, 40: 587-589.
- Heywood, V.H. 1993.** Flowering Plants of the World. Oxford University Press, New York.
- Huber-Morath, A. 1971.** Die Türkischchen Verbasceen. Swiss, 166 pp.
- Huber-Morath, A. 1978.** *Verbascum* L. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Ed.: Davis, P.H., Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, pp: 461-603.
- 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: 1311-1320.
- Karakus, M. 2016.** Bursa harita. <http://s5.photobucket.com/user/karakus/library/bursa%20harita?sort=2&page=1> (Erişim tarihi: 28.03.2016).
- Karavelioğulları, F. A. 2004.** Türkiye *Verbascum* 'ları (A Grubu) revizyonu. *Doktora Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karavelioğulları, F. A., Yavru, A., Çelik, S., Başer, B. 2011.** *Verbascum erginhamzaoglu* (Scrophulariaceae), a new species from South Anatolia, *Turk J Bot*, 35: 275-273.
- Kesawat, M.S., Das, B.K. 2009.** Molecular Markers: It's Application in Crop Improvement. *J. Crop Sci. Biotech.*, 12(4): 169-181.
- Linnaeus, C. 1753.** Species Plantarum. Geneve, Switzerland, 560 pp.

Mehrotra, R. 1989. Verbacoside: A New Luteolin Glycoside From *Verbascum thapsus*. *Journal of Natural Products*, 52(3): 640-643.

Milligan, S.B., J. Bodeau, J., Yahooobi, I. Kaloshian, P. Zabel, and V.M. Williamson 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the Leucine Zipper, Nucleotide Binding, Leucine-Rich repeat family of plant Genes. *The Plant Cell*. 10: 1307-1319.

Murberck, S. 1925. Monographie Der Gattung Celsia. *Acta Universitatis Lundensis*,. 22(1): 1-239.

Murberck, S. 1933. Monographie Der Gattung *Verbascum*. *Acta Universitatis Lundensis*, 29(2): 1-630.

Rossi, M., Goggin F.L., Milligan S.B., Kaloshian I., Ullman D.E., Williamson V.M. 1998. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95: 9750-9754.

Thomas, J., Vijayan, D., Joshi, S.D., Lopez, J.S., Kumar, R.R. 2006. Genetic integrity of somaclonal variants in tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze) as revealed by inter simple sequence repeats. *Journal of Biotechnology*. 123(2): 149-154.

Türker, A.U., Camper, N. D. 2002. Biological activity of common mullein, a medical plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 82: 117-125.

Türker, A.U., Gürel, E. 2005. Common mullein (*Verbascum thapsus* L.) recent advances in research. *Phytotherapy Research*, 19(9): 733-9.

Uysal, H., Aksakal, Ö., Aşkın, H. 2012. Developmental disorders caused by *Verbascum speciosum* Schrad. Extracts in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2): 7-11.

EKLER

EK 1 *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait genetik çeşitlilik parametreleri

EK 2 *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait genetik farklılık parametreleri



EKLER

EK 1: *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait genetik çeşitlilik parametreleri

Alel	Örnek Sayısı	na*	ne*	h*	I*
1	82	2.0000	1.6397	0.3901	0.5788
2	82	2.0000	1.9908	0.4977	0.6908
3	82	2.0000	1.3009	0.2313	0.3929
4	82	2.0000	1.9958	0.4989	0.6921
5	82	2.0000	1.9741	0.4934	0.6866
6	82	2.0000	1.1098	0.0990	0.2050
7	82	2.0000	1.8804	0.4682	0.6610
8	82	2.0000	1.1452	0.1268	0.2485
9	82	2.0000	1.7263	0.4207	0.6116
10	82	2.0000	1.9993	0.4998	0.6930
11	82	2.0000	1.5552	0.3570	0.5424
12	82	2.0000	1.9773	0.4943	0.6874
13	82	2.0000	1.7605	0.4320	0.6235
14	82	2.0000	1.8449	0.4580	0.6505
15	82	2.0000	1.5618	0.3597	0.5454
16	82	2.0000	1.2116	0.1747	0.3177
17	82	2.0000	1.0573	0.0542	0.1273
18	82	2.0000	1.5036	0.3349	0.5175
19	82	2.0000	1.7266	0.4208	0.6117
20	82	2.0000	1.3929	0.2821	0.4558
21	82	2.0000	1.1555	0.1346	0.2602
22	82	2.0000	1.3276	0.2468	0.4125
23	82	2.0000	1.7570	0.4309	0.6223
24	82	2.0000	1.0525	0.0499	0.1190
25	82	2.0000	1.1274	0.1130	0.2273
26	82	2.0000	1.3204	0.2427	0.4073
27	82	2.0000	1.0708	0.0661	0.1492
28	82	2.0000	1.1568	0.1356	0.2617
29	82	2.0000	1.3547	0.2618	0.4312
30	82	2.0000	1.0418	0.0401	0.0998
31	82	2.0000	1.1437	0.1256	0.2468
32	82	2.0000	1.2352	0.1904	0.3392
33	82	2.0000	1.8582	0.4619	0.6545
34	82	2.0000	1.2144	0.1766	0.3204
35	82	2.0000	1.1399	0.1227	0.2423
36	82	2.0000	1.3082	0.2356	0.3984
37	82	2.0000	1.0260	0.0253	0.0686
38	82	2.0000	1.0826	0.0763	0.1671
39	82	2.0000	1.2083	0.1724	0.3146
40	82	2.0000	1.1007	0.0915	0.1927
41	82	2.0000	1.1751	0.1490	0.2814
42	82	2.0000	1.7210	0.4189	0.6097

43	82	2.0000	1.4552	0.3128	0.4921
44	82	2.0000	1.1171	0.1049	0.2144
45	82	2.0000	1.2063	0.1710	0.3127
46	82	2.0000	1.1166	0.1044	0.2137
47	82	2.0000	1.1951	0.1632	0.3017
48	82	2.0000	1.0832	0.0768	0.1679
49	82	2.0000	1.6824	0.4056	0.5955
50	82	2.0000	1.9475	0.4865	0.6796
51	82	2.0000	1.5203	0.3422	0.5258
52	82	2.0000	1.8357	0.4553	0.6477
53	82	2.0000	1.4807	0.3246	0.5058
54	82	2.0000	1.7318	0.4226	0.6136
55	82	2.0000	1.9861	0.4965	0.6896
56	82	2.0000	1.9852	0.4963	0.6894
57	82	2.0000	1.9456	0.4860	0.6791
58	82	2.0000	1.1892	0.1591	0.2959
59	82	2.0000	1.4771	0.3230	0.5038
60	82	2.0000	1.4145	0.2930	0.4688
61	82	2.0000	1.7955	0.4431	0.6351
62	82	2.0000	1.5488	0.3543	0.5394
63	82	2.0000	1.3515	0.2601	0.4290
64	82	2.0000	1.0819	0.0757	0.1660
65	82	2.0000	1.9459	0.4861	0.6792
66	82	2.0000	1.4399	0.3055	0.4836
67	82	2.0000	1.8362	0.4554	0.6478
68	82	2.0000	1.4306	0.3010	0.4782
69	82	2.0000	1.2886	0.2239	0.3835
70	82	2.0000	1.5149	0.3399	0.5232
71	82	2.0000	1.3492	0.2588	0.4275
72	82	2.0000	1.4386	0.3049	0.4828
73	82	2.0000	1.5312	0.3469	0.5311
74	82	2.0000	1.8461	0.4583	0.6509
75	82	2.0000	1.9850	0.4962	0.6894
76	82	2.0000	1.3652	0.2675	0.4381
77	82	2.0000	1.3929	0.2821	0.4558
78	82	2.0000	1.3246	0.2450	0.4103
79	82	2.0000	1.2427	0.1953	0.3458
80	82	2.0000	1.1878	0.1581	0.2945
81	82	2.0000	1.2667	0.2105	0.3661
82	82	2.0000	1.6730	0.4023	0.5920
83	82	2.0000	1.7909	0.4416	0.6336
84	82	2.0000	1.3690	0.2696	0.4406
85	82	2.0000	1.3947	0.2830	0.4568
86	82	2.0000	1.2929	0.2265	0.3868
Mean	82	2.0000	1.4650	0.2881	0.4480
St. Dev		0.0000	0.3061	0.1439	0.1792

=====

* na = Observed number of alleles

* ne = Effective number of alleles [Kimura and Crow (1964)]

* h = Nei's (1973) gene diversity

* I = Shannon's Information index [Lewontin (1972)]

EK 2: *Verbascum bombyciferum* Boiss. türüne ait genetik farklılık parametreleri

Alel	Örnek sayısı	Ht	Hs	Gst	Nm*
1	82	0.3968	0.2103	0.4700	0.5638
2	82	0.4996	0.2234	0.5529	0.4044
3	82	0.2452	0.1049	0.5723	0.3736
4	82	0.4975	0.3127	0.3715	0.8460
5	82	0.4948	0.4094	0.1726	2.3970
6	82	0.1015	0.0928	0.0862	5.3033
7	82	0.4674	0.3478	0.2559	1.4539
8	82	0.1302	0.1100	0.1550	2.7260
9	82	0.4166	0.3131	0.2485	1.5122
10	82	0.4998	0.2368	0.5262	0.4503
11	82	0.3490	0.2422	0.3061	1.1334
12	82	0.4986	0.1015	0.7964	0.1278
13	82	0.4474	0.3201	0.2845	1.2575
14	82	0.4644	0.3536	0.2386	1.5957
15	82	0.3573	0.2360	0.3394	0.9733
16	82	0.1715	0.1466	0.1452	2.9431
17	82	0.0486	0.0377	0.2239	1.7328
18	82	0.3317	0.2602	0.2158	1.8172
19	82	0.4194	0.3525	0.1596	2.6333
20	82	0.3080	0.1447	0.5302	0.4431
21	82	0.1223	0.0900	0.2637	1.3961
22	82	0.2456	0.1981	0.1934	2.0854
23	82	0.4286	0.2502	0.4163	0.7010
24	82	0.0455	0.0421	0.0734	6.3086
25	82	0.1145	0.0759	0.3370	0.9836
26	82	0.2508	0.1873	0.2532	1.4745
27	82	0.0589	0.0476	0.1907	2.1221
28	82	0.1458	0.1303	0.1063	4.2017
29	82	0.2676	0.2059	0.2307	1.6677
30	82	0.0498	0.0406	0.1858	2.1912
31	82	0.1298	0.1117	0.1396	3.0822
32	82	0.1833	0.1470	0.1978	2.0280
33	82	0.4678	0.3348	0.2842	1.2590
34	82	0.1592	0.1309	0.1778	2.3124
35	82	0.1175	0.1071	0.0879	5.1882
36	82	0.2350	0.1938	0.1756	2.3471
37	82	0.0238	0.0217	0.0862	5.2986
38	82	0.0856	0.0749	0.1248	3.5073
39	82	0.1923	0.1658	0.1378	3.1293
40	82	0.1032	0.0796	0.2289	1.6846
41	82	0.1485	0.1293	0.1293	3.3657
42	82	0.4065	0.2603	0.3597	0.8900
43	82	0.3345	0.2648	0.2083	1.9000
44	82	0.1218	0.0947	0.2231	1.7413
45	82	0.1580	0.1205	0.2372	1.6084

46	82	0.0925	0.0763	0.1748	2.3607
47	82	0.1470	0.1242	0.1551	2.7239
48	82	0.0724	0.0623	0.1392	3.0919
49	82	0.3842	0.2572	0.3306	1.0126
50	82	0.4818	0.3048	0.3673	0.8612
51	82	0.3529	0.2276	0.3550	0.9083
52	82	0.4542	0.3263	0.2815	1.2759
53	82	0.3196	0.2503	0.2170	1.8045
54	82	0.4169	0.3460	0.1701	2.4393
55	82	0.4969	0.4112	0.1725	2.3980
56	82	0.4945	0.3978	0.1955	2.0571
57	82	0.4884	0.3038	0.3780	0.8228
58	82	0.1507	0.1349	0.1052	4.2527
59	82	0.3072	0.1763	0.4262	0.6731
60	82	0.2758	0.2119	0.2319	1.6565
61	82	0.4434	0.3847	0.1324	3.2762
62	82	0.3420	0.2597	0.2407	1.5769
63	82	0.2545	0.1977	0.2234	1.7377
64	82	0.0741	0.0658	0.1114	3.9886
65	82	0.4809	0.3345	0.3044	1.1428
66	82	0.3033	0.2293	0.2438	1.5506
67	82	0.4622	0.1979	0.5719	0.3743
68	82	0.3007	0.2382	0.2079	1.9051
69	82	0.2236	0.1801	0.1944	2.0724
70	82	0.3314	0.2938	0.1135	3.9059
71	82	0.2411	0.1927	0.2008	1.9906
72	82	0.3106	0.1791	0.4233	0.6813
73	82	0.3596	0.2085	0.4202	0.6900
74	82	0.4480	0.2650	0.4086	0.7236
75	82	0.4900	0.2663	0.4565	0.5954
76	82	0.2527	0.1806	0.2853	1.2523
77	82	0.2834	0.2460	0.1318	3.2948
78	82	0.2404	0.2208	0.0815	5.6312
79	82	0.1942	0.1699	0.1254	3.4885
80	82	0.1558	0.1163	0.2537	1.4710
81	82	0.2229	0.1841	0.1741	2.3725
82	82	0.4133	0.2872	0.3052	1.1381
83	82	0.4515	0.3285	0.2724	1.3357
84	82	0.2976	0.1841	0.3814	0.8108
85	82	0.2911	0.1526	0.4757	0.5511
86	82	0.2246	0.1767	0.2134	1.8434
Mean	82	0.2880	0.2025	0.2970	1.1833
St. Dev		0.0208	0.0094		

* Nm = estimate of gene flow from Gst or Gcs. E.g., $Nm = 0.5(1 - Gst)/Gst$;
 See McDermott and McDonald, *Ann. Rev. Phytopathol.* 31:353-373 (1993).
 The number of polymorphic loci is : 86
 The percentage of polymorphic loci is : 100.00

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : MERVE GÜVEN
Doğum Yeri ve Tarihi : BURSA, 1988
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Ertuğrulgazi Lisesi (YDA) /2002-2006
Lisans : Ege Üni. F.E.F. Biyokimya B. / 2007-2012
Yüksek Lisans : U.Ü. F.B.E. Moleküler Biyoloji ve Genetik
A.B.D Moleküler Genetik B.D /2013-2017

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : SORANUS Tüp Bebek Merkezi / 2013-2014
SERRA Biyoteknoloji ve Laboratuvar Ürünleri
İthalat İhracat San. ve Tic. Ltd. Şti. / 2015-2016

İletişim (e-posta) : merveyasar160788@gmail.com