

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

**TRAKYA BÖLGESİNDE YETİŞEN KANOLA (KOLZA)
BİTKİSİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER
İŞARETLEYİCİLERLE KARAKTERİZASYONU**

Betül GIDİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ANABİLİM DALI ADI**

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

**HAZİRAN 2012
ÇORUM**

Betül Gıdık tarafından hazırlanan "Trakya Bölgesinde Yetişen Kanola (Kolza) Bitkisinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu" adlı tez çalışması 26.06.2012 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği / ~~oy~~ ~~çokluğu~~ ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı Yrd.Doç.Dr.Belgin Göçmen Taşkın

Tez Danışmanı Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek

Üye Yrd. Doç. Dr. Ali Salur



Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 23.03.2012.. tarih ve 2010/03... sayılı kararı ile Betül GIDIK'ın Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.


PROF. DR. ALI KILIÇARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

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



Betül GIDIK

**TRAKYA BÖLGESİNDE YETİŞEN KANOLA (KOLZA) BİTKİSİNDE
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLERLE
KARAKTERİZASYONU**

BETÜL GIDIK

HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2012

ÖZET

Bu çalışmada Canola (*Brassica napus*) bitkisinde genetik çeşitlilik 10 popülasyon içinde rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA analizi (RAPD) tekniği ve 10 RAPD primeri kullanılarak analiz edildi. Bitki materyali Trakya bölgesinde çiftçi tarlalarında yetişen beş çeşit ve ticari firmalar tarafından temin edilen dört çeşitten oluşturuldu. On RAPD primeri 51 polimorfik (%100) lokus üretti. Elde edilen ham RAPD verileri POPGENE (3.2 sürümü) genetik veri analizi yazılım programı ile değerlendirildi. Lokus düzeyindeki genetik çeşitlilik verilerine göre toplam genetik çeşitlilik (H_T) ve popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_s) değerleri sırasıyla 0,19 ve 0,15 olarak tespit edildi. Popülasyonlar arası genetik farklılaşma (G_{ST}) ve gen akışı (N_m) değerleri 0,20 ve 2,05 olarak hesaplandı. Lokus başına ortalama alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ae}), genetik çeşitlilik (H_e) ve Shannon enformasyon indeks değerleri (I) sırasıyla 2, 1,26, 0,19 ve 0,32 olarak tespit edildi. Pearson korelasyon analizi sonuçlarına göre rüzgarın genetik çeşitlik, alel sayısı ve Shannon enformasyon indeksi verileri üzerine yüksek düzeyde negatif etkisi olduğu gözlemlendi. Regresyon analizi sonuçları da rüzgârın genetik veriler üzerindeki etkisinin yüksek düzeyde olduğunu gösterdi. Temel bileşenler analizinin, elde edilen üç temel bileşenle toplam genetik çeşitliliğin % 96,74'ünü açıkladığı görüldü. Bu çalışma Trakya bölgesinde yetişen *Brassica napus* bitkisinin genetik karakterizasyonu ile ilgili yapılmış ilk çalışma olup, genetik çeşitliliğin dikkate değer oranda yüksek

olduğu ve rüzgârın genetik çeşitlilik üzerine etkisinin çok yüksek düzeyde olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: *Brassica napus*, moleküler işaretleyici, RAPD, genetik çeşitlilik.

**CHARACTERIZATION OF GENETIC DIVERSITY in CANOLA PLANT,
GROWN IN TRAKYA REGION, BY MOLECULAR MARKERS**

BETÜL GIDİK

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

JUNE 2012

ABSTRACT

In this study genetic diversity in 10 *Brassica napus* populations was analyzed using 10-mer RAPD primers by randomly amplified polymorphic DNA analysis (RAPD) technique. Plant material was formed by five different varieties, which were collected from farmer's fields and four different varieties, which were provided by commercial companies. Ten RAPD primers produced 51 polymorphic (100%) loci. The raw RAPD data were analyzed by using the POPGENE (3.2 version), a genetic data analysis software program. According to genetic analysis at locus level, the values of genetic diversity within population (H_s) and overall (H_T) were 0.15 and 0.19 respectively. The genetic differentiation (G_{ST}) and gene flow (N_m) between populations were 0.20 and 2.05 respectively. The average number of alleles per locus (n_a), the average number of effective alleles (n_{ae}), the mean value of genetic diversity (H_e) and Shannon information index (I) were 2, 1.26, 0.19 and 0.32 respectively. According to the Pearson correlation analysis wind had strong negative effect on the number of alleles, genetic diversity and Shannon information index. Regression analysis also displayed the effect of wind on genetic indices. Principal component analysis explained 96.74% of the total genetic variation by three extracted components. Principal coordinate analysis displayed the spatial distribution of 10 populations. This is the first study about characterization of genetic diversity in canola, grown in Trakya region of Turkey, using RAPD molecular markers. As a consequence the genetic diversity was found considerably high percentage for

Brassica napus as a genetically modified plant and wind as an ecological factor had substantial effect on genetic diversity.

Key words: *Brassica napus*, molecular markers, RAPD, genetic diversity.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca tavsiye ve yapıcı eleştirileriyle bana yol gösteren, her zaman destek ve moral veren, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Arazi çalışmalarında ve bitki örneklemelerimde bana yardımcı olan ayrıca yüksek lisans çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen sayın M. Fırat Baran'a çok teşekkür ederim.

Tarlalarından örnekleme yapmama izin veren, Edirne Süloğlu ve Kapıkule ilçeleri, Tekirdağ Muratlı ilçesi ve Karaevli köyü, Kırklareli Kofçaz ilçesi ve Karıncak köyü çiftçilerine teşekkür ederim. Kofçaz örneklerimin toplanmasında çok yardımcı olan sayın Mehmet Üstüntaş'a, Edirne örneklerimin toplanmasında çok yardımcı olan sayın Kadir Üstüntaş'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam için ücretsiz olarak tohum temin etmemizi sağlayan KWS Türk Tarım Ticaret A.Ş. ve Syngenta Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye teşekkür ederim. Yüksek lisans laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan değerli hocam sayın Dr. Aykut Yılmaz'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans çalışma arkadaşlarım Aslı Kara ve Elçin Görgülü'ye laboratuvar aşaması ve tez yazım aşamasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Maddi ve manevi bir çok fedakarlıkla beni bugünlere getiren, bana her zaman destek olan annem Refiye Uçar'a ve babam Zekeriyya Uçar'a, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan ve rahat bir çalışma ortamı sağlayan, eşim Osman Gıdık'a, yüksek lisans çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen amcam Memiş Uçar'a, değerli arkadaşım Mustafa Veran' a ve Mehmet Fatih Şerbetci'ye çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
HARİTALAR DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	23
2.1.Daha Önce Yapılan Çalışmalar	23
3. MATERYEL VE YÖNTEM.....	29
3.1.Materyal.....	29
3.1.1. Örneklerin Toplanması.....	31
3.1.2. Örneklerin yetiştirilmesi.....	31
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	33
3.2.2. RAPD Primerleri	34
3.2.3. PCR Koşulları	35
3.2.4. Örneklerin Jele Yüklenmesi	35
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	37

Sayfa

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	42
4.1. Genetik Analizler	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
6. KAYNAKLAR	62
7. EKLER	67
7.1. Ek-1	68
7.2. Ek-2	71
7.3. Ek-3	73
7.4. Ek-4	74
7.5. Ek-5	76
ÖZGEÇMİŞ	79

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Türkiye’deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre ekiliş alanları ...	8
Çizelge 1.2. Türkiye’deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre üretimi miktarı.....	9
Çizelge 1.3. Türkiye’deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre verim değerleri	9
Çizelge 1.4. Yıllara göre Türkiye’de kanola ekiliş alanı, verim ve üretim verileri ..	11
Çizelge 3.1. Tarladan toplanan örneklerin toplandığı bölge, yükseklik ve birey sayısı gösterilmektedir.	29
Çizelge 3.2. Piyasadan temin edilen <i>Brassica napus</i> çeşitleri ve birey sayıları gösterilmektedir.	30
Çizelge 3.3. Örneklerin toplandığı lokasyonların il bazında nem, rüzgar, yağış ve sıcaklık değerlerinin yıllık ortalama verileri.....	31
Çizelge 3.4. Kullanılan primer dizileri <i>Brassica napus</i> (Kanola).....	34
Çizelge 3.5. <i>Brassica napus</i> (Kanola) için kullanılan PCR programı.....	35
Çizelge 4.1. Lokuslardaki alellerin frekansları	43
Çizelge 4.2. Lokuslarda gözlenen toplam genetik çeşitlilik (H_T), popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S), popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (G_{ST}) ve gen akışı (N_m) verileri	44
Çizelge 4.3. Tüm RAPD lokuslarında gözlenen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), genetik çeşitlilik (H_e) ve Shannon enformasyon indeksi verileri	46
Çizelge 4.4. <i>Brassica napus</i> popülasyonlarında gözlenen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), genetik çeşitlilik (H_e) ve Shannon enformasyon indeksi verileri	47
Çizelge 4.5. Kullanılan tüm primerlerin oluşturduğu lokus sayısı (primerin ürettiği toplam bant sayısı), primerlerin gözlendiği popülasyonların sayısı ile her primerde gözlenen tüm bantların en düşük ve en yüksek moleküler ağırlıkları	49
Çizelge 4.6. Nei’ye (1972) göre <i>Brassica napus</i> popülasyonları arsında genetik uzak verileri	50

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.7. Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan Pearson korelasyon katsayısı verileri (2010 verilerine göre)... 51	
Çizelge 4.8. Temel bileşenler analizi (TBA) (principal component analysis, PCA) 2010 verilerine göre 52	
Çizelge 4.9. Genetik ve eko-coğrafik değişkenleri temel bileşenlere olan katkılarını gösteren matriks verileri (2010 verilerine göre) 53	
Çizelge 4.10. Eko-coğrafik faktörlerin genetik çeşitlilik üzerine ayrı ayrı etkilerini belirlemek üzere yapılan stepwise regresyon analizi verileri 53	
Çizelge 4.11. Eko-coğrafik faktörler (2009 ve 2010 verilerine göre) ile genetik veriler arasındaki ilişkiyi gösteren Pearson korelasyon katsayısı verileri 54	
Çizelge 4.12. Temel bileşenler analizi (2010-2009 verilerine göre)..... 55	
Çizelge 4.13. Temel bileşenler matriks tablosu 2010 -2009 verilerine göre 56	
Çizelge 4.14. Temel koordinatların Eigen değerleri, varyasyon ve katlanmış (kümülatif) varyasyon değerleri 56	
Çizelge 4.15. Temel koordinatlar matriks değerleri..... 57	
Çizelge E.1.1.Edirne ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nisbi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir..... 68	
Çizelge E.1.2.Kırklareli ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nisbi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir..... 69	
Çizelge E.1.3.Tekirdağ ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nisbi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir..... 70	
Çizelge E.2.1.DNA izolasyon çözeltilisinin hazırlanmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı 71	
Çizelge E.2.2. DNA izolasyon çözeltilisi hazırlanışı 72	
Çizelge E.4.1. 50X TAE için gerekli kimyasalların miktarları..... 74	
Çizelge E.5.1. Lokusların popülasyon düzeyinde frekansları..... 76	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. <i>Brassica</i> cinsine ait farklı türler arasındaki genetik ilişkiler	4
Şekil 1.2. RAPD reaksiyonunun şematik gösterimi.....	18
Şekil 4.1. <i>Brassica napus</i> popülasyonları arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendogram	50
Şekil 4.2. Eigen değerlerine göre koordinatların varyasyon yüzdesi dağılımı	57
Şekil 4.3. Popülasyonların sahip oldukları varyasyon değerlerine ve birbirlerine göre coğrafik dağılımının temel koordinatlar analizine göre gösterimi	58

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Kanola bitkisinin genel görünümü.....	5
Resim 1.2. Kanola bitkisindeki harnup tipi meyve	6
Resim 1.3. Kanola bitkisinde meyve	6
Resim 1.4. Kanola tohumlarının genel görünüşü.....	13
Resim 3.1. <i>Brassica napus</i> tohumu ekilmiş saksıların genel görünümü	32
Resim 3.2. Saksıda yetiştirilmiş bir <i>Brassica napus</i> bitki örneğinin görünümü.....	32
Resim 3.3. Saksıda yetiştirilmiş bir <i>Brassica napus</i> bitki örneğinin yapraklarının görünümü	33
Resim 3.4. Jele örnek yükleme işlemi.....	36
Resim 3.5. ABN-06 Primeri için kontrol ve ilk RAPD elektroforez sonuçlarından bir görüntü	41
Resim 4.1. Örnek bir RAPD sonucu görüntüsü	42

HARİTALAR DİZİNİ

Harita

Sayfa

- Harita 3.1. **a.**Trakya Bölgesinde örneklerin toplandığı lokasyonlar. A. Kırklareli-Kofçaz, B. Kırklareli-Karıncak Köyü, C. Edirne-Kapıkule, D. Edirne-Süloğlu, E. Tekirdağ Muratlı, F. Tekirdağ- Karaevli Köyü lokasyonlarını göstermektedir. **b.** Türkiye haritası 30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
na	Gözlenen alel sayısı
nea	Etkili alel sayısı
He	Genetik çeşitlilik
I	Shannon enformasyon indeks değeri
Ht	Toplam genetik çeşitlilik
Hs	Populasyon içi çeşitlilik
Gst	Genetik farklılaşma
Nm	Populasyonlar arasındaki gen akışı
g	Gram
mL	Mililitre
mg	Miligram
pH	Asitlik, bazlık derecesi
da	Dekar
bp	Baz çifti
µL	Mikrolitre
mA	Miliamper
mV	Milivolt

Kısaltmalar	Açıklama
SI	Sıcaklık
NM	Nem
RÜ	Rüzgar

Kısaltmalar	Açıklama
SN	Sıra numarası
N	Örnek
YA	Yağış
YÜ	Yükseklik
EN	Enlem
BO	Boylam
BD	Bağımlı Değişken
BZD	Bağımsız Değişken
SYNG	Syngenta
YOS	Yıllık ortalama sıcaklık
YOY	Yıllık ortalama yağış
YON	Yıllık ortalama nispi nem
YOR	Yıllık ortalama rüzgar hızı
AOS	Aylık ortalama sıcaklık
ATY	Aylık toplam yağış
AON	Aylık ortalama nisbi nem
AOR	Aylık ortalama rüzgar hızı
TAE	Tris-acetate-EDTA
M	Molar
L	Litre
UV	Ultraviyole
LB	Loading Buffer (yükleme tamponu)
Ve	Verim
EA	Ekiliş alanı
ÜR	Üretim
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
SSR	Basit tekrar dizileri
DAF	DNA parmakizi profili
PG	Patojen grubu

Kısaltmalar**Açıklama****PL**

Polimorfik lokus

GDO

Genetiği değiştirilmiş organizma

EDTA

Etilen daimin tetra asetik asit

TE

Tris EDTA

RAPDRandom Amplification Of Polymorphic
DNA**AFLP**Amplified Fragment Length
Polymorphism

1.GİRİŞ

Dünyamızda nüfus her geçen gün hızlanarak artmaktadır. Bu artış insanları yeni besin ve ham madde kaynakları bulmak zorunda bırakmıştır. Bu durum kullanılan ürünlerde atık maddeyi en aza indirme ve bir ürün çeşidinden mümkün olduğunca fazla alanda yararlanabilme fikrini ortaya çıkarmıştır. Özellikle tarım ürünlerinden hem gıda alanında hem de endüstriyel alanlarda yararlanma artık sık rastlanır bir durum haline gelmektedir.

Günümüzde özellikle yağlı tohumlu bitkiler sofralık yağlar, hayvan yemi, biodizel, ilaç yapımı, boya sanayi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca belirli bir araziden bir yılda daha çok ürün elde etmek için ekim nöbetleri uygulaması da yapılmaktadır. Böylece belirli sırada ekilen tarım ürünleri hem toprağın verimli kullanılmasını, hem de eldeki mevcut alanlardan mümkün olduğunca fazla ürün alınmasını sağlamaktadır.

Kanola bitkisi son zamanlarda ekim alanı hızla artan bitkilerden biridir. Özellikle Trakya Bölgesinde yoğun olarak ekilen bu bitkinin tohumundaki yağ oranı, sofralık yağ olarak tüketilmenin yanı sıra birçok endüstriyel alanda da kullanıma uygundur. Ayrıca kanola bitkisinden elde edilen yağ, bazı işlemler uygulanarak biodizel olarak da kullanılmaktadır.

GDO (Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar) ve Kanola

Tarımda klasik ıslah yöntemleri ile çözülemeyen ekonomik öneme sahip bazı problemlerin çözümünde biyoteknoloji, önemli katkılar sağlamıştır. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO veya transgenik ürünler), gen teknolojisi kullanılarak genetik kodu değiştirilmiş canlı organizmalardır. Genetik kod değiştirme işlemi, genetik modifikasyon yapılacak organizmanın genomuna bir DNA parçasının ya da birkaç küçük DNA parçasından meydana gelen sentetik bir kombinasyonun eklenmesi ile gerçekleşir. Transfer edilecek gen, doğal canlı organizmalardan alınmaktadır. Böylece bir ürüne başka bir canlıdan yeni bir özellik taşınmış olmaktadır (Anonim, 2008).

Doymuş yağ oranı yüksek olan yağlar, vücutta kolesterol üretimini gerçekleştirir. Doymuş yağ oranı düşük ve doymamış yağ oranı yüksek olan yağlar, sağlık açısından önemlidir. Bu yağlar kızartma ve diğer işlemlerde kullanılan yüksek sıcaklığa dayanıklı yağlardır. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan kanola, soya, ayçiçeği ve yer fıstığı gibi bitkisel sıvı yağlardaki doymamış yağ asidi oranını daha da artırmak için bu yağ bitkilerinin genetiği değiştirilebilmektedir (Uzogara, 2000)

Kanola bitkisi ilk olarak M.Ö. 2000 yılında Hindistan'da kültüre alınmış daha sonra Çin'de ve Japonya'da yayılmıştır. İkinci Dünya Savaşının başlaması ile kanola bitkisinin üretimi artışa geçmiştir ve günümüzde en yüksek artış hızına sahip olan yağlı tohum bitkisidir. Kanola, Avrupa, Kanada ve Amerika ülkelerinde yoğun olarak tarımı yapılan, ülkemizin neredeyse her bölgesinde çok rahat yetişebilen bir yağ bitkisidir (Baran, 2010).

Kanoladan elde edilen yağdaki erüsik asit ve küspesinde bulunan glikozinoladın yüksek (%1 oranından yüksek) olması durumunda beslenmede özellikle yaşlı bireylerin beslenmesinde zararlı olmaktadır. Küspesi yüksek oranda glikozinolat içerdiği zaman hayvanlarda karaciğer rahatsızlıkları, gut iltihaplanmaları ve tiroit bezi büyümelerine neden olmaktadır. '00' çift sıfırlı çeşitler olarak adlandırılan, yani erüsik asit ve glikozinolat değerleri sifıra yakın olan kanola çeşitlerinin geliştirilmesiyle Sağlık Bakanlığının 15.04.1987 tarihli raporuyla kanola yağının kullanımına izin verilmiştir (Baran, 2010).

Erüsik asit ve glikozinolat oranları kabul edilebilir değerin üzerinde bulunan, sanayide ve erüsik asit oranı yükseltılarak biyodizel olarak kullanılan çeşitlerine kolza adı verilmiştir.

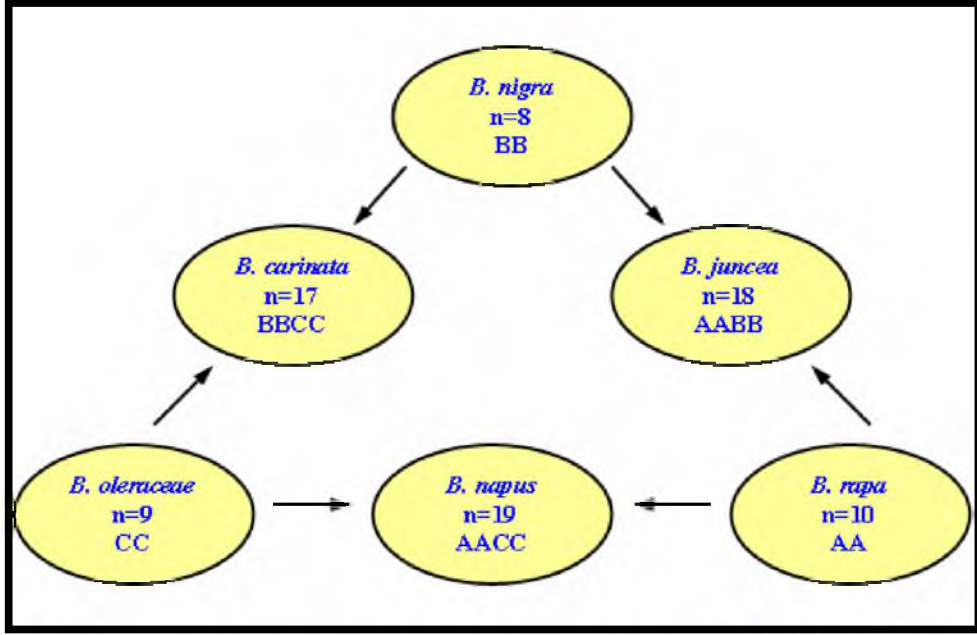
Ülkemize 1960'lı yıllarda getirilmiş olan Kolza bitkisi özellikle Trakya yöresinde yaygın olarak yetiştirilmeye başlanmıştır. Fakat çiftçiler kendi hasatlarını tohum olarak kullandıklarında genetik özellikler korunamadığı için, kolza yağındaki insan sağlığına zararlı olan erüsik asit ile küspesindeki hayvan sağlığına zararlı olan glukozinolat (Kolza tohumunda var olan, tiroit bezinin fonksiyonlarını bozan hardal yağı glikozitleri) oranları yükselmiş ve sonuç olarak 1979 yılında üretilmesi yasaklanmıştır.

Kolza'nın Kanada'da ıslahı sonucunda erüsik asit ve glukosinolat içermeyen bir türü elde edilmiş, adına da, İngilizce "Canadian Oil Low Acid" (düşük asitli Kanada yağı) kelimelerinin kısaltması olan "Kanola" adı verilmiştir (Baran, 2010).

Kolza (rapeseed, oilseed rape), *Cruciferae* (*Brassicaceae*) familyasında bulunan ve çoğu ekonomik değer taşıyan yaklaşık 160 tür bulunduran iki yıllık otsu bitkileri içeren *Brassica genusuna* ait bir bitkidir. Bugün yeryüzünde *Brassica genusuna* ait 5 akraba tür, bitkisel yağ kaynağı olarak yetiştirilmektedir. Ancak bunlardan iki tanesi ekonomik ve ticari önem bakımından diğerlerine göre daha fazla kullanılmaktadır. Bunlar önceden *Brassica campestris* olarak bilinen *Brassica rapa* var. *oleifera* ve *Brassica napus* var. *oleifera*'dır. *B. napus*, Arjantin kolzası, İsveç kolzası ya da sadece kolza olarak bilinmektedir. Kromozom sayısı $2n = 38$ 'dir.

Brassica napus, *Brassica* (*Cruciferae*) cinsi, *Brassicaceae* familyası, *Brassicales* takımı, *Magnoliopsida* sınıfı, *Magnoliophyta* bölümü, *Plantae* aleminde bulunmaktadır.

B. napus, *B. rapa* ile *B. oleraceae* (lahana) gibi diploit türlerin doğada rastlantı eseri melezlenmesi sonucu ortaya çıkan amfidiploit bir türdür. Farklı *Brassica* türleri arasındaki genetik ilişkiler, yapılan taksonomik ve sitogenetik çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. *B. napus* yapay melezleme teknikleri ile elde edilmiş ve böylece bu ilişkileri kanıtlanmıştır. *B. napus*'un ebeveynlerinden birisi olan *B. oleraceae* Akdeniz kökenli bir bitkidir, bu nedenle *B. napus*'un orijininin Güney Avrupa olduğu ve 18.yy'ın başlarından itibaren Asya'da da görülmeye başladığı belirtilmektedir (Doğru, 2006). Şekil 1.1'de *Brassica* cinsine ait farklı türler arasındaki genetik ilişki gösterilmiştir.



Şekil 1.1. *Brassica* cinsine ait farklı türler arasındaki genetik ilişkiler (Kimber ve McGregor, 1995).

Kolza yazlık ve kışlık çeşitleri bulunan, tek yıllık, otsu yapıda bir yağ bitkisidir. Hızlıca derinlere inebilen kazık köke ve bu köke bağlı yan köklere sahiptir. Toprak özelliklerine bağlı olarak değişim gösterir fakat genellikle 100-120 cm derine inerken, yan kökler yaklaşık 50-80 cm'lik bir alana yayılabilir. Bitkinin sapı ise sert, kuvvetli, 1,5-2 cm çapında ve dik bir yapıdadır. Mavimsi-yeşil renkte bir görünüme sahiptir. Özellikle bitkinin alt kısmında oldukça büyük yapraklar bulunur genelde çıplak, parlak, koyu yeşil ya da mavimsi-yeşil renktedir. Genç bitkilerin yapraklarında seyrek olarak tüyler bulunur. Fakat bu tüyler bitkinin gelişmesiyle birlikte kaybolur. Bitkinin alt yaprakları ana dal ve yan dallara bir yaprak sapı ile bağlanırken, üst yapraklar dalları sararak ana dal ve yan dallara doğrudan bağlanırlar. Ana dal ve yan dalların ucunda salkım şeklinde çiçekler gelişir. Çiçek şekli resim 1.1'de gösterilmiştir. Çiçek durumu basit üzüksüdür (rasemöz). Dar elips ya da yumurta şeklinde, 5-8 mm uzunluğunda, 1,25-2 mm genişliğinde 4 sepal; yuvarlak, elips şeklinde, yukarıya doğru genişleyerek kama şeklini alan, 11-14 mm uzunluğunda sarı renkli 4 petal bulunmaktadır. Stamen sayısı 6 olup, bunlardan iki tanesinin flamenti kısa iken diğerlerinin flamenti daha uzundur. Çiçeğin yapısında stigmaları düğme şeklinde olan bir adet ovaryum bulunmaktadır. Çiçeklerden nektar salgılanır.



Resim 1.1. Kanola bitkisinin genel görünümü (Baran, 2010)

Olgunlaşınca açılan basit bir meyve tipi olan, harnup olarak da adlandırılan silikva tipinde meyvelere sahiptir. Harnuplar resim 1.2’de ve 1.3’de görüldüğü gibi uzun, yuvarlak ya da dört köşeli olabilir ve uç kısım gaga şeklindedir. Orta kısmı bir zarı ile ayrılmış iki meyve gözünden ibarettir. Her gözde 0-12 tohum bulunabilir. Tohumların çapları 2-2,5 mm olup, koyu siyah renklidir. Şekil olarak hemen hemen küremsi veya yuvarlaktır. Tohum kabuğu düzdür. Tohumların 1000 tane ağırlığı 4-7g arasında değişir. Çimlenme yeteneği yüksektir (%95) ve uygun koşullarda muhafaza edildiğinde 3-5 yıl süreyle korunabilir (Mendham ve Salisbury, 1995).



Resim 1.2. Kanola bitkisindeki harnup tipi meyve (Gıdık, 2010, Edirne, Süloğlu)



Resim 1.3. Kanola bitkisinde meyve (Gıdık, 2010, Kırklareli, Karıncak)

Türkiye’de Bazı Yağlı Tohumlu Bitkilerin Üretimi

Türkiye’de bitkisel yağlı tohum üretimi artan nüfusunun ihtiyacını karşılayamamaktadır. Bu sebeple Türkiye, bitkisel yağlı tohumlarda dışa bağımlı durumdadır. Türkiye’nin bitkisel sıvı yağ üretimi 1 milyon ton civarındadır. Bu miktarın %40’ı iç piyasadan karşılanırken %60’ı ise yurtdışından tohum ve ham yağ ithalatı ile karşılanmaktadır. Bazı veriler günlük yağ tüketiminin, günlük tüketilen kalori toplamının %38’i civarında olduğunu göstermektedir. Yetişkin bir insanın günlük faaliyetlerini sürdürebilmesi için en az 2000 kaloriye ihtiyacı vardır. Bu miktarın 650-700 kalorilik kısmı yağlardan sağlanmalıdır. 1 gr yağın vücuda 9 kalori verdiği düşünülürse bir insanın günde 75 g yağa ihtiyaç duyduğu anlaşılmaktadır. Bu rakam da yıllık 27 kg’a denk gelmektedir. Türkiye’de kişi başına bitkisel yağ tüketimi ortalama 19 kg civarındadır. Bu rakam, kişi başına ortalama 42 kg tüketim rakamına sahip olan AB ülkelerinin çok altındadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) insanların günlük enerji ihtiyacının 1/3’ünü yağlardan almasını önermektedir. Ancak Türkiye’deki tüketim rakamları bu açıdan yeterli değildir (Baran, 2010).

Dünya nüfusundaki hızlı artışa paralel olarak Türkiye nüfusunda da hızlı bir artış gözlenmektedir. Türkiye’nin yıllık nüfus artış hızı 1955-1960 yılları arasında %2,8 iken, bu rakam son yıllarda %1,5 seviyelerine inmiştir. Buna rağmen bu oran gelişmiş ülkelere göre oldukça yüksek bir seviyedir. Hızla artan nüfus karşısında temel besin maddeleri ihtiyacının karşılanmasında bazı önemli sorunlar yaşanmaktadır. Bu sorunların başında ekim alanlarının ve verimin artırılmaması, sulama olanaklarının yetersizliği gibi nedenler gelmektedir (Baran, 2010).

Çizelge 1.1’de Türkiye’de üretilen önemli yağlı tohumların ekiliş alanları, çizelge 1.2’de aynı tohumların üretimi ve çizelge 1.3’de bu tohumların verimi ile ilgili veriler görülmektedir. Türkiye’de yaklaşık olarak 24,3 milyon hektarlık bir alanda tarım yapılmaktadır, bitkisel yağlı tohumların ekiliş alanları ortalama 1,3 milyon hektar ile 1,4 milyon hektar arasında değişmektedir. Ekim alanları (EA) incelendiğinde çizelge 1.1’de pamuk ekim alanlarının 420-650 bin hektar arasında, ayçiçeği ekim alanlarının ise 480-515 bin hektar arasında değiştiği görülmektedir. Susam, soya, yerbıstığı ve kanola ekim alanları ise bu rakamların oldukça altında

seyretmektedir. Önemli bir yağ bitkisi olan kanolanın üretimi (ÜR) ise son yıllarda daha da yaygınlaşarak 2009 yılında 32,7 bin hektara ulaşmıştır (TUIK, 2009).

Toplumun ihtiyaçları doğrultusunda her geçen gün gelişen tekstil sektörünün en önemli hammaddesi pamuktur. Pamuk sadece tekstilde değil aynı zamanda bitkisel yağ sanayinde de önemli bir hammaddedir. Pamuğun %65'i çığit (tohum), %35'i liftir. Tohumun yağ oranı diğer yağlı tohumlara göre daha düşüktür yaklaşık %14-16 düzeyindedir (Baran, 2010). Türkiye'de 2009 yılı itibariyle çığit üretimi 1,02 milyon ton iken ayçiçeği üretimi 960 bin ton olarak gerçekleşmiştir (TUIK, 2009).

Eğer bitkisel yağlı tohumların verimleri incelenecek olursa soya fasulyesi veriminin dekarda 366 kg'a ulaştığı görülmektedir. Ancak soya fasulyesinin yağ oranı yaklaşık olarak %18'dir. Çığit verimi ortalama 243 kg/da, yerfıstığı verimi 356 kg/da ve ayçiçeği verimi 186 kg/da, iken kanola verimi (Ve) ise 348 kg/da'dır (TUIK,2009).

Çizelge 1.1. Türkiye'deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre ekiliş alanları (TUIK, 2009)

Yağ Bitkileri	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	EA (da)	EA (da)	EA (da)	EA (da)	EA (da)	EA (da)
Kanola	17.000	7.000	53.898	106.830	281.000	327.767
Çığit	6.400.450	5.468.800	5.907.000	5.302.528	4950.000	4200.000
Ayçiçeği	4.800.000	4.900.000	5.100.000	4.857.000	5100.000	5150.000
Susam	430.000	424.500	399.393	297.807	292.236	280.916
Yer Fıstığı	260.000	258.500	226.900	259.423	248.376	253.345
Soya	140.000	86.000	119.186	86.747	94.444	105.210

Çizelge 1.2. Türkiye’deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre üretimi miktarı (TÜİK, 2009)

Yağ Bitkileri	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	ÜR (ton)	ÜR (ton)	ÜR (ton)	ÜR (ton)	ÜR (ton)	ÜR (ton)
Kanola	4.500	1.200	12.615	28.727	83.965	113.886
Çiğit	1.425.850	1.291.180	1.476.556	1.320.831	1077.444	1021.200
Ayçiçeği	800.000	865.000	1.010.000	770.000	900.387	960.300
Susam	23.000	26.000	26.545	20.010	20.338	21.036
Yer Fıstığı	80.000	85.000	77.454	86.409	85.274	90.081
Soya	50.000	29.000	47.300	30.666	34.461	38.442

Çizelge 1.3. Türkiye’deki bazı önemli yağlı tohumların yıllara göre verim değerleri (TÜİK, 2009)

Yağ Bitkileri	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	Ve(kg/da)	Ve(kg/da)	Ve(kg/da)	Ve(kg/da)	Ve(kg/da)	Ve(kg/da)
Kanola	265	312	252	276	301	348
Çiğit	223	236	250	249	218	243
Ayçiçeği	167	177	198	159	177	186
Susam	54	61	66	67	71	75
Yer Fıstığı	308	329	344	333	343	356
Soya	357	337	397	354	365	366

Çizelge 1.1, Çizelge 1.2 ve Çizelge 1.3 incelendiğinde, 2006 yılı ve sonrasında kanola bitkisinin ekim alanlarının ve dolayısıyla üretiminin düzenli olarak arttığı görülmektedir. Kanolanın yıllık verim değerlerine bakılacak olursa da 2006 yılında bir önceki yıla göre bir düşüş fakat 2006 yılı sonrasında ise düzenli bir artış görülmektedir.

Türkiye’de Kanola Üretimi

Kanola bitkisinin kışlık çeşitlerinin ülkemizde uygun iklim koşullarında buğday ile ekim nöbetine girmesiyle ekim nöbetinin zenginleşmesinin yanında yağ açığının kapatılmasına da önemli katkısı olacaktır. Bu bitkinin yetişmesi için uygun iklim koşulları Çukurova, Akdeniz, Ege, Güneydoğu Anadolu’nun pamuk ekilen, Marmara

bölgesinin Trakya kesiminde ise ayçiçeği ve buğday ekilen alanlarında bulunmaktadır. Türkiye’de birçok yağ fabrikası ham madde yetersizliği sebebiyle kapasitelerinin ancak yaklaşık %40 seviyesinde üretim yapmaktadırlar. Sadece Trakya bölgesinde 54 civarında, 2 milyon tonun üzerinde ayçiçeği ürününü işleyen yağ fabrikası bulunmaktadır. Bu fabrikaların ürün işleme kapasitesi Türkiye’nin bitkisel yağ ihtiyacından daha fazlasını işleyebilecek düzeydedir. Fakat Türkiye ayçiçeği üretimi 850-950 bin ton arasında yetersiz bir düzeyde olduğundan bu yağ fabrikaları hammadde yetersizliğinden kapasitelerinin sadece %30-40’ını kullanmaktadırlar. Oysa ayçiçeğinin olmadığı Temmuz ayından itibaren fabrikalar kanola ürünü işleyerek kapasitelerini değerlendirme şansına sahip olabilirler (Baran, 2010). Türkiye’de yıllar itibariyle kanola ekim alanı, verim ve üretim miktarları Çizelge 1.4’de verilmiştir. Çizelge 1.4’de görüldüğü gibi, 14 yıllık süreçte her geçen yıl bir artış eğilimi gözlenmektedir. Üretim miktarları da ekiliş alanlarının artışına paralel olarak artış göstermektedir. Ülke, verim ortalamasına bakılırsa 2009 yılında 347,47 kg/da olduğu görülmektedir. 2006 yılından itibaren kanola bitkisinde sürekli bir verim artışı görülmektedir.

Çizelge 1.4. Yıllara göre Türkiye’de kanola ekiliş alanı, verim ve üretim verileri (TÜİK, 2009)

Yıllar	Ekim Alanı (ha)	Verim	Üretim (kg/Ha)
1996	2	2500,00	5
1997	100	1000,00	10
1998	115	2608,70	300
1999	187	1764,71	330
2000	82	2280,49	187
2001	290	2241,38	650
2002	550	2727,27	1500
2003	2800	2321,43	6500
2004	1700	2647,06	4500
2005	700	1714,29	1200
2006	5390	2515,95	12615
2007	10683	2689,04	28727
2008	28100	2988,08	83965
2009	32776	3474,68	113886

Büyüme Şartları

Hava ve toprak sıcaklığı kanola bitkisinin gelişimi ve veriminde önemli ölçüde etkilidir. Ayrıca kolza bitkisinin büyüme ve gelişmesini sağlayan özgül bir sıcaklık seviyesi vardır. Kanola büyümesi için gerekli minimum sıcaklık 5°C’dir. Bu sıcaklık eşik sıcaklık olarak kabul edilmektedir. Kanola bitkisi en iyi gelişmesini 12°C’den sıcak ve 30°C’den daha serin ortamlarda gösteren nispeten serin mevsim bitkisidir. Kışlık kanolanın sıcaklık isteği 23°-25°C’dir. Kanola büyümek için kumlu topraklar hariç humuslu, derin yapılı, verimli, nötr ya da hafif alkali bununla birlikte iyi drenajlı topraklara ihtiyaç göstermektedir. Kanolanın 300-2800 mm yıllık yağışa, 5 ile 27°C arasında yıllık ortalama sıcaklığa ve 4,2 ile 8,2 arasında pH’ye karşı toleransı vardır.

Kanola Bitkisinin Ekim Şekli

Kanola ekimi, yonca ekim makinesi gibi küçük tohumları ekebilen mekanik (şanzımanlı) makinelerle yapılabilir. Üreticiler ekim yaparken gelişmiş hassas makineleri kullanarak, sıra arası, sıra üzeri ve ekim derinliğini kolaylıkla ayarlayabilirler. Bu tip gelişmiş ekim makineleri kullanılarak dekar için gerekli tohum miktarından önemli tasarruf sağlanmaktadır. Bir dekar arazinin ekim işlemi için 400 gram tohum yeterli olmaktadır (Baran, 2010).

Kanola ekiminde sıra arası mesafe ortalama 17-30 cm olmalıdır. Bir sıraya ekilen bitkiler arasındaki mesafe ise toprak verimliliği ve yağış durumuna bağlı olarak 4-6 cm arasında olabilir. Ekim yapılırken tohum derinliği yaklaşık 1,5 cm civarında olmalıdır. Çok sık ve derin ekimden kaçınılmalıdır. Derin ekim olursa, bitki geç kalır ve kışa iyi gelişmeden gireceğinden zarar görür. Sık ekim olduğunda da aynı zayıf gelişme söz konusudur. Zayıf kök yapısına sahip kanola bitkileri kış soğuklarından önemli ölçüde zarar görmektedir.

Kanola çiçeklenme döneminde dölllenme için çeşidin kendi kendine tozlaşmasının az ya da çok olmasına bağlı olarak bal arılarına ihtiyaç duyar. Bu nedenle çiçeklenme döneminde kanola üretim tarlaları yakınında arı kovanı bulunması harnuplarda dölllenme ve dane tutmayı artırır. Çiçeklenme ve dölllenme bitkide alttan yukarı doğru olmaktadır. Nisan ayı sonu Mayıs ayı başında kanolanın çiçeklenmesi arılara bol miktarda çiçek tozu sağlamaktadır.

Kanola'da Tohumluk

Kanola tarımında tohumluk çok önemlidir. Sofralık bitkisel yağ üretiminde mutlaka içeriğinde erüsik asit ve küspesinde glikozinat bulunmayan kanola tohumluğu kullanılmalıdır (resim 1.4 kanola tohumu). Çünkü kanola bitkisinin neredeyse %50'si yabani hardal türleri ile melezlendiği için ikinci yıl hasat edilen ürün tohumluk olarak ekilirse hasat edilen ürünün yağında erüsik asit miktarı ve küspesinde glikozinat oranı artacaktır. Sağlık açısından bir tehlike oluşmaması için üreticiler her yıl kontrollü olarak üretilen sertifikalı tohumluklardan almalıdırlar. Alınacak tohumluk mutlaka ekileceği bölgede denenmiş ve kış soğuklarına dayanıklı olması gerekmektedir. Ayrıca ekilecek tohumlukların temiz, çimlenme oranı ve çıkış gücü

yüksek olmalıdır. Ekimi yapılan kanola çeşidinin içerdiği yağ oranı da %40'ın üzerinde olmalıdır. Verim düşüklüğüne sebep olmamak için, hastalıklara ve zararlılara karşı dayanıklı kanola tohumluğu tercih edilmelidir (Baran, 2010).



Resim 1.4. Kanola tohumlarının genel görünüşü (Gıdık, 2010, Kırklareli, Karıncak)

Kanola Bitkisinin İnsan Sağlığı Bakımından Önemi

İnsan vücudunda sentezlenemeyen ve sadece yağlardan alınabilen oleik, linoleik, linolenik yağ asitleri bitkisel yağlarda bulunmaktadır. Ayrıca önemli enerji kaynağı olmaları, yağda çözünen mutlak gerekli A, D, E ve K vitaminlerinin kullanımını sağlamaları yönünden de büyük önem taşımaktadırlar. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) bir insanın yıllık yağ tüketiminin 17 kg'dan az olmaması gerektiğini, aksi takdirde sağlık açısından önemli problemlerle karşı karşıya kalılabileceğini ifade etmektedir (Süzer, 2001).

İnsanların besinlerle "linoleik asit" alması gerekir. Lifli sebzelerde, anne sütünde, fındıkta, tohumlarda, balık yağında (sardalya, karides, somon, tuna, ringa balığı), tohumlardan yapılan yağlarda ve kanola yağında bulunur. Linoleik asit bulunduran diğer yağlara oranla kanola bitkisinde bu yağ asitleri daha fazla bulunmaktadır. Linoleik asit; merkezi sinir sistemi, göz ve trombositler için gereklidir. Ayrıca

kolesterol ve trigliserit seviyesini düşürür. Kan hücrelerinin akışkanlığını artırır. Bağışıklık sistemini güçlendirerek damar tıkanıklıklarının oluşmasını engeller.

Çoklu doymamış yağları çok tüketirsek en güçlü antioksidan olan E vitaminini alma ihtimalimiz artar. E vitamini, ayçiçek yağı, kanola yağı gibi yağlarda, yumurta ve fındıkta bulunur. Bunlara göre de daha az miktarda meyve, sebze, et ve balıkta bulunur. Kanola yağının iki çay kaşığında 1,9 mg E vitamini bulunur ki bu da almamız gereken miktarın beşte biridir. Kanola bitkisinin yetiştirildiği toprağın özelliklerine bağlı olarak, bazı bölgelerde elde edilen yağların, insan sağlığına zarar verebilecek bazı toksik maddeleri içerebileceği şeklinde uyarı yayınları da bulunmaktadır (Süzer, 2001).

Kanolanın Kullanıldığı Alanlar

Avrupa ülkeleri ve Kanada'da ıslah edilmiş erüsik asitsiz, protein ve yağ oranı yüksek yeni kolza çeşitleri kanola ismiyle ekilmektedir. Kanola çeşitlerinden elde edilen bitkisel yağ, besin değeri ve içeriği bakımından zeytinyağı ve yerfıstığı yağının kalitesine çok yakındır. Dünya kanola üretiminden elde edilen ürünlerin önemli bir kısmı insan beslenmesinde kullanılmaktadır.

Kanola tohumlarından yağ elde edildikten sonra geriye kalan küspesinde yaklaşık %38-40 oranında protein bulunduğundan soya küspesi ile karıştırılarak hayvan yemi olarak kullanılabilir.

Kanola, arıları cezbeden bol miktarda sarı çiçeklere sahip olduğundan arıcılar için de önemli bir bitkidir. Kanolanın çiçek döneminde bal arıları bir hektar kanola tarlasından 15 günde 100 kg bal ve yaklaşık 1 kg bal mumu yapabilir (Baran, 2010).

Kanola tohumlarından soğuk presleme işlemi uygulanarak elde edilen ham yağ metanol ile katalizör eşliğinde normal basınç ve ısıda estere dönüştürülür. Bir kg kanola tohumundan 450 gr yağ çıkmaktadır ve metanol ile reaksiyondan sonra 450 lt biodizel yakıt elde edilebilmektedir. Bunun yanı sıra kolza olarak isimlendirdiğimiz erüsik asit oranı yüksek olan çeşitlerden elde edilen yağlar da sanayide, elektrik trafolarında, biyoyakıt (biodizel) olarak Almanya ve Fransa gibi Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır (Baran, 2010).

Moleküler İşaretleyiciler (Markörler)

Aristo'nun M.Ö. 3. yüzyılda başlattığı sistematik büyük ölçüde morfolojik karakter temeline dayanmaktadır. Bu yaklaşımlar bazı değişimlerle günümüzde de halen kullanılmaktadır. Fakat tür sınırlarının belirlenmesinde yalnızca morfolojik verilerin yeterli olmadığı farklı durumlar bulunmaktadır. Bu durumlardaki sorunları ve sistematik problemleri çözmek için bazı çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar, sitogenetik çalışmalar, kimyasal içerik çalışmaları ve farklı biyokimyasal işaretleyicilerin kullanıldığı izoenzim çalışmalarıdır. Sistematik problemlerin çözümündeki en son gelişmeler ise farklı DNA temelli işaretleyici sistemleriyle genotipin doğrudan ya da dolaylı olarak belirlenmesi üzerinde olmuştur. Temeli DNA'ya dayanan bu farklı analizler, pek çok sorunun çözümünde umut vaat etmektedir. PCR bu analizlerin temelini oluşturmaktadır.

Moleküler işaretleyiciler genomda herhangi bir gen bölgesi veya bir gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Bu işaretleyiciler hibridizasyon yöntemleri ile tespit edilebilenler (RFLP) ve PCR'a bağlı olanlar (RAPD, AFLP, SSR) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Staub ve ark.,1996).

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphisms RFLP)

İlk olarak keşfedilen moleküler işaretleyici sistemi RFLP'dir. Öncelikle çalışılan bitkinin DNA'sı uygun işlemlerle izole edildikten sonra çeşitli restriksiyon enzimleri ile kesilir ve agaroz jelde bir güç kaynağı kullanılarak yürütülür. DNA'lar Southern blot tekniği kullanılarak naylon membrana veya nitroselüloz filtreye aktarılır. İşaretleyici olarak kullanılan DNA parçacıkları ³²P veya biyotin ile işaretlenir ve membran da bulunan kesilmiş DNA'lar ile eşleşmeye (hibridizasyona) tabi tutulur. Membran kullanılarak elde edilen sonuçlar değerlendirilir. İlgilenilen genin çeşitli hastalık ya da ortam koşullarına karşı dayanıklı ve duyarlı bitkiler arasındaki farklılık (polimorfizm) belirlenmeye çalışılır. Çok fazla DNA'ya ihtiyaç duyulması, ayrıca pahalı ve uzun zaman alması bu tekniğin dezavantajıdır. Fakat sonuçların güvenilir olması ve kodominant işaretleme sistemine sahip olması ise avantajlarıdır (Tanksley ve ark., 1992; Ahn ve Tanksley, 1993; Staub ve ark., 1996).

Çoğaltılan Fragment Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphisms AFLP)

Örnek DNA'ları iki restriksiyon enzimiyle (*Mse* I 4 baz tanıyan ve *Eco* R I 6 baz tanıyan) kesilir ve DNA'nın kesilmesi sonucu oluşan DNA parçacıkları DNA ligaz enzimi ile adaptörlerle birleştirilir (ligasyon). Birleştirme ürünleri kalıp DNA olarak kullanılarak adaptör dizine birer baz eklenerek oluşturulmuş primerlerle PCR işlemi yapılır. Elde edilen PCR ürünleri önceki primerlere 3 baz ilave edilmiş radyoaktif veya floresent ile işaretli yeni primerlerle seçici PCR işlemine tabi tutulur. PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütülür ve meydana gelen polimorfizme göre sonuçlar değerlendirilmektedir. Bir reaksiyonda 30-150 bölge tanımlanabilmesi, sonuçların tekrarlanabilir olması bu yöntemin en önemli avantajlarını oluşturmaktadır. Buna karşılık dezavantajı ise pahalı olması, laboratuvar ekipmanına gereksinim duyulması ve dominant işaretleyici olmasıdır (Vos ve ark., 1995; Ridout ve Donini, 1999).

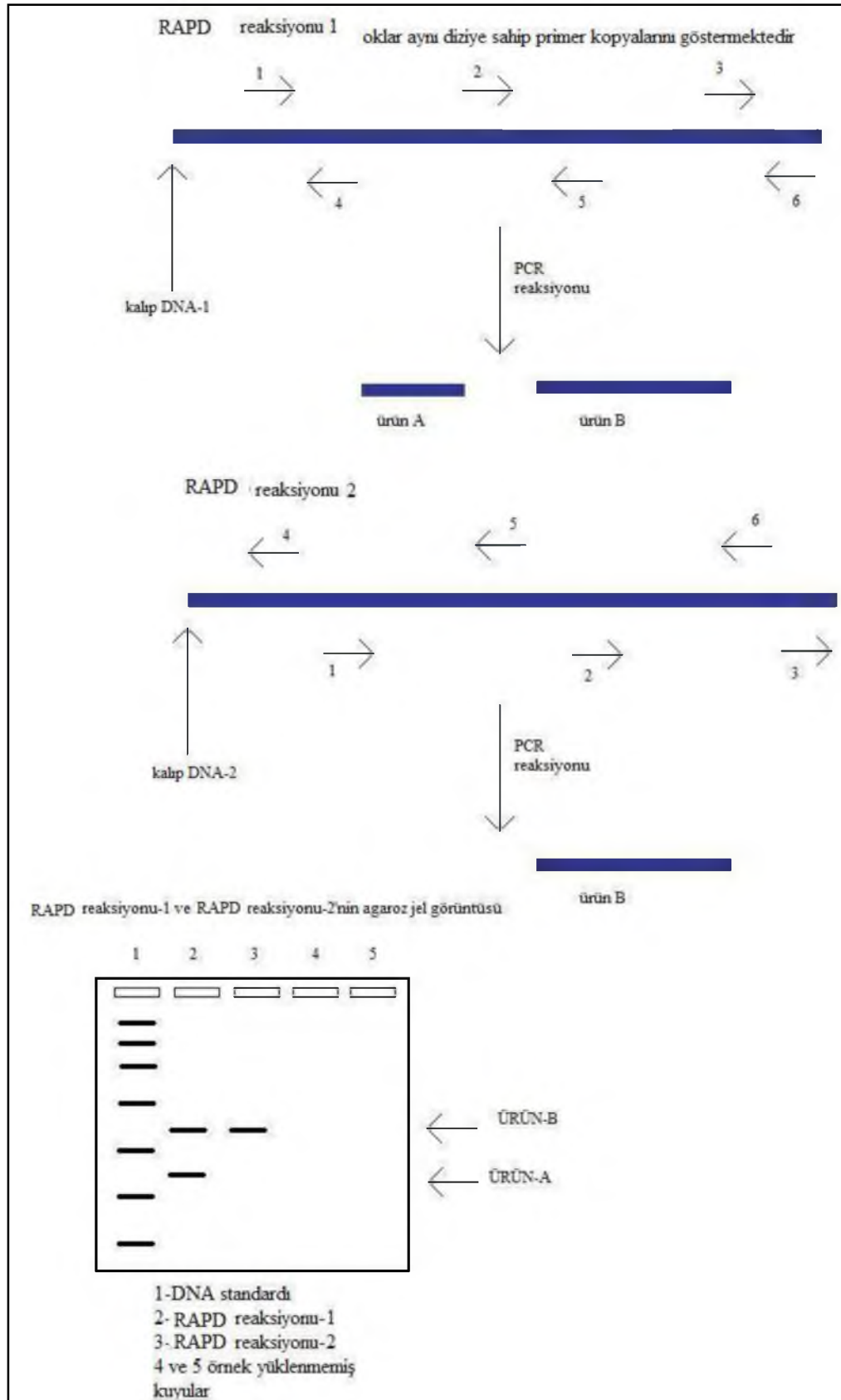
Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeats SSR)

Canlı genomunda sıklıkla tekrarlanan DNA dizileri bulunmaktadır. Bu diziler belirli sayılarda tekrarlanmaktadır. Bu tekrar dizilerinin genomun neresinde bulunduğu ve kaç kez tekrarlandığı türden türe değişiklik göstermektedir. Aynı türe ait bireylerde de bu dizilerin bulunup bulunmamasına dayalı olarak SSR tekniği geliştirilmiştir. Tekrarlanan bölgelere özgü primerler geliştirilmektedir ve bu özel primerler ile PCR işlemi yapılmaktadır. Meydana gelen PCR ürünleri, elektroforez yapıldıktan sonra ethidium bromide ya da gümüş nitrat kullanılarak boyanarak polimorfizm aranmaktadır. SSR tekniğinin, kodominant yapı göstermesi ve tekrarlanabilir olması en önemli avantajını oluştururken, genom bilgisine ve dizilim analizine ihtiyaç duyulması dezavantajıdır (Rangwen ve ark., 1995; Ridout ve Donini, 1999).

Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA, RAPD)

RAPD tekniği de PCR temelli bir DNA tekniğidir. Dünyada son zamanlarda RAPD tekniği pek çok bitki türünün sistematik probleminin çözümünde başarıyla kullanılmaktadır (Aydın, 2004). RAPD ilk kez 1990'da rastgele seçilmiş primerler kullanılan ve PCR'ı temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır. Aynı yıllarda başka

bir çalışma grubu tarafından uygulanmış ve AP-PCR (Arbitrarily Primed PCR) olarak adlandırılmıştır. Bu yöntemle aynı temele dayanan fakat farklı olarak 10 nükleotitten kısa primerlerle daha karmaşık DNA parmak izi profili elde edilen DAF (DNA Amplification Fingerprinting) olarak adlandırılan diğer benzer bir yöntem ise 1991 yılında yayınlanmıştır (Aydın, 2004).



Şekil 1.2. RAPD reaksiyonunun şematik gösterimi (Aydın, 2004)

1. RAPD, 2. RAPD reaksiyonları, bir primer ve iki ayrı kalıp DNA kullanılmıştır.
 - a. Reaksiyona katılmış olan aynı diziye sahip primer kopyaları oklarla gösterilmiştir.
 - b. Okların yönü DNA sentez yönünü göstermektedir.
 - c. Sayılar kalıp DNA'da primerlerin bağlanma bölgelerini göstermektedir. Ürün A, 1. RAPD reaksiyonunda 2 ve 5 pozisyonlarına bağlanan primerler arasındaki DNA dizisinin çoğaltılmasıyla oluşurken, 3 ve 6 pozisyonlarına bağlanan primerler arasındaki DNA dizisinin çoğaltılmasıyla da ürün B oluşmaktadır. 2. RAPD reaksiyonunda sadece 3 ve 6 pozisyonları arasındaki bölgedeki DNA dizisinin çoğaltılmasıyla ürün B oluşmaktadır. Reaksiyon 1 ve reaksiyon 2'ye eklenen primerlerin tamamından PCR sonucu bant elde edilemez. Bunun sebebi kullanılan primerlerin kalıp DNA'da bağlanma bölgesinin bulunmamasıdır. Elde edilebilen bantlar agaroz jelde görüntülenmektedir. Ayrıca tek primer kullanılmasına karşın primerler her iki zincirde zıt yönlerde bağlanma noktası bulamazlarsa bant çoğaltımı gerçekleşmez.

RAPD yönteminin temel prensibi, ilgili olan türün genomik DNA'sı üzerinde rastgele olarak seçilmiş, 9-10 bp (baz çifti) tek bir oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi bir şekilde bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Bu tekniğin diğer aşamasında elde edilen ürün radyoaktif özellikte olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve ürünler bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Gözlemlenen her bir bant bir lokus kabul edilir. Bantların skorlanmasında varlığı (1) ve yokluğu (0) olarak kabul edilir (Aydın, 2004). Şekil 1.2'de şematik olarak bu teknik gösterilmiştir.

RAPD tekniğinin değişkenleri

RAPD yönteminin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyen pek çok farklı değişken bulunmaktadır. Hedef DNA en önemli değişkenlerden birisidir. MgCl₂ konsantrasyonu, *Taq* DNA polimeraz konsantrasyonu, dNTP konsantrasyonu, primer konsantrasyonu, primer bağlanması, başlangıç denaturasyon, primer karışımları RAPD tekniğini etkileyen diğer temel değişkenlerdir. Ayrıca PCR'da oluşan bazı çelişkili sonuçlar, yabancı DNA tarafından oluşturulan kontaminasyon haricinde, DNA izolasyon tekniğindeki varyasyonlar, kullanılan doku kaynağı, PCR koşulları

ve PCR cihazının tipi ile ilgili olabilir. RAPD çalışmalarında farklı türler için reaksiyon koşullarının optimizasyonu şarttır. Bunun amacı özgünlüğü ve tekrarlanabilirliğini kontrol etmektir. Bütün parametreler birbirine bağlı olduğu için bir RAPD tekniğini optimize etmek oldukça zor olabilmektedir. Moleküler sistematik çalışmalarında ilk olarak DNA'nın izolasyonu gereklidir. Bitkilerde DNA'nın izolasyonunun başarıyla uygulanmasını sağlayan farklı yöntemler kullanılabilir. Fakat her yöntem her bitki için en saf DNA eldesi açısından uygun olmayabilir. RAPD reaksiyonlarında, düşük kalitede DNA ile de çalışılabilir. Ancak kırık veya kırılmış (degrade olmuş) DNA ile elde edilecek sonuçlar güvenli olmayabilir. Bu nedenle bu yöntemlere ek olarak bitkiler için farklı yoğun kimyasal içeriğe sahip yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemde kullanılan primerler 9-10 bp uzunluğundadır. Kullanılan primerlerin, PCR'da kullanılan diğer primerler de olduğu gibi herhangi bir palindromik dizi içermemesinin yanında %40-70 oranında G+C oranına sahip olması gerekmektedir. RAPD tekniğinde çoğaltma, kullanılan primerin GC içeriğine primerlerin uzunluğuna ve primer dizisindeki tek bir nükleotidin yerine duyarlıdır. Bu teknikte MgCl₂, dNTP ve *Taq* DNA polimeraz konsantrasyonlarının çalışılacak bitkilere özgü optimum koşullarının belirlenmesi reaksiyonun tekrarlanabilirliği açısından önemlidir.

RAPD yönteminin avantaj ve sınırlılıkları

Moleküler sistematikte kullanılan diğer tekniklerle karşılaştırıldığında ilgilenilen taksonun genleriyle ilgili herhangi bir ön bilgi gerektirmediği için RAPD tekniği diğer tekniklere göre daha avantajlıdır. Çoğaltmada bütün organizmalar için aynı oligonükleotit primer seti kullanılabilir ve bu oligonükleotit özgün bölgelere rastgele bağlanarak çoğaltma yapmaktadır. Bir primer ile farklı bitkilerin genomik DNA'ları farklı olacağından oluşacak RAPD sonuçları farklı olacaktır. Bu farklılıktan yararlanılarak organizmalar karşılaştırılabilirler. Ayrıca radyoaktiviteye, Southern blot transferlerine ya da DNA hibridizasyonuna ihtiyaç yoktur. Kullanılan primer sayısı arttırıldıkça elde edilen bant sayısı da artacaktır. Bu yönüyle yakın türleri birbirinden ayırma konusunda izozimlerden daha duyarlıdır. Yöntemin maliyetinin düşük olması, kısa sürede sonuç elde edilmesi ve iş gücü gerekliliğinin az olması bu yöntemin diğer avantajlarıdır. Değişik araştırmacılar tarafından

kodominant veriler gerektirmeyen sistematik problemlerin çözümünde RAPD işaretleyiciler kullanılması daha çok tercih edilmektedir.

Bu yöntemin avantajlarının yanı sıra sınırlılıkları da vardır. RAPD metodu kullanım açısından kolay olmasına rağmen, RAPD işaretleyicileri dominanttır ve heterozigotları teşhis etmek zordur. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin tekrarlanabilirliği, reaksiyona giren tüm değişkenlere bağlı olduğu için düşük olabilmektedir. Bunun için diğer karşılaştırmalı analizlere girmeden önce yöntemin optimize edilmesi çok önemlidir.

RAPD Tekniğinin Uygulama Alanları

RAPD tekniği avantajları sebebiyle prokaryotik ve ökaryotik türler gibi pek çok farklı yapının genotipinin belirlenmesi, genom yapısının araştırılması, çeşitli taksonomik çalışmalar, genetik varyasyonun belirlenmesi, bağlantı (Linkaj) haritalarının oluşturulması, evrimsel ilişkiler, popülasyon biyolojisi, bireysel, kültür ve ırk belirlenmesinde, ebeveyn belirleme, prenatal tanı, özgün bir gen lokusunun belirlenmesi, adli tıp, klinik teşhis, salgınlar ve ekoloji gibi alanlarda yoğun olarak kullanılmaktadır (Aydın, 2004). Farklı ailelere ait ve değişik özelliklere sahip birçok bitki türünün genetik akrabalığının ve türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan birçok başarılı RAPD çalışması bulunmaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda türlerin genetik akrabalıklarını belirlemek ve bağlantı haritaları oluşturmak için RAPD işaretleyicileri ile RFLP işaretleyicileri birlikte kullanılmıştır böylece amaç doğrultusunda daha kesin sonuçlara ulaşmaya çalışılmıştır. Adli tıpta temeli PCR yöntemine dayanan teknikler giderek artarak kullanılmaktadır. Bir suç vakasında DNA parmak izinin kullanıldığı en ilginç durumlardan biri, *Palo verde* vakasının RAPD tekniğiyle çözümlenmiş olmasıdır. Cinayet şüphelisinin kamyonunda ve cesedin bırakıldığı yerde bulunan *Palo verde* (*Cercidium floridum*) bitkisinin tohumlarının bulunması olayın aydınlatılmasında önemli aşama kat edilmesini sağlamıştır. Ancak bu tohumların cesedin bulunduğu yerin yakınlarındaki *Palo verde* ağacına ait olup olmadığı kesin değildi. RAPD tekniğiyle yapılan çalışma sonunda Phoenix civarından rastgele toplanmış 18 farklı ağaç arasında DNA profilleri açısından belirgin bir fark bulunmuştur. Ağaçlar

arasında bulunan bu fark büyük bir şanstır. Böylece cinayetle ilgili tohumların hangi ağaca ait olduğu tespit edilebilmiştir. Bu bilgi mahkemeye önemli bir kanıt olarak sunulmuştur. Dava bu kanıt sayesinde sonuca ulaşmıştır (Aydın, 2004).

Moleküler işaretleyicilerin özellikleri

Moleküler işaretleyiciler morfolojik ve biyokimyasal işaretleyicilere göre birçok avantajlara sahiptir (Botstein ve ark., 1980; Helentjaris ve ark., 1985; Williams ve ark., 1990). Bunlar;

- a. Çevre koşullarından etkilenmediklerinden sonuçları güvenilirdir.
- b. Bütün dokularda tanımlanabilirler.
- c. Genomda birden fazla bölgeyi belirleme imkanına sahiptirler.
- d. Genoma bağlı olduklarından dominant ve kodominant özellik göstermektedirler.

Dominant işaretleyicilerde: Bu işaretleyici çeşidinde aleller arasındaki ilişkide dominantlık söz konusu olduğundan heterozigot bireyleri (Aa) belirlemek mümkün değildir.

Kodominant işaretleyicilerde: Bu tür işaretleyicilerde aleller arası ilişkide dominantlık söz konusu olmadığından heterozigot bireyleri (Aa), homozigot dominant (AA) bireylerden ayırt etmek mümkündür. Bu sebeple herhangi bir noktadaki işaretleyici için üç ayrı şekilde sonuç (AA, Aa ve aa) elde edilebilir ve bunlar birbirlerinden ayrılabilirlerdir.

- e. Tekrarlanabilir ve laboratuvarlar arasında standardize edilebilirler,
- f. İşaretleyiciler öldürücü etkiye sahip değildirler.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Daha Önce Yapılan Çalışmalar

Shengwu ve ark. (2003) bazı kanola çeşitleri arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada 20 Çin, 25 Çek, 2 Alman, 2 Fransız ve 1 İngiliz çeşitlerini içeren bir koleksiyon ve üreme materyalleri, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) işaretleyicileri kullanılarak değerlendirilmiştir. Seçilmiş 10 decamer primer kullanılarak toplam 79 farklı polimorfik amplifikasyon ürünü elde etmişlerdir. Sonuç olarak Çin ve Avrupa örnekleri arasında önemli genetik varyasyon bulunduğu belirlemişlerdir.

Fahmi ve ark. (2012), 1) Çalışılan varyete dizilerinin yardımıyla ve morfolojik karakterler kullanılarak yağ ve protein yüzdelerinin belirlenmesi 2) RAPD işaretleyiciler kullanılarak çalışılan varyeteler arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek 3) RAPD ve morfolojik çeşitlilik arasındaki ilişkiyi bulmak amacıyla, yağ üretmek için kullanılan ticari kanola örneklerinden temsilci olarak seçilmiş 6 kanola varyetesi üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada fenotipik varyasyon miktarı varyeteler arasında nispeten yüksek bulunmuştur. Toplam çoğaltılan DNA fragmentleri 93'tür, DNA fragmentleri sayısı, primer başına 6-13 arasında değişiklik göstermiştir. Toplam 55 polimorfik fragment bulunmuş ve primer başına ortalama % 57,76 polimorfik fragment düştüğü ifade edilmiştir. RAPD sonuçları (81,7) yağ ve protein morfolojik işaretleyicilerinden (%42,9) daha yüksek çeşitlilik göstermiştir. Sonuç olarak RAPD işaretleyicileri ve morfolojik ölçümler arasında ilişki eksikliği bulunmuş ve birkaç sonuç ihtimali tartışılmıştır.

Farsak ve Kaynak, (2010) Aydın ekolojik şartlarında farklı sıra aralıklarının kışlık kanola çeşitlerinde verim ve verim unsurları üzerine etkisini ortaya koyabilmek ve en uygun sıra aralığını saptamak amacıyla bir çalışma yaptılar. Deneme, 2008-2009 üretim sezonunda, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi uygulama çiftliğinde yürütülmüştür. Araştırmada dört kışlık kanola çeşidi (Licord, Oase, Californium, Orkan) ve üç farklı sıra aralığı (13, 26 ve 39 cm) denediler. Çalışmada, tane verimi, bitki boyu, bitkideki yan dal sayısı, bitkideki harnup sayısı, harnuptaki tohum sayısı, bin tane ağırlığı ve yağ oranı özellikleri incelendi. Çalışmada farklı sıra aralıklarının, bitki boyu, bitkideki yan dal sayısı, bitkideki harnup sayısı, harnuptaki

tohum sayısı ve tohum verimi üzerine önemli etkisinin olduğu saptandı. Tohum verimi yönünden en yüksek değer her dört çeşitte de 13 cm sıra aralığından elde edilirken; en düşük verim 39 cm sıra aralığından elde edildi. Aydın koşulları için en uygun çeşitlerin ise Orkan ve Californium olduğu saptandı.

Sobotka ve ark. (2004) SSR, RAPD ve AFLP moleküler marker yöntemlerini kullanarak tohumların çeşitlerini tanımladılar. AFLP yönteminin RAPD ve SSR yönteminden daha verimli olduğunu gözlemladiler. Sonuç olarak floresan işaretli AFLP yöntemi parmak izi belirlemek için RAPD ve SSR yöntemlerinden daha uygun bulunduğunu ifade ettiler.

Asghari ve ark. (2008) kanola bitkisinin soğuğa olan toleransını belirlemek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Soğuğa tolerans, kışlık çeşitlerin önemli bileşenidir ve düşük sıcaklık derecelerinde bitkinin yaşayabilme yeteneğidir. *Brassica napus*'ta soğuğa toleransı yöneten kromozomal bölgeye bağlı moleküler işaretleyicileri belirlemek için, cv. 'SLMO46' (kışlık çeşit ve soğuğa dayanıklı) ve cv. 'Quantum' (yazlık çeşit ve düşük sıcaklıklara duyarlı) çaprazlaması kullanılarak 199 bitkinin bir F_{2,3} popülasyonu üretildi. LT50 (bitkilerin % 50' sinin öldüğü sıcaklık) F₃ ailelerinde soğuğa dayanıklılık endeksi olarak ölçüldü. 350 SSR primer çifti ve 250 RAPD primeri kullanılarak ebeveynsel polimorfizm değerlendirildi. 32 mikrosatellit ve 47 RAPD işaretleyicisi ve ebeveynler arasındaki polimorfik hatlar, F₂ bireylerini görüntülemek için kullanıldı. Polimorfik işaretleyiciler kullanılarak linkaj haritası çizildi. Toplam uzunluğu 1199,1 cm ve komşu işaretleyiciler arası ortalama uzaklığı 17,13 cm olan 14 linkaj grubunda işaretleyiciler belirlendi. LT50 ve genetik bilgi arasındaki ilişki, tek işaretleyici analizi (SMA) kullanılarak belirlendi, aralık haritalama (IM) ve bileşik aralık haritalama metotları ve tahmini dört QTL belirlendi. Bu QTL' ler, LT50 toplam fenotipik varyansının % 24' ü olarak açıklandı.

Dusanbenyagasani ve Fernando (2008) kolza tohumu ve kanola (*Brassica napus*)' da görülen siyah bacak hastalığına karşı direnç ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Bu hastalık *Leptosphaeria maculans*'ın birçok patojenite grubu (PG) tarafından ortaya çıkmaktadır. Siyah bacak hastalığı özellikle son iki yıldır Kanada ovalarında meydana gelmektedir. Hastalığa PG2 sebep olmaktadır ve konukçu direnciyle kontrol edilir. PG3 ve PG4 izolatları son zamanlarda Kanada'da bulunmaktadır fakat

ticari Kanada varyetelerinde bu patojenite gruplarına karşı bir direnç yoktur. Bu çalışma PG3'e karşı direnç kaynağı gibi kullanılabilen kanola çeşitlerini belirlemek ve işaretleyici yardımıyla seçim için moleküler işaretleyiciler geliştirmek amacıyla yapılan bir araştırmadır. PG3'e karşı direnç özellikle *B. napus* 'Dunkeld ve Quinta' çeşitlerinde bulunurken, *B. juncea* 'Cutlass ve Domo' çeşitleri de PG2, PG3 ve PG4'e karşı direnç göstermiştir. Genetik işaretleyici ile PG3 direncini belirlemek için Westar ve Dunkeld çaprazlaması soyundan F₂ dizisi kullanılmıştır. Yapılan işlemler sonucunda *Leptosphaeria maculans*'ın neden olduğu bu hastalığın ıslahında kullanılacak, hastalığa karşı dirençli bölge belirlenmiştir ve bu çalışmanın patenti alınmıştır.

Öz (2002), Bursa Mustafakemalpaşa koşullarında farklı ekim zamanlarının kışlık kolza çeşitlerinde verim ve verim unsurları üzerine etkisini ortaya koyabilmek ve en uygun ekim zamanını saptamak amacıyla bir çalışma yürütmüştür. İki yılın ortalamasının sonuçlarına göre, ekim zamanlarının incelenen tüm komponentleri önemli düzeyde etkilediği gözlenmiştir. Ekim zamanındaki gecikme ile tohum verimi ve verim bileşenlerini önemli ölçüde etkilendiği belirtilmiştir.

Kocabıyık ve Tezer (2007) farklı nem içeriklerine sahip kolza (*Brassica napus* L.) tohumlarının özgül ısı, ısı iletim katsayısı ve ısı yayılım katsayılarını saptayan bir çalışma yürüttüler. Ayrıca, ürünün nem içeriğindeki değişimin bu ısasal özellikler üzerindeki etkisini de araştırdılar. Kolza tohumunun özgül ısısı ve ısı iletim katsayıları, nem oranı arttıkça, önemli ölçüde artarken, ısı yayılım (Termal Difüzyon) katsayısı ile nem oranı arasında önemli bir ilişki bulunmadığını ifade ettiler.

Tunçtürk ve ark. (2004) tarafından yazlık 16 kolza çeşidinden Van ekolojik koşullarına en iyi adapte olabilen tohum ve yağ verimi yüksek olan çeşitlerin tespit edilmesi amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışma, Van - Gevaş koşullarında 2000, 2001 ve 2002 yıllarında üç yıl süre ile tesadüf blokları deneme desenini, 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve yürütülmüştür. Denemede materyal olarak 16 yazlık kolza (Jaguar, Marinca, Semu DNK 207 NA, Regent, Westar, Tobin, Semu 209/81, Tower, Liraspa, Lisonne, Lirawell, Prota, Spok, Kosa, Star, Helios) çeşidi kullanılmıştır. Araştırmada bitki boyu, yan dal sayısı, kapsül sayısı, kapsülde tane sayısı, bin tane

ağırlığı, tohum verimi, yağ oranı ve yağ verimi gibi özellikleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda; yılların birleştirilmiş ortalamasında en yüksek tohum ve yağ verimi Westar (143,6 kg/da – 53,3 kg/da) ve Marinca (139,5 kg/da – 48,2 kg/da) çeşitlerinden, en yüksek yağ oranı ise Jaguar (%40,3) ve Prota (%40,3) çeşitlerinde tespit edildiği belirtilmiştir.

Asghari ve ark. (2007) kışlık ve soğuğa dayanıklı SLMO46 ve yazlık ve düşük sıcaklığa duyarlı Quantum kanola çeşitlerinin çaprazlanmasıyla elde edilen iki yüz $F_{2:3}$ *Brassica napus* ailesini genetik materyal olarak kullanarak bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada kışlık F_3 bitkileri iki kopya ile birlikte tamamen kapalı bir sistemde ölçülmüştür. RAPD metodu ve 47 RAPD işaretleyicisi ebeveyn hatları arasındaki polimorfik F_2 bireylerini görüntülemek için kullanılmıştır. Polimorfik işaretleyiciler kullanılarak linkaj haritası oluşturulmuş, bu işaretleyiciler ile 9 linkaj grubunda toplam 860,8 cm uzunluk ve komşu işaretleyiciler arasındaki ortalama uzaklık 20,49 cm olarak belirlenmiştir. Kışlık kanola ve genotipik veri arasındaki ilişki, linkaj haritası ve varsayılan QTL kullanılarak analiz edilmiş, bu özelliğin fenotipik varyantının %5'i olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak bu QTL altıncı linkaj grubunda bulunmaktadır ve negatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tunçtürk (2008) üç kolza çeşidinde (Marinca, Westar ve Liravell) farklı fosfor dozlarının (0, 30, 60 ve 90 kg /ha) verim ve verim unsurları üzerine etkilerini belirlemek için bir çalışma yapmıştır. Bu çalışma için yapılan denemeler Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme tarlalarında gerçekleştirilmiştir. Tarlalarda tesadüf bloklarında faktöriyel deneme desenine göre 3 kez tekrarlanarak düzenlenmiştir. Yapılan bu araştırma sonucunda bitki boyu, kapsül sayısı, tohum verimi, yağ oranı, yağ verimi ve protein oranı bakımından fosfor dozları ve kolza çeşitleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. Genellikle, fosfor dozu uygulamaları arttırıldıkça verim ve verim öğelerine ait değerler artmıştır. Fakat yağ oranı, tohum ve yağ verimine etkisi bakımından 60 kg/ha ile 90 kg/ha fosfor uygulamaları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. 2004 ve 2005 yılları ortalamalarına göre en yüksek kapsül sayısı (81,9 adet) ve yağ oranı (%39,5) 60 kg P/ha uygulamasından elde edilmiştir. En fazla tohum miktarı (1458 kg/ha) ve yağ verimi (570 kg/ha) 90 kg P/ha uygulamasından elde edilmiştir. Ayrıca araştırmada en

yüksek tohum (1419 kg/ha) ve yağ verimi (548 kg/ha) Marinca olarak adlandırılan kolza çeşidinden elde edilmiştir.

Gül (2006) kolza bitkisinde çiçeklenme ile ilgili özellikler erkencilik ve olgunluk gibi durumlar için önemlidir. Erkencilik ve olgunluk ıslah amaçları için yardımcı özellik olarak da kullanılabilirler. Bir çok çevresel faktör kanolada çiçeklenme başlangıcına, çiçeklenme sonuna ve çiçeklenme süresine etki eder. Çiçeklenme ile ilgili özellikler kantitatif kalıtım göstermektedirler. Artık kantitatif kalıtım gösteren özelliklerin belirlenmesi mümkündür. Bu genlerin etkilerinin, pozisyonlarının, ve birbirleriyle ilişkilerinin belirlenmesinin yanın sıra çevre ile olan etkileşimlerini moleküler ve biyometrik yöntemlerle saptamak mümkündür. QTL analizleri için 'Mansholt's ve Samurai' adlı iki kanola çeşitten elde edilmiş ve 142 katlanmış haploitten oluşan bir popülasyon ile RFLP işaretleyicilerinden oluşturulan bir harita kullanılmıştır. Veriler yapılan tarla denemeleri sonucunda elde edilmiştir. İstatistiksel analizler PLAPSTAT adlı bir yazılım programı kullanılarak yapılmıştır. Azot gübrelmesine bağlı olarak bulunan QTL'lerin genom üzerindeki yer ve pozisyonlarında bazı farklılıklar belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar kolzada erkencilik gibi bazı özelliklerin iyileştirilmesinde kullanılabilir.

Tonguç (2008) yaptığı çalışmada *Brassica* cinsine ait bitkilerin insan beslenmesindeki yerinden ve dünyada üretiminin son zamanlarda hızlanarak arttığından bahsetmektedir. Ayrıca bu çalışmada biyoteknoloji alanındaki gelişmelerden ve biyoteknolojinin uygulama alanlarından bahsedilerek bitki ıslahındaki kullanımı üzerinde durulmuştur. Yağlık *Brassica* ıslahında doku kültürüne dayalı biyoteknoloji yöntemleri incelenmiştir.

Pascher ve ark. (2010) kültürden elde edilen transgenlerin kaybolma riskinin değerlendirilmesi için bir çalışma yapmışlardır ve bu çalışmada yağlı tohumlu bitkilerden iyi bilinen *Brassica napus*'un Avusturya'daki yağlı tohumluların genetik çeşitliliğini, kökeni ve devamlılığını, araştırmak için 19 ticari çeşit ile sekiz yabancı popülasyonda dokuz polimorfik mikrosatellit lokusu ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, ticari çeşitler ve yabancı popülasyonların tümü genetik varyasyonun benzer modellerini ve gözlemlenen heterozigotluğun benzer aşamalarını göstermişlerdir. İki grup her nasılsa alellerin %50'sinden daha azını paylaşmıştır ve çoklu lokus genotipi

yoktur. İki grup arasında (Ticari çeşitlere karşı yabancı popülasyonlar) anlamlı genetik çeşitlilik gözlenmiştir.

Fazeli ve ark (2008) yaptıkları araştırmada, Fransa, Kanada, Almanya, İran, Macaristan, Danimarka, Avustralya ve Amerika dâhil olmak üzere birçok coğrafi kökenden kolza genotipler arasındaki genetik ilişkileri RAPD işaretleyicileri kullanarak değerlendirmişlerdir. Dokuz farklı primer kullanarak 80 polimorfik bant elde etmişlerdir. Çeşitlilik İndeksi (DI) veya polimorfizm değeri 0,29 ile 0,48 arasında değişmektedir. Çalışılan genotipler arasında primerler yüksek bir polimorfizm potansiyeli göstermiştir. Genotipler arasında Dice benzerlik katsayısı Nei ve Li (1979) formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Maksimum (0,91) ve minimum (0,42) benzerlik katsayıları sırasıyla, Bristol ve Amber genotipleri, arasında gözlenmiştir. Genotipler beş ana gruba ayrılmıştır. Sonuçlar aynı coğrafi kökenli genotiplerin genetik olarak farklı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, genotiplerin çeşitliliğini belirlemek için sadece coğrafi kökenler baz alınmamalı ve kesin genetik çalışmalar yapılmalıdır. RAPD yöntemi basit, ucuz ve hızlı bir yöntem olduğundan tercih edilebilir sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada Trakya Bölgesinde yetişen bazı kanola (*Brassica napus*) çeşitlerinin genetik yapısının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için genetik işaretleyicilerden RAPD yönteminin kullanılarak karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

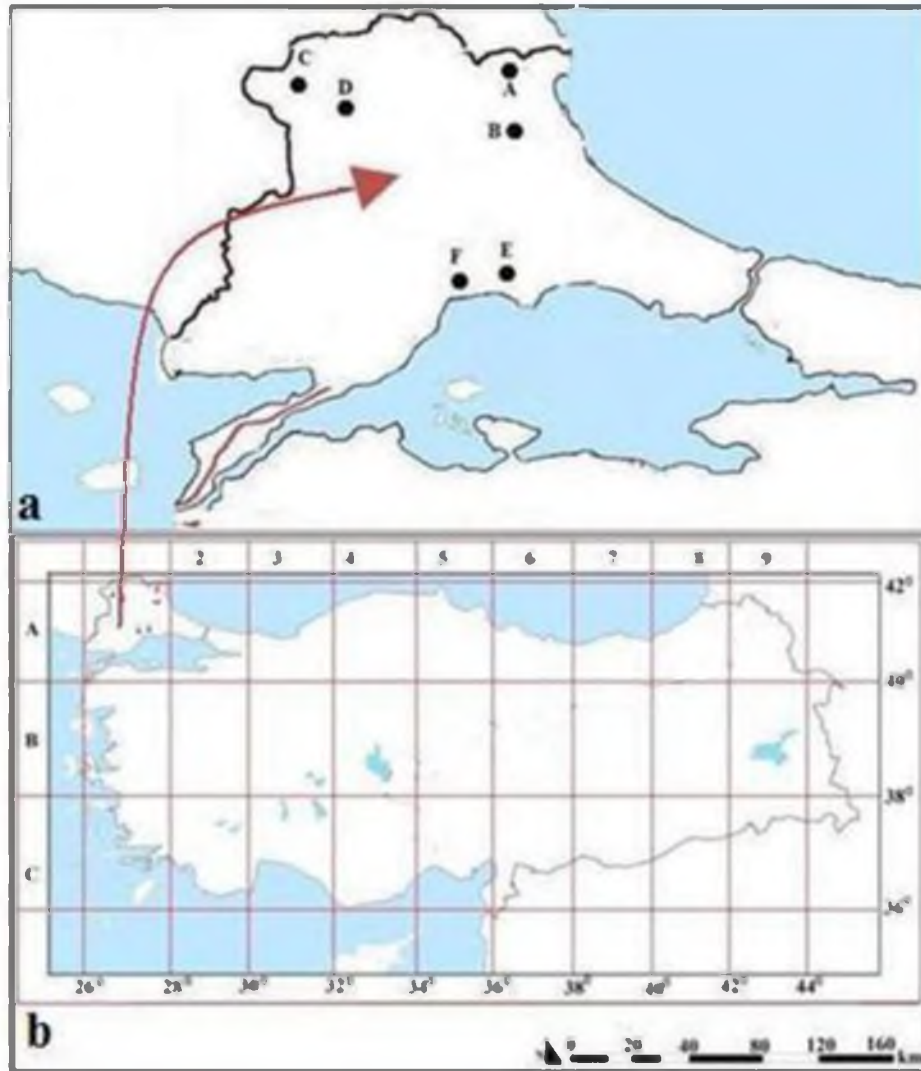
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma için gerekli materyal, Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinden her ilden iki farklı lokasyon olmak üzere toplamda 6 farklı lokasyondan, 2010 yılında hasat ürünlerinden toplandı (Çizelge 3.1.). Toplanan tohumlar Licord, Elvis, Californium, PR46W31, ve Tarcoola olmak üzere 9 farklı kışlık çeşidi içermektedir. Ayrıca KWS Türk Tarım Tic. A.Ş.'den Triangle ve Tristan olmak üzere iki çeşit, Sygenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.'den de NK Petrol ve Nelson çeşitleri olmak üzere toplam 4 kışlık çeşit tohum da firmalar tarafından ücretsiz olarak gönderildi (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Tarladan toplanan *Brassica napus* örneklerinin toplandığı bölge, yükseklik ve birey sayıları gösterilmektedir.

Popülasyon	Tohum çeşidi	Örneğin toplandığı bölge	Birey sayısı	Yükseklik
E	PR46W31	Kırklareli-Karıncaç Köyü	10	229
F	Licord	Kırklareli-Kofçaz	10	425
G	Californium	Edirne-Kapıkule	10	61
H	Elvis	Edirne-Süloğlu	10	150
I	Tarcoola	Tekirdağ-Karaevli	10	140
J	Licord	Tekirdağ-Muratlı	10	93
TOPLAM			60	



Harita 3.1. a.Trakya Bölgesinde örneklerin toplandığı lokasyonlar. A. Kırklareli-Kofçaz, B. Kırklareli-Karıncaç Köyü, C. Edirne-Kapıkule, D. Edirne-Süloğlu, E. Tekirdağ Muratlı, F. Tekirdağ- Karaevli Köyü lokasyonlarını göstermektedir. b. Türkiye haritası

Çizelge 3.2. Piyasadan temin edilen *Brassica napus* çeşitleri ve birey sayıları gösterilmektedir.

Popülasyon	Firma adı	Tohum çeşidi	Birey sayısı
A	Syngenta	NK Petrol	20
B	KWS	Tristan	20
C	KWS	Triangle	20
D	Syngenta	Nelson	20
		Toplam	80

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Örnekler 2010 yılı 17-24 Haziran tarihleri arasında Kırklareli-Karınca Köyü, Kırklareli-Kofçaz İlçesi, Edirne-Süloğlu İlçesi, Edirne-Kapıkule İlçesi, Tekirdağ-Muratlı İlçesi ve Tekirdağ Karaevli Köyü lokasyonlarından toplandı (Çizelge 3.1.). Bu lokasyonların il bazında yıllık ortalama sıcaklık (YOS), yıllık toplam yağış (YOY), yıllık ortalama nispi nem (YON) ve yıllık ortalama rüzgar hızı (YOR) değerleri Çizelge 3.3’de verildi. Bu değerlerin aylık verileri Çizelge E.1.1., Çizelge E.1.2., Çizelge E.1.3.,’ de gösterildi.

Tohum örneklerini toplanmak için kanola bitkisinin hasat dönemi tercih edildi. Her bireyden alınan tohumlar, her iki yüzünde de popülasyon adı, lokasyonu ve örnek numarası yazılı 11x14 ebatlarında kese kağıtlarına alınarak nem ve rutubetten uzak oda sıcaklığı koşullarında muhafaza edildi. Piyasadan temin edilen çeşitlerin tohumları bulk formundaydı. Tarladan toplanan tohumlardan 10’ar piyasadan temin edilen çeşitlerden 20’şer örnekten oluşan örnek grupları oluşturuldu. Bu örnek grupları popülasyon olarak adlandırıldı ve tezin devamında bu şekilde kullanıldı.

Çizelge 3.3. Örneklerin toplandığı lokasyonların il bazında nem, rüzgar, yağış ve sıcaklık değerlerinin yıllık ortalama verileri

İl	YON (%)		YOR (m/sn)		YOS (°C)		YOY (mm)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Edirne	65,6	73,0	2,0	2,0	14,7	14,9	65,9	63,9
Kırklareli	59,5	65,8	1,8	1,6	14,1	12,4	68,8	56,5
Tekirdağ	70,4	76,5	2,6	2,6	15,0	15,8	67,8	67,0

3.1.2. Örneklerin yetiştirilmesi

Tarladan toplanan ve piyasadan temin edilen tohum örnekleri 15x25 büyüklüğünde plastik saksılarda yetiştirildi (Resim 3.1. ve Resim 3.2.). Toprak 2:3 oranında ve doğal koyun gübresi 1:3 oranında olan bir karışım kullanıldı. Tarladan toplanan örnekler için her bir bitkiye ait tohumlar ayrı ayrı saksılara ekilirken piyasadan temin edilen tohumlar bulk formunda olduklarından her popülasyon için rastgele seçilen tohumlar farklı 4 saksıda yetiştirildi. Saksılara örnek numaraları yazıldı. Her saksıya

yaklaşık 20-30 tohum atıldı. Ekim işlemi yapıldıktan sonra, silindirme işlemi temsilen, toprak üzerine iyice bastırılarak tohum ve toprağın tamamen sıkışması sağlandı. Saksılar iki günde bir düzenli aralıklarla sulandı. Çimlenen tohumlardan yaklaşık 1-1,5 aylık yapraklar laboratuvar ortamında steril bir makasla kesilerek porselen havanda sıvı azot ile ezildi. Ezilen örnekler üzerinde örnek numarası yazılı tüplere alınarak -20°C 'ta saklanmak üzere dondurucuya alındı. Bitki yaprakları seçilirken her bir kökten çıkan yapraklar için ayrı numaralandırma yapıldı.



Resim 3.1. *Brassica napus* tohumu ekilmiş saksıların genel görünümü (Gıdık, 2011, Çorum)



Resim 3.2. Saksıda yetiştirilmiş bir *Brassica napus* bitki örneğinin görünümü (Gıdık, 2011, Çorum)



Resim 3.3. Saksıda yetiştirilmiş bir *Brassica napus* bitki örneğinin yapraklarının görünümü (Gıdık, 2011, Çorum)

3.2. Yöntem

3.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

İzolasyon için kullanılan çözeltilerin hazırlanışı Ek.2’de Çizelge E.2.1. ve Çizelge E.2.2.’de verildi.

DNA İzolasyon Protokolü

1. Sıvı azot ile ezilerek tüplere alınan bitki örneği yaprakları yaklaşık 2 μ L’lik eppendorf tüpe alındı.
2. 500 μ L DNA izolasyon çözeltisi eklendi (Çizelge E.2.2.). Tüpler 10 saniye nazıkçe ters-yüz edildi ve 65°C’ta 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. Tüplere 500 μ L kloroform-izoamil alkol (24:1) eklendi. Örnekler 15 dakika ters-yüz edilerek karıştırıldı.
4. Tüpler 15000 g’de +4°C’ta 5 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant 2 μ L’lik temiz eppendorf tüplere alındı.
6. Süpernatantın hacmine eşit oranda izopropanol eklendi ve -20°C’ta 30 dakika bekletildi.

7. Tüpler 15000 g'de +4°C'ta 5 dakika santrifüj edildi.
8. Süpernatant atılır ve pellet kurutuldu.
9. Pellete 200 µL 1X TE eklenerek çözünmesi için 65°C'ta karıştırıcı 55 devire ayarlanarak 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyondan sonra oda sıcaklığına gelene kadar tüpler bekletildi. Son olarak tüpler buzun üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra 15000 g'de +4°C'ta 2 dakika santrifüj edildi.
11. Dibe çöken pellet nişasta ve polisakkaritleri içerir. Bu nedenle üstteki süpernatant temiz eppendorf tüplere alındı ve +4°C'ta saklandı (Amani ve ark, 2011).

3.2.2. RAPD Primerleri

Bu çalışmada 10 RAPD primeri (Advanced Biosystem, England) kullanıldı. Bu primerler kit AB2 ve kit ABN'dir. Kullanılan primerlerin adları ve dizileri Çizelge 3.4.'te verildi.

Çizelge 3.4. Kullanılan primer dizileri *Brassica napus* (Kanola)

S.N.	PRİMERİN ADI	PRİMER DİZİSİ
1	A B N - 0 2	ACCAGGGGCA
2	A B N - 0 6	GAGACGCACA
3	A B N - 1 3	AGCGTCACTC
4	A B N - 1 8	GCTGAGGTCA
5	A B 2 - 0 1	CCCAAGGTCC
6	A B 2 - 0 5	TCAGGGAGGT
7	A B 2 - 0 9	CTTCACCCGA
8	A B 2 - 0 6	AAGACCCATC
9	A B 2 - 1 0	CACCAGGTGA
10	A B 2 - 2 0	AACGGTGACC

3.2.3. PCR Koşulları

Bu çalışmada PCR olarak standart bir PCR programının Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek tarafından modifiye edilmiş şekli kullanıldı. PCR koşulları *Brassica napus* türüne uygun olarak optimize edildi. Buna göre PCR reaksiyonu toplam 20 µL hacim olarak belirlendi ve bu karışımda 2 µL kalıp DNA kullanıldı. Her bir örnek için 2 µL 10X tam buffer, 0,5 µL dNTP (25 mM her biri), 0,5 µL primer (100 pmol/mL), 0,5 µL Taq DNA polimeraz (500 U/mL) ve 14,65 µL dH₂O kullanıldı (Ek.3). PCR cihazı olarak Termocycler ; Thermo, elektron corporation kullanıldı.

PCR için optimum döngü sayısı 40 olarak belirlendi (Çizelge 3.5.) ve ilk döngü 94°C (Başlangıç denatürasyonu) beş dakika, başlangıç denatürasyonunu takiben 40 döngü boyunca bir dk. 94°C denatürasyon sıcaklığı, bir dk. 33°C primer bağlanması, iki dk. 72 °C Zincir uzaması, son döngüde çoğaltılan tüm ürünlerin tamamının uzaması için 72°C'ta 10 dakika olarak uygulandı.

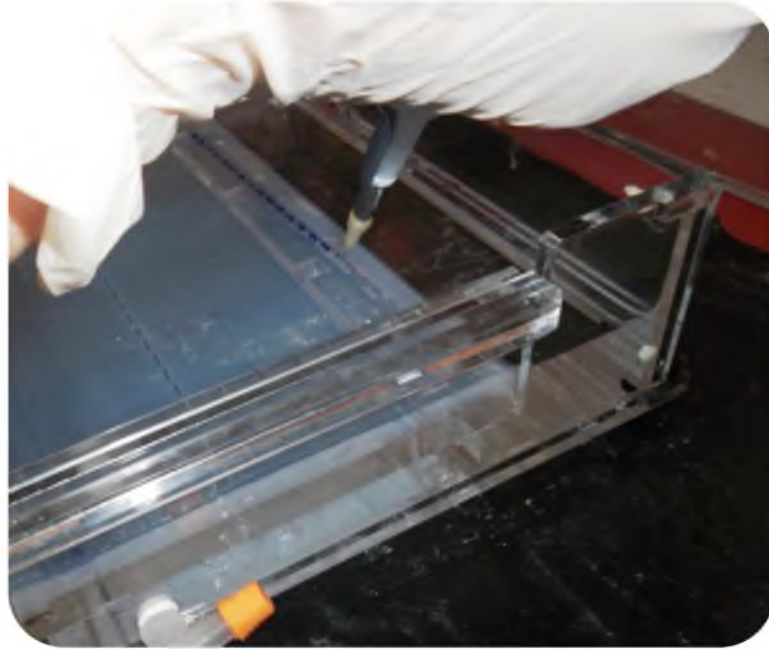
Çizelge 3.5. *Brassica napus* (Kanola) için kullanılan PCR programı

S.N	Reaksiyon basamağı	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
1.	Başlangıç denatürasyonu	94°C	5 dk.	
2.	Denatürasyon	94 °C	1 dk.	← 40 kez 2. basamağa git
3.	Primer bağlanması	30°C-34°C	1 dk.	
4.	Zincir uzaması	72 °C	2 dk.	
5.	Son döngü, reaksiyon tamamlama	72°C	10 dk.	

3.2.4. Örneklerin Jele Yüklenmesi

PCR ürünleri %1,3'lük agaroz jelde 100 mV (10 mV/1 cm) ve 50 mA sabit akımda 6 saat yürütüldü. Agaroz jel (Sigma, Agarose For Routine Use) hazırlanırken; 100 mL 1X TAE (Ek.4.) için 1,3 gr toz agaroz hassas terazide tartılarak kullanıldı. Agarozun tam olarak çözünmesini sağlamak için mikrodalga fırında (Blueline) ara ara çalkanarak ısıtıldı. Bantların trasilüminatörde (DNr Bio-Imaging Systems min Bis

Pro) görünmesi için jel hazırlanırken 100 mL 1X TAE için 2 μ L etidyum bromid (sigma, 10mg/mL) eklendi. Jel çözeltisi soğumaya bırakıldı. Bu sırada jel tepsisinin kenarları bantlanarak ve uygun taraklar yerleştirilerek jel dökülmesi için hazırlandı. Jel tepsi bantları uzaklaştırıldıktan sonra elektroforez tankına (ATTO, AE-8450) yerleştirildi. Örneklerin jel üzerinde yerlerini takip edebilmek için 6X LB (Loading buffer) (Ek.4.) örneklerle karıştırılarak donmuş agaroz jele uygun mikro pipet (pipetman 10 μ L'lik ve 100 μ L'lik) kullanılarak uygulandı (Resim 3.4. ve Resim 3.5.). Örnekler jele yüklendikten sonra ilk kuyucuğa DNA büyüklüğünü belirlemek için 100 bp ladder (Bioneer, Acculadder 100 bp DNA size marker) yüklendi. Elektroforez üç kaynağı (ATTO, AE-8450) 100 mV ve 50 mA' e ayarlandı. Örnekler jelde yeteri kadar ilerledikten sonra güç kaynağı kapatıldı. Jel tepsi tankın içinden alındı ve kâğıt havlu kağıt ile tepsinin altı kurulandı. Jel tepside dikkatlice alınarak görüntüleme işlemi için UV transilüminatörün üzerine yerleştirildi. Jel görüntülerine bakmak için UV koruyucu gözlük kullanıldı. RAPD bantlarının görüntüsü UV ışık kaynağı kullanılarak fotoğraf makinesi (Samsung ST-65) ile çekildi.



Resim 3.4. Jele örnek yükleme işlemi (Gıdık, 2012, Çorum)

3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Bu çalışmada Trakya Bölgesinde yetişen ve ticari olarak satılan Kanola bitkisi popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin karakterizasyonu 10 RAPD primeri kullanılarak RAPD yöntemi ile analiz edildi. RAPD dominant kalıtım gösteren bir DNA işaretleyicisidir. Kanola da diploit bir bitki olduğundan RAPD verileri diploit ve dominant olarak kabul edildi. Buna göre her bir bireyin bant modeli mobilite ve bant sayılarına göre değerlendirilerek veriler düzenlendi. Jellerin üzerinden ve fotoğraflardan skorlama işlemi yapıldı. PCR sonucu üretilen bantlar değerlendirilirken bir primerin ürettiği her farklı bant bir lokus olarak kabul edildi. Bu şekilde belirlenen RAPD lokusları iki alelli kabul edildi. Lokusta bant gözlemediğinde (1) gözlenmediği zaman (0) olarak skorlandı. Tüm jellerin bu şekilde ham verileri elde edildi. Ham veriler genetik ile ilgili istatistik analizleri yapmak için kullanılan POPGENE dosya formatına dönüştürüldü. Bu dönüştürme işleminden önce bütün popülasyonlarda bant skorlanması tamamlandıktan sonra her bir RAPD lokusunda 140 örnekte gözlenen bant sayılarına bakıldı. Her bir lokusta gözlenen bant sayısı 10'nun altında olan lokuslar değerlendirme dışı bırakıldı. Bu bantlar PCR hatası sonucu ortaya çıkma ihtimali olan bantlar olduğundan ve çalışmanın sonuçlarının daha sağlıklı değerlendirilmesi açısından bu şekilde bir yol izlendi.

Popülasyon genetiği analizi için elde edilen veriler POPGENE sürüm 1.32 (Yeh ve ark., 1997) yazılım paketi kullanılarak analiz edildi. Analizde popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği değerlendirmek için çeşitli parametreler kullanıldı. Popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği (H_e) hesaplamak için Nei (1973) kullanıldı.

Çalışılan popülasyonlardaki, tüm lokuslara ait ortalama alel sayısı (n_a) ve ortalama etkili alel sayısı (n_{ea}) hesaplandı. Etkili alel sayısı (Estimates of the reciprocal homozygosity) (Hartl ve Clark 1989) eşit sıklıkta görülen alel sayısıdır ve belirli bir düzeyde genetik çeşitliliği hesaplamak için kullanılır. Etkili alel sayısı bize alellerin sayısı ve dağılımına göre ve önemli ölçüde farklılaşmaya göre popülasyonları karşılaştırma olanağı sağlar. Bazı istatistikçiler tarafından genetik çeşitliliği ve farklılaşmayı ifade etmede daha etkili bir yöntem olduğu ifade edilmektedir (Jost 2007, 2008).

Popülasyonların gen havuzlarında ortak paylaştıkları alel sayısı azaldıkça genetik farklılaşma düzeyleri de artmaktadır. Doğal popülasyon formlarının genetik yapılarının tespit edilmesi popülasyon genetiğinin önemli konularından biridir ve sonuçlarının uygulandığı çeşitli alanlar vardır. Bunlar evrimsel biyoloji, koruma, forensik, bitki ve hayvan ıslahı alanlardır. Popülasyon genetik yapısının araştırılmasında sıklıkla kullanılan yöntem F_{ST} (Sewall Wright 1943a, 1965) idi. Wright F istatistiklerini (inbreeding coefficient) kendileşme katsayısı olarak kullandı ve birleşen iki gamet arasındaki korelasyon olarak tanımladı. O dönemde izoenzim ve diğer moleküler markerler olmadığından Wright her bir lokusu bialelik yani iki alelli kabul etti. F_{ST} 'yi hesaplamayı da iki alelli lokuslar üzerine kurdu. Ancak günümüzdeki marker yöntemleri çok alelli olduğundan bu yöntem tercih edilmiyor. Onun yerine Nei (1987)'nin geliştirdiği G_{ST} , Cockerham (1984) θp veya Jost D (2008) kullanılmaktadır.

Nei (1987)'nin G_{ST} hesaplaması Wright'in çalışmasının doğrudan açılımı şeklindedir ve beklenen genetik çeşitlilik (expected heterozygosity) değerinin popülasyon içi ve popülasyonlar arasında karşılaştırılmasına dayanır. Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düzeyini belirlemek için Nei'nin G istatistiği (G_{ST}), kullanıldı.

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T = D_{ST} / H_{ST}$$

Popülasyonların gen havuzları arasında gen transferinin meydana gelmesi olayına gen akışı denir. Gen akışı genellikle polen transferi, tohum transferi vb. yöntemlerle veya bireylerin göç etmesiyle gerçekleşebilir. Gen akışı popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı ölçen G_{ST} veya F_{ST} değerlerine göre hesaplanır. Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki gen akışı (N_m) değeri, G_{ST} 'den aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Burada N , etkili popülasyon büyüklüğü ve m değeri popülasyondaki göç eden bireylerin oranını temsil etmektedir.

$$N_m = 0,5 (1 - G_{ST}) / G_{ST}$$

Popülasyonlarda RAPD analizi için kullanılan 10 primerin ürettiği lokusların popülasyon düzeyinde ve tüm popülasyonların tamamında gösterdiği polimorfizm oranları elle hesaplandı. RAPD lokuslarının popülasyon içinde (H_s) ve popülasyonlar tümünde (H_T) gösterdikleri genetik çeşitlilik değerleri de POPGENE ile bulundu.

Korelasyon iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi ve bunun önemlilik derecesini saptamaya yönelik yapılan istatistiksel bir yöntemdir. Bilimsel çalışmaların sonuçlarının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılır. En çok kullanılanlar Pearson korelasyon katsayısı ve Spearman korelasyon katsayılarıdır. İki değişken arasında korelasyon saptanırken bunlardan biri bağımlı diğeri bağımsız değişken olarak belirlenir. Korelasyon katsayısı bağımlı değişken ile bağımsız değişken arasındaki ilişki düzeyini hesaplayan ve yönünü gösteren sayısal bir değerdir. Korelasyon katsayısı r ile gösterilir ve değeri -1,0 ile +1,0 arasında değişir. Bu çalışmada genetik çeşitlilik değerleri (H_e , n_a ve n_{ea}) ile iklimsel (sıcaklık, yağış ve rüzgar) ve coğrafik veriler (yükseklik, enlem ve boylam) arasındaki ilişki Pearson'un korelasyon katsayısı (r_p) kullanılarak SPSS sürüm 11, (Steel ve Torrie, 1980) yazılım programı ile hesaplandı.

Temel bileşenler analizi (TBA) (Principal Component Analysis PCA) orijinal p değişkeninin varyans yapısını, değişkenlerin doğrusal bileşenleri olan daha az sayıdaki yeni değişkenlerle ifade etme yöntemidir. Aralarında korelasyon bulunan p sayıda değişkenin açıkladığı yapıyı, aralarında korelasyon bulunmayan ve sayıca orijinal değişken sayısından daha az sayıda ($p > k$) orijinal değişkenlerin doğrusal bileşenleri olan değişkenlerle ifade etme yöntemine temel bileşenler analizi denir. Veri matrisinde yer alan p değişkeninin doğrusal bileşenlerini bulmak için kovaryans matrisinin ya da korelasyon matrisinin öz değerleri ve öz vektörleri kullanılır. İncelenen popülasyonların sahip oldukları genetik yapıları ve çevresel bileşenlere göre uzaysal dağılımının görüntülenmesinde kullanılan alternatif bir yöntemdir. Bu çalışmada XLSTAT versiyonu (2012) kullanılarak, Pearson korelasyon matrisine göre değişken olarak H_e , n_a ve n_{ea} sıcaklık, yağış, rüzgar, yükseklik, enlem ve boylam verileri kullanılarak TBA yapıldı.

Temel koordinatlar analizi (TKA) (Principle Coordinate Analysis PCoA) sıklıkla filogenetik veya genetik uzaklık değerlerine göre örnek gruplarını karşılaştırmak için

kullanılır. Temel bileşenler analizi ile eşdeğer olarak görülse de iki analiz şekli birbirinden farklıdır. Temel bileşenler değişkenler arasındaki ilişkiyi araştırır ve bu ilişkiye göre kümelemeye gider. Değişken sayısı çok olduğunda tercih edilmelidir. Temel koordinatlar ise klasik boyutlandırma veya ağırlık hesaplama yöntemidir. TKA çok boyutlu metrik ölçekli metotlar kullanır. Bunun için örnekler arasındaki uzaklık (distance)/benzemezlik (dissimilarity) matrisi değerlerini kullanarak örnekleri grafik eksenini üzerinde yerleştirir. Grafik eksenlerinde iki örnek arasındaki uzaklık da işaretlenmiş olur. TKA yönteminin TBA yöntemine göre daha güçlü bir yöntem olduğu bazı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Chae ve Warde, 2006). Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki benzemezlik (dissimilarity) matrisi değerlerinden yararlanarak XLSTAT versiyonu (2012) ile TKA hesaplandı ve popülasyonların grafik eksenini üzerinde uzaklıklarına göre coğrafik dağılımları görüntülendi.

Regresyon analizi aralarında sebep sonuç ilişkisi bulunan iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi belirlemek ve bu ilişkiyi kullanarak o konu ile ilgili tahminlerde ya da kestirimlerde bulunmak amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Regresyon analizi tek değişkenli ve çok değişkenli uygulanabilir. Tek değişkenlide bir bağımlı değişken ile bir bağımsız değişken arasındaki ilişki araştırılır. Çok değişkenli regresyon analizinde ise bir bağımsız değişken ile birden fazla bağımsız değişken arasındaki ilişki araştırılır. Regresyon karesi değeri ilişkinin düzeyini belirleyen sayısal değerdir. Bu çalışmada genetik verilerin değerleri (n_a , n_{ea} ve H_e) ile eko-coğrafik faktörler (sıcaklık, yağış, rüzgâr, yükseklik, enlem ve boylam) arasındaki sebep sonuç ilişkisi SPSS.11 sürümü (Windows için olanı) ile araştırıldı. Genetik veriler bağımlı, eko-coğrafik faktörler bağımsız değişken kabul edildi. Önce tekli regresyon analizi yapıldı ancak önemli bir sonuç elde edilmedi. Daha sonra çoklu regresyon analizi uygulandı.

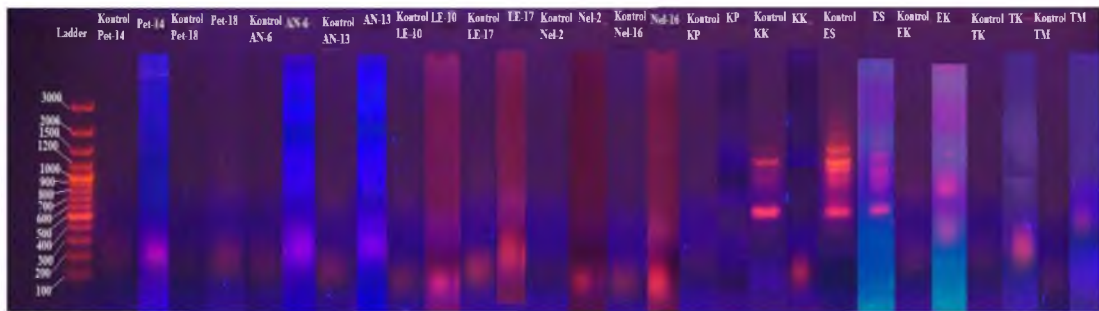
Organizmalar arasında onların filogenetik ilişkilerini veya fenetik benzerliklerinin derecesini gösteren ağaç dallarına benzer şekilde dendogram denir. Düşey ekseninde gösterilen değerler zamanı gösterir veya göreceli gelişme (ilerleme) düzeyini gösterir. Bu çalışmada iki farklı istatistik programı kullanılarak iki dendogram elde edildi. Bunlardan birincisi Nei'nin (1972) genetik uzaklık ve genetik identi

hesaplarına göre UPGMA (Unweighted Pair-Group Average) yöntemi kullanılarak elde edildi. İkinci dendrogram XLSTAT versiyon (2012) programı ile Euclidean uzaklığı kullanılarak UPGMA yöntemine göre oluşturuldu.

Bu çalışmada verilerin istatistiksel analizi Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek tarafından yapılmıştır.

RAPD bantlarının tekrarlanabilirlik oranlarının hesaplanması

RAPD yönteminin dezavantajı bantların tekrarlanabilirliği ile ilgili yaşanan problemdir. Bu nedenle kontrol amaçlı hata oranını tespit etmek için 140 örnek arasından ticari popülasyonlar için ikişer, tarladan toplananlar için her popülasyonu temsilen rastgele bir örnek seçilerek toplam 14 örnek 10 RAPD primeri ile tekrar analiz edildi. Tekrar yürütülen örnekler ile aynı örneklerin ilk koşmalarındaki bant modelleri karşılaştırıldı. İlk koşmada örneklerde sayılan bant sayısı 184 kontrol amaçlı yapılan koşmadaki örneklerdeki bant sayısı 188'dir. Her iki koşmadaki ortak bant sayısı 154'tür. RAPD bantlarının tekrar edilebilirlik oranı %83,16 olarak hesaplandı (Resim 3.6).



Resim 3.5. ABN-06 Primeri için kontrol ve ilk RAPD elektroforez sonuçlarından bir görüntü

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada toplamda 10 *Brassica napus* popülasyonunda 10 RAPD primeri kullanılarak RAPD yöntemiyle genetik çeşitlilik analiz edildi. Elde edilen bulgular aşağıda açıklandı. Resim 4.1.'de KWS-TRIAN popülasyonuna AB2-09 primerinin uygulandığı RAPD sonucu görülmektedir.



Resim 4.1. Örnek bir RAPD sonucu görüntüsü

4.1. Genetik Analizler

Büyük bir popülasyonda, bir lokusta bulunan bir alelin frekansı aynı lokusta bulunan diğer tüm alellere göre % oranını ifade eder. Bir lokusta bulunan alellerin frekansı incelenen tüm popülasyonlarda bulunma oranlarına göre hesaplanır. Bu çalışmada 10 RAPD primeri toplam 51 polimorfik (%100) lokus üretti. Bununla birlikte alellerin polimorfik olması için %95 sınırı uygulandı. Frekansı %95 ve üzerinde olan aleller teorik olarak polimorfik görünmesine karşın popülasyon genetiği istatistiklerine göre monomorfik kabul edilmektedir. Bu kritik sınıra göre ABN-02/9, ABN-06/6, ABN-06/7, ABN-06/9, ABN-13/12, ABN-18/4, ABN-18/8, ABN-18/10, AB2-01/9, AB2-10/8 ve AB2-20/7 lokusları $f_0= 0,95$ ve $f_1= 0,05$ oranlarını gösterirken ABN-13/3, ABN-13/4, ABN-13/7, AB2-10/13, AB2-20/4, AB2-20/9, AB2-05/8, AB2-05/9 ve AB2-09/8 lokusları $f_0= 0,96$ ve $f_1= 0,04$ oranlarını gösterdiğinden monomorfik olarak kabul edildiler. Bu 20 lokus monomorfik olarak kabul edildiğinde polimorfik lokus sayısı toplam 31 (%60,78)'dir. Bu lokusların dışında polimorfik olarak kabul edilen lokuslar arasında (0) aleli için en yüksek alel frekans değeri ABN-06/12, ABN-06/8, AB2-01/8 ve AB2-10/4 lokuslarında $f_0= 0,94$ olarak gözlenirken (1) aleli için en yüksek alel frekansı ABN-13/13 lokusunda $f_1= 0,45$ olarak gözlemlendi. (0) aleli için en

düşük alel frekansı değeri ABN-13/13 lokusunda $f_0= 0,55$ olarak tespit edilirken (1) aleli için en düşük alel frekansı değeri ABN-06/12, ABN-06/8, AB2-01/8 ve AB2-10/4 lokuslarında $f_1= 0,06$ olarak tespit edildi.

Çizelge 4.1. Lokuslardaki alellerin frekansları (Gölgelendirmeler frekans değerleri $f = 0,95$ ve üzerinde olan alelleri ifade etmektedir. Koyu renkler de en yüksek ve en düşük değerleri göstermektedir)

lokus	a	frekans	lokus	a	frekans	lokus	a	frekans
1. ABN-02/9	0	0,95	21. AB2-01/7	0	0,90	41. AB2-10/7	0	0,88
	1	0,05		1	0,10		1	0,12
2. ABN-02/13	0	0,82	22. AB2-01/8	0	0,94	42. AB2-10/8	0	0,95
	1	0,18		1	0,06		1	0,05
3. ABN-06/6	0	0,95	23. AB2-01/9	0	0,95	43. AB2-10/12	0	0,73
	1	0,05		1	0,05		1	0,27
4. ABN-06/7	0	0,95	24. AB2-01/13	0	0,67	44. AB2-10/13	0	0,96
	1	0,05		1	0,33		1	0,04
5. ABN-06/8	0	0,94	25. AB2-05/7	0	0,86	45. AB2-20/4	0	0,96
	1	0,06		1	0,14		1	0,04
6. ABN-06/9	0	0,96	26. AB2-05/8	0	0,96	46. AB2-20/7	0	0,95
	1	0,04		1	0,04		1	0,05
7. ABN-06/12	0	0,94	27. AB2-05/9	0	0,96	47. AB2-20/9	0	0,96
	1	0,06		1	0,04		1	0,04
8. ABN-06/13	0	0,72	28. AB2-05/12	0	0,84	48. AB2-20/10	0	0,91
	1	0,28		1	0,16		1	0,09
9. ABN-13/3	0	0,96	29. AB2-05/13	0	0,78	49. AB2-20/11	0	0,88
	1	0,04		1	0,22		1	0,12
10. ABN-13/4	0	0,96	30. AB2-09/7	0	0,87	50. AB2-20/12	0	0,84
	1	0,04		1	0,13		1	0,16
11. ABN-13/7	0	0,96	31. AB2-09/8	0	0,96	51. AB2-20/13	0	0,90
	1	0,04		1	0,04		1	0,10
12. ABN-13/8	0	0,89	32. AB2-09/12	0	0,72			
	1	0,11		1	0,28			
13. ABN-13/9	0	0,92	33. AB2-09/13	0	0,92			
	1	0,08		1	0,08			
14. ABN-13/12	0	0,95	34. AB2-06/7	0	0,93			
	1	0,05		1	0,07			
15. ABN-13/13	0	0,55	35. AB2-06/8	0	0,91			
	1	0,45		1	0,09			
16. ABN-18/4	0	0,95	36. AB2-06/9	0	0,96			
	1	0,05		1	0,04			
17. ABN-18/8	0	0,95	37. AB2-06/12	0	0,78			
	1	0,05		1	0,22			
18. ABN-18/9	0	0,90	38. AB2-06/13	0	0,77			
	1	0,10		1	0,23			
19. ABN-18/10	0	0,95	39. AB2-10/4	0	0,94			
	1	0,05		1	0,06			
20. ABN-18/13	0	0,58	40. AB2-10/6	0	0,93			
	1	0,42		1	0,07			

Çizelge 4.2. Lokuslarda gözlenen toplam genetik çeşitlilik (H_T), popülasyon içi genetik çeşitlilik (H_S), popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma (G_{ST}) ve gen akışı (N_m) verileri (S.N.: Sıra numarası, N: örnek sayısı)

S.N.	Lokus	N	H_T	H_S	G_{ST}	N_m	S.N.	Lokus	N	H_T	H_S	G_{ST}	N_m
1.	ABN-02/9	140	0,073	0,064	0,118	3,735	28.	AB2-05/12	140	0,238	0,163	0,314	1,092
2.	ABN-02/13	140	0,233	0,181	0,222	1,751	29.	AB2-05/13	140	0,287	0,202	0,297	1,185
3.	ABN-06/6	140	0,097	0,088	0,098	4,589	30.	AB2-09/7	140	0,271	0,247	0,087	5,260
4.	ABN-06/7	140	0,120	0,112	0,071	6,576	31.	AB2-09/8	140	0,093	0,082	0,112	3,968
5.	ABN-06/8	140	0,138	0,131	0,055	8,672	32.	AB2-09/12	140	0,412	0,359	0,128	3,398
6.	ABN-06/9	140	0,099	0,096	0,031	15,499	33.	AB2-09/13	140	0,128	0,112	0,127	3,433
7.	ABN-06/12	140	0,165	0,118	0,284	1,261	34.	AB2-06/7	140	0,147	0,131	0,108	4,137
8.	ABN-06/13	140	0,351	0,255	0,273	1,331	35.	AB2-06/8	140	0,203	0,180	0,114	3,893
9.	ABN-13/3	140	0,066	0,062	0,059	7,968	36.	AB2-06/9	140	0,095	0,080	0,162	2,587
10.	ABN-13/4	140	0,063	0,055	0,124	3,549	37.	AB2-06/12	140	0,322	0,246	0,236	1,620
11.	ABN-13/7	140	0,099	0,096	0,031	15,499	38.	AB2-06/13	140	0,277	0,068	0,753	0,164
12.	ABN-13/8	140	0,243	0,206	0,152	2,781	39.	AB2-10/4	140	0,110	0,093	0,158	2,672
13.	ABN-13/9	140	0,191	0,166	0,133	3,271	40.	AB2-10/6	140	0,147	0,130	0,113	3,944
14.	ABN-13/12	140	0,112	0,101	0,104	4,317	41.	AB2-10/7	140	0,205	0,179	0,127	3,433
15.	ABN-13/13	140	0,458	0,261	0,429	0,666	42.	AB2-10/8	140	0,109	0,094	0,142	3,023
16.	ABN-18/4	140	0,064	0,044	0,306	1,132	43.	AB2-10/12	140	0,356	0,267	0,251	1,489
17.	ABN-18/8	140	0,105	0,099	0,062	7,613	44.	AB2-10/13	140	0,179	0,131	0,269	1,356
18.	ABN-18/9	140	0,198	0,187	0,054	8,773	45.	AB2-20/4	140	0,086	0,070	0,181	2,256
19.	ABN-18/10	140	0,142	0,106	0,253	1,474	46.	AB2-20/7	140	0,091	0,085	0,069	6,718
20.	ABN-18/13	140	0,458	0,331	0,277	1,308	47.	AB2-20/9	140	0,108	0,096	0,110	4,039
21.	AB2-01/7	140	0,194	0,183	0,058	8,116	48.	AB2-20/10	140	0,180	0,160	0,113	3,923
22.	AB2-01/8	140	0,133	0,127	0,044	11,000	49.	AB2-20/11	140	0,226	0,200	0,115	3,868
23.	AB2-01/9	140	0,137	0,122	0,115	3,841	50.	AB2-20/12	140	0,272	0,256	0,059	8,039
24.	AB2-01/13	140	0,385	0,261	0,322	1,052	51.	AB2-20/13	140	0,125	0,096	0,235	1,630
25.	AB2-05/7	140	0,249	0,229	0,077	5,974							
26.	AB2-05/8	140	0,100	0,094	0,058	8,145							
27.	AB2-05/9	140	0,113	0,099	0,124	3,527							

Lokusların genetik çeşitlilik verilerine göre toplam genetik çeşitlilik, popülasyon içi genetik çeşitlilik, popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ve gen akışı verileri (Nei, 1987) incelendiğinde, toplam genetik çeşitlilik (H_T) için en yüksek değer ($H_T = 0,458$) ABN-13/13 ve ABN-18/13 lokuslarında gözlenirken en düşük değer ($H_T = 0,110$) AB2-10/4 lokusunda gözlemlendi. Popülasyon içi çeşitlilik (H_S) için en yüksek değer ($H_S = 0,359$) AB2-09/12 lokusunda belirlenirken en düşük değer ($H_S = 0,068$) ise AB2-06/13 lokusunda gözlemlendi. Popülasyonlar arası genetik farklılaşma (G_{ST})

değerlerine bakılacak olursa en büyük değer ($G_{ST} = 0,753$) AB2-06/13 lokusunda tespit edilirken en küçük değer ($G_{ST} = 0,044$) AB2-01/8 lokusunda tespit edildi. Popülasyonlar arasındaki gen akışı (N_m) değerleri incelendiğinde en yüksek değer ($N_m = 11,00$) AB2-01/8 lokusunda görülürken, en küçük değer ($N_m = 0,164$) AB2-06/13 lokusunda görüldü (Çizelge 4.2.).

Lokusların popülasyon düzeyinde frekansları incelendiğinde (Nei, 1987) (Çizelge E.5.1) ABN-06/7 lokusunda KWS-Tristan, Kırklareli-P, Edirne-K ve Tekirdağ-M popülasyonlarında, AB2-20/10 lokusunda KWS-Triangle, Kırklareli-K, Edirne-K ve Tekirdağ-K olmak üzere her iki lokus için de dörder popülasyonda en yüksek frekans ($f=0,95$) gözlenirken, AB2-01/13 lokusunda ise KWS-Tristan popülasyonda en düşük frekans ($f=0,22$) gözlemlendi.

Tüm lokusların genetik çeşitlilik verileri incelendiğinde tüm lokuslarda alel sayısı 2 olarak gözlemlendi ($n_a = 2,00$). En yüksek etkili alel sayısı ($n_{ea} = 1,98$) ABN-13/13 lokusunda görülürken, en düşük etkili alel sayısı ($n_{ea} = 1,08$) ise AB2-05/8 lokusunda görüldü (Çizelge 4.4.). Genetik çeşitlilik değerlerine bakıldığında (H_e) en yüksek genetik çeşitlilik değeri ($H_e = 0,49$) ABN-13/13 ve ABN-18/13 lokuslarında gözlenirken en düşük genetik çeşitlilik değeri ($H_e = 0,07$) AB2-05/8 lokusunda gözlemlendi. Shannon enformasyon indeksi (I) değerleri incelenecek olursa, en yüksek değer ($I = 0,69$) ABN-13/13 lokusunda tespit edilirken en düşük değer ($I = 0,16$) ABN-13/3, ABN-13/4 ve AB2-05/8 lokuslarında tespit edildi (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Tüm RAPD lokuslarında gözlenen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), genetik çeşitlilik (H_e) ve Shannon enformasyon indeksi verileri (S.N.: Sıra numarası, N: örnek sayısı).

S.N.	Lokus	N	n_a	n_e	h	I	S.N.	Lokus	N	n_a	n_e	h	I
1.	ABN-02/9	140	2	1,10	0,09	0,19	28.	AB2-05/12	140	2	1,37	0,27	0,44
2.	ABN-02/13	140	2	1,41	0,29	0,47	29.	AB2-05/13	140	2	1,51	0,34	0,52
3.	ABN-06/6	140	2	1,10	0,09	0,19	30.	AB2-09/7	140	2	1,30	0,23	0,39
4.	ABN-06/7	140	2	1,10	0,09	0,20	31.	AB2-09/8	140	2	1,09	0,08	0,18
5.	ABN-06/8	140	2	1,13	0,11	0,23	32.	AB2-09/12	140	2	1,68	0,41	0,60
6.	ABN-06/9	140	2	1,09	0,09	0,18	33.	AB2-09/13	140	2	1,17	0,15	0,28
7.	ABN-06/12	140	2	1,14	0,12	0,24	34.	AB2-06/7	140	2	1,16	0,14	0,26
8.	ABN-06/13	140	2	1,68	0,41	0,60	35.	AB2-06/8	140	2	1,21	0,17	0,32
9.	ABN-13/3	140	2	1,08	0,07	0,16	36.	AB2-06/9	140	2	1,08	0,08	0,17
10.	ABN-13/4	140	2	1,08	0,07	0,16	37.	AB2-06/12	140	2	1,53	0,35	0,53
11.	ABN-13/7	140	2	1,09	0,09	0,18	38.	AB2-06/13	140	2	1,55	0,35	0,54
12.	ABN-13/8	140	2	1,25	0,20	0,36	39.	AB2-10/4	140	2	1,13	0,11	0,22
13.	ABN-13/9	140	2	1,18	0,15	0,29	40.	AB2-10/6	140	2	1,16	0,14	0,26
14.	ABN-13/12	140	2	1,10	0,09	0,19	41.	AB2-10/7	140	2	1,28	0,22	0,38
15.	ABN-13/13	140	2	1,98	0,49	0,69	42.	AB2-10/8	140	2	1,11	0,10	0,20
16.	ABN-18/4	140	2	1,10	0,09	0,19	43.	AB2-10/12	140	2	1,66	0,40	0,59
17.	ABN-18/8	140	2	1,10	0,09	0,20	44.	AB2-10/13	140	2	1,27	0,21	0,37
18.	ABN-18/9	140	2	1,21	0,17	0,32	45.	AB2-20/4	140	2	1,09	0,08	0,18
19.	ABN-18/10	140	2	1,12	0,10	0,21	46.	AB2-20/7	140	2	1,11	0,10	0,21
20.	ABN-18/13	140	2	1,95	0,49	0,68	47.	AB2-20/9	140	2	1,09	0,08	0,18
21.	AB2-01/7	140	2	1,22	0,18	0,33	48.	AB2-20/10	140	2	1,19	0,16	0,29
22.	AB2-01/8	140	2	1,13	0,11	0,23	49.	AB2-20/11	140	2	1,27	0,21	0,37
23.	AB2-01/9	140	2	1,12	0,10	0,21	50.	AB2-20/12	140	2	1,36	0,26	0,43
24.	AB2-01/13	140	2	1,80	0,45	0,64	51.	AB2-20/13	140	2	1,21	0,17	0,32
25.	AB2-05/7	140	2	1,33	0,25	0,41							
26.	AB2-05/8	140	2	1,08	0,07	0,16							
27.	AB2-05/9	140	2	1,09	0,08	0,18							

Tüm popülasyonların genetik çeşitlilik verileri incelendiğinde gözlenen ortalama en yüksek alel sayısı ($n_a = 1,73$) Tekirdağ-Karaevli popülasyonunda gözlenirken ortalama en düşük alel sayısı ($n_a = 1,41$) SYNG-PET popülasyonunda gözlendi (Çizelge 4.5). Ortalama en yüksek etkili alel sayısı ($n_{ea} = 1,27$) KWS- Tristan popülasyonunda tespit edilirken en düşük etkili alel sayısı ($n_{ea} = 1,17$) ise SYNG-Nelson popülasyonunda tespit edildi. Ortalama en yüksek genetik çeşitlilik (H_e) (Nei,1973) ($H_e = 0,18$) Edirne-Süloğlu popülasyonunda bulunurken en düşük genetik çeşitlilik ($H_e = 0,11$) SYNG-PET ve SYNG- Nelson popülasyonunda bulundu. En

yüksek değer Shannon enformasyon indeks (I) değeri (Lewontin,1972) ($I = 0,29$) Edirne-Süloğlu popülasyonunda tespit edilirken en düşük değer ($I =0,17$) SYNG-PET ve SYNG- Nelson popülasyonlarında tespit edildi.

Brassica napus tek yıllık bir bitkidir ve tarlaya atılan her tohumun atıldığı yıl çimlenmediği düşünülürse, tarlaya atılarak bir sonraki yıl çimlenen tohumların bu çeşitlilikte rol oynadığı düşünülebilir. Ayrıca kanola tozlaşmasında arıların büyük rol oynadığı göz önünde bulundurulursa bu çeşitlilik değerlerinde tozlaşmanın da rol aldığı söylenebilir. Bununla birlikte örneklerin toplandığı lokasyonlar arasındaki yükseklik farklı da çeşitlilikte rol oynamaktadır.

Çizelge 4.4. *Brassica napus* popülasyonlarında gözlenen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), genetik çeşitlilik (H_e) ve Shannon enformasyon indeksi verileri (S.N.: Sıra numarası, N: örnek sayısı, PL: Polimorfik lokus sayısı, %PL: polimorfik lokus yüzdesi (Nei, 1973)

POP	N	n_a	n_{ea}	H_e	I	PL	%PL
SYNG-PET	20	1,41	1,20	0,11	0,17	21	%41,18
KWS-TRİS	20	1,71	1,27	0,17	0,27	36	%70,59
KWS-TRİA	20	1,71	1,24	0,16	0,26	36	%70,59
SYNG-NEL	20	1,45	1,17	0,11	0,17	23	%45,10
Kırklareli-Karıncak	10	1,71	1,24	0,17	0,27	36	%70,59
Kırklareli-Kofçaz	10	1,69	1,19	0,14	0,24	35	%68,63
Edirne-Kapıkule	10	1,71	1,24	0,16	0,27	36	%70,59
Edirne-Süloğlu	10	1,69	1,26	0,18	0,29	35	%68,63
Tekirdağ-Karaevli	10	1,73	1,24	0,17	0,28	37	%72,55
Tekirdağ-Muratlı	10	1,51	1,19	0,13	0,20	26	%50,98

RAPD sonuçlarına göre popülasyonların polimorfik lokus sayısı ve polimorfik lokus yüzdeleri incelenecek olursa en yüksek sayıda polimorfik lokus ve yüzdesi sırasıyla 37 ve %72,55 olarak Tekirdağ-Karaevli popülasyonunda hesaplanırken, en düşük sayıda polimorfik lokus ve yüzdesi sırasıyla 21 ve %41,18 olarak SYNG-PET popülasyonunda hesaplandı (Çizelge 4.4) (Nei, 1973).

Polimorfizm oranlarına bakıldığında Fahmi ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada bu çalışmanın sonuçlarına göre daha düşük oranlarda polimorfizm buldular. Bunun

nedenleri çalışmalarında farklı çeşitler kullanmış olmaları ya da farklı primer dizileri kullanmış olmaları olabilir. Ayrıca Kullandıkları bitki örneklerinin eko-coğrafik koşulları da çeşitliliği etkilemektedir.

Genetik çeşitlilik değerlerine bakıldığında en düşük değerlerin genellikle piyasadan temin edilen çeşitlerde olduğu görülmektedir. Pasher (2010)'in çalışmasında toplanan örnekler ve ticari çeşitler arasında dikkate değer bir genetik farklılık bulunmadığını söylemiştir fakat bu çalışmada hasat ürünlerinin genetik çeşitlilik değerlerinin ticari çeşitlere oranla daha yüksek olduğu görüldü. Bunun nedeni bitkinin başka bitkilerle örneğin hardal gibi, çapraz tozlaşarak hibritler oluşturmasından kaynaklanıyor olabilir. Ancak RAPD işaretleyicileri dominant kalıtım gösterdiklerinden bunun tespit edilmesi mümkün değildir ya da daha farklı yöntemler kullanmak gerekebilir.

Kullanılan tüm primerlerin oluşturduğu lokus sayısı (primerin ürettiği toplam bant sayısı), primelerin gözlendiği popülasyonların sayısı ile her primerde gözlenen tüm bantların en düşük ve en yüksek moleküler ağırlıkları (Çizelge 4.5.) incelenecek olursa, en çok lokus üreten (7) primerlerin ABN-13 ve AB2-20 olduğu görülürken en az lokus üreten primerin ABN-02 olduğu görülmektedir. ABN-13 ve AB2-20 primerlerin ürettiği bantların moleküler ağırlıkları sırasıyla 100 bp-1200 bp ve 100 bp-1000 bp arasında değişirken ABN-02 primerinin ürettiği bantların moleküler ağırlıklarının 100 bp-500 bp aralığı arasında değiştiği tespit edildi.

Çizelge 4.5. Kullanılan tüm primerlerin oluşturduğu lokus sayısı (primerin ürettiği toplam bant sayısı), primelerin gözleendiği popülasyonların sayısı ile her primerde gözlenen tüm bantların en düşük ve en yüksek moleküler ağırlıkları (PL: Polimorfik lokus sayısı, %PL: polimorfik lokus yüzdesi P.S.: Popülasyon sayısı)

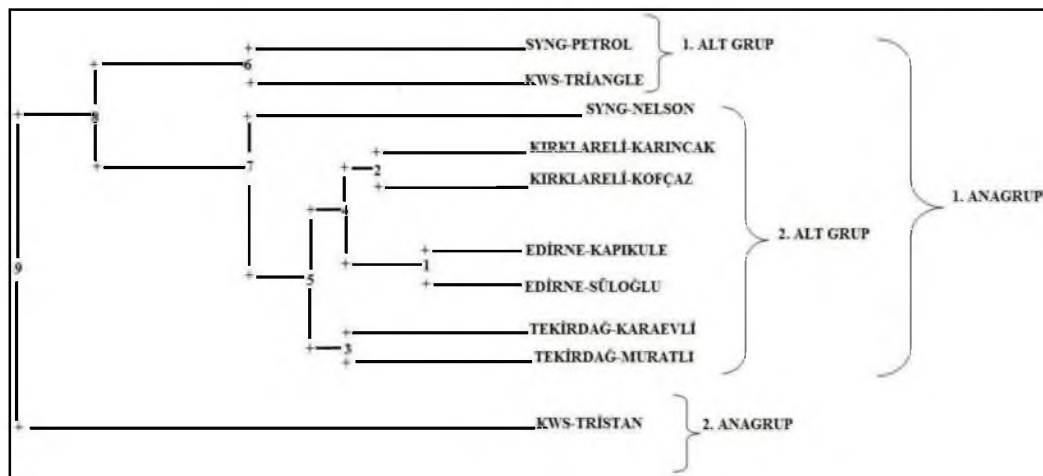
Primer	L	PL	%PL	Bant büyüklüğü	P.S
ABN-02	2	12	%60	100 bp-500 bp	8
ABN-06	6	39	%65	100 bp-800 bp	10
ABN-13	7	43	%61,43	100 bp-1200 bp	10
ABN-18	5	29	%58	100 bp-700 bp	10
AB2-01	4	29	%72,50	100 bp- 700 bp	10
AB2-05	5	33	%66	100 bp-700 bp	10
AB2-09	4	27	%67,50	100 bp-700 bp	10
AB2-06	5	29	%58	100 bp -700 bp	10
AB2-10	6	40	%66,67	100 bp-1000 bp	10
AB2-20	7	42	%60	100 bp-1000 bp	10

Nei'ye göre (1972) genetik uzaklık (D) verileri incelendiğinde en yüksek genetik uzaklık ($D = 0,101$) değeri SYNG- Petrol ve Edirne-Süloğlu popülasyonları arasında tespit edilirken en düşük genetik uzaklık değerinin ($D = 0,010$) Edirne- Kapıkule ve Edirne-Süloğlu popülasyonları arasında tespit edildi (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Nei'ye (1972) göre *Brassica napus* popülasyonları arasında genetik uzak verileri

Pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2	0,063									
3	0,031	0,088								
4	0,040	0,055	0,052							
5	0,051	0,086	0,068	0,029						
6	0,039	0,075	0,063	0,019	0,015					
7	0,064	0,094	0,097	0,044	0,023	0,020				
8	0,066	0,090	0,101	0,040	0,026	0,017	0,010			
9	0,051	0,070	0,073	0,028	0,025	0,016	0,030	0,023		
10	0,060	0,099	0,076	0,037	0,033	0,019	0,037	0,035	0,022	

Popülasyonların aralarındaki genetik uzaklık (Nei, 1972) değerlerine kümeleme analizi sonuçlarına göre oluşturulan dendogramda 10 popülasyonun iki temel ana gruba ayrıldığı gözlemlendi (Şekil 4.1). Birinci temel grup; 2 alt gruba ayrıldı. Birinci alt grupta SYNG-PET ve KWS-TRIANGLE popülasyonları bulunurken, ikinci alt grupta SYNG-NEL, Kırklareli-Karıncaç, Kırklareli-Koçaz, Edirne-Kapıkule, Edirne-Süloğlu, Tekirdağ-Karaevli ve Tekirdağ-Muratlı popülasyonları gruplandı. İkinci temel grup ise sadece KWS-TRIS popülasyonundan oluştu.



Şekil 4.1. *Brassica napus* popülasyonları arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren dendogram (POPGENE genetik veri analizi programına göre)

Dendogram incelendiğinde ticari çeşitlerin ve tarladan toplanan çeşitlerin birbirinden ayrı gruplandığı görülmektedir. KWS-TRISTAN popülasyonu diğerlerine göre uzak bir popülasyon olarak kümelendiği de dikkat çekicidir. Pasher (2010)'in yaptığı yabani çeşitler ile ticari çeşitler arasındaki genetik çeşitlilik değerlerini karşılaştırdığı çalışmada da ticari çeşitler ile yabani çeşitler ayrı ayrı gruplanmıştır.

Her iki Licord çeşidinin de farklı gruplarda olmasının sebebi olarak çevresel faktörlerin genetik çeşitliliğe olan etkisi sayılabilir. Tekirdağ-Muratlı popülasyonu 93m yükseklikten toplanırken, Kırklareli-Kofçaz popülasyonu 425m yükseklikten toplandı. Ayrıca 2009-2010 yılları nem, sıcaklık, rüzgâr ve yağış değerlerine bakıldığında Tekirdağ ili için bu değerlerin Kırklareli ilinden daha yüksek olduğu görüldü. Böylece aynı çeşidin farklı gruplarda bulunması çevresel koşullar ile açıklanabilir.

Pearson korelasyon analizi sonuçlarına göre, rüzgar (2010) ile alel sayısı (n_a), genetik çeşitlilik değeri (H_e) ve Shannon enofrmasyon indeksi (I) arasında çok güçlü bir negatif korelasyon olduğu tespit edildi. Korelasyon katsayıları sırasıyla $r_p = -0,883$ ($p = 0,020$), $r_p = 0,858$ ($p = 0,029$) ve $r_p = -0,901$ ($p = 0,014$) ($p < 0,05$ önemlilik düzeyinde) olarak hesaplandı (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Genetik veriler ve eko-coğrafik faktörler arasındaki ilişkinin analizi için yapılan Pearson korelasyon katsayısı verileri (2010 verilerine göre)

		S	NM	R	Y	YÜ	E	B
n_a	r_P	-0,358	-0,381	-0,883	-0,369	0,242	0,373	-0,269
	p	0,486	0,456	0,020	0,471	0,644	0,466	0,606
n_{ea}	r_P	-0,559	-0,544	-0,751	-0,552	-0,487	0,000	-0,427
	p	0,249	0,264	0,085	0,256	0,327	1,000	0,398
H_e	r_P	-0,571	-0,568	-0,858	-0,570	-0,243	0,172	-0,417
	p	0,237	0,239	0,029	0,238	0,643	0,745	0,411
I	r_P	-0,563	-0,567	-0,901	-0,565	-0,118	0,255	-0,412
	p	0,245	0,241	0,014	0,243	0,824	0,626	0,417
	N	6	6	6	6	6	6	6

Genetik çeşitliliğin popülasyonların coğrafik konumlarına ve çevresel faktörlerin etkilerine göre uzaysal dağılımını tespit etmek için Temel Bileşenler Analizi (TBA), (Principal Component Analysis PCA) uygulandı (Çizelge 4.8). TBA sonucunda Eigen değeri 1 ve üzerinde olan 3 temel bileşen elde edildi. Bu temel bileşenlerden birincisi, n_a , n_{ea} , H_e , I , S, NM, R, Y, BY değişkenlerinden oluşurken genetik çeşitliliğe katkısının %61,092 olduğu belirlendi (Çizelge 4.9.). Bileşenlerden ikincisinin sadece EN değişkeninden oluştuğu ve genetik çeşitliliğe katkısının %19,847 olduğu tespit edildi. Üçüncü temel bileşenin ise sadece YÜ değişkeninden oluştuğu ve genetik çeşitliliğe katkısının %15,802 olduğu belirlendi. TBA sonuçlarına göre coğrafik etmenler enlem ve yüksekliğin Kanolada gözlenen genetik çeşitliliğin yaklaşık %35,649'unu olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.8. Temel bileşenler analizi (TBA) (Principal Component Analysis, PCA) 2010 verilerine göre

Bileşen	Eigen değeri	Varyans (%)	Kümülatif varyans %
1	6,720	61,092	61,092
2	2,183	19,847	80,940
3	1,738	15,802	96,741
4	0,299	2,715	99,457
5	0,060	0,543	100,000
6	0,000	0,000	100,000
7	0,000	0,000	100,000
8	0,000	0,000	100,000
9	0,000	0,000	100,000
10	0,000	0,000	100,000
11	0,000	0,000	100,000

Çizelge 4.9. Genetik ve eko-coğrafik değişkenleri temel bileşenlere olan katkılarını gösteren matris verileri (2010 verilerine göre)

	Bileşenler		
	1	2	3
n_a	-0,695	0,403	0,538
n_{ea}	-0,805	0,498	-0,231
H_e	-0,858	0,480	0,031
I	-0,865	0,458	0,166
S	0,896	0,407	0,172
NM	0,897	0,424	0,116
R	0,859	-0,350	-0,182
Y	0,897	0,416	0,145
YÜ	0,212	-0,220	0,944
EN	-0,501	-0,631	0,561
BY	0,811	0,495	0,254

Eko-coğrafik değişkenlerin (S, NM, R, Y, YÜ, EN ve BY) genetik veriler üzerine olan etkisi Stepwise regresyon ile test edildi (Çizelge 4.10). Elde edilen sonuçlara göre eko-coğrafik faktörlerin etkisi birlikte ele alındığında, rüzgârın genetik veriler üzerinde etkisinin olduğunu gösterdi. Rüzgârın n_a , H_e ve I üzerindeki etki değerini gösteren regresyon karesi değerleri sırasıyla %88,3, %85,8 ve %90,1 olarak tespit edildi. Regresyon sonuçları ile Pearson korelasyon sonuçlarının birbirini desteklediği de gözlemlendi.

Fazeli ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada aynı lokasyondan örnekler toplayarak bu örneklerin çeşitliliğini belirlemek için coğrafik koşulları değerlendirmişlerdir. Coğrafik koşulların çeşitliliğin belirlenmesinde rol oynadığını fakat yeterli olmadığını, çeşitliliğin belirlenmesi için mutlaka genetik işaretleyicilerin kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.10. Eko-coğrafik faktörlerin genetik çeşitlilik üzerine ayrı ayrı etkilerini belirlemek üzere yapılan stepwise regresyon analizi verileri

BD	R ²	R ² (%)	Std. Er.	BZD
n_a	0,883	88,3	0,042	R
H_e	0,858	85,8	0,012	R
I	0,901	90,1	0,016	R

Pearson kolerasyon analizi 2009 ve 2010 yılları iklimsel faktörleri (Sıcaklık, yağış, nispi nem ve rüzgar) için yapıldı fakat önemli düzeyde bir korelasyon gözlenmedi (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Eko-coğrafik faktörler (2009 ve 2010 verilerine göre) ile genetik veriler arasındaki ilişkiyi gösteren Pearson korelasyon katsayısı verileri

		n_a	n_{ea}	H_e	I
T09	r_P	-0,384	0,163	-0,022	-0,121
	p	0,453	0,758	0,967	0,819
T10	r_P	-0,358	0,205	0,021	-0,079
	p	0,486	0,697	0,969	0,881
NM09	r_P	-0,421	0,092	-0,091	-0,188
	p	0,406	0,862	0,864	0,722
NM10	r_P	-0,381	0,167	-0,018	-0,117
	p	0,456	0,752	0,973	0,825
R09	r_P	-0,493	-0,114	-0,279	-0,360
	p	0,321	0,829	0,592	0,483
R10	r_P	-0,466	-0,017	-0,193	-0,283
	p	0,352	0,975	0,715	0,587
YÜ09	r_P	-0,090	-0,574	-0,479	-0,416
	p	0,866	0,233	0,336	0,413
YÜ10	r_P	-0,369	0,187	0,002	-0,098
	p	0,471	0,723	0,997	0,854
S	r_P	0,242	-0,487	-0,243	-0,118
	p	0,644	0,327	0,643	0,824
EN	r_P	0,373	0,000	0,172	0,255
	p	0,466	1,000	0,745	0,626
BY	r_P	-0,269	-0,427	-0,417	-0,412
	p	0,606	0,398	0,411	0,417
N		6	6	6	6

TBA 2009 ve 2010 eko-coğrafik verileri için uygulandığında Eigen değeri 1 ve üzerinde olan 3 temel bileşen elde edildi. Bu temel bileşenlerden birincisi, T09, T10 NM09, NM10, R09, R10, Y10, YÜ ve EN değişkenlerinden oluşurken, genetik çeşitliliğe katkısının %56,628 olduğu belirlendi. İkinci temel bileşen ise n_a , n_{ea} , H_e , I , Y09 ve BY değişkenlerinden meydana geldi ve genetik çeşitliliğe katkısı %29,486 olarak tespit edildi. Ayrıca üçüncü temel bileşen Y09 ve BY değişkenlerinden oluşurken genetik çeşitliliğe de %10,303 oranında katkı sağladığı gözlemlendi (Çizelge

4.12.ve Çizelge 4.13.). Temel bileşenlerin Eigen değerleri, varyasyon ve katlanmış (kümülatif) varyasyon değerleri Çizelge 4.14.'de verildi.

Çizelge 4.12. Temel bileşenler analizi (2010-2009 verilerine göre)

Bileşen	Eigen değerleri	Varyans (%)	Kümülatif varyans(%)
1	8,494	56,628	56,628
2	4,423	29,486	86,114
3	1,545	10,303	96,417
4	0,387	2,577	98,994
5	0,151	1,006	100,000
6	0,000	0,000	100,000
7	0,000	0,000	100,000
8	0,000	0,000	100,000
9	0,000	0,000	100,000
10	0,000	0,000	100,000
11	0,000	0,000	100,000
12	0,000	0,000	100,000
13	0,000	0,000	100,000
14	0,000	0,000	100,000
15	0,000	0,000	100,000

Çizelge 4.13. Temel bileşenler matris tablosu 2010 -2009 verilerine göre

	Bileşen		
	1	2	3
n_a	-0,469	0,660	0,425
n_{ea}	0,089	0,928	0,271
H_e	-0,113	0,929	0,330
I	-0,218	0,908	0,348
T09	0,989	0,111	-0,035
T10	0,978	0,171	-0,079
NM09	0,996	0,013	0,035
NM10	0,988	0,116	-0,039
R09	0,934	-0,265	0,233
R10	0,978	-0,135	0,141
Y09	-0,407	-0,745	0,519
Y10	0,983	0,144	-0,060
YÜ	-0,784	-0,416	0,162
EN	-0,848	0,233	-0,446
BY	0,097	-0,701	0,692

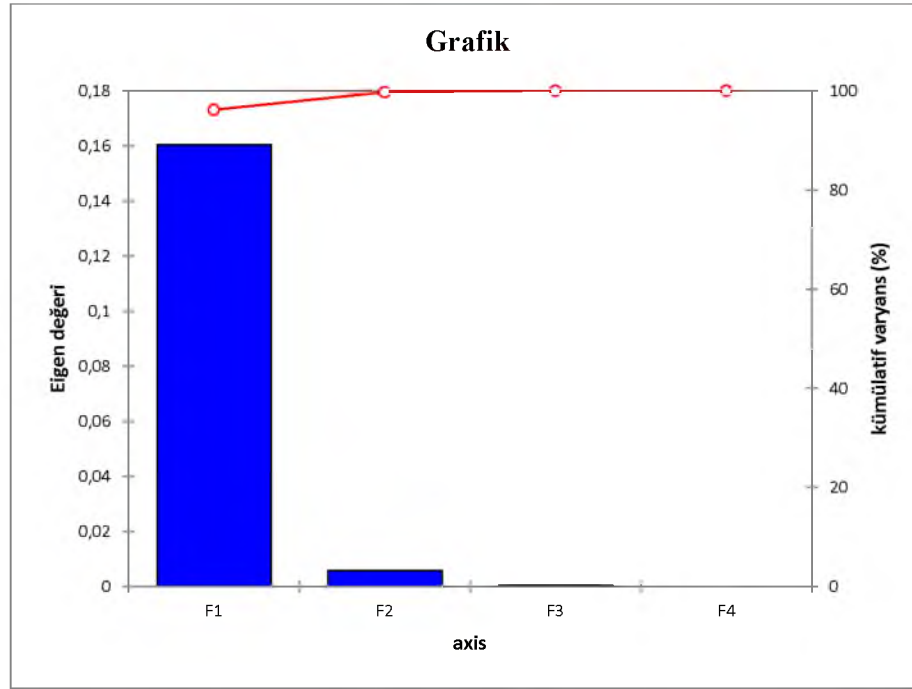
Temel koordinatlar analizi (TKA) (Principal Coordinate Analysis, PCoA), popülasyonlar arası benzemezlik (dissimilarity) matris değerlerinden yararlanarak akrabalık ilişkileri ve coğrafik dağılımları belirlemek üzere yapıldı. Temel koordinatların Eigen değerleri, varyasyon (%), kümülatif varyasyon (%) değerleri, Eigen değerlerine göre koordinatların varyasyon yüzdesi dağılımı ve temel koordinatlar matris değerleri Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15'te verildi.

Çizelge 4.14. Temel koordinatların Eigen değerleri, varyasyon ve katlanmış (kümülatif) varyasyon değerleri (F: Faktör)

	F1	F2
Eigen değeri	0,160	0,006
Varyasyon (%)	96,164	3,553
Kümülatif (%)	96,164	99,716

Eigen değerlerine göre koordinatların varyasyon yüzdesi dağılımı hesaplanarak grafik oluşturuldu (Şekil 4.2).

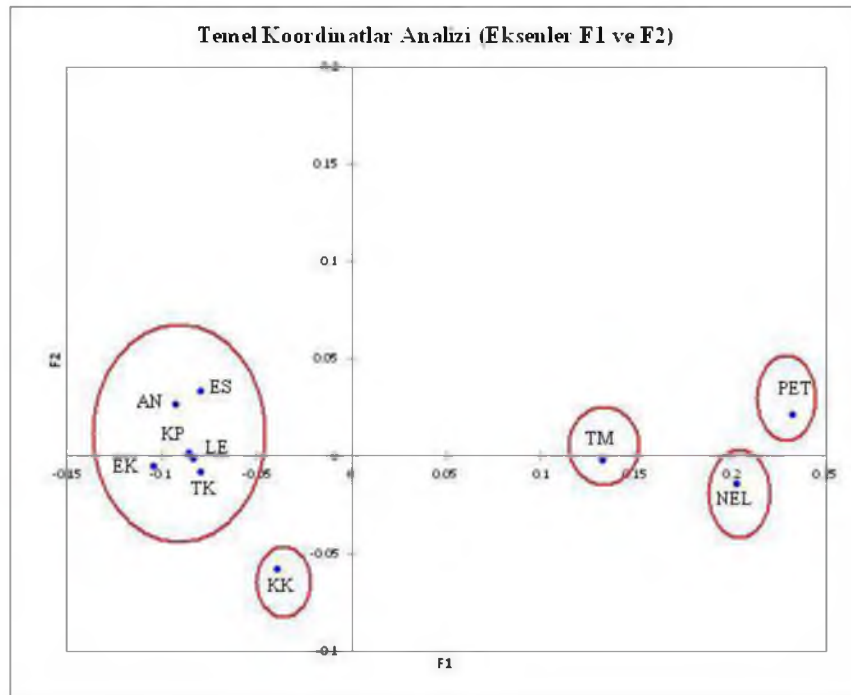
Şekil 4.2. Eigen değerlerine göre koordinatların varyasyon yüzdesi dağılımı



Çizelge 4.15. Temel koordinatlar matriks değerleri

	F1	F2	F3	F4
PET	0,232	0,022	-0,003	0,000
AN	-0,093	0,027	-0,012	0,000
LE	-0,080	-0,007	-0,009	0,000
NEL	0,203	-0,013	-0,001	0,000
KP	-0,086	0,002	0,003	0,000
KK	-0,040	-0,058	0,003	0,000
EK	-0,084	-0,001	-0,001	0,001
ES	-0,080	0,034	0,014	0,000
TK	-0,104	-0,004	0,001	0,000
TM	0,132	-0,002	0,004	0,000

Popülasyonların sahip oldukları varyasyon değerlerine ve birbirlerine göre coğrafik dağılımına göre elde edilen grafikte popülasyonların koordinat eksenine göre dağılımları görülmektedir (Şekil 4.3). TKA'ya göre ticari çeşitlerden Petrol, Nelson ve Tekirdağ-Muratlı popülasyonuna ait Licord çeşitleri tek başlarına hem birbirlerinden hem de diğer popülasyonlardan uzak olarak dağıldılar. Kırklareli-Koçaz popülasyonuna ait Licord çeşidi de tarladan toplanan diğer çeşitler gibi ayrı dağılırken tarladan toplanan popülasyonlara daha yakın bir dağılım gösterdi. Bunun nedeni Koçaz lokasyonunun diğer tarladan toplanan popülasyonların lokasyonlarına göre coğrafik olarak daha yüksek olması olabilir. *Brassica napus* tek yıllık bir bitkidir ve tek yıllık bitkilerde çevresel koşullar çok etkilidir. Çevresel koşulların *Brassica napus* üzerine etkisini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır (Gül, 2006; Tunçtürk ve ark.,2004; Öz,2002). Bunlara karşın Edirne-Süloğlu popülasyonu, Edirne-Kapıkule popülasyonu, Kırklareli-Karıncaç popülasyonu, Tekirdağ-Karaevli popülasyonu, ticari Tristan ve Triangle popülasyonların birbirine yakın dağılım gösterdikleri görüldü.



Şekil 4.3. Popülasyonların sahip oldukları varyasyon değerlerine ve birbirlerine göre coğrafik dağılımının temel koordinatlar analizine göre gösterimi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada altı tanesi tarladan toplanan dört tanesi piyasadan temin edilen toplamda 10 popülasyon, 10 RAPD primeri ve 9 farklı çeşit toplam 140 *Brassica napus* bitki örneği RAPD yöntemiyle analiz edildi.

Tür içi türler arası varyasyonların belirmesinde ilkönce morfolojik karakterler kullanılmaktaydı. Biyokimyasal işaretleyiciler, protein ve enzimler onları takip etti. Ancak tüm bu işaretleyiciler çevre koşullarından etkilenmekteydi. Bilimsel gelişmelerle günümüzde çevre koşullarından etkilenmeyen moleküler işaretleyiciler gelişti. Moleküler işaretleyiciler popülasyon genetiğinde çok verimli bir şekilde sıklıkla kullanılmakta ve karşılaşılan bilimsel problemlere güvenilir sonuçlar üretmektedir. RAPD yöntemi de bu işaretleyici yöntemlerden biridir ve en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Çünkü hızlı, ekonomik ve bazen sıkıntılı olmakla beraber güvenilir sonuçlar üretmektedir. Bitkilerde genetik çeşitliliğin ve popülasyon genetik yapılarının belirlenmesi onların daha verimli kullanılması ve yararlanılması açısından önemlidir. Gerek ıslah çalışmaları, gerekse tükenme tehlikesi altında olan türlerin tespit edilmesi ve korunmasında moleküler yöntemlerin kullanılması çok önemlidir, özellikle sonuçların güvenilirliği açısından. Ancak moleküler işaretleyiciler çevre koşullarından etkilenmeseler bile bitkiler çevre koşullarından etkilenmekte gerek kalıtsal gerekse gerekse kalıtsal olmayan şekillerde varyasyonlar gösterebilmektedir. Bu nedenle popülasyonların gösterdikleri genetik çeşitliliğin ne kadarı bitkinin genotipinde ne kadarı da çevresel etmenlerden kaynaklanmaktadır bunların bilinmesi doğru adımların atılmasında çok katkı sağlayacaktır. Dolayısıyla imkânlar ve laboratuvar koşulları düşünüldüğünde RAPD yönteminin kullanılabilir bir yöntem olduğu söylenebilir.

RAPD bantlarının tekrarlanabilirliğinin kontrolü için yapılan çalışmada elde edilen sonuç oldukça yüksek bir düzeyde tekrarlanabilir (%83,16) olduğunu gösterdi. Bunda primerlerin özelliği, bitki genomu, PCR koşulları ve kişisel hataların etkileri düşünüldüğünde bu çalışmada elde edilen sonuçların bilimsel anlamda yöntemin verimliliği ve güvenilirliği konusunda da tatmin edici veriler sunduğunun göstergesidir.

Kanola bitkisi GDO'lu (Genetiği Değiştirilmiş Organizma) bir bitkidir ve bu nedenle polimorfizm oranının yüksek olması beklenen bir durum değildir. Ancak RAPD sonuçlarına göre tarladan toplanan örnekler ile yeni üretilmiş ve ilk defa kullanılan ticari tohumlarda genetik çeşitlilik düzeyi bakımından farklılıklar bulundu. Ayrıca TKA sonuçları da yine bu iki grubu birbirinden ayırt etti. Bu sonuçlar RAPD yönteminin ne kadar kullanışlı bir yöntem olduğunu da göstermektedir.

Bu alışma öncesinde yapılan literatür araştırmalarında kanolanın genetik çeşitliliği ile ilgili yeterli çalışma olmadığına rastlandı. GDO'lu bir bitki olduğu için genetik çeşitlilik ve popülasyon genetik yapılarının araştırılması ve belirli düzeylerde korunması gerekmektedir. Kültür formları zaman içinde kendileşmekte ve genetik çeşitlilik düzeyleri oldukça düşmektedir. Bu da türün neslinin devamı için önemli riskler oluşturmaktadır. Islah edilen farklı çeşitler arasında veya yabani çeşitler ile ıslah edilenler arasında genetik farklılaşmanın ve genetik kayıpların ne kadar olduğunu belirlemek için kanolanın da genetik çeşitlilik düzeyinin araştırılması gerekmektedir.

Kanola bitkisi, gıda sanayiinde, hayvancılıkta, arıcılıkta, biodizel yapımı gibi birçok alanda kullanılan bir bitkidir. Bunun yanında yoğun tuz stresi olan bölgeler hariç Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde yetişebilecek bir bitkidir. Ayrıca farklı bitkilerle ekim nöbetine katılarak aynı arazide daha uzun süre tarım yapılabilmesini sağlamaktadır. Böylesine yetiştirilmesi kolay ve dünya pazarlarında ekonomik değeri her geçen gün artan bir bitkinin üretiminin artırılması gerekmektedir. Bunun için de devlet desteğinin artırılması ve çiftçilerin Kanola tarımına yönlendirilmesi ve teşvik edilmeleri gerekmektedir.

Bu çalışmada kullanılan 10 primerin hepsinde polimorfizm görüldü fakat böyle genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılan primerlerin genetik çeşitlilik değeri, oluşturduğu bant sayısı ve lokus sayısının mümkün olduğunca yüksek olması tercih edildiğinden çeşitliliğin en iyi şekilde belirlenebilmesi için polimorfizm oranı en yüksek olan primerler tercih edilmelidir. Kullanılan primerlerden, AB2-01, ABN-13, AB2-09, AB2-10 ve AB2-20 primerleri polimorfizm oranı diğerlerine göre daha yüksek olduğundan kanolanın ve yakın akrabası olan türlerde genetik çeşitlilik çalışmalarında verimli bir şekilde kullanılabilir.

Ülkemizde kanola tarımı ihtiyacı, karşılananın oldukça altındadır. Bu nedenle Kanola bitkisinin ticari ve ekonomik önemi nedeniyle bu bitkinin tarımının daha fazla artırılması için gerekli çalışmalar yapılmalıdır. Fosil yakıtlar gelecekte tükendiğinde alternatif enerji kaynaklarının üretilmesi gerekmektedir. Kanola da biyodizel üretiminde kullanılan alternatif bir enerji kaynağı olmaya aday bitkidir. Sadece bu özelliği bile Kanolanın neden araştırılması, korunması ve üretiminin desteklenmesi konusundaki soruların cevabını vermek için yeterlidir.

KAYNAKLAR

- Ahn, S. and S.D. Tanksley. 1993. Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 7980-7984
- Amani J., Kazemi R., Abbasi A.R., Salmanian A.H., 2011. A simple and rapid leaf genomic DNA extraction method for polymerase chain reaction analysis. Iranian Journal Of Biotechnology, Vol. 9, No. 1,
- Anonim, 2008. Marmara Araştırma Merkezi. <http://www.mam.gov.tr/index.htm> (12.05.2008)
- Asghari, A., Mohommadi, S. A., Moghaddam M., Mohammaddoost M., 2007. Identification Of Qtls Controlling Winter Survival In *Brassica Napus* Using Rapd Markers. Biotechnol. & Biotechnol, (4), 413-416
- Asghari, A., Mohommadi, S. A., Moghaddam M., Toorci M., Mohammadinasab A. D., 2008. Analysis Of Quantitative Trait Loci Associated With Freezing Tolerance In Rapeseed (*Brassica Napus* L.). Biotechnol. & Biotechnol 548-552.
- Aydın, S., Ö., 2004, Rapd (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri Ve Bitki Sistematiği, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, (6), 113-130.
- Baran, M.F., 2010. Kanola'nın Hasat Mekanizasyonu Ve Hasat Kayıplarının Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makineleri Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Botstein, D., R. White, M. Skolnick, and R. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Amer. J. Human Genet. 32:314-331.
- Chae, S.S., Warde, W.D., 2006. Effect of using principal coordinates and principal 5 components on retrieval of clusters. Comput. Stat. Data Anal. 50, 1407-1417.
- Doğru, A., 2006. Kolza (*Brassica Napus* L. Ssp. *Oleifera*)'nın Bazı Kışlık Çeşitlerinde Düşük Sıcaklık Toleransı ile İlgili Fizyolojik Ve Biyokimyasal Parametrelerin Araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Dusanbenyagasani, M. And Fernando, W. G. D., 2008. Development of a SCAR Marker to Track Canola Resistance Against Blackleg Caused by *Leptosphaeria maculans* Pathogenicity Group 3. The American Phytopathological Society, Plant Dis. (92), 903-908.
- Fahmi A. I., Assal O.M., Nawar A. A., El-Hosary A. A., Mohammed M. M., 2012, "Genetic Diversty Of *Brassica napus* L. Varieties Estimated By Morphological And Molecular Markers" International Journal of Plant Breeding and Genetics 6 (2): 83-93.

- Farsak, H. Ve Kaynak, M. A., 2009. Kanola (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.) çeşitlerinde sıra arası uzaklığın verim ve verim unsurları üzerine etkisi. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 2010; 7(1) : 79 – 86
- Fazeli E., Shahriari F., Samizadeh H., Bagheri A. Ve Farsi M., 2008. Evaluation of Genetic Diversity among Different Genotypes of *Brassica napus* Using Random Amplified Polymorphic DNA Markers. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11: 2629-2633.
- Gül, M. K., 2006. Kolzada (*Brassica Napus* L.) çiçeklenme ile ilgili QTL belirlenmesi ve interaksiyon analizleri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2006, 19 (1), 115-122.
- Hartl DL, Clark AG (1989) Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Helentjaris, T., G. King, M. Slocum, D. Siedenstrang, and S. Wegman. 1985. Restriction fragment length polymorphisms as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. Plant Mol. Biol. 5:109-118.
- Jombart, T., Pontier, D., Dufour, A.B., 2009, Genetic markörs in the playground of multivariate analysis, Heredity, 102, 330–341.
- Jost, L. 2007. Parttioning diversity into independent alpha and beta components. Ecology 88: 2427–2439.
- Jost, L. 2008. Gst and its relatives do not measure differentiation. Molecular Ecology 17: 4015- 4026.
- Kimber, D. S. and McGregor, D. I., 1995, *Brassica* Oilseeds. Production and Utilization, CAB International, Cambridge, 3.
- Kimura M & Crow J F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics 49:725-38, 1964.
- Kocabıyık H. Ve Tezer D., 2007. Kolzanın ısısal özelliklerinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi Kocabıyık ve Tezer, 4 (1) 65-70.
- Laloë, D., Moazami-Goudarzi, K., Lenstra, J.A., Marsan, P.A., Azor, P., Baumung, R., Bradley, D.G., Bruford, M.W., Cañón, J., Dolf, G., Dunner, S., Erhardt, G., Hewitt, G., Kantanen, J., Obexer-Ruff, G., Olsaker, IRodellar, C., Valentini, A., 2010. Spatial trends of genetic variation of domestic ruminants in europe. Diversity, 2, 932–945.
- Lewontin, R.C., 1972. The Apportionment of Human Diversity. Evolutionary Biology. 6: 381-398.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P., 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. Trends Ecol Evol., 18, 189–197.

- Mendham, N. J. and Salisbury, P. A., 1995, Physiology: Crop development, growth and yield, in Brassica Oilseed. Production and Utilization, Kimber, D. S. And McGregor, D. I. (eds.), CAB International, Cambridge, 11-65.
- Moazami-Goudarzi, K., Laloë, D., 2002. Is genetics a multivariate consensus representation of genetic relationships among populations always meaningful? *Genetics*, 162, 473–484.
- Nei, M., 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*. 106:283-292.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations (population structure / genetic variability/ heterozygosity / gene differentiation). *Proc Natl Acad Sci USA*, 70(12), 3321-3323.
- Nei, M. and W.H. Li, 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 76: 5269-5273.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia Uni. Press, New York.
- Öz, M., 2002 Bursa Mustafakemalpaşa koşullarında farklı ekim zamanlarının kışlık kolza çeşitlerinde verim ve verim unsurları üzerine olan etkileri. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, (16) 1-13
- Pascher K., Macalka S., Rau D., Gollman G., Reiner H., Glössl J., Grabherr G., 2010. Molecular differentiation of commercial varieties and feral populations of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *BMC Evolutionary Biology* 2010, 10:63 <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/63>
- Patterson, N., Price, A.L., Reich, D., 2006. Population structure and eigen analysis. *PLOS Genet*, 2, 2074–2093.
- Pearson, K., 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philos Mag*, 2, 559–572.
- Rangwen, R., M.S. Akkaya, A.A. Bhagwar, U. Lavi, and P.B.Cregan. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor. Appl. Genet.* 90:43-48.
- Ridout, C.R. and P.Donini. 1999. Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*. 4:76-79.
- Shengwu H., Ovesná J., Kučera L., Kučera V., Vyvadilová M., 2003 Evaluation of genetic diversity of *Brassica napus* germplasm from China and Europe assessed by RAPD markers *PLANT SOIL ENVIRON.*, 49, 2003 (3): 106–113.

- Sobotka R., Dolanska L., Curn V., Ovesna J., 2004 Fluorescence-based AFLPs occur as the most suitable marker system for oilseed rape cultivar identification. *J. Appl. Genet.* 45(2), 2004, pp. 161-173
- Sokal, R.R., Wartenberg, D.E., 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. *Genetics*, 105, 219–237.
- Staub, J.E., F.C. Serquen and M. Gupta. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*. 31: 729-740.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980), *Principles and Procedures of Statistics*, Second Edition, New York: McGraw-Hill.
- Süzer, S. 2001. Kanola Tarımı. Marmara'da Tarım. Yayın No: 77-78:38-43.
- Süzer, S. 2001. Destek Kapsamına Alınan Kanola Tarımı. *Cinetarım*, Yıl:5, Sayı:38:38-9.
- Tanksley, S.D., M.V. Ganal, J.P. Prince, M.C. de Vicente, M.W. Bonierbale, P. Broun, T.M. Fulton, J.J. Giovannoni, S. Grandillo, G.B. Martin, R. Messeguer, J.C. Miller, L. Miller, A.H. Peterson, O. Pineda, M.S Roder, R.A. Wing, W. Wu and N.D. Young. 1992. High density molecular maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 132:1141-1160.
- Tonguç, M., 2008. Yağlık *Brassica* türleri ıslahında biyoteknolojik yöntemler ve kullanım alanları. *Journal of molecular biology and biotechnology*, 12-19.
- TUIK, 2009. Bitkisel üretim Teknikleri, (Nisan 2010). www.tuik.gov.tr
- Tunçtürk, M., 2008. Bazı Yazlık Kolza (*Brassica napus ssp. oleifera L.*) Çeşitlerinde Fosforlu Gübrelemenin Verim ve Verim Öğeleri Üzerine Etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14, (3), 259-266.
- Tunçtürk, M., Yılmaz İ., Ermen M., Tunçtürk R., 2004. Yazlık Kolza (*Brassica napus ssp. oleifera L.*) Çeşitlerinin Van Ekolojik Koşullarında Verim ve Verim Özellikleri Yönünden Karşılaştırılması. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2005, 11 (1) 78-85.
- Uzogara, S.G., The Impact of Genetic Modification of Human Foods in The 21st Century, *Biotechnology Advances*, 18, 179-206, 2000.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijnders, 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 Acid Res.* 21: 4407-4414.
- Weir BS, Cockerham CC. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 1984;38:1358–1370.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.

Wright S., 1943 Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138

Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.

Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., Ye, Z.H., Mao., J.X., 1997. POPGENE (version 1.32). The 523 user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and 524 Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.

EKLER

EK-1

Örneklerin toplandığı illerin 2009-2010 yılları aylık ortalama nisbi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) verileri gösterilmektedir (T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Çorum).

Çizelge E.1.1. Edirne ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nispi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir.

EDİRNE								
Aylar	AON(%)		AOR(m_sn.)		AOS(°C)		ATY (mm)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Ocak	89,0	85,6	1,8	2,4	3,1	2,1	82,2	95,6
Şubat	78,7	87,5	2,2	2,2	5,4	6,1	82,2	186,1
Mart	72,6	78,9	2,3	2,1	8,3	7,8	49,7	73,6
Nisan	61,4	68,2	2,0	1,9	12,9	13,9	16,0	35,9
Mayıs	57,9	59,1	2,1	2,1	19,8	19,7	38,1	11,0
Haziran	54,1	64,0	2,0	1,8	23,8	23,2	23,6	54,2
Temmuz	53,0	68,1	1,9	2,0	26,1	25,0	89,4	80,2
Ağustos		57,4	2,0	2,0	25,3	27,9	17,0	Yok
Eylül	63,5	59,0	2,0	1,9	19,8	21,0	74,1	37,7
Ekim	79,6	80,0	1,9	1,7	15,1	13,1	139,8	98,1
Kasım	87,5	84,1	1,7	2,1	10,0	13,9	53,2	41,7
Aralık	90,1	84,3	2,1	2,1	7,2	5,3	125,8	53,3

Çizelge E.1.2. Kırklareli ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nispi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir.

KIRKLARELİ								
Aylar	AON (%)		AOR(m_sn.)		AOS(°C)		ATY(mm)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Ocak	85,1	81,8	1,9	2,2	4,5	2,8	84,9	54,8
Şubat	80,4	83,8	2,2	2,1	4,7	5,9	114,4	148,0
Mart	75,8	75,5	2,2	1,9	6,9	7,0	57,0	63,0
Nisan	60,5	64,6	1,8	1,9	11,9	13,0	22,8	39,6
Mayıs	58,9	58,1	1,7	1,7	18,3	19,2	44,6	17,0
Haziran	53,8	64,7	1,8	1,7	22,7	22,3	42,2	49,4
Temmuz	57,2	65,4	1,6	1,7	24,7	24,7	89,2	44,7
Ağustos			1,6		23,7			
Eylül		61,0	1,7	1,8	19,2	20,3	140,2	22,7
Ekim	76,1	78,1	1,7	1,8	15,1	12,5	85,8	63,5
Kasım	82,1	78,4	1,7	2,0	10,2	14,1	33,6	94,7
Aralık	84,5	78,3	2,2		7,8	6,7	101,8	80,5

Çizelge E.1.3. Tekirdağ ili 2009-2010 yılları aylık ortalama nispi nem (AON), aylık ortalama rüzgar hızı (AOR), aylık ortalama sıcaklık (AOS) ve aylık ortalama yağış (ATY) gösterilmektedir.

TEKİRDAĞ								
Aylar	AON (%)		AOR(m_sn.)		AOS(°C)		ATY(mm)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Ocak	86,5	93,6	2,6	2,8	6,0	4,4	76,4	83,2
Şubat	85,9	84,8	2,8	2,7	6,0	7,7	62,3	154,9
Mart	87,3	80,0	2,6	2,5	7,9	8,4	73,0	48,0
Nisan	82,2	72,3	2,4	2,5	11,7	13,4	32,2	26,2
Mayıs	77,2	71,4	2,3	2,2	17,9	19,0	13,4	13,4
Haziran	74,5	71,0	2,3	2,3	22,6	22,9	11,5	45,6
Temmuz	70,5	70,3	2,7	2,6	25,3	25,6	66,3	39,6
Ağustos		67,7	3,3	2,6	24,4	27,8		0,2
Eylül	84,6	68,8	2,6	2,9	19,7	21,7	132,8	47,9
Ekim		77,5	2,3	3,0	16,7	14,9	146,8	210,8
Kasım	97,7	83,4	2,1	2,6	11,8	15,1	64,9	29,3
Aralık	98,5	77,9	3,2	2,6	9,7	8,7	135,3	104,8

EK-2

DNA izolasyon çözeltisi hazırlanışı

Çizelge E.2.1. DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

200 mM Tris-HCl						
M1	X	V2	=	M2	X	V2
1000 mM	X	V2	=	200 mM	X	100 mM
		V2	=	20 mL		1 M Tris-HCl
250mM NaCl						
M1	X	V2	=	M2	X	V2
5000 mM	X	V2	=	250 mM	X	V2
		V2	=	5 mL		5 M NaCl
25 mM EDTA						
M1	X	V2	=	M2	X	V2
500 mM	X	V2	=	25 mM	X	100 mL
		V2	=	5 mL		0,5 mM EDTA
%20'lik SDS Hazırlanışı						
20 g SDS 90 mL dH ₂ O içinde çözdürülür ve son hacim 100 mL'ye tamamlanır.						
%5 SDS						
M1	X	V2	=	M2	X	V2
0,20	X	V2	=	0,05	X	100 mL
		V2	=	25 mL		%20'lik SDS

DNA izolasyonu için gerekli solüsyonun hazırlanmasında steril edilmiş dereceli silindir, beher gibi cam malzemeler kullanılmıştır.

DNA izolasyonu yapılırken, gerekli kimyasalların uygun miktarda kullanılmasını sağlamak için 1µL ve 1000 µL arasında pipetleme sağlayan mikropipetler (pipetman 10 µL'lik, 20 µL'lik, 100 µL'lik ve 1000 µL'lik) kullanılmıştır. Örneklerin uygun sıcaklıkta yeterli sürede kalması inkübatör (GFL-3031) kullanılarak sağlanmıştır.

Çalışma sırasında otoklavlanarak steril hale getirilmiş 2 µL'lik eppendorf tüpler kullanılmıştır. Gerekli kimyasallar eklenerek süpernatant ya da pellet oluşumunu sağlamak amacıyla santrifüj cihazı (Kubata-5500) kullanılmıştır.

Çizelge E.2.2. DNA izolasyon çözeltisi hazırlanışı

100 mL DNA izolasyon çözeltisinin hazırlanışı		
S.N.	Kimyasalın Adı	Kullanılan Miktar
1	200 mM Tris-HCl (pH 7,5)	20 mL
2	250 mM NaCl	5 mL
3	200 mM EDTA	5 mL
4	%5 SDS	25 mL
5	dH ₂ O	45 mL
Toplam=		100 mL

EK-3**PCR İçin Kullanılan Malzemeler**

10X Complate Buffer; Bioron 10X reaction buffer, dNTP; Fermentas 4x25 µmol dNTP set, Taq DNA polimeraz; Bioron Taq DNA polimeraz 500 units, konsantrasyon 5000 units/mL, primer; Bioneer kit AB2 and kit ABN Advanced Biosystem, England.

EK-4

Örneklerin Jele Yüklenmesi

Örnekleri yüklemek için Sigma, Agarose For Routine Use, 500gr kullanılmıştır. Tampon çözelti olarak 1X TAE çözeltisi kullanılmıştır. Jel hazırlanırken 2 µL Etidyum Bromid (sigma, 10mg/mL) eklenmiştir. Yeterince soğuyan sıvı agaroz uygun şekilde hazırlanmış elektroforez tepsinine dökülür ve donması beklenir. İlk kuyucuğa Bioneer, Acculadder 100 bp DNA size marker yüklenmiştir ve 6X LB ile karıştırılan örnekler yüklenmiştir. Elektroforez güç kaynağı (ATTO, AE-8450) çalıştırılmıştır ve yeterli ilerlemeden sonra görüntüleme işlemi için transilüminatöre (DNr Bio-Imaging Systems min Bis Pro) alınmıştır.

50X TAE Çözeltisi Hazırlanışı

Bu çözelti elektroforez tamponu olarak kullanılır. 242 g Tris base tartılır. Cam bir beherin içinde 500 mL dH₂O ile çözülür. Bu çözeltiliye 100 mL, 0,5 M EDTA (pH8) ve 57,1 mL glasiyal asetik asit eklenir. Beher manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir. Karışım tamamen çözüldükten sonra son hacim 1L'ye dH₂O ile tamamlanır. 1X'e seyreltilerek kullanılır.

Çizelge E.4.1. 50X TAE için gerekli kimyasalların miktarları

Hacim	1000 mL
Tris	242 g
0,5 M EDTA (pH8)	100 mL
Glasiyal asetik asit	51,7 mL
dH ₂ O	500 mL

Etidyum Bromidin Hazırlanışı (sigma) (10mg/mL)

DNA'nın UV ışığı altında görüntülenmesini sağlamak için agaroz jel çözeltinin içine eklenir. 100 g etidyum bromid, 100 mL dH₂O içinde çözünür. +4°C'ta siyah renkli veya üzeri alüminyum folyo ile kaplı bir şişede saklanır.

6X LB

DNA örneklerinin agaroz jel üzerinde hareketlerini gözlemek için örnekle karıştırılarak kullanılır. 50 mL'lik bir plastik tüpe 25 mL gliserol, 25 mL 1X TE konulduktan sonra tüpe çok az miktarda bromo fenol mavisi eklenir. Tüpün kapağı kapatılıp hafifçe çalkalanır. Bromofenol mavisinin homojen olarak dağılması sağlanır. (%50 gliserol/1X TE 1:1) +4°C'ta uzun süre saklanır.

EK-5

Çizelge E.5.1. Lokusların popülasyon düzeyinde frekansları

Lokus		Popülasyonlar									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ABN-02/9	0	0,975	0,975	0,775	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,949	0,949
	1	0,025	0,025	0,225						0,051	0,051
ABN-02/13	0	0,633	0,500	0,837	0,894	0,949	0,894	1,000	1,000	0,949	1,000
	1	0,368	0,500	0,163	0,106	0,051	0,106			0,051	
ABN-06/6	0	1,000	0,866	1,000	1,000	1,000	0,837	0,949	0,837	1,000	1,000
	1		0,134				0,163	0,051	0,163		
ABN-06/7	0	1,000	0,949	1,000	1,000	0,949	0,894	0,949	0,775	0,894	0,949
	1		0,051			0,051	0,106	0,051	0,225	0,106	0,051
ABN-06/8	0	0,975	0,975	0,949	1,000	0,775	0,949	0,894	0,894	0,949	0,894
	1	0,025	0,025	0,051		0,225	0,051	0,106	0,106	0,051	0,106
ABN-06/9	0	0,949	1,000	0,975	0,975	0,894	0,949	0,894	0,949	0,894	1,000
	1	0,051		0,025	0,025	0,106	0,051	0,106	0,051	0,106	
ABN-06/12	0	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,837	0,707	0,548	1,000	1,000
	1						0,163	0,293	0,452		
ABN-06/13	0	0,548	0,633	0,316	0,806	0,633	0,894	0,949	1,000	0,949	1,000
	1	0,452	0,368	0,684	0,194	0,368	0,106	0,051		0,051	
ABN-13/3	0	0,922	0,894	1,000	1,000	0,949	1,000	0,894	1,000	1,000	1,000
	1	0,078	0,106			0,051		0,106			
ABN-13/4	0	0,975	0,806	1,000	1,000	1,000	1,000	0,894	1,000	1,000	1,000
	1	0,025	0,194					0,106			
ABN-13/7	0	1,000	0,975	0,949	0,975	0,894	0,949	0,894	0,894	1,000	0,949
	1		0,025	0,051	0,025	0,106	0,051	0,106	0,106		0,051
ABN-13/8	0	1,000	0,949	0,866	1,000	0,775	0,894	0,949	0,894	0,707	0,548
	1		0,051	0,134		0,225	0,106	0,051	0,106	0,293	0,452
ABN-13/9	0	1,000	0,949	0,949	1,000	0,949	1,000	0,707	0,775	0,707	0,894
	1		0,051	0,051		0,051		0,293	0,225	0,293	0,106
ABN-13/12	0	1,000	0,949	1,000	1,000	0,894	0,949	0,775	0,837	1,000	1,000
	1		0,051			0,106	0,051	0,225	0,163		
ABN-13/13	0	0,316	0,316		0,671	0,949	0,775	0,949	1,000	0,775	0,707
	1	0,684	0,684	1,000	0,329	0,051	0,225	0,051		0,225	0,293
ABN-18/4	0	1,000	0,671	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	1		0,329								
ABN-18/8	0	1,000	1,000	0,975	0,894	1,000	0,894	1,000	0,949	0,837	0,894
	1			0,025	0,106		0,106		0,051	0,163	0,106

Lokus		Popülasyonlar									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	0	1,000	0,837	0,922	1,000	0,837	0,837	0,949	0,837	0,775	0,894
ABN-18/9	1		0,163	0,078		0,163	0,163	0,051	0,163	0,225	0,106
	0	1,000	1,000	1,000	1,000	0,949	1,000	0,548	0,707	0,949	0,949
ABN-18/10	1					0,051		0,452	0,293	0,051	0,051
	0	0,447	1,000	0,633	0,633	0,949	0,837	0,707	0,707	0,707	0,837
ABN-18/13	1	0,553		0,368	0,368	0,051	0,163	0,293	0,293	0,293	0,163
	0	1,000	0,837	0,866	0,975	0,949	0,775	0,894	0,949	0,894	0,775
AB2-01/7	1		0,163	0,134	0,025	0,051	0,225	0,106	0,051	0,106	0,225
	0	1,000	0,922	0,949	1,000	0,894	0,894	0,894	0,894	0,837	1,000
AB2-01/8	1		0,078	0,051		0,106	0,106	0,106	0,106	0,163	
	0	1,000	1,000	0,975	1,000	0,775	0,949	0,837	0,775	0,949	1,000
AB2-01/9	1			0,025		0,225	0,051	0,163	0,225	0,051	
	0	0,548	0,224	0,548	0,592	0,707	0,837	1,000	1,000	0,949	1,000
AB2-01/13	1	0,452	0,776	0,452	0,408	0,293	0,163			0,051	
	0	1,000	0,837	0,671	0,922	0,837	0,837	0,894	1,000	0,775	0,775
AB2-05/7	1		0,163	0,329	0,078	0,163	0,163	0,106		0,225	0,225
	0	1,000	1,000	1,000	1,000	0,949	0,894	0,949	0,837	0,894	0,949
AB2-05/8	1					0,051	0,106	0,051	0,163	0,106	0,051
	0	1,000	1,000	1,000	1,000	0,837	0,949	0,775	0,837	1,000	1,000
AB2-05/9	1					0,163	0,051	0,225	0,163		
	0	0,894	0,316	0,894	1,000	1,000	1,000	0,894	0,894	0,775	0,949
AB2-05/12	1	0,106	0,684	0,106				0,106	0,106	0,225	0,051
	0	0,806	1,000	0,447	0,447	0,837	0,775	0,949	1,000	1,000	1,000
AB2-05/13	1	0,194		0,553	0,553	0,163	0,225	0,051			
	0	1,000	0,775	0,975	1,000	0,707	0,837	0,707	0,775	0,775	0,837
AB2-09/7	1		0,225	0,025		0,293	0,163	0,293	0,225	0,225	0,163
	0	1,000	0,894	1,000	1,000	1,000	0,894	0,775	0,949	0,949	1,000
AB2-09/8	1		0,106					0,106	0,225	0,051	
	0	0,775	0,592	0,742	0,837	0,707	0,707	0,447	0,447	0,894	0,949
AB2-09/12	1	0,225	0,408	0,258	0,163	0,293	0,293	0,553	0,553	0,106	0,051
	0	0,806	0,975	0,806	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,775	0,949
AB2-09/13	1	0,194	0,025	0,194						0,225	0,051
	0	0,922	0,975	0,866	1,000	0,949	0,949	1,000	0,837	0,707	1,000
AB2-06/7	1	0,078	0,025	0,134		0,051	0,051		0,163	0,293	
	0	1,000	1,000	0,837	0,975	0,837	0,949	0,633	0,837	0,949	0,837
AB2-06/8	1			0,163	0,025	0,163	0,051	0,368	0,163	0,051	0,163
	0	1,000	1,000	0,949	1,000	0,707	1,000	0,894	0,837	0,949	1,000
AB2-06/9	1			0,051		0,293		0,106	0,163	0,051	
	0	1,000	0,316	1,000	0,592	0,894	0,837	0,837	1,000	0,837	0,894
AB2-06/12	1		0,684		0,408	0,106	0,163	0,163		0,163	0,106

Lokus		Popülasyonlar									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AB2-06/13	0	0,447	1,000		1,000	0,894	1,000	1,000	0,775	1,000	1,000
	1	0,553		1,000		0,106			0,225		
AB2-10/4	0	1,000	1,000	0,837	0,922	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,707
	1			0,163	0,078						0,293
AB2-10/6	0	0,975	0,975	0,975	0,837	1,000	0,949	1,000	0,949	0,707	0,949
	1	0,025	0,025	0,025	0,163		0,051		0,051	0,293	0,051
AB2-10/7	0	0,949	0,671	0,837	0,949	1,000	1,000	1,000	0,837	0,837	0,707
	1	0,051	0,329	0,163	0,051				0,163	0,163	0,293
AB2-10/8	0	1,000	0,894	0,975	1,000	0,707	0,949	1,000	0,894	1,000	1,000
	1		0,106	0,025		0,293	0,051		0,106		
AB2-10/12	0	1,000	0,387	0,633	0,447	0,775	0,949	0,949	0,837	0,707	1,000
	1		0,613	0,368	0,553	0,225	0,051	0,051	0,163	0,293	
AB2-10/13	0	0,447	0,975	0,922	0,975	1,000	0,894	0,949	0,894	0,949	1,000
	1	0,553	0,025	0,078	0,025		0,106	0,051	0,106	0,051	
AB2-20/4	0	1,000	1,000	0,922	0,922	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,707
	1			0,078	0,078						0,293
AB2-20/7	0	1,000	0,837	0,894	1,000	0,949	0,949	1,000	1,000	0,894	1,000
	1		0,163	0,106		0,051	0,051			0,106	
AB2-20/9	0	1,000	0,975	1,000	1,000	0,775	1,000	0,837	0,894	0,949	1,000
	1		0,025			0,225		0,163	0,106	0,051	
AB2-20/10	0	1,000	0,975	0,949	0,866	0,894	0,949	0,949	0,837	0,949	0,633
	1		0,025	0,051	0,134	0,106	0,051	0,051	0,163	0,051	0,368
AB2-20/11	0	1,000	1,000	0,742	0,866	0,949	0,775	0,894	0,894	0,949	0,633
	1			0,258	0,134	0,051	0,225	0,106	0,106	0,051	0,368
AB2-20/12	0	0,949	0,707	0,866	0,922	0,775	0,837	0,775	0,775	0,775	1,000
	1	0,051	0,293	0,134	0,078	0,225	0,163	0,225	0,225	0,225	
AB2-20/13	0	0,633	0,775	0,922	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	1	0,368	0,225	0,078							

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İstanbul, Bakırköy’de doğdu.

İlköğretim ve lise eğitimini İstanbul’da tamamladı. 2005 yılında Gazi Üniversitesi Çorum Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2009 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl Çorum Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. İyi derecede İngilizce bilmekte, yüksek lisans eğitimini Yrd. Doç. Dr. Özlem Özbek’in danışmanlığında devam ettirmektedir.

Eğitim

Derece Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans/Hitit Üniversitesi/ Biyoloji ABD	-
Lisans/Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2009
Lise/Yabancı Dil Ağırlıklı 50. Yıl İnsa Lisesi	2005

Betül GIDIK

Yayımlar

Determination of Genetic Variation in Commercial Varieties of Canola (*Brassica napus*) by RAPD Analysis, 2012, Özbek Ö., Gıdık B., İzmir, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, Poster sunumu.