

**T.C.**  
**BOZOK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**NOHUT ÇEŞİTLERİNDE SSR VARYASYONU VE  
GENETİK İLİŞKİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ash METİN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK**

**Yozgat 2012**



**T.C.**  
**BOZOK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**NOHUT ÇEŞİTLERİNDE SSR VARYASYONU VE  
GENETİK İLİŞKİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Aslı METİN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK**

**Bu çalışma, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
Tarafından I. F. E-2011/45 kodu ile desteklenmiştir.**

**Yozgat 2012**

T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı 7011030010 numaralı öğrencisi Aslı METİN'in hazırladığı "Nohut Çeşitlerinde SSR Varyasyonu ve Genetik İlişkilerin Değerlendirilmesi" başlıklı YÜKSEK LİSANS tezi ile ilgili TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 11.05.2012 günü saat 14:00'te yapılmış, tezin onayına OY ÇOKLUĞU ~~1-0-0~~ ~~BİRLİĞİYLE~~ karar verilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Dilek PANDIR



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Fahriye ERCAN



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 23.5/2012 tarih ve 5 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

23.5/2012  
  
Enstitü Müdürü  
Doç. Dr. Hidayet ÇETİN

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Nohutun Taksonomisi, Tipleri ve Morfolojik Özellikleri.....	3
2.2. Nohutun Ekonomik ve Besin Değeri .....	4
2.3. Moleküler Markırlar, Özellikleri ve Kullanımları .....	5
2.4. SSR Markırları, Özellikleri ve Kullanımları.....	6
2.5. SSR Markırlarının Geliştirilmesinde Kullanılan Stratejiler.....	8
<b>3. MATERYAL ve METOD</b> .....	<b>12</b>
3.1. Bitkisel Materyal .....	12
3.2. Gen Bankası Sekanslarından SSR taraması ve Primer Dizayını.....	13
3.3. Varyasyon Taramasında Kullanılan SSR Primer Setleri .....	14
3.4. DNA İzolasyonu.....	16
3.5. SSR-PCR.....	17
3.6. Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (Denatüre edici PAGE).....	18
3.6.1. Cam Plakaların Temizlenmesi .....	18
3.6.2. Poliakrilamid Jelin Hazırlanması .....	18
3.6.3. Poliakrilamid Jelin Dökülmesi.....	19

3.6.4. Örneklerin Jele Yüklenmesi ve Yürütme İşlemi.....	19
3.6.5. Gümüş Boyama.....	19
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi .....	20
<b>4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR.....</b>	<b>21</b>
4.1. SSR Analizi Sonuçları .....	21
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>38</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>44</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>51</b>

# NOHUT ÇEŞİTLERİNDE SSR VARYASYONU VE GENETİK İLİŞKİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Aslı METİN

Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
2012; Sayfa: 51

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK

## ÖZET

Çalışmada, gen bankası nohut sekanslarından dokuz yeni SSR primeri geliştirilmiş, Winter ve ark. (1999)'den seçilen 9 SSR markırıyla birlikte 21 SSR lokusunda allelik varyasyon ve genetik ilişkiler 3 desi hattı ve 28 tescilli Türk nohut çeşidinden oluşan bir aksesyon setinde değerlendirilmiştir. Primer çiftlerinden 3 tanesi hariç, diğerleri spesifik bir mikrosatellit lokusunu amplifiye etmiş, bunlarda toplam 172 allel gözlenmiş ve ortalama allel sayısı 8 olarak bulunmuştur. Çalışmada sadece üç heterozigot genotipin gözlenmesi, heterozigotinin çeşitlerde oldukça düşük olduğunu göstermektedir. Lokuslarda çeşit içi ve çeşitler arası allelik varyasyon yaygın olup varyete-spesifik bir allele rastlanmamıştır, çeşitlerin bir bölümünün birkaç lokusta monomorfik olduğu görülmüştür. SSR allel frekanslarıyla varyeteler arası olası tüm ikili kombinasyonlar için hesaplanan Nei'nin genetik mesafe katsayılarıyla çeşitlerin bir UPGMA dendrogramı oluşturulmuştur. Elde edilen grupta, varyetelerin münferit üniteler halinde ayrıldıkları, desi tip hatların bir dış grup halinde birlikte kümelendikleri görülmektedir. Sonuç olarak, gen bankası sekanslarından 9 yeni SSR markırının geliştirildiği çalışmada, yüksek polimorfizm seviyesi ön görülen SSR markır sistemiyle Türk nohut çeşitlerinde genetik varyasyon değerlendirilmiş, nispeten yüksek allelik varyasyon gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Nohut, SSR, DNA Varyasyonu, Klastır Analizi

# **ASSESSMENT OF GENETIC VARIATION AND RELATIONSHIPS IN A CHICKPEA VARIETY SET USING SSR MARKERS**

**Aslı METİN**

**Bozok University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master of Science Thesis  
2012; Page: 51**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK**

## **ABSTRACT**

In this study, nine new SSR markers were developed from gene bank chickpea sequences, together with an additional nine SSR markers selected from Winter et al. (1999), allelic variation and genetic relationships were evaluated at 21 SSR loci in an accession set consisting of three desi lines and 28 kabuli type registered Turkish chickpea varieties. Except for three, a specific microsatellite locus was amplified by the rest of the primer pairs, and a total of 172 alleles were detected with an average of 8 alleles per locus. As an indication of low levels of heterozygosity in varieties, only three heterozygotes were observed. Allelic variation within and among varieties was found to be common, and no variety specific allele was detected while some varieties were monomorphic at a few marker loci. Nei's standard genetic distance coefficients were computed from allele frequencies for all pair-wise combinations of varieties, and a UPGMA dendrogram was developed. Cluster analysis displayed all varieties as separate units in the dendrogram and grouped desi types together as an outer branch in the dendrogram. Besides the addition of 9 new SSR markers to chickpea marker collection, the study reports the successful survey of genetic variation with a highly polymorphic marker system and reveals a relatively high allelic variation in Turkish chickpea varieties.

**Key words:** Chickpea, SSR, DNA Variation, Cluster Analysis



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesi, alıőmanın yönlendirilmesi ve özet ve abstract yazımı için Danıőmanım Yrd. Do. Dr. Mehmet Ali SÜDÜPAK'a teőekkürlerimi sunarım.

Tezimde kullanmış olduğum bitkisel materyallerinin temininde yardımcı olan Sayın Tuğba BİÇER'e teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesinde maddi destek sağlayan Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teőekkürü bir bor bilirim.

Öğrenimim boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan nohut çeşitleri, tescil yılları ve ıslah eden kuruluşlar .....	12
Tablo 3.2: Yeni primerlerin dizaynında kullanılan parametreler.....	14
Tablo 3.3: SSR varyasyonu çalışılan lokuslar, sekansları ve diğer özellikleriyle birlikte amplifikasyonlarında kullanılan primer çiftleri.....	15
Tablo 4.1: Lokuslarda gözlenen ve beklenen homozigot ve heterozigot oranları ile ortalama heterozigot değerleri.....	31
Tablo 4.2: Lokuslarda gözlenen allel sayıları, efektif allel sayıları, PIC ve $F_{ST}$ değerleri .....	32
Tablo 4.3: Kabuli ve desi tip nohut çeşitlerinde lokuslarda gözlenen allel sayıları, efektif allel sayıları ve PIC değerleri.....	34

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1: Nohut çeşitlerinde CaBZK26 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite .....	22
Şekil 4.2: Nohut çeşitlerinde CaBZK27 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite .....	23
Şekil 4.3: CaBZK13 lokusunda tespit edilen monomorfizm .....	24
Şekil 4.4: CaBZK18 primeri ile tespit edilen allelik varyabilite (SSR allelleri).....	25
Şekil 4.5: Nohut çeşitlerinde CaBZK28 lokusunda tespit edilen SSR genotipleri ve allelik varyabilite .....	26
Şekil 4.6: Nohut çeşitlerinde GA26 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite .....	27
Şekil 4.7: Nohut çeşitlerinde GA26 lokusunda tespit edilen SSR genotipleri ve allelik varyabilite .....	28
Şekil 4.8: Nohut çeşitlerinde GA117 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite .....	29
Şekil 4.9: Nei'nin standart ( <i>D<sub>s</sub></i> ) genetik mesafe katsayısı kullanılarak elde edilen UPGMA dendogramı.....	34
Şekil 4.10: Nei'nin standart ( <i>D<sub>s</sub></i> ) genetik mesafe katsayısı kullanılarak elde edilen UPGMA dendogramı ( <i>unrooted</i> ) .....	35

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AFLP	: Amplifiye Edilmiş Fragment Uzunluk Polimorfizmi
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Amonyum Sülfat
AP-PCR	: Rastgele Primerli-PCR
APS	: Amonyum Per Sülfat
BAC	: Bakteri Yapay Kromozomu
BIBAC	: İkili Bakteri Yapay Kromozomu
BLASTn	: Temel Lokal Sekans Hizalama Tarama Aracı Nükleotit
CAPS	: Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromid
DAF	: DNA Amplifikasyon Parmak İzi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleosid Trifosfat
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
EST	: Ekprese Olan Sekans Etiketleri
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
GI No	: Gen Bank Aksesyon No
GSS	: Genomik Tarama Sekansı
ha	: Hektar

HCl	: Hidroklorik Asit
ICARDA	: Uluslararası Kurak Alanlar Tarımsal Araştırma Merkezi
ISSR	: Inter-SSR
kb	: Kilo Baz
kg	: Kilogram
L	: Litre
L.	: Linne
m	: Metre
M	: Molar
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum Karbonat
NCBI	: Uluslar Arası Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
ng	: Nanogram
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforez
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAMP	: Rasgele Çoğaltılmış Mikrosatellit Polimorfizmi
RAPD:	: Rasgele Amplifikasyonla Elde Edilmiş Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi

rpm	: Dakikadaki Dönüş Sayısı
SAMPL	: Selektif Amplifiye Edilmiş Mikrosatellit Polimorfik Lokus
SCAR	: Belirlenmiş ve Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
SNP	: Tek Nükleotit Polimorfizmi
spp	: Türleri
SRAP	: Diziye İlişkin Çoğaltılmış Polimorfizm
SSCP	: Tek Zincir Konformasyonel Polimorfizm
SSLP	: Basit Sekans Uzunluk Polimorfizmi
SSR	: Basit Dizi Tekrarı
STMS	: Sekansla Etiketlenmiş Mikrosatellit Bölgesi
STR	: Kısa Ardışık Tekrarlar
<i>Taq</i>	: <i>Thermus aquaticus</i>
TEMED	: N,N, N',N',-Tetramethylethylenediamine
T <sub>m</sub>	: Erime Sıcaklıkları
UPGMA	: Çift Grup Aritmetik Ortalama Metodu
v/v	: Hacim/Hacim
$\lambda$	: Lamda
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
$\mu\text{l}$	: Mikrolitre

## 1. GİRİŞ

Dünya genelinde üçüncü önemli kuru dane baklagil olan nohut, hem iyi bir protein kaynağı hem de azot fiksasyonu ile zirai alanların veriminin artırılmasına katkıda bulunan bir kültür bitkisidir. Önemi sadece iç pazarla sınırlı olmayan nohut, dış pazarda da ekonomik değere sahip olup, Türkiye, dünya genelinde önde gelen ihracatçılarından biridir; 2009 FAO istatistiklerine göre, Türkiye’de nohut ekimi yapılan 454928 ha. alanda 562564 ton nohut üretimi yapılarak, bunun 88507 tonu ihraç edilmiştir [1].

Buğday, nohut gibi önemli kültür bitkilerinin orijin ve çeşitlilik merkezi olan Türkiye’de, kültürü yapılan nohut varyetelerinde SSR markılarıyla genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi ve *Cicer* cinsi ile akraba cinslerde kullanılabilir yeni SSR markılarının geliştirilmesi tezin amacını oluşturmaktadır. Elde edilen sonuçlar, orijin ve çeşitlilik merkezi ve ilk kültürünün yapıldığı lokasyon olarak gösterilen Anadolu’da [2] kültürü yapılan tescilli çeşitlerde genetik varyasyonun ne kadar temsil edildiğinin belirlenmesini sağlayacaktır.

Aralarında allozim, RFLP, RAPD, ISSR, SSR ve AFLP’lerinde bulunduğu bir dizi moleküler markır yöntemiyle diğer ülkelerde kültürü yapılan nohut çeşitlerinde varyasyon ve genetik ilişkiler araştırılmış, tespit edilen gruplamalarla morfolojik ve diğer özellikler arasında paralelliklerin değerlendirildiği çalışmalar yapılmıştır [3-8].

Türkiye’de tescil ettirilen ilk nohut çeşitleri 1987’de serbest bırakılan Eser87 ve Canitez87 ile başlamakta ICARDA ile birlikte bağımsız ıslah hatlarının ve yeni çeşitlerin geliştirilip tescil edildiğini görmekteyiz. Türkiye’de yetişen tek ve çok yıllık *Cicer* türleri arasındaki genetik ilişkilerin ISSR, RAPD ve mikrosatellit markırlar [9-11] ile değerlendirildiği çalışmalar mevcut iken, çeşitler ve ıslah hatlarındaki genetik varyabilite ve ilişkileri ISSR, SSR, AFLP ve SAMPL gibi markırlarla değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

SSR markırlarıyla Türkiye’de geliştirilen ve Tarım Bakanlığı, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi tarafından tescil edilen 31 nohut çeşidi arasındaki genetik

varyasyon ve ilişkilerin 18 SSR primeriyle değerlendirilmesi ve *Cicer* cinsi ile akraba cinslerde kullanılabilir yeni SSR markırları geliştirilmesi, tez ile amalanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

Üç fitocoğrafik bölgenin (Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan) buluştuğu bir lokasyonda yer alan Türkiye bitki genetik çeşitliliği açısından dünyanın sayılı yerlerinden biridir ve Vavilov [12] tarafından tanımlanan iki orijin merkezi (Yakın Doğu ve Akdeniz) üzerinde bulunmaktadır. Bu zenginlik, buğday, arpa, nohut, mercimek gibi önemli kültür bitkilerinin ilk kültüre alındığı, zirai uygarlığın (~10.000 yıl önce) orijine olduğu kabul edilen bir yerde (fertil hilalin kuzey kenarında) bulunmasıyla daha da anlamlı hale gelmektedir [13]. Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi nohutun orijin merkezi ve kültüre alındığı ilk lokasyon olarak kabul edilmektedir [14].

### 2.1. Nohutun Taksonomisi, Tipleri ve Morfolojik Özellikleri

Nohut (*Cicer arietinum* L.) *Leguminosae* (baklagiller) familyasının *Ciceraceae* grubunda yer alan *Cicer* cinsine ait bir türdür [15]. *Cicer* genusunda 9'u tek yıllık, 35'i çok yıllık olmak üzere 44 tür bulunmaktadır ve bunlardan 11 tanesi Türkiye'de yayılış göstermektedir [13, 16]. Bunlar; *Cicer bijugum*, *C. anatolicum*, *C. echinospermum*, *C. judaicum*, *C. floribundum*, *C. isauricum*, *C. montbretii*, *C. reticulatum*, *C. pinnatifidum*, *C. arietinum* ve *C. incisum*'dur [13]. *Cicer reticulatum*, *C. bijugum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. arietinum* ve *C. judaicum* türleri tek yıllık iken, *C. anatolicum*, *C. floribundum*, *C. isauricum*, *C. montbretii* ve *C. incisum* türleri çok yıllıktır [17].

Morfolojik karakterler bakımından zengin çeşitliliğe sahip olan *Cicer* cinsinin Türkiye'de yayılış gösteren türleri deniz seviyesinden 4200 m yüksekliğe kadar yetişebilmektedir. 5-70 cm'ye kadar boylanabilen bu türlerin gövdeleri dik, yatık ya da yarı diktir. Yaprakları paripinnat ya da imparipinnattır. Koralla renkleri beyaz, açık mavi, mat sarı, mor ve pembe olabilen nohudun çiçeklenme zamanı mart, nisan, mayıs, haziran, temmuz, ağustos ve eylül olabilmektedir. Çapları 3-19 cm arasında değişen tohumları obovoid, yarı küresel ve deltoid (*Cicer echinospermum* türünde dikenli) dir [13, 18].

Kültürü yapılan nohudun 'Kabuli' ve 'Desi' olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Kabuli (macrosperma, İspanyol tipi nohut) tip nohutlar, iri olup genellikle koçbaşı şekilli, bej rengi, ince kabuklu tohumlar, yarı dallanmış gövde şekli, büyük yaprak ve yaprakçıklar ile beyaz çiçeklere sahipken, desi (microsperma) tip nohutlar küçük, koyu renkli, pürüzlü yüzeyli angular tip tohumlar, yarı dik ya da yarı dallanmış gövde şekli, küçük yaprak ve yaprakçıklar ile renkli çiçeklere sahiptir [11, 15, 19-21]. Yüksek ürün verimi ile karakterize edilen desi tip nohutlar [22], tuz, kuraklık ve soğuk gibi abiyotik faktörlere karşı dayanıklıdır [21, 22]. Gövdelerinde yoğun antosiyanin pigmentasyonu görülen desi tip nohutlar [15], kabuli tip nohutlardan daha fazla lif içeriğine sahiptir [20, 23, 24]. Kabuli tip nohutların çoğunlukla Güney Avrupa, Batı Asya ve Kuzey Afrika'da, desi tip nohutların ise Doğu Afrika ve Hindistan'da kültürü yapılmaktadır [11, 15, 19]. Türkiye'de Marmara ve Karadeniz bölgelerinin kıyı kesimleri hariç hemen her yerde kabuli tip nohut yetiştirilebilmektedir.

## **2.2. Nohutun Ekonomik ve Besin Değeri**

Nohut, insan ve hayvan besini olarak iyi bir protein, karbonhidrat, vitamin, mineral ve enerji kaynağıdır. Protein ile beslenme; enzim, antikor ve hormon sentezi ile doku onarımları ve yenilenmeleri için gerekli olan amino asitlerin vücuda alınması için gereklidir. Yetersiz beslenmenin görüldüğü fakir toplumlar ve vejeteryenler için nohut bu ihtiyacı karşılayabilecek önemli bir besin kaynağıdır. Buğdaydan 2-3 kat daha fazla protein içeriğine sahip olan nohutun desi tipinde bu oran %16,7-%30,6 arasında iken, kabuli tipinde %12,6-%29 arasındadır [25]. Histidin, lösin, izolösin, lizin, sistin, fenilalanin, treonin, arginin ve valin gibi amino asitler bakımından zengin olan nohut daneleri mineral (K, Mg, P, Mn, Fe, Ca, Zn, Cu, Mo, Cl, S, B) ve vitaminler (A, B, C, E, K, B<sub>6</sub>, niacin, pantothenic acid, tiamin, ribofilavin,) açısından da zengin bir içeriğe sahiptir [19, 25, 26]. Hipokolesteromik etkiye sahip olan nohut, normal gelişme, fizyolojik fonksiyonlar ve hücre onarımı için gerekli olan Omega-3 ve Omega-6 esansiyel yağ asitlerini de içermektedir. Desi tipine oranla daha iyi bir enerji kaynağı olarak görülen kabuli tip nohutlar %54-71 oranında karbonhidrat içermektedir [25].

Nohut önemli bir besin maddesi olmasının yanında atmosferik azotu simbiyoz yaptığı mikroorganizmalar (*Rhizobium spp.*) aracılığıyla fikse ederek zirai alanların veriminin artırılmasını sağlayan bir baklagildir [27]. Bir sezonda hektar başına 140 kg'ye kadar azotu toprağa bağlayabilen nohut azot ihtiyacının %80 kadarını bu yolla karşılayabilmektedir [28].

### **2.3. Moleküler Markırlar, Özellikleri ve Kullanımları**

Moleküler markırlar, tespitleri tekrar edilebilir olarak değişik metodlarla yapılabilen polimorfik DNA sekans veya kodlama bölgesi (lokuslar) lokasyonlarıdır. Moleküler markır teknikleri DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin saptanması esasına dayanır. İyi bir markır sisteminde bulunması gereken nitelikler; polimorfik, kolay, hızlı ve ekonomik tespit edilebilir olma, kodominant kalıtım gösterme, genom genelinde düzgün dağılım gösterme, az miktarda DNA veya diğer bir tespit molekülüyle değerlendirilebilir olma ve ön sekans bilgisi olmayan genomlara uygulanabilir olmak şeklinde tanımlanabilir [29, 30].

Polimorfizimin tespit edildiği moleküle göre moleküler markırlar DNA ve protein markırları olarak ikiye ayrılabilir. Yaygın olarak kullanılan protein markırları, enzim polimorfizimleri olan izozim/alozim varyasyonları olup elektroforetik seperasyonu takiben aktivite boyamasıyla tespit edilmektedir. Sıklıkla kullanılan diğer bir protein markır tipi de bitkilerde tohum depo proteinleridir, bunlar elektroforetik seperasyonu takiben protein boyamasıyla tespit edilmektedir. Kodominant kalıtıma, sahip olan protein markırlarının sayıları sınırlıdır [31].

Varyasyonun DNA düzeyinde değerlendirildiği markırlar olan DNA markırları, tespitlerinde kullanılan tekniğe göre hibridizasyon esaslı, PCR esaslı moleküler markırlar ve DNA sekans mukayeseleri şeklinde üç gruba ayrılabilirler [32].

PCR, tekniğinin geliştirilmesini takiben moleküler biyoloji teknikleri PCR esaslı hale gelmiştir ve birçok PCR esaslı moleküler markır tekniği geliştirilmiştir. PCR, ardışık döngüler halinde DNA sentez karışımını belirli süre segmentlerinde sıcaklık profilini denatürasyon (92-95 °C), primer bağlanması (35-65 °C) ve polimerizasyon (72-74 °C) sırasıyla değiştirerek, kalıp DNA duplekslerinin denatüre edilip üzerinde

oligonükleotit primerleri ve bir termostabil (Taq) DNA polimeraz ile DNA sentezinin gerçekleştirildiği bir *in vitro* DNA (segment) amplifikasyonu tekniğidir [33]. PCR esaslı markırlar; CAPS, SCAR, RAMP, SRAP, SSCP, ISSR, RAPD, RAPD'nin varyantları olan AP-PCR ve DAF, RFLP'nin güvenilirliği ile PCR'nin kolaylığını bir araya getiren AFLP ve spesifik primerlerin kullanıldığı mikrosatellitler (SSR, STR, SSLP)'dir [29].

Hibridizasyon esaslı bir markır olan RFLP markırları, restriksiyon endonükleazlarla DNA kesimiyle açığa çıkan fragmentlerin elektroforetik seperasyonla ya direk tespiti ya da kompleks genomlar durumunda Southern hibridizasyonu ile tespiti yapılan bir markır tekniğidir [34]. Tekrar edilebilir olarak kodominant kalımları takip edilebilen nispeten polimorfik markırlar olan RFLP markırları Southern hibridizasyonu ile tespitleri radyoaktif veya nonradyoaktif problemlerin kullanımıyla birlikte nispeten fazla teknik bilgi, donanım, harcama, zaman ve iş gücü gerektirmesi gibi bir dizi dezavantajlara sahiptir [29, 30, 35, 36].

Bir popülasyona ait bireylerin genom sekanslarındaki nükleotit varyasyonları olarak bilinen tek nükleotit polimorfizmi (SNP), sekans esaslı bir moleküler markır tekniğidir. Genomda bol bulunan ve yaygın dağılım gösteren tek nükleotit polimorfizmlerinin bireyler arasındaki dağılımları farklılık göstermektedir [29, 32]. Bu markır tipindeki varyasyonun kaynağı nokta mutasyonlarıdır [37].

#### **2.4. SSR Markırları, Özellikleri ve Kullanımları**

SSR'ler, ökaryot genomlarında bol miktarda bulunan ve genom boyunca rasgele dağılım gösteren 1-6 baz çiftinden oluşan kısa dizi tekrarlarıdır [38]. Genomda hem kodlama yapan hem de kodlama yapmayan bölgelerde bulunurlar [32, 39]. Oldukça polimorfik olan SSR markırları popülasyon genetiği çalışmaları, evrimsel ve genetik çalışmalar ile genom analizi, gen haritalaması ve markır bağımlı seleksiyonlar gibi temel araştırmalarda kullanılmaktadır [29, 40, 41]. SSR lokuslarında bol miktarda bulunan varyasyonun kaynağı mayoz bölünme sırasında meydana gelen replikasyon kayması ve eşit olmayan crossing-over gibi genetik mekanizmalardan dolayı tekrar sayısında meydana gelen değişimlerdir [29, 42, 43]. Bu tür varyasyonlar, hem restriksiyon kesimleri hem de tekrar motiflerinin prob olarak kullanıldığı jel-blot

hibridizasyonu ya da SSR lokusları yanındaki tek kopya dizilere bağlanan primerler ile gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu ile belirlenebilmektedir [36].

SSR markırlarının geliştirmesi nispeten zaman alıcı ve pahalı olmasına rağmen, hipervaryabil olmaları, genom boyunca bol ve yaygın dağılım göstermeleri, kodominant kalıtıma sahip olmaları, az miktarda DNA'ya gereksinim duymaları, tekrarlanabilirlikleri ve PCR yoluyla bireylerin hızlı bir şekilde genotiplendirilmesi gibi bazı özellikleri SSR'leri birçok çalışma için ideal marker sistemi yapmaktadır [29, 36, 40]. SSR'lerin diğer markır çeşitleriyle (RAPD, AFLP, ISSR, vb.) karşılaştırılması sonucu SSR markırlarının tür içi varyasyon tespit yetkinliğinin daha fazla olduğu ve tür içi varyasyon ve genetik çeşitliliği diğer markır sistemlerinden daha iyi belirleyebildiği ortaya çıkmıştır [44].

Kültür nohutunda genetik varyasyonun sınırlı olması [21, 24, 45], verimin artırılması ve varyete geliştirilmesi çalışmalarının yavaş ilerlemesine neden olmaktadır. Bir dizi biyotik ve abiyotik stres faktörü nohutun verimini dikkate değer oranda olumsuz etkilemektedir. *Cicer* aksesyonlarının biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklılık/toleranslarının değerlendirilmesi çalışmaları, bu stres faktörlerine karşı kullanılabilir genetik potansiyelin bulunduğunu göstermektedir [45, 46]. Bu tip çalışmaların bir parçası ve ön koşulu olarak, genetik varyabilitenin bu aksesyon setlerinde çalışılması, karakterize edilmesi gerekmektedir. Elde edilen bilgiler çerçevesinde oluşturulan çekirdek aksesyon setleri istenen nitelikler açısından kısa sürede ve ekonomik olarak taranıp sonuca ulaşılabilir. *Cicer* aksesyonlarının fazla sayıdaki koleksiyonları çaprazlama, karyotip analizi ve tohum depo protein elektroforezinden, moleküler markırlar ve DNA sekanslamasına kadar çok sayıda yöntemin uygulanması ile değerlendirilmektedir [45].

Farklı orijinlere sahip nohut aksesyonları arasındaki genetik farklılığın AFLP markır tekniği ile araştırıldığı çalışmada, 28 nohut aksesyonunun 8 AFLP primeri ile analizi sonucu %36,25'i polimorfik olan 288 band elde edildiği ve Afganistan, İnan ve Lübnan orijinli nohut aksesyonları arasındaki polimorfizmin diğerlerine oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir [47].

Mutasyon oranı dolayısıyla polimorfizm düzeyi hayvanlara göre bitkilerde daha yüksek olan mikrosatellit lokusları [40], geliştirildiklerinden bu yana ekonomik değere sahip olan birçok bitki türünün karakterizasyonunda ve genetik ilişkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [32]. Akkaya ve ark. (2003), ekmeklik kültür buğdaylarının genetik karakterizasyonu ve varyasyonunu 19 mikrosatellit markırıyla değerlendirdikleri çalışmada genotipler arasında yüksek polimorfizm olduğunu belirtmişlerdir [48].

Çeşitli bitki türleriyle yapılan çok sayıda genetik çalışma sonucu en güçlü markır tekniği olarak belirlenen mikrosatellitler [48], Cicer genusuna ait çalışmalarda da kullanılmıştır. Upadhyaya ve ark. (2008), nohudun kompozit koleksiyonunda SSR markırlarıyla genetik yapı, farklılık ve allelik zenginliğini inceledikleri çalışmada 2915 aksesyonun 48 SSR markırı ile analizi sonucu belirlenen 1683 allelin, 935'inin nadir, 720'sinin yaygın ve 28'inin oldukça sık görüldüğünü, grup spesifik alleler tespit edildiğini ve yabani *Cicer* aksesyonlarının kültür formlarından daha fazla heterozigotiye sahip olduğunu belirtmişlerdir [20].

Detaylı bir genetik haritası henüz oluşturulmamış nohutun, kültür formlarında varyasyonun sınırlı olduğu düşünüldüğünde var olan SSR markırı sayısının artırılmasının önemi açıktır [2, 20, 21, 45, 50]. Gaur ve ark (2011), bu güne kadar nohutta sadece 800 STMS markırı geliştirildiğini bunlardan sadece %30-40 kadarının polimorfik olmasının beklendiğini bildirmişlerdir [50].

## **2.5. SSR Markırlarının Geliştirilmesinde Kullanılan Stratejiler**

SSR markırlarının geliştirilmesinde, mikrosatellitlerin zenginleştirilmiş küçük insert'li genomik kütüphanelerden geliştirilmesi, DNA veri bankalarından SSR'lerin araştırılması, var olan SSR markırlarının türler ya da cinsler arasındaki transferi ve rasgele primerlerle mikrosatellitlerin taranması gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan yaygın olarak kullanılan yeni SSR'lerin kaynağı olan genomik kütüphanelerin kullanımındır. Bu yöntemde genomik kütüphanelerden mikrosatellit lokusu izolasyonu için seçici hibridizasyon ve primer ekstension zenginleştirme olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Mikrosatellit zenginleştirme esasına dayanan seçici hibridizasyon, farklı bitki türlerinden çok

sayıda mikrosatellit izolasyonu için kolay, güvenilir ve etkili bir yöntemdir. Seçici hibridizasyon uygulamasının ilk adımında sonication ya da endonükleaz kesimi ile oluşan fragmentler, dizisi bilinen bir sekansa, bir vektöre veya bir adaptöre ligasyonla bağlanmaktadır. Ligasyon basamağından sonra denatüre edilen DNA tekrar içeren proba hibridize edilmektedir. Hibridizasyon adımından sonra nonspesifik bağlanmaların ayrılması için tamponla birkaç kez yıkama yapılmakta ve proba bağlı DNA elüt edildikten sonra PCR amplifikasyonu yapılmaktadır. Amplifikasyon sonrasında sekanslanan dizilerde mikrosatellitler aranmakta ve bilgisayar programlarıyla ya da manuel olarak primer tasarlanmaktadır [32].

Genomik kütüphaneleri kullandıkları çalışmalarında Hüttel ve ark. (1999), nohutun küçük-insert genomik DNA kütüphanesini mikrosatellit spesifik oligonükleotit primerleri ile taradıklarını ve toplamda 121 pozitif kolon tespit ettiklerini, klonlardan 39'unu (TAA)<sub>5</sub> tekrarı ile, 26'sını (GA)<sub>8</sub> tekrarı ile, 18'ini (GT)<sub>8</sub> tekrarı ile, 27'sini (AT) bakımından zengin trinükleotid tekrarları ile ve 11'ini ise (GC) bakımından zengin trinükleotid tekrarları ile belirlediklerini, DNA sekansı belirlenen klonlardan 43'ünün mikrosatellit taşıdığını bildirmişlerdir. Bu bilgilerden hareketle, araştırmacılar toplamda 28 SSR primeri geliştirdiklerini ve bunlarla PCR amplifikasyonu gerçekleştirip gerçekleştirmediğini bir *Cicer reticulatum* ve dört *Cicer arietinum* genotipinde araştırdıklarını belirtmişlerdir. Çalışmada kullanılan 28 SSR primerinin ortalama 2-4 allele sahip olduğunu belirterek, en polimorfik SSR primerlerinin CaSTMS10 ve CaSTMS15 olduğunu ve sonuçta geliştirdikleri SSR primerlerinin *Cicer* cinsinde genetik ilişkilerin araştırılmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir [41].

Mikrosatellit kaynağı olarak genomik kütüphaneleri kullanan Winter ve ark. (1999), 137 yeni polimorfik SSR markırı geliştirdikleri çalışmalarında, ILC3279 aksesyonuna ait genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu oluşan DNA fragmentlerinin, agaroz jel elektroforezine tabi tutulduğunu, agaroz jelden elüsyonla geri kazanılan fragmentlerinin ligasyon işlemi takiben plazmidler aracılığıyla *Escherichia coli*'nin bir suşuna aktarıldığını ve klonlama işleminin gerçekleştirildiğini belirtmişlerdir. Sekanslanan klonlara özgü primerlerin ise ilgili bilgisayar yazılım programıyla tasarlandığını bildirmişlerdir [51].

BAC'ları SSR geliştirmek için mükemmel kaynak olarak gören Lightenzveig ve ark. (2005), nohutun nükleer DNA'sını kullanarak ortalama insert büyüklüğü 121 kb olan 14976 klon içeren BAC kütüphanesi ile ortalama insert büyüklüğü 145 kb olan BIBAC kütüphanesi oluşturduklarını, BAC kütüphanesini 8 sentetik oligonükleotit (GA)<sub>10</sub>, (GAA)<sub>7</sub>, (AT)<sub>10</sub>, (TAA)<sub>7</sub>, (CA)<sub>10</sub>, (CAA)<sub>7</sub>, (CCA)<sub>7</sub> ile taradıklarını ve seçtikleri pozitif klonları sekanslayıp bunlardan 233 yeni SSR markırını geliştirdiklerini belirtmişlerdir [52].

Geliştirdikleri 74 yeni mikrosatellit markırıyla nohuttaki tür içi genetik çeşitliliğı araştıran Sathy ve ark. (2006) ise çalışmalarını sonucunda iki aksiyon hariç diğerlerinin açık bir şekilde ayırt edebildiğini belirtmişlerdir [53].

Pandian ve ark. (2000), bezelye, mercimek, nohut ve burçak genotipleri arasındaki STMS markırılarının transferini araştırdıkları çalışmalarında, türler arasında STMS primerlerinin transfer potansiyelini bezelye için %53, nohut için %9 oranında bulduklarını ve bezelye STMS primerlerinin mercimeğe transfer oranını %60, burçağı %39 ve nohuta %62 olarak belirlediklerini, nohut STMS primerlerinin mercimeğe transfer oranını %5, bezelyeye %3 ve burçağı %18 olarak bulunduğunu belirtmişlerdir [54].

SSR markırını geliştirebilmek amacıyla mikrosatellitler bakımından zengin DNA kütüphanelerinin oluşturulması ve kullanılması yaygın olarak kullanılan bir metot olmasına rağmen [55] fazla zaman alan pahalı bir yöntemdir. Gen bankalarında sekansları bulunan bitki türleri için mikrosatellit kaynağı olarak DNA kütüphaneleri yerine söz konusu sekansların kullanılması daha az zaman ve işgücüne gereksinim duyan ekonomik bir yöntemdir. Gen bankalarından elde edilen sekanslardaki mikrosatellit lokuslarının karakterizasyonu ve bunları amplifiye eden primerlerin tasarımı bilgisayar programlarıyla (SSRIT, Blast, Primer 3, BathPrimer 3, Primer 0.5, WebSat) yapılabilir.

Gen bankası sekansları taranarak birçok türde yeni SSR markırıları geliştirilmiş halen geliştirilmektedir; pirinç, pamuk, bezelye, fasulye, mısır ve nohut bunlardan bazılarıdır [56-65]. Nohutta allelik varyabilite tespiti yapabilmek ve EST-SSR markırıları geliştirebilmek amacıyla NCBI veri tabanındaki nohut EST sekanslarını ve



cDNA kütüphanelerini kaynak olarak kullanan Choudhary ve ark. (2009), NCBI veri tabanından temin ettikleri 1309 EST sekansından 133 mikrosatellit, olgunlaşmamış 822 nohut tohumundan oluşturdukları cDNA kütüphanesinden ise 113 EST-SSRs karakterize ettiklerini belirtmişlerdir. Toplamda elde ettikleri 246 SSR motifinden 183 primer tasarladıklarını ve bunun 94'ünün nohut aksesyonlarında (Pusa 362 ve ICCV2) kullanılmadığını, 34'ünün ise ne amplifikasyon gerçekleştirdiğini ne de düzgün büyüklükte fragment oluşturduğunu, sonuç olarak 60 fonksiyonel EST-SSR markırı geliştirdiklerini ve bunlardan 49'unun tek alleli, kalan 11'in ise 2-4 alleli lokusları amplifiye ettiğini rapor etmektedirler [66].

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Bitkisel Materyal

Çalışmada 3'ü desi tip toplam 31 nohut çeşiti kullanılmıştır. Literatürden seçilen 9 SSR lokusunda her çeşitten beşer birey, yeni geliştirilen SSR markılarıyla her çeşitten birer birey çalışılmıştır (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan nohut çeşitleri, tescil yılları ve ıslah eden kuruluşlar

Çeşit Adı	Tescil Yılı	Islah Eden Kuruluş
1- Cantez87	1987	Anadolu Tar. Arş. Enst., Eskişehir
2- Yaşa05	2005	
3- Işık05	2005	
4- Hisar	2008	
5- Azkan	2009	
6- Kırmızı Nohut		
7- Eser87	1987	A.Ü. Zir. Fak. Ankara Tarla Bitkileri Arş. Enst., Ankara
8- Akçin91	1991	
9- Gökçe	1997	
10- Küsmen99	1999	
11- Uzunlu99	1999	
12- Er99	1999	
13- İzmir92	1992	Ege Tar. Arş. Enst., İzmir
14- Menemen92	1992	
15- Aydın92	1992	
16- Sarı98	1998	
17- Cevdetbey98	1998	
18- ILC195		
19- Damla89	1989	Karadeniz Tar. Arş. Enst., Samsun

20- Gülümser	2001	Karadeniz Tar. Arş. Enst., Samsun
21- Çağatay	2001	
22- Aziziye94	1994	Doğu Anadolu Tar. Arş. Enst., Erzurum
23- ILC482	1992	Güneydoğu Anadolu Tar. Arş. Enst., Diyarbakır
24- Diyar95	1995	
25- Desi		
26- İnci	2003	Çukurova Tar. Arş. Enst., Adana
27- TAEKsağel	2006	Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara
28- Aksu	2009	Maraş Tar. Arş. Enst., Kahramanmaraş
29- Yerel Desi		
30- Lynos Desi		
31- ILC4951		

### 3.2. Gen Bankası Sekanslarından SSR taraması ve Primer Dizaynı

Gen bankası sekanslarında SSR lokuslarının taranması ve seçilen lokusları amplifiye eden PCR primerlerin tasarımları web tabanlı Websat programıyla gerçekleştirilmiştir [67, 68]. Program DNA sekans dizisindeki 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 tekrar motifinden oluşan, bu tekrar motiflerinden minimum altı adet içeren sekans dizilerini bulup bunlardan seçilenlere Tablo 3.3'te verilen parametrelere uygun olan primerleri tasarlamaktadır. Bu amaçla PGD (Plant Genomic Database)'den [69] alınan *Cicer* cinsine ait toplam 50853 sekanstan oluşan GSS ile 40477 sekanstan oluşan EST sekansı taranmış ve 147 primer tasarlanabilir mikrosatellit lokusu seçilmiştir. Bunların buldukları sekansların GI numaraları, tekrar motifleri, primer sekans dizileri, Tm değerleri ve uzunlukları Ek 1'de verilmektedir. Tarama yapılırken sekans 150000 nükleotitten fazla olmaması koşuluyla Fasta formatında alınıp Websat programıyla içerisindeki tekrar motifleri bulunmuş ve bu tekrar motiflerinden istenilenlerine primer tasarlanmıştır. Programa yaptırılan primerler arasından 8 tanesi GSS'deki tekrar motifleri için oluşturulan primerler arasından seçilirken 1 tanesi EST'deki tekrar motifleri için oluşturulan primerler arasından seçilmiştir. Seçilen

lokusların daha önceden çalışılıp çalışılmadığının kontrolü NCBI'nın BLASTn [70] isimli sayfasında yapılmış ve daha önce çalışılmamış olanları Introgen biyoteknoloji firmasına 50 nmol ölçeğinde sentezlettirilmiştir.

**Tablo 3.2.** Yeni primerlerin dizaynında kullanılan parametreler

Özellikler	Minimum	Optimum	Maksimum
Primer Uzunluğu	18 bç	22 bç	27 bç
Tm Değeri	57 °C	60 °C	68 °C
Tm Değeri Farklılığı	-	-	1 °C
% GC	%40	-	%80
Kendi Üzerine Komplementerlik	-	-	4
3' Uç Komplementeritesi	-	-	2
3' Uç Stabilitesi	-	-	250
Poly-X	-	-	4
Ürün Büyüklüğü	100 bç		400 bç

### 3.3. Varyasyon Taramasında Kullanılan SSR Primer Setleri

Çalışmada 9 tanesi Winter ve ark. (1999)'den [51] seçilen, kalan 9'u ise gen bankası nohut sekans taramalarından elde ettiğimiz SSR primer setlerinden seçilen toplam 18 primer çifti kullanılmıştır (Tablo 3.2). Bu çalışmada karakterize edilen primer çiftlerinin isimlendirmeleri CaBZK11, CaBZK13, CaBZK15, CaBZK18, CaBZK25, CaBZK26, CaBZK27, CaBZK28 ve CaBZK29 şeklindedir.

**Tablo 3.3.** SSR varyasyonu çalışılan lokuslar, sekansları ve diğer özellikleriyle birlikte amplifikasyonlarında kullanılan primerler çiftleri

Lokus	SSR Motifi	İleri ve Geri Primerler (5'-3')	Tm	Uzunluk	NCBI GI
TA135	(TAA) <sub>17</sub>	TGGTTGGAAATTGATGTTTT	-	20	-
		GTGGTGTGAGCATAATTCAA	-	20	-
TA78	(TTA) <sub>30</sub>	CGGTAAATAAGTTTCCCTCC	-	20	-
		CATCGTGAATATTGAAGGGT	-	20	-
TA106	(TAA) <sub>26</sub>	CGGATGGACTCAACTTTATC	-	20	-
		TGTCTGCATGTTGATCTGTT	-	20	-
TA203	(TAA) <sub>43</sub>	ATAAAGGTTTGATCCCCATT	-	20	-
		TGTGCATTCAGATACATGCT	-	20	-
TA180	(TAA) <sub>30</sub>	CATCGTGAATATTGAAGGGT	-	20	-
		CGGTAAATAAGTTTCCCTCC	-	20	-
GA6	(GA) <sub>23</sub>	ATTTTCTCCGGTGTTCAC	-	20	-
		AAACGACAGAGAGTGGCGAT	-	20	-
GA16	(GA) <sub>22</sub>	CACCTCGTACCATGGTTTCTG	-	21	-
		TAAATTCATCCTCTCCGGC	-	20	-
GA26	(CT) <sub>28</sub>	GATGCTCAAGACATCTGCCA	-	20	-
		TCATACTCAACAAATTCATTTCCC	-	24	-
GA117	(GA) <sub>21</sub>	TTATGGGGGATAGCAAACGA	-	20	-
		TCATGGTCTTGGTCTGGCT	-	20	-
CaBZK11	(TAA) <sub>14</sub>	TCCACCAGTCATATCAAGCA	58	20	>GI 270237099
		CCGAGAAAGAGAAGAAAGTTGA	58	22	
CaBZK13	(TG) <sub>12</sub>	AGGAAGAAGAGAACTTGGTGGC	61	22	>GI 270237307
		AAATGACAATCACTCAGCTCCC	61	22	
CaBZK15	(TG) <sub>12</sub>	AGACCTCCCAAAGAATGACG	59	20	>GI 270237307
		CAATCACTCAGCTCCCCTTC	60	20	
CaBZK18	(AT) <sub>11</sub>	TAGAAGAAGGCTATGACCACCC	60	22	>GI 156969518
		AGACTCAAACGCGACAGATTTT	60	22	
CaBZK25	(CAA) <sub>6</sub>	ATAAAACCAAACCTCAACCACCG	60	22	>GI 169748067
		TATACCATCTACCCACCCAAG	60	22	
CaBZK26	(AG) <sub>32</sub>	TCTGGAATGTGAGCAACGTAGT	60	22	>GI 156969799
		GGTTTGATGTGTTCTTGGCTTT	60	22	
CaBZK27	(GA) <sub>37</sub>	CGAGTTGCTTCCTCGAATAGAA	61	22	>GI 146463808
		AACCACACGTCTTCGCAGTT	61	20	
CaBZK28	(TAA) <sub>43</sub>	GCATAAGATGGAACAACAACCA	60	22	>GI 146470631
		CGAAAGTGCTATTAAGTGTGACCA	61	24	
CaBZK29	(AT) <sub>49</sub>	AAGAAGAAATACAGGCAGCAGG	60	22	>GI 146490908
		TTGAGAAGTGAGGGATGTGATG	60	22	

### 3.4. DNA İzolasyonu

Laboratuvar ortamında yetiştirilen bitki örnekleri 20-25 günlük olduğunda genç yaprakları toplanarak DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon prosedürü:

- Bitki örneklerinden alınan genç yapraklar kurutma kağıtları arasında önceden 65 °C'ye ayarlanmış inkübatör içerisine konulup, yaklaşık olarak 2 saat kurumaya bırakılmıştır.
- Kuruyan yapraklar alüminyum folyo arasına alınarak porselen havan içerisinde toz haline gelinceye kadar ezilmiştir.
- Toz haline getirilen bitki örnekleri daha önceden etiketlenmiş 1,5 ml'lik Eppendorf tüplere alınarak üzerlerine kullanım öncesinde %1 (v/v)  $\beta$ -merkaptöetanol eklenmiş olan 2X CTAB DNA izolasyon tamponundan 750  $\mu$ l içinde süspansiyon haline getirilerek, 30-45 dakika 65°'de inkübe edilmiştir.
- İnkübatörden çıkarılan örneklerin üzerine 500'er  $\mu$ l kloroform izoamilalkol karışımı (24:1) eklenerek, 15 dakika süresince alt üst edilmiştir.
- Daha sonra tüpler santrifüj cihazına alınarak 10000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüje tabi tutulmuştur.
- Santrifügasyon sonrasında tüplerde oluşan süpernatant kısımları, diplerinde 1,5  $\mu$ l RNaz bulunan tüplere alınmış ve 37 °C'deki inkübatörde 30 dakika bekletilmiştir.
- 30 dakika sonunda tüplere 500'er  $\mu$ l kloroform eklenmiş ve 15 dakika süreyle alt üst edilmiştir.
- Süre tamamlandığında örnekler 10000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.
- Oluşan süpernatant kısmı steril tüplere alınarak üzerlerine 1/6 oranında izoamil alkol eklenmiş ve yavaş bir şekilde alt üst edilmiştir.
- İzoamil alkol eklenip yavaş bir şekilde alt üst edildikten sonra 3 dakika 3000 rpm'de santrifüj yapılmış ve pellet düşürülmeden izoamil alkol dökülmüştür.
- Daha sonra pellet gözükyorsa eğer pelletin düşmemesine özen gösterilerek 2 defa etil alkol yıkaması yapılmıştır.

- Son aşamada ise temiz bir zemin üzerine dizilen tüpler kurumaya bırakılmıştır.

İzole edilen DNA'lar 100 µl ultra saf su içerisinde çözülmüştür.

DNA örneklerinin konsantrasyonu 1 µg λ DNA (Hind III ile kesilmiş) ile birlikte %1'lik agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiş ve son konsantrasyonları 25 ng/µl olacak şekilde uygun seyreltmeler yapılarak PCR reaksiyonu için hazırlanmıştır.

### 3.5. SSR-PCR

SSR-PCR reaksiyon karışımları son hacimleri 15 µl olacak şekilde hazırlanmış olup, her bir reaksiyon karışımında bileşen konsantrasyonları; 75 mM Tris-HCl (pH 8,8, 25 °C), 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, %0,1 (v/v) Tween 20, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 µM dNTP karışımı, 25 ng ileri primer, 25 ng geri primer, 0,25 ünite *Taq* DNA polimeraz (Fermentas, MSI) ve ~20 ng genomik DNA şeklindedir.

Amplifikasyon ısıtmalı kapaklı Eppendorf Master Cycler Gradient (Hamburg, Germany) thermocyclerda gerçekleştirilmiştir. PCR siklusu parametreleri GA tekrarlarının amplifikasyonlarında; 94 °C'de 2 dakika denatürasyon ile başlamış bunu sadece GA tekrarlarını içeren lokusların amplifikasyonunda geçerli olan, 10 döngüden meydana gelen Touch-Down periyodu izlemiştir. Touch-Down periyodu 94 °C'de 20 saniye denatürasyon, 65-55 °C'de (her döngüde 1 °C azalması koşuluyla) 50 saniye bağlanma (annealing) ve 72 °C'de 50 saniye uzama basamağı içermektedir. Touch-Down periyodunun ardından 94 °C' de 30 saniye denatürasyon, 55 °C'de 50 saniye bağlanma ve 72 °C'de 50 saniye uzama basamaklarını içeren 25 döngü uygulanmıştır. Fragment uçlarının tamamlanmasını içeren final uzama basamağı 5 dakika süreyle 72 °C'de uygulanmıştır.

TA ve TAA tekrarlarını içeren lokusların amplifikasyonu Touch-Down periyodu içermemektedir. Bu lokusların amplifikasyonu GA tekrarlarından farklı olarak 55 °C'de 50 saniye bağlanma ve 60 °C'de 50 saniye uzama basamaklarını içermektedir.

SSR-PCR analizleri sonucunda elde edilen 15 µl'lik PCR ürününün 7 µl'si amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği ve amplifikasyon ürünleri arasında varyasyon olup olmadığının kontrolü amacıyla %3,5'lik SFR (Super Fine

Resolution) agaroz jelde yürütülmüştür. Bu amaçla 15 µl'lik PCR ürününün 7 µl'lik kısmı ~1,2 µl 6X boya eklenerek jele yüklenmiş ve 100 voltta 2 saat yürütülmüştür.

### **3.6. Poliakrilamid Jel Elektrofrez (Denatüre edici PAGE)**

Agaroz jel elektrofrez ile amplifikasyon ve varyabilite tespiti yapılan SSR ürünleri kalınlığı 0,35 mm olan poliakrilamid jelde yürütülerek allel ve genotiplerin tespiti gerçekleştirilmiştir. PAGE işlemi aşağıdaki basamakları içermektedir.

#### **3.6.1. Cam Plakaların Temizlenmesi**

İlk olarak deterjanla temizlenen camlar daha sonra önce distile su ile ardından ultra saf su ile yıkanıp, bir parça kağıt havlu yardımıyla kurulanmıştır. Bu esnada camlar üzerinde havlu parçacıklarının kalmamasına özen gösterilmiştir. Kurulama sonrasında camlar %96'lık etil alkol ile silinmiştir. Bu sırada tarak ve spacerlarda önce distile sonra ultra saf su ile yıkanıp kurulanmış ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Temizlenen cam plakalardan jeli dökeceğimiz cam plaka jel düzeneğine yerleştirilmiş ve yüzeyi jelin cam plakaya yapışmasını sağlayan 990 µl etil alkol, 10 µl glacial asetik asit ve 3 µl bind silane içeren kaplama solüsyonu ile kaplanmıştır. 5 dakika sonra kaplama solüsyonunun fazlası 2 ml etil alkol ile alınmıştır. Bu işlemden sonra hazır hale gelen cam plakanın kenarlarına spacerlar yerleştirilmiş ve üzerine daha önceden temizlenmiş ve silikonize edilmiş olan cam plaka kapatılmıştır.

#### **3.6.2. Poliakrilamid Jelin Hazırlanması**

Elektrofrez işlemi için %6'lık denatüre edici poliakrilamid jel kullanılmıştır. 7 M üre içeren %6 konsantrasyonunda poliakrilamid jel hazırlamak için 21 g üre bir miktar ultra saf su içerisinde karıştırılarak çözülmüş üzerine 5 ml 5X TBE (Tris borik asit EDTA) tamponu ile 7,5 ml akrilamid solüsyonu (19:1 oranında akrilamid, bisakrilamid içeren) eklenmiş ve son hacmi 50 ml'ye tamamlanmıştır. İçerisinde hiç üre taneciği kalmayınca kadar karıştırma işlemi devam ettirilmiştir. Karışım şeffaf bir görünüm kazandığında 600 µl %10'luk APS (0,1 g APS tartılarak üzeri ultra saf



su ile 1 µl'ye tamamlanmıştır) ve 20 µl TEMED eklenip karışması sağlandıktan sonra hızlı bir şekilde jel dökme işlemine geçilmiştir.

### **3.6.3. Poliakrilamid Jelin Dökülmesi**

Hazırlanan karışım hava kabarcığı oluşturulmadan dikkatli bir şekilde şırıngaya çekilerek zaman kaybedilmeden cam plakalar arasına dökülmüştür. Jelin üst kısmına jel tarağı yerleştirilmiş ve cam plakaların üst ve kenar kısımları jelin akmasını önlemek amacıyla kışkaçla tutturulmuştur. Bu işlemler sonrasında jel polimerize olması için 1 saat bekletilmiştir. Polimerizasyon gerçekleştikten sonra tarak çıkarılıp tarağın yeri 0,5X'lik TBE tamponu ile temizlenmiş ve dikey elektroforez sistemine yerleştirilmiştir. Elektroforez sisteminin alt ve üst haznesine 0,5X TBE tamponu konulmuştur. Jel sistemine bağlı olan güç kaynağı 50 Watt'a ayarlanmış ve jelin 45-50 °C sıcaklığa ulaşması beklenmiştir. Jel istenen sıcaklığa ulaştığında güç kaynağı durdurulup tarağın yerleştirileceği kısım şırınga yardımıyla temizlenmiş ve tarak yerleştirilerek örneklerin yükleneyeceği kuyucuklar oluşturulmuştur.

### **3.6.4. Örneklerin Jele Yüklenmesi ve Yürütme İşlemi**

7 µl'si agarozaya yüklenen SSR-PCR karışımının kalan 8 µl'lik kısmının üzerine 4 µl (2'ye 1 oranında) yükleme boyası eklenerek örnekler 0,4 µg λ PstI markırıyla birlikte 94 °C'de 3 dakika denatüre edilmiştir. Denatürasyonu takiben reaksiyonlar buz üzerine transfer edilip jele yüklenmiştir. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra güç kaynağı 50 Watt'a ayarlanarak örnekler ~2.45 saat yürütülmüştür.

### **3.6.5. Gümüş Boyama**

Elektroforetik seperasyon tamamlandıktan sonra SSR-PCR ürünlerinin varlığını tespit etmek ve gerekli değerlendirmeleri yapmak amacıyla gümüş boyama [71] yapılmıştır. Gümüş boyama aşamaları aşağıda verilmektedir.

- Elektroforez işleminin ardından plastik bir tepsiye alınan jel üzerine daha önceden hazırlanıp +4 °C'ye konulan fiksatif solüsyonu (%10'luk glasiyal asetik asit) dökülmüş ve 30 dakika boyunca yavaşça çalkalanmıştır.
- Daha sonra 1'er litre ultra saf su ile 2'şer dakikalık 3 yıkama yapılmıştır.

- Yıkama sonrasında başka bir tepsiye alınan jel üzerine jel boyama solüsyonu (2 g gümüş nitrat + 3 ml %37'lik formaldehit, 2 L ultra saf su içinde çözülür) dökülmüş ve jel bu solüsyonda 30 dakika hafif bir şekilde çalkalanmıştır.
- 30 dakikanın sonunda jel 1 L ultra saf su ile 5 saniyelik kısa bir yıkama işlemine tabi tutulmuştur.
- Daha sonra jel üzerine jelin yüzeyini örtecek kadar developer solüsyonu (45 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1,5 L ultra saf suda çözdürülüp, -20 °C'de soğumaya bırakılmış ve kullanmadan 10 dakika önce üzerine 2,25 ml Formaldehit ile 300 µl Sodyum Thiosülfate eklenmiştir) aktarılarak ilk bant görülene kadar çalkalanmış, ilk bant görüldükten sonra tepsindeki developer dökülmüş ve kalan developer jel üzerine aktarılmıştır.
- Bantlar görülmeye başlayınca bu solüsyon üzerine fiksatif eklenerek bantların daha iyi görünmesi ve kalıcı olması sağlanmıştır.
- Son olarak jel 2 kez ultra saf su ile yıkanıp kurumaya bırakılmıştır.
- Kuruyan jelin görüntüsü Kodak EDAS290LE jel dokümantasyon sistemi ile kayıt altına alınmıştır.

### 3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmamızda, 31 nohut çeşidinin 18 primer ile analizi sonucu elde edilen lokusların her birinde gözlenen band profilleri en koyu olan stadır bandı dikkate alınarak manüel ve kodominant olarak skorlanmıştır. Elde edilen kodominant data seti, Popgene [72] yazılım programında kullanılarak allel frekansları, her lokustaki allel sayısı, efektif allel sayısı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve PIC (Polimorfik İyormasyon İyeriği) gibi istatistiki değerler hesaplanmıştır (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Söz konusu hesaplamalar kabulü ve desi tip nohutlar için de yapılmıştır (Tablo 4.3). Popgene programıyla hesaplanan allel frekansları ile Nei'nin (1978) [73] Ds genetik mesafe katsayısı hesaplanmış, bunlarla gerçekleştirilen klastır analiziyle çeşitlerin bir UPGMA dendogramı oluşturulmuştur. Lokus başına düşen allel sayısı ise elde edilen toplam allel sayısının lokus sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

### 4.1. SSR Analizi Sonuçları

Çalışmada kullanılan 18 lokus spesifik SSR primer çiftinin tamamı tüm çeşitlerde beklenen fragment büyüklüğü civarında amplifikasyon ürünleri vermiştir. Lokus spesifik primer çiftlerinden 15 tanesi (CaBZK11, CaBZK13, CaBZK18, CaBZK26, CaBZK27, CaBZK28, GA6, GA16, GA26, GA117, TA180, TA78, TA106, TA203, TA135) tek lokus amplifiye ederken, kalan üçü (CaBZK15, CaBZK25 ve CaBZK29) ikişer lokus amplifiye etmiştir. 31 nohut çeşidinden örneklenen genotiplerde 18 primer çiftiyle 21 lokusta toplam 172 allel tespit edilmiş, lokus başına düşen allel sayısı ise 1-18 arasında değişiklik göstermiştir.

Çalışmada kullanılan yeni primer çiftleriyle 1-15 arasında değişen sayılarda allel tespit edilirken literatürden seçilmiş olanlarda bu sayı 2-18 arasında değişiklik göstermiştir.

**CaBZK15:** SSR-PCR ve poliakrilamid jel analizleri sonucunda CaBZK15 primerinin iki lokus amplifiye ettiği görülmüş, lokuslardan birinde 4 allel değerinde ise 1 tane allel tespit edilmiştir.

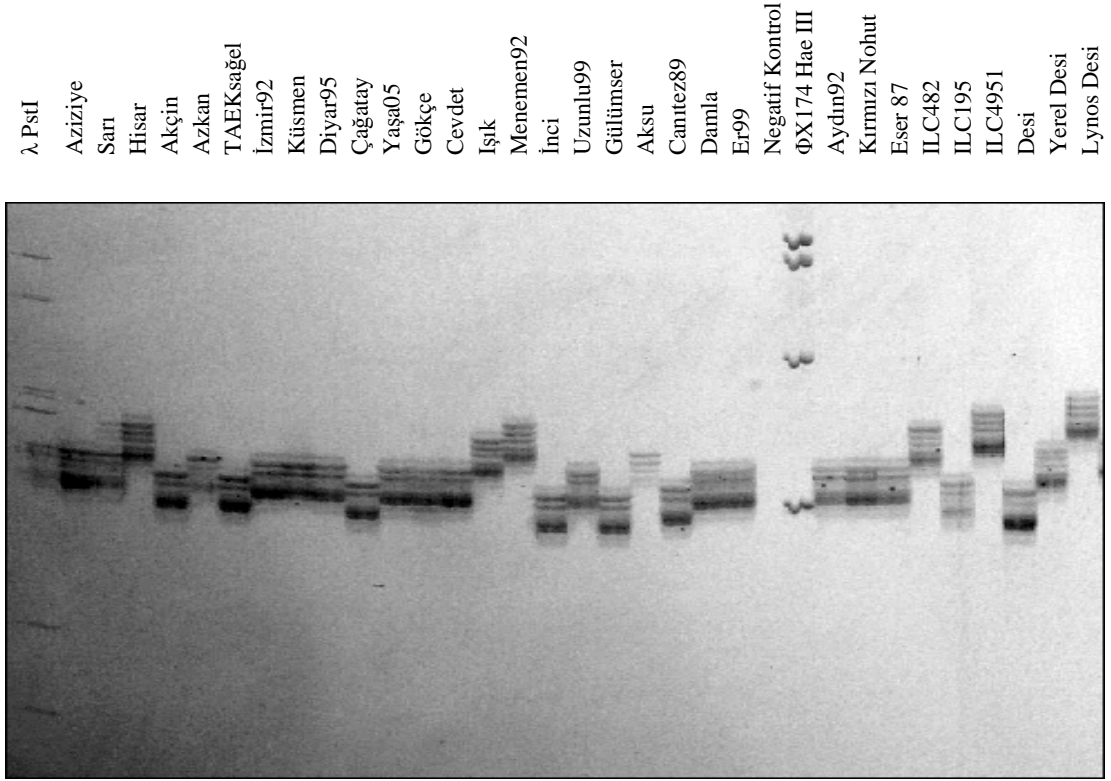
**CaBZK11:** (TAA)<sub>14</sub> tekrar motifini içeren SSR'lerin etrafındaki tek kopya dizilere tasarlanan CaBZK11 SSR primeri ile amplifikasyon gerçekleşmiş fakat polimorfizm görülmemiştir.

**TA180:** En fazla sayıda allel (18 allel) tüm nohut çeşitlerinden beşer bireyin tarandığı TA180 primeri ile tespit edilmiştir.

**CaBZK25:** İki lokus amplifiye eden SSR primerlerinden birisi olan CaBZK25'in SSR analizi sonucu amplifiye ettiği lokusların her ikisinde de 3 tane allel görülmüştür.

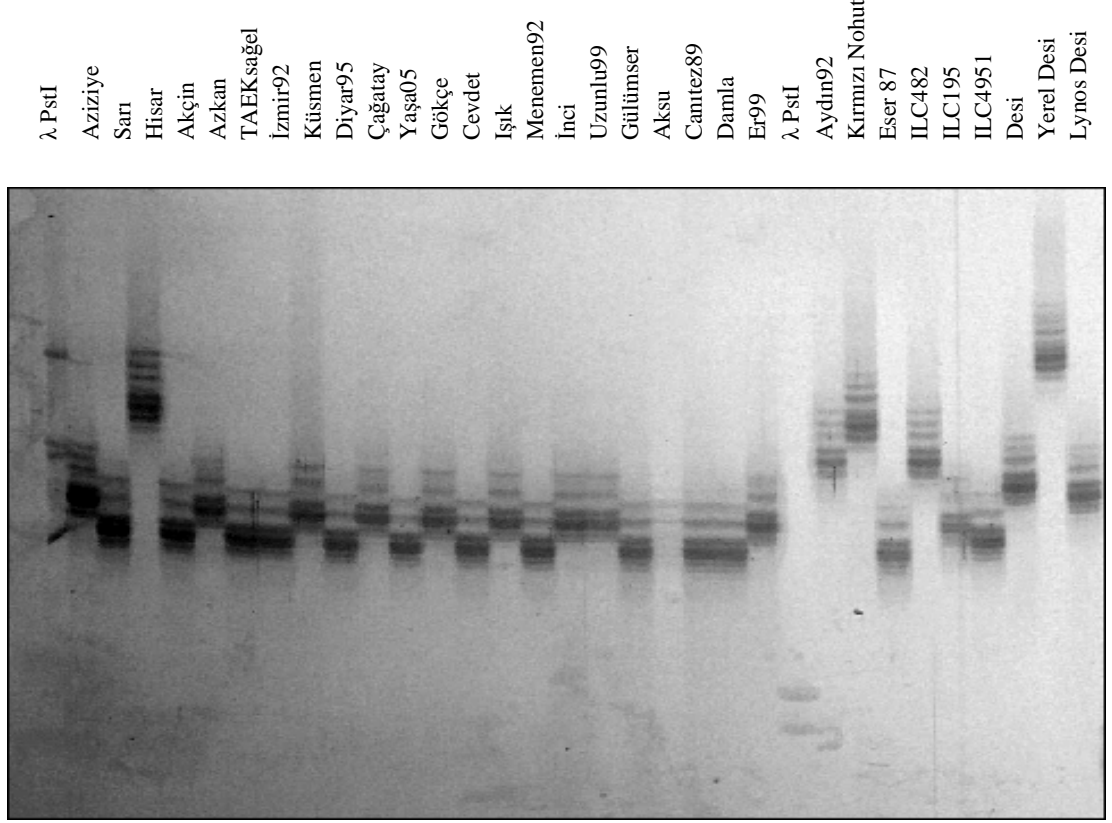
**CaBZK29:** İki lokus amplifiye eden primerlerden olan CaBZK29 ile lokusların birinde 8 allel değerinde ise bir heterozigot birey ile 4 allel tespit edilmiştir.

**CaBZK26:** (AG)<sub>n</sub> tekrarını içeren mikrosatellit dizisinin amplifikasyonunda kullanılan CaBZK26 primeri ile 9 tane allel tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



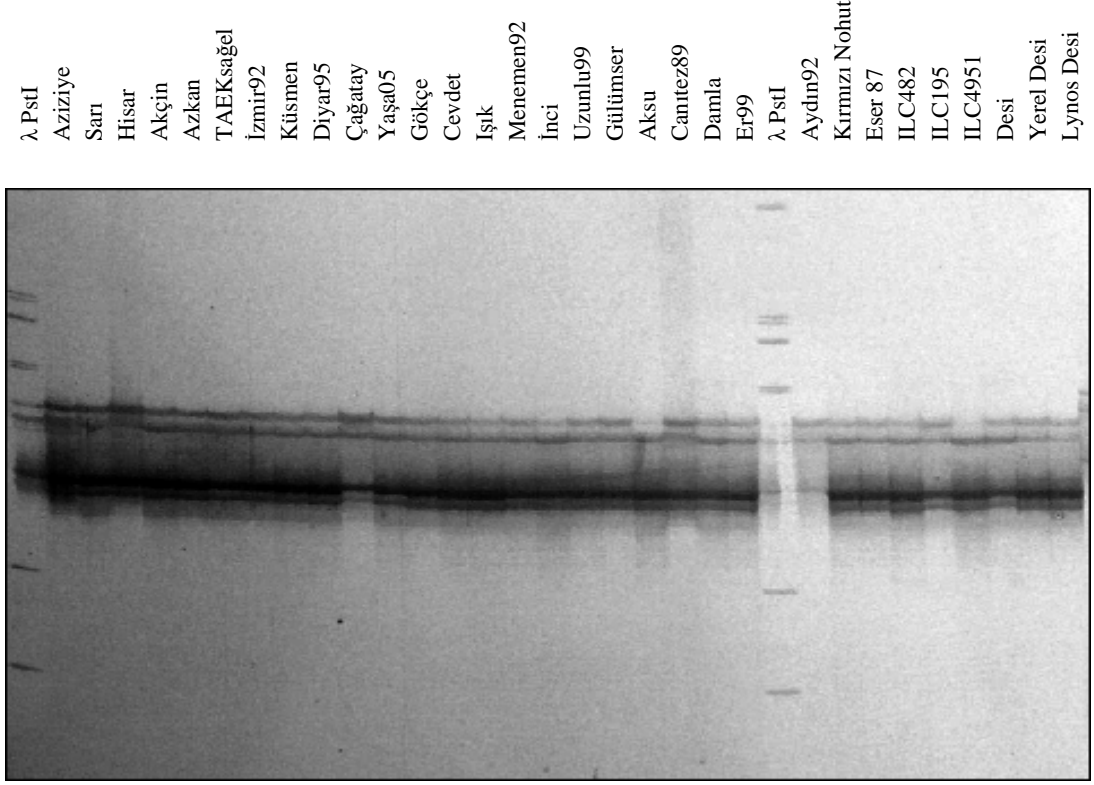
**Şekil 4.1.** Nohut çeşitlerinde CaBZK26 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite

**CaBZK27:** Amplifikasyonunda Touch-Down periyodunun uygulandığı (GA)<sub>n</sub> tekrarının etrafındaki tek kopya dizilere komplementer CaBZK27 primer çiftleriyle nohut çeşitlerinde 10 tane allel tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Nohut çeşitlerinde CaBZK27 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite

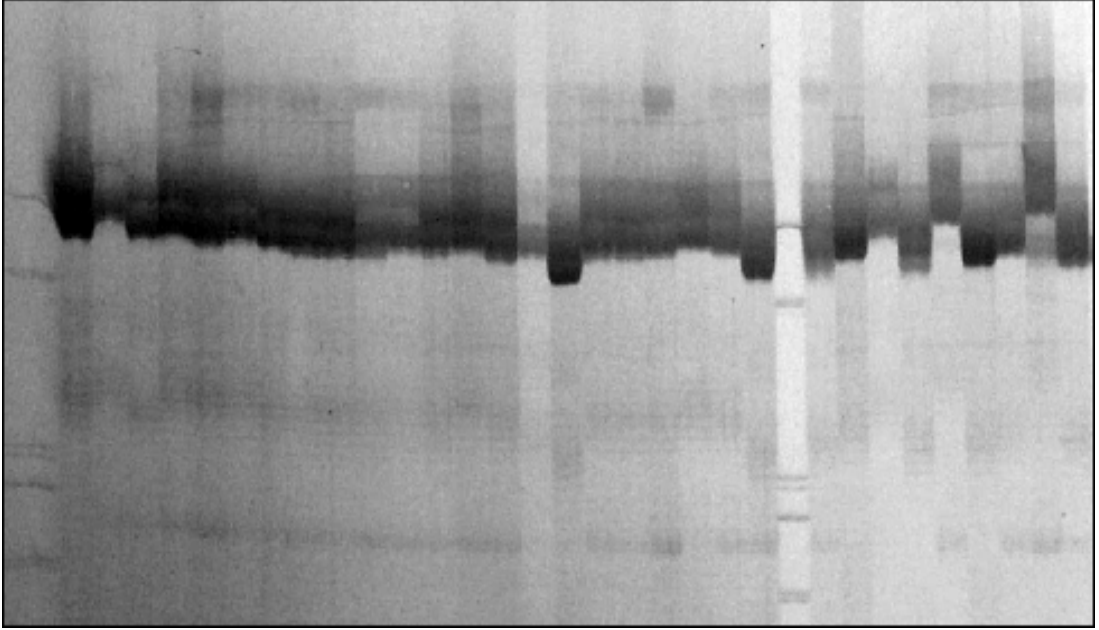
**CaBZK13:** CaBZK13 lokusunda amplifikasyon gerekleŖmiŖ, ancak tm eŖitlerin aynı allele sahip olduğu monomorfik bir band gzlenmiŖtir (Ŗekil 4.3).



**Ŗekil 4.3.** CaBZK13 lokusunda tespit edilen monomorfizm

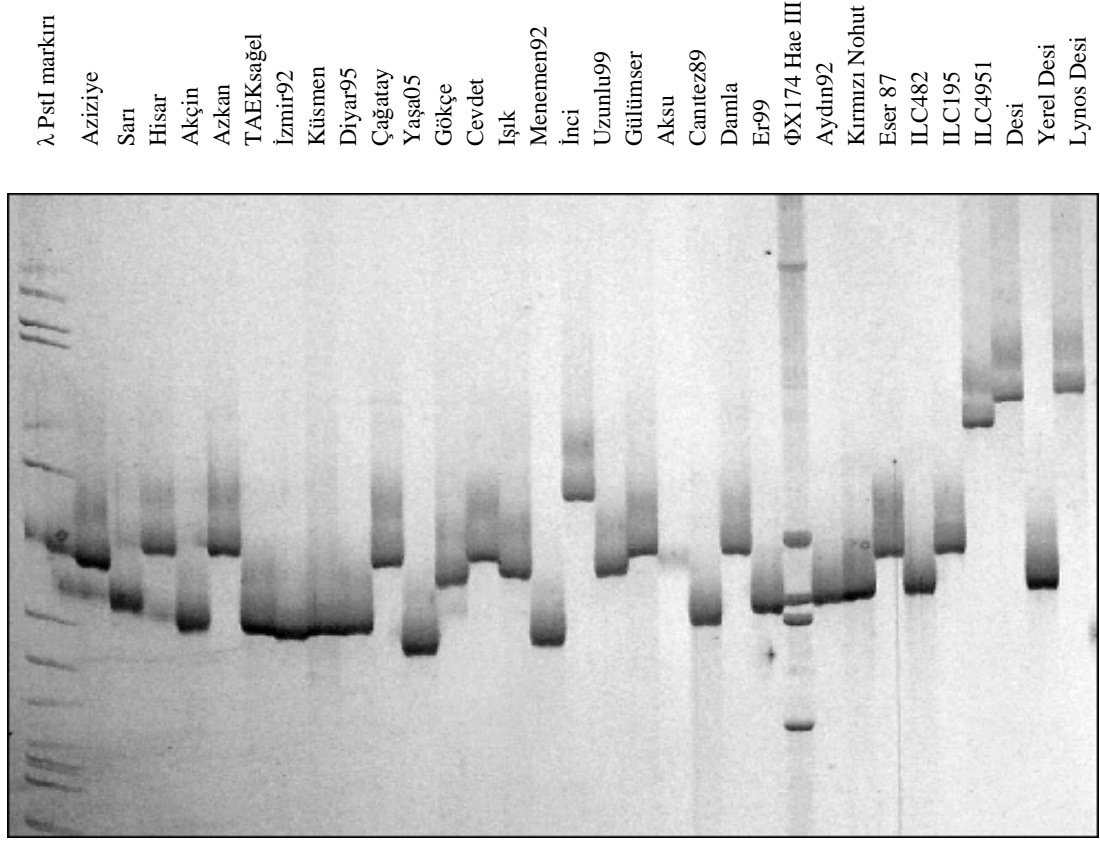
**CaBZK18:** CaBZK18 primeriyle 31 nohut çeşidinde yapılan SSR analizi sonucunda 10 tane allel tespit edilmiştir (Şekil 4.4).

λ PstI  
Aziziye  
Sarı  
Hisar  
Akçin  
Azkan  
TAEKsağel  
İzmir92  
Kisimen  
Diyar95  
Çağatay  
Yaşaa05  
Gökçe  
Cevdet  
Işık  
Menemen92  
İnci  
Uzunlu99  
Gülümser  
Aksu  
Canitez89  
Damla  
Er99  
λ PstI  
Aydın92  
Kırmızı Nohut  
Eser 87  
ILC482  
ILC195  
ILC4951  
Desi  
Yerel Desi  
Lynos Desi



**Şekil 4.4.** CaBZK18 primeri ile tespit edilen allelik varyabilite (SSR allelleri)

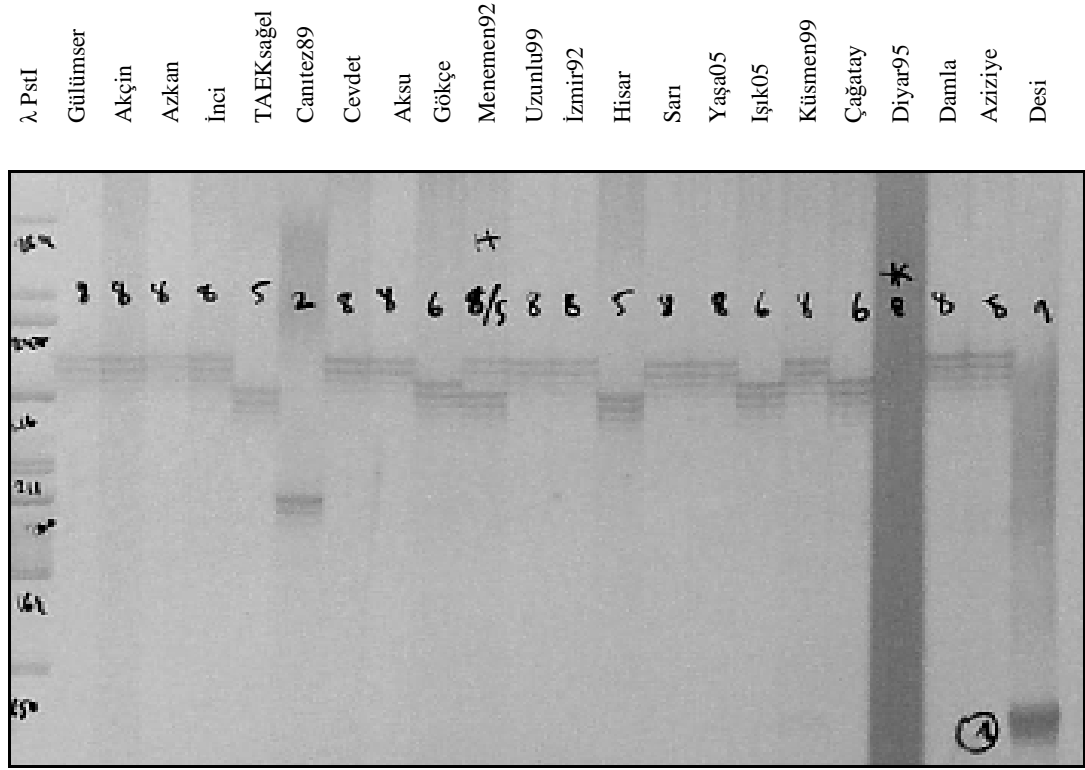
**CaBZK28:** Yeni geliştirilen SSR primerlerinden en çok allelin gözleendiği primer olan CABZK28 ile 15 allel tespit edilmiştir.



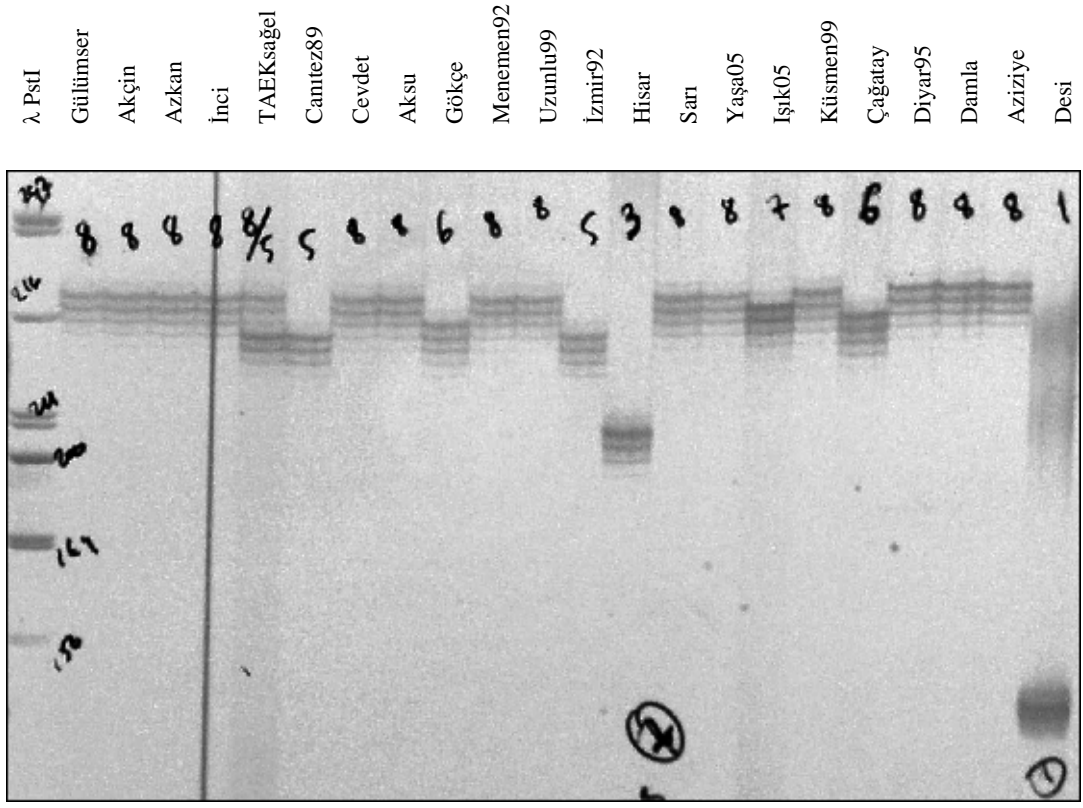
**Şekil 4.5.** Nohut çeşitlerinde CaBZK28 lokusunda tespit edilen SSR genotipleri ve allelik varyabilite



**GA26:** Üç heterozigot genotipten ikisi, GA26 lokusunda Menemen92 ve TAEKsağel varyetelerinde tespit edilmiştir. Bunlara ait jel resimleri Şekil 4.6 ve 4.7’de verilmektedir.

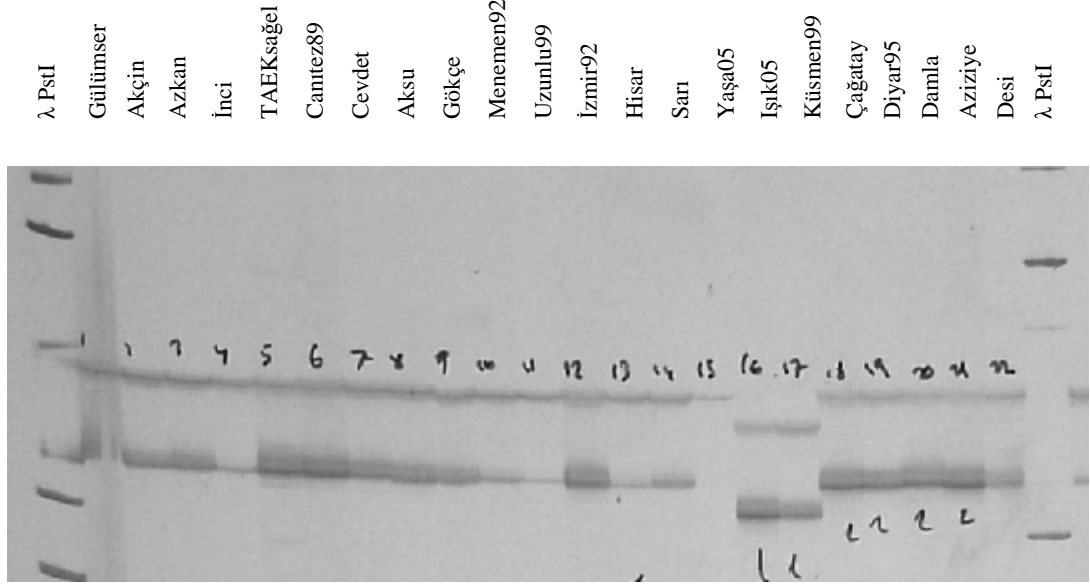


**Şekil 4.6.** Nohut çeşitlerinde GA26 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite



**Şekil 4.7.** Nohut çeşitlerinde GA26 lokusunda tespit edilen SSR genotipleri ve allelik varyabilite

**GA117:** Literatürden seçilen primerlerden en az sayıda allelin gözleendiği SSR lokusu.



**Şekil 4.8.** Nohut çeşitlerinin GA117 lokusunda tespit edilen genotipler ve allelik varyabilite

31 nohut çeşitinin 21 lokusla analizi sonucu lokuslardaki ortalama allel sayısı 8 olarak tespit edilmiştir. En fazla allel sayısı TA78 lokusunda görülürken en az allel sayısı CaBZK13 ve CABZK15/2 lokuslarında görülmüştür. SSR analizleri sonucu tespit edilen lokuslara tek tek bakıldığında 31 genotipte en fazla alleli TA78 lokusu vermiş bunu TA180 ve CaBZK28 15 allel, TA106 14 allel, TA203 12 allel, GA6 11 allel, CaBZK18 ve CaBZK27 10 allel, GA26 ve CaBZK26 9 allel, GA16, TA135 ve CaBZK29/2 8 allel, CaBZK11 7 allel, CaBZK29/1 ve CaBZK15/1 4 allel, CaBZK25/1 ve CaBZK25/2 3 allel, GA117 2 allel ve CaBZK13 ve CaBZK15/2 lokusları 1 allel ile izlemiştir.

18 primerle yapılan varyasyon analizi sonucu sadece üç heterozigot birey gözlenmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigot oranları her lokus için hesaplanmış olup ortalama değerleri sırasıyla 0,003 ve 0,655 olarak bulunmuştur. PIC değerleri ise 0 ile 0,9 arasında değişmekte olup ortalama değeri 0,65 olarak belirlenmiştir. Kabuli tip nohut çeşitlerinde ortalama PIC değeri 0,63 iken desi tip nohut çeşitlerinde bu değer 0,40 olarak bulunmuştur.

Genotiplere ait dendrogram, Popgene programıyla hesaplatılmış allel frekans tablosu kullanılarak FreeTree [74] isimli bilgisayar yazılım programı ile oluşturulmuştur. Kümeleme analizi için UPGMA yöntemi uygulanmıştır. Nohut genotiplerine ait dendrogramın iki değişik şekli Şekil 4.9 ve 4.10'da verilmektedir.

Dendrogram incelendiğinde desi ve kabuli tip nohut çeşitlerini birbirinden ayıran iki ana grup göze çarpmaktadır. Desi tip nohut çeşitlerinin oluşturduğu grupta, Lynos Desi ve Yerel Desi çeşitlerinin birlikte gruplandığı, Desi çeşidinin ise bunlara komşu olduğu görülmektedir. Diğer ana grubu iki alt gruba ayrılan kabuli tip nohut çeşitleri oluşturmaktadır. Alt gruplardan birincisini ILC4951, Kırmızı Nohut, Aydın92, Er99, Eser87, ILC195 ve ILC482 çeşitleri oluştururken ikincisini Hisar'ın da aralarında bulunduğu kalan çeşitler oluşturmaktadır. Birinci alt grupta yer alan ILC4951, Kırmızı Nohut, Aydın92, Er99, ILC195 ve Eser87 çeşitleri birlikte bir grup oluştururken ILC482 bunlardan ayrı bir grup oluşturmaktadır. Birinci alt grupta yer alan ILC195 ve Eser87 çeşitleri birlikte gruplanırken, bunlara en yakın komşu olan Er99 çeşidi ise Aydın92 ile birlikte gruplanmaktadır. Er99 ve Aydın92 çeşitlerine en yakın çeşitler de Kırmızı Nohut ve ILC495'tir.

Kabuli tip nohut çeşitlerinin oluşturduğu ikinci alt grup, Hisar çeşidinin tek başına oluşturduğu bir grupla Hisar dışındaki kabuli tip nohut çeşitlerinin oluşturduğu diğer bir gruptan meydana gelmektedir.

Hisar dışındaki kabuli tip nohut çeşitlerinin oluşturduğu ikinci alt grup birçok alt gruba ayrılmaktadır. Bu gruplarda Sarı98, Akçin91, TAEKsağel, Cevdetbey98, Menemen92, Damla89, Yaşa05, Küsmen99, Diyar95, İzmir92, Aziziye94, Azkan, Canitez87, Aksu, Gülümser, Işık05, Gökçe, Uzunlu99, Çağatay ve İnci çeşitlerinden oluşmaktadır.

**Tablo 4.1.** Lokuslarda gözlenen ve beklenen homozigot ve heterozigot oranları ile ortalama heterozigot değerleri

Lokus	Gözlenen Homozigotluk Oranı	Gözlenen Heterozigotluk Oranı	Beklenen Homozigotluk Oranı	Beklenen Heterozigotluk Oranı	Ortalama Heterozigot Oranı
TA180	1	0	0,127	0,873	0,439
TA106	1	0	0,109	0,8907	0,444
TA78	1	0	0,157	0,843	0,39
TA135	1	0	0,3	0,7	0,185
GA117	1	0	0,834	0,166	0
GA6	1	0	0,142	0,858	0,3
GA16	1	0	0,175	0,825	0,281
GA26	0,982	0,018	0,44	0,56	0,208
TA203	1	0	0,118	0,882	0,428
CaBZK11	1	0	0,181	0,819	0
CaBZK13	1	0	1	0	0
CaBZK15/1	1	0	0,395	0,605	0
CaBZK15/2	1	0	1	0	0
CaBZK18	1	0	0,16	0,84	0
CaBZK25/1	1	0	0,331	0,669	0
CaBZK25/2	1	0	0,522	0,478	0
CaBZK27	1	0	0,26	0,74	0
CaBZK29/1	0,967	0,033	0,457	0,543	0,016
CaBZK29/2	1	0	0,19	0,81	0
CaBZK28	1	0	0,082	0,918	0
CaBZK26	1	0	0,27	0,73	0
<b>Ortalama</b>	0,998	0,003	0,345	0,655	0,128

**Tablo 4.2.** Lokuslarda gözlenen allel sayıları, efektif allel sayıları, PIC ve  $F_{ST}$  değerleri

Lokus	SSR Motifi	Na	Ne	PIC	$F_{ST}$
GA6	(GA) <sub>23</sub>	11	6,9	0,85	0,51
GA16	(GA) <sub>22</sub>	8	5,6	0,82	0,52
GA26	(CT) <sub>28</sub>	9	2,2	0,56	0,48
GA117	(GA) <sub>21</sub>	2	1,2	0,17	1
TA180	(TAA) <sub>30</sub>	15	7,6	0,87	0,29
TA78	(TTA) <sub>30</sub>	18	6,2	0,84	0,35
TA106	(TAA) <sub>26</sub>	14	8,8	0,9	0,3
TA203	(TTA) <sub>43</sub>	12	8,2	0,9	0,31
TA135	(TAA) <sub>17</sub>	8	2,3	0,7	0,63
CaBZK11	(TAA) <sub>14</sub>	7	5,1	0,81	1
CaBZK13	(TG) <sub>12</sub>	1	1	0	0
CaBZK15/1	(TG) <sub>12</sub>	4	2,5	0,6	1
CaBZK15/2	(TG) <sub>12</sub>	1	1	0	0
CaBZK18	(AT) <sub>11</sub>	10	5,8	0,83	1
CaBZK25/1	(CAA) <sub>6</sub>	3	2,9	0,66	1
CaBZK25/2	(CAA) <sub>6</sub>	3	1,9	0,47	1
CaBZK27	(GA) <sub>37</sub>	10	3,7	0,73	1
CaBZK29/1	(AT) <sub>49</sub>	4	2,1	0,53	0,97
CaBZK29/2	(AT) <sub>49</sub>	8	4,9	0,8	1
CaBZK28	(TAA) <sub>43</sub>	15	10,3	0,9	1
CaBZK26	(AG) <sub>32</sub>	9	3,5	0,72	1
<b>Ortalama</b>		8,2	4,5	0,65	0,82

PIC: Polimorfik İnformasyon İçeriği [34]  $PIC=1-\sum(p_{ij})^2$

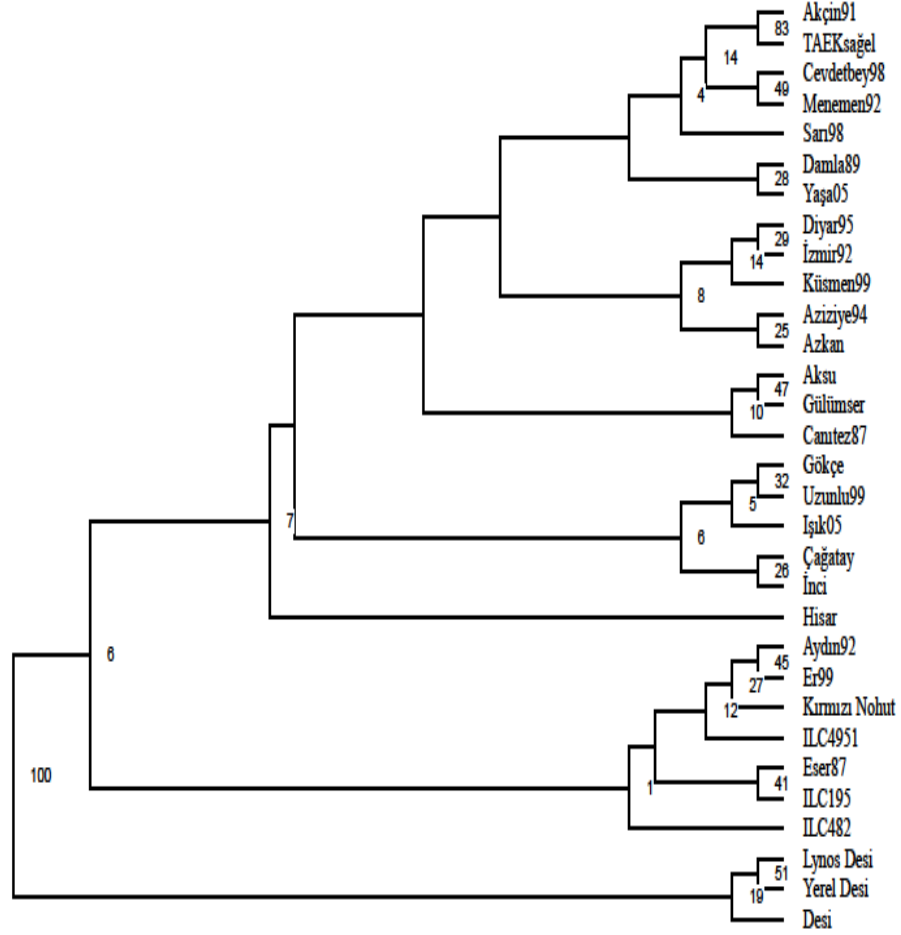
Na: Gözlenen allel sayısı

Ne: Efektif allel sayısı

$F_{ST}$ : Fiksasyon indeksi

**Tablo 4.3.** Kabuli ve desi tip nohut çeşitlerinde lokuslarda gözlenen allel sayıları, efektif allel sayıları ve PIC değerleri

Kabuli Tip Nohut Çeşitleri			Desi Tip Nohut Hatları			
Lokus	Gözlenen Allel Sayısı	Efektif Allel Sayısı	PIC	Gözlenen Allel Sayısı	Efektif Allel Sayısı	PIC
TA180	14	7,05	0,86	4	3,57	0,72
TA106	14	9,24	0,89	3	2,78	0,64
TA78	14	5,89	0,83	5	5	0,8
TA135	6	3,05	0,67	3	2,78	0,64
GA117	2	1,21	0,17	1	1	0
GA6	11	6,74	0,85	2	1,6	0,375
GA16	8	5,59	0,82	1	1	0
GA26	8	2,07	0,52	1	1	0
TA203	10	7,68	0,87	5	5	0,8
CaBZK11	7	4,78	0,79	2	1,8	0,44
CaBZK13	1	1	0	1	1	0
CaBZK15/1	4	2,13	0,53	1	1	0
CaBZK15/2	1	1	0	1	1	0
CaBZK18	9	5,16	0,81	3	3	0,67
CaBZK25/1	3	2,98	0,66	2	1,8	0,44
CaBZK25/2	3	2	0,5	1	1	0
CaBZK27	7	3,04	0,67	3	3	0,67
CaBZK29/1	3	1,83	0,45	2	1,8	0,44
CaBZK29/2	7	4,22	0,76	2	1,8	0,44
CaBZK28	13	8,91	0,89	3	3	0,67
CaBZK26	7	2,97	0,66	3	3	0,67
<b>Ortalama</b>	7,24	4,22	0,63	2,33	2,24	0,40



**Şekil 4.9.** Nei'nin standart ( $D_s$ ) genetik mesafe katsayısı kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı





## TARTIŞMA

18 primer çifti ile 21 mikrosatellit lokusunda yapılan SSR varyasyonu çalışmasında, primer çiftlerinden 3 tanesi (CaBZK15, CaBZK25 ve CaBZK29) iki lokus amplifiye ederken 15 tanesi tek lokus amplifiye etmiştir. Bazı aksesyonların birkaç lokusta monomorfik olmasına rağmen varyeteler arasında allelik varyasyon oldukça yaygındır. Çalışmamızda sadece CaBZK29/1 lokusundaki Aziziye94 çeşidi ile GA26 lokusundaki Menemen92 ve TAEKsağel çeşitlerinde heterozigotiye rastlanmış, diğer lokuslarda böyle bir durum gözlenmemiştir.

Toplamda 172 allelin gözlemlendiği bu çalışmada lokus başına düşen allel sayısı 1 ila 18 arasında değişiklik göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen TA135, TA78 ve TA106 mikrosatellit lokuslarına ait allel sayıları ve PIC değerleri Castro ve ark. (2010)'nin [24] çalışmalarında elde ettikleri değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Lokus başına düşen ortalama allel sayısı (8,2), Khan ve ark. (2010) [75] ile Castro ve ark. (2001)'nin [24] yapmış oldukları çalışmalarda belirttikleri değerler (7,3 ve 10,3) arasında, Sethy ve ark. (2006) [53] tarafından İspanyol nohut varyete setindeki tür içi genetik çeşitliliğin araştırıldığı çalışmada belirtilen değerden (6,36) yüksek; farklı kıta, ülke ve bölge orijinli çok sayıda örneğin genetik farklılığının araştırıldığı Upadhyaya ve ark. (2008)'nin [20] çalışmalarında belirtilen değerden ise düşük bulunmuştur.

1 ve 10,3 arasında değişen efektif allel sayılarının ( $N_e$ ) ortalama 4,5 değeri ile Khan ve ark.'nin [75] çalışmalarında belirttikleri değerden (3,7) yüksek olduğu saptanmıştır.  $F_{ST}$  değerleri 0 ila 1 arasında değişmiş ve ortalama 0,82 değerini almıştır.

Varyeteler arasındaki polimorfik lokus yüzdesi %90,5 olarak bulunmuş, her bir SSR lokusundaki polimorfizm miktarının belirlenebilmesi için PIC değerleri hesaplanmıştır. PIC değerleri 0 ila 0,9 arasında değişen değerler almış en düşük PIC değerini (0) 1 allelle CaBZK11 ve CaBZK13 lokusları vermiştir. Çalışmamızda elde edilen ortalama PIC değeri (0,65), Khan ve ark. (2010)'nin [75] çalışmalarında belirttikleri ortalama PIC değerine (0,64) oldukça yakın bulunurken, Upadhyaya ve

ark. (2008)'nin [20] çalışmalarında belirttikleri değerden bir hayli düşük bulunmuştur.

Kabuli ve desi tip nohutlar ortalama allel sayısı ve PIC değerleri (Tablo 4.3) bakımından karşılaştırıldığında kabuli tip nohutların (ortalama allel sayısı 7,24, PIC değeri 4,22) desi tip nohutlardan (ortalama allel sayısı 2,33, PIC değeri 0,40) daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Çalışmamızda kabuli tip nohutlar için elde edilen lokus başına düşen ortalama allel sayısı (7,24), efektif allel sayısı (4,22) ve ortalama PIC değerleri (0,40) Khan ve ark. (2010) [75] tarafından yapılan çalışmada elde edilen değerlerden yüksek bulunurken, desi tip nohutlar için hesaplanan lokus başına düşen ortalama allel sayısı (2,33), efektif allel sayısı (2,23) ve ortalama PIC değerleri (0,40) söz konusu çalışmada belirtilen değerlerden düşük bulunmuştur.

Çeşitler arasındaki genetik farklılıklar Nei (1978)'nin [73] Ds genetik mesafe katsayısı kullanılarak belirlenmiş ve UPGMA metoduna göre dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.1 ve 4.2). Dendrogram incelendiğinde SSR analizleri sonucunda 31 nohut çeşidinin tamamının birbirinden ayrıldığı görülmüştür. Çalışmamızda Banerjee ve ark. (1999)'nin [21] RAPD ve RFLP moleküler markır tekniklerini kullanarak nohut aksesyonlarındaki genetik farklılıkları belirlemeye yönelik çalışmalarının aksine Khan ve ark. (2010)'nin [75] çalışmalarında olduğu gibi desi ve kabuli tip nohut çeşitleri birbirinden ayrılmıştır.

Sonuç olarak, nohut ve yakın akraba türlerde kullanılabilir 9 yeni polimorfik SSR markırı gen bankası nohut sekanslarından geliştirilmiş, bunlarla birlikte literatürden seçilen 9 SSR markırı kullanılarak mevcut nohut çeşitlerinin örneklerinde SSR varyasyonu ve genetik ilişkiler değerlendirilmiş ve nispeten yüksek bir allelik varyabilite gözlenmiş olup söz konusu sekansların kullanılmasının kolay, ekonomik ve kullanışlı olduğu sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agricultural Organization, FAO) veri tabanı, <http://www.fao.org/http://faostat.fao.org/site/>
2. Ladizinsky, G. ve Adler, A., The Origin of Chickpea *Cicer arietinum* L., *Euphytica*, 25, 211-217, 1976.
3. Tayyar, R. I. ve Waines, J. G., Genetic Relationships Among Annual Species of *Cicer* (*Fabaceae*) Using Isozyme Variation, *Theor. Appl. Genet.*, 92, 245-254, 1996.
4. Sant, V. J., Patankar, A. G., Sarole, N. D., Mhase, L. B., Sainani, M. N., Deshmukh, R. B., Ranjekar, P. K. ve Gupta, V. S., Potential of DNA Markers in Detecting Divergence and in Analyzing Heterosis in Indian Elite Chickpea Cultivars, *Theor. Appl. Genet.*, 98, 1217-1225, 1999.
5. Chowdhury, M. A., Vandenberg, B. ve Warkentin, T., Cultivar Identification and Genetic Relationships Among Selected Breeding Lines and Cultivars in Chickpea (*C. arietinum* L.), *Euphytica*, 127, 317-325, 2002.
6. Iruela, M., Rubio, J., Cubero, J. I., Gil, J. ve Milan, T., Phylogenetic Analysis in the Genus *Cicer* and Cultivated Chickpea Using RAPD and ISSR Markers, *Theor Appl Genet*, 104, 643–651, 2002.
7. Tar'an, B., Warkentin, T., Tullu, A. ve Vandenberg, A., Genetic Relationships Among Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes Based on the SSRs at the Quantitative Trait Loci for Resistance to Ascochyta Blight, *Err J Plant Pathol*, 119, 39–51, 2007.
8. Jomova, K., Benkova, M., Zakova, M., Gregova, E. ve Kraic, J., Clustering of Chickpea (*C. arietinum* L.) Accessions, *Genet. Res. and Crop. Evol.*, 52, 1039-1048, 2005.
9. Sudupak, M. A., Inter and intra-species Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) variations in the genus *Cicer*, *Euphytica*, 135, 229-384, 2004.
10. Sudupak, M. A., Akkaya, M. S. ve Kence, A., Analysis of Genetic Relationships Among Perennial and Annual *Cicer* Species Growing in Turkey Using RAPD Markers, *Theor. Appl. Genet.*, 105, 1220-1228, 2002.
11. Cingilli, H., Altinkut, A. ve Akçin, A., The use of microsatellite markers in the annual and perennial *Cicer* species growing in Turkey, *Biologia*, Bratislava, 60/1, 93-98, 2005.
12. Vavilov, N. I., The law of homologous series in variation, *Journal of Genetics*, 12, 47-89, 1922.

13. Van Der Maesen, L. J. G., Maxted, N., Javadi, F., Coles, S., Davies, A. M. R., Taxonomy of the genus *Cicer* revisited. In Chickpea Breeding and Management *CAB International*, 14-46, 2007.
14. Redden, R. J., Berger, J. D., History and Origin of Chickpea, In Chickpea Breeding and Management, *CAB International*, 1-13, 2007.
15. Singh, R. ve ark., Chickpea improvement: Role of wild species and genetic markers, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25, 267-314, 2008.
16. Dönmez, A. A., *Cicer uludereensis* Dönmez: a new species of *Cicer* (Chickpea) (*Fabaceae*) from around the Fertile Crescent, SE Turkey, *Turk J Bot*, 35, 71-76, 2011.
17. Croser, J. S., Ahmad, F., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., Utilization of wild *Cicer* in chickpea improvement – progress, constraints and prospects. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 429-444, 2003.
18. Robertson, L. D., Ocampo, B. ve Singh, K. B., Morphological variation in wild annual *Cicer* species in comparison to the cultigens, *Euphytica*, 95, 309-319, 1997.
19. Özer, S. ve ark., Nutritional and physicochemical variation in Turkish kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) landraces, *Euphytica*, 175, 237-249, 2010.
20. Upadhyaya, H. D. ve ark., Genetic structure, diversity and allelic richness in composite collection and reference set in chickpea (*Cicer arietinum* L.), *BMC Plant Biology*, 8: 106, 2008.
21. Bannerjee, H., Pai, R. A. ve Sharma, R. P., Restriction Fragment Length Polymorphism and Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of Chickpea Accessions, *Biological Plantarum.*, 42 (2), 197–208, 1999.
22. Bhagyawant, S. S. ve Srivastana, N., Genetic fingerprinting of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm using ISSR markers and their relationships, *African Journal of Biotechnology*, 7 (24), 4428-4431, 2008.
23. Upadhyaya, H. D. ve ark., Genomic tools and germplasm diversity for chickpea improvement, *Plant Genetic Resources*, 9 (1), 45-58, 2011.
24. Castro, P. ve ark., Identification of chickpea cultivars by microsatellite markers, *Journal of Agricultural Science*, 149, 451-460, 2011.
25. Wood, L. A. ve Grusak, M. A., Nutritional Value of Chickpea, In Chickpea Breeding and Management, *CAB International*, 101-142, 2007.
26. Muehlbauer, F. J. and Tullu, A., *Cicer arietinum* L., Brown University, Center for New Crops and Plant Products, USA, <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/chickpea.html>, Feb., 1998.

27. Kantar, F., Hafeez, F. Y., Shivakumar, B. G., Sundaram, S. P., Tejera, N. A., Aslam, A., Bano, A. and Raja, P., Chickpea: Rhizobium Management and Nitrogen Fixation, *CAB International*, 179-192, 2007.
28. Global Strategy for the *Ex Situ* Conservation of Chickpea (*Cicer L.*), <http://www.croptrust.org/documents/web/CicerStrategy>
29. Agarwal, M., Shrivastana, N. ve Padh, H., Advances in molecular marker techniques and their applications in plant species, *Plant Cell Rep*, 27, 617-631, 2008.
30. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. ve Kahl, G., DNA Fingerprinting in Plants, Principles, Methods and Applications, 2th ed., CRC Press, USA, 2005.
31. Kumar, L. S., DNA markers in plant improvement: An overview, *Elsevier*, 17, 143-182, 1999.
32. Kalia, R. K., Rai, K. M., Kalia, S., Singh, R. ve Dhawan, A. K., Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants, *Euphytica*, 177, 309–334, 2011.
33. Sambrook, J. ve Russell, D. W., Molecular Cloning a Laboratory Manual, 3th ed., v. 2, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2001.
34. Botstein, D. ve ark., Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms, *Am J Hum Genet*, 32, 314-331, 1980.
35. Semagn, K., Bjornstad, A. ve Ndjioudjop, M. N., An overview of molecular marker methods for plants, *African Journal of Biotechnology*, 5 (25), 2540-2568, 2006.
36. Rafalski, J. A., Vogel, J. M., Morgante, M., Powell, W., Andre, C., Tingey, V., Generating and using DNA markers in plants. In *Nonmammalian Genomic Analysis; A Practical Guide*, Academic Press Inc. pp 75-134, 1996.
37. Altinkut-Uncuoğlu, A., Moleküler Markerlar ve Haritalama, Modern Biyoteknoloji ve Uygulamaları, Erciyes Üniv.Yay no 180, 2010.
38. Tautz, D., Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers, *Nucleic Acids Research*, Vol 17, Number 16, 1989.
39. Toth, G., Gaspari, Z. ve Jurka, J., Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis, *Genome Research*, 967-981, 2000.
40. Udupa, S. M. ve Baum, M., High mutation rate and mutational bias at (TAA)<sub>n</sub> microsatellite loci in chickpea (*Cicer arietinum L.*), *Mol Genet Genomics*, 265, 1097-1103, 2001.

41. Hüttel, B., Winter, P., Weising, K., Choumane, W., Weigand, F. ve Kahl, G., Sequence-tagged microsatellite site markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.), 210-217, 1999.
42. Schlotterer, C. ve Tautz, D., Slippage synthesis of simple sequence DNA, *Nucleic Acids Research*, Vol. 20, 211-215, 1992.
43. Richard, G. F., Kerrest, A., Dujon, B., Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in Eukaryotes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 72, (4), 686-727, 2008.
44. Nybom, H., Comparison of different Nuclear DNA Markers for Estimating Intraspecific Genetic Diversity in Plants, *Molecular Ecology*, 13, 1143-1155, 2004.
45. Singh, R. ve ark., Chickpea improvement: Role of wild species and genetic markers, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25, 267-314, 2008.
46. Croser, J. S., Ahmad, F., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., Utilization of wild *Cicer* in chickpea improvement – progress, constraints and prospects. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 429-444, 2003.
47. Talebi, R., Naji, A. M. ve Fayaz, F., Geographical patterns of genetic diversity in cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.) characterized by amplified fragment length polymorphism, *Plant Soil Environ*, 54 (10), 447-452, 2008.
48. Akkaya, M. S. ve Büyükcinal-Bal, E. B., Assesment of genetic variation of bread wheat varieties using microsatellite markers, *Euphytica*, 1-7, 2003.
49. Nayak, S. N. ve ark., Integration of novel SSR and gene-based SNP marker loci in the chickpea genetic map and establishment of new anchor points with *Medicago truncatula* genome, *Theor Appl Genet*, 120, 1415-1441, 2010.
50. Gaur, R. ve ark., Advancing the STMS genomic resources defining new locations on the intraspecific genetic linkage map of chickpea (*Cicer arietinum* L.), *BMC Genomics* 12:117, 2011.
51. Winter, P. ve ark., Characterization and mapping of sequence-tagged microsatellite sites in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome, *Mol Gen Genet*, 262, 90-101, 1999.
52. Lichtenzweig, J., Scheuring, V., Dodge, J., Abbo, S. ve Zhang, H. B., Construction of BAC and BIBAC libraries and their applications for generation of SSR markers for genome analysis of chickpea, *Cicer arietinum* L., *Theor Appl Genet*, 110, 492–510, 2005.
53. Sethy, N. K., Shokeen, B., Edwards, K. J. ve Bhatia, S., Development of microsatellite markers and analyses of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Theor Appl Genet*, 112, 1416-1428, 2006.

54. Pandian, A., Ford, R. ve Taylor, P. W. J., Transferability of Sequence Tagged Microsatellite Site (STMS) Primers across Four Major Pulses, *Plant Molecular Biology Reporter*, 18, 395a–395h, 2000.
55. Robinson, A. J. ve ark., Simple sequence repeat marker loci discovery using SSR primer, *Bioinformatics*, 20 (9), 1475-1476, 2004.
56. Qosim, W. A., Patapuwada, S. Ve Watanabe, K., N., Development of SSR markers of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.), *International Research Journal of Biotechnology*, Vol. 2(1), 1-8, 2011.
57. Vogel, J. P. Ve ark., Development of SSR markers and analyses of diversity in Turkish populations of *Brachypodium distachyon*, *BMC Plant Biology*, 9, 88, 2009.
58. Odeny, D. A., Gebhardt, C. ve Crouch, J., New microsatellite markers for pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.)), *BMC Research Notes*, 1-5, 2009.
59. Yadav, O. P., Mitchell, S. E., Zamora, A., Fulton, T. M., Kresovich, S., Development of new simple sequence repeat markers for pearl millet, *Journal of Semi-Arid Tropical Agricultural Research*, 3: 34-37. 2007.
60. Sharopova, N. ve ark., Development and mapping of SSR markers for maize, *Plant Molecular Biology* 48, 463-481, 2002.
61. Qadir, S. A., Datta, S., Singh, N. P. ve Kumar, S., Development of highly polymorphic SSR markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their use in parental polymorphism, *Indian J. Genet.*, 67 (4), 329-333, 2007.
62. Qureshi, S. N., Saha, S., Kantety, R. V. and Jenkins, J. N., Molecular Biology and Physiology EST-SSR: A New Class of Genetic Markers in Cotton, *The Journal of Cotton Science*, 8, 112–123, 2004.
63. McCouch, S. R. ve ark., Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.), *DNA Research*, 9, 199–207, 2002.
64. Gong, Y., Developing new SSR markers from ESTs of pea (*Pisum sativum* L.), *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)*, 11(9), 702-707, 2010.
65. Guerra- Sariz, J. M., New SSR markers of *Phaseolus vulgaris* from sequence databases, *Plant Breeding*, 123, 87-89, 2004.
66. Choudhary, S., Kumar, N., Shokeen, B.ve Bhatia, S., Development of chickpea EST-SSR markers and analyses of allelic variation across related species, *Theor Appl Genet*, 118, 591-608, 2009.
67. Martins, W. S. ve ark., WebSat-A web software for microsatellite marker development, *Bioinformation*, 3 (6), 282-283, 2009.



68. <http://wsmartins.net/websat/>
69. <http://www.plantgdb.org/search/misc/plantlistconstruction.php?mySpecies=Cicer arietinum>
70. [http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST\\_PROGRAMS=megaBlast&PAGE\\_TYPE=BlastSearch&SHOW\\_DEFAULTS=on&LINK\\_LOC=blasthome](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_PROGRAMS=megaBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch&SHOW_DEFAULTS=on&LINK_LOC=blasthome)
71. Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. Ve Gresshoff, P. M., Fast and sensitive silver staining DNA in polyacrylamide gels, *Analytical Biochemistry*, 196, 80-83, 1991.
72. Yeh, F. C. And Yang, R., Microsoft Window-based Freeware for population Genetic Analyses, 1999.
73. Nei, M., Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals, *Genetics*, 89, 583-590, 1978.
74. Hampl, V., Pavlíček, A. and Flegr, J., Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 731–735, 2001.
75. Khan, R., Khan, H., Harada, F. ve Harada, K., Evaluation of microsatellite markers to discriminate induced mutation lines, hybrid lines and cultigens in chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Australian Journal of Crop Science*, 4 (5), 301-308, 2010.

## **EKLER**

**Ek 1:** Gen Bankası Sekanslarında Tespit Edilen SSR Lokusları, Bunların PCR ile Tespitleri için Tasarlanan Primer Sekansları ve Bunlara Ait Bilgiler

**EK 1: Gen Bankası Sekanslarında Tespit Edilen SSR Lokusları, Bunların PCR ile Tespitleri için Tasarlanan Primer Sekansları ve Bunlara Ait Bilgiler**

Gen Bank Aksiyon Numarası	Tekrar Motifi	Ürün Büyüklüğü	İleri Primer	İleri Primer Uzunluğu	Tm	Geri Primer	Geri Primer Uzunluğu	Tm
>GI 270238490	(TA) <sub>15</sub>	161	TGCAGGAGTTGAAAATGGAAGT	22	61,015	GTATGGTGGCATGGTTCAGATT	22	60,997
>GI 270238448	(TG) <sub>6</sub>	307	ACCTATGGCAAGATTGATCCAC	22	60,215	TTCAAAGAAGAACCCTGGAGAG	22	59,858
>GI 270238233	(TA) <sub>7</sub>	287	AATATGCCGTTTCCATTCCA	20	60,153	TTGTGGGGTTCTTTCATACCTC	22	60,221
>GI 270238118	(AT) <sub>6</sub>	212	ACTTGGTAAGAAATGCACAGGG	22	60,405	TGACCGAGATGTAGAGAGTTGAG	24	59,943
>GI 270238388	(TG) <sub>8</sub>	253	AGAAGCTAAACGAAAATGGGGT	22	60,352	AAATGACAATCACTCAGCTCCC	22	60,505
>GI 270238318	(TA) <sub>15</sub>	161	TGCAGGAGTTGAAAATGGAAGT	22	61,015	GTATGGTGGCATGGTTCAGATT	22	60,997
>GI 270238282	(TG) <sub>6</sub>	238	AAGGACCATTGACTAGAGGGAA	22	59,101	CATTGTGCCTAAGCTACCAAAT	22	58,347
>GI 270238279	(AAG) <sub>6</sub>	125	CATGGGTTTATTGTGGCTTT	20	57,487	TTTTCTCTCTTCTCTCTCC	22	58,213
>GI 270238102	(AT) <sub>24</sub>	226	TTCAGCTTTCCTCCGTTTTTC	20	59,429	TGGTTTGAGAGGTTATGGGTG	21	59,838
>GI 270238096	(TA) <sub>8</sub>	194	TGCAGACATCACTTTGTTTGTG	22	59,805	CAAAACCAGAATAGCCGAGG	20	59,702
>GI 270238030	(TA) <sub>7</sub>	290	AATATGCCGTTTCCATTCCA	20	60,153	TGGTTGTGGGGTTCATTCAT	20	60,210
>GI 270237994	(AT) <sub>6</sub>	180	CTTGGTAAGAAATGCCGAGG	20	59,702	TGACCGAGATGTAGAGAGTTTGA	23	58,994
>GI 270237979	(AAG) <sub>6</sub>	120	CATGGGTTTATTGTGGCTTT	20	57,487	TCCTCTCCTTGCTCCCTC	20	58,385
>GI 270237971	(AT) <sub>24</sub>	226	TTCAGCTTTCCTCCGTTTTTC	20	59,429	TGGTTTGAGAGGTTATGGGTG	21	59,838
>GI 270237917	(TA) <sub>8</sub>	194	TGCAGACATCACTTTGTTTGTG	22	59,805	CAAAACCAGAATAGCCGAGG	20	59,702
>GI 156969688	(AT) <sub>8</sub>	259	CCACATGGACACACTTAAAGC	22	59,540	AATCCGTTGTCTCTCCTCTCA	22	60,247
>GI 156969682	(AAT) <sub>6</sub>	301	TTCTTGCCGCTTCTTATCTAGG	22	60,004	CCCTCGTTACTACTGAGAAAT	22	59,783
>GI 156969676	(TTA) <sub>14</sub>	382	CTGTCCGAGCTTTTCGTAGG	20	60,008	GGATTCTTGTGAGATGGATCG	22	60,826
>GI 156969662	(TA) <sub>6</sub>	191	TTTATTTGGGTTGGGATGAC	20	57,248	CATGAACTGAACTGAACTGAATAGA	25	57,643
>GI 156969531	(AT) <sub>13</sub>	142	ACGGTGAAAACCTTTACGAAGAA	22	60,035	TATTTCTTTCCTTTTCCCTCC	22	59,795
>GI 156969518	(AT) <sub>11</sub>	264	TAGAAGAAGGCTATGACCACCC	22	59,615	AGACTCAAACGCGACAGATTTT	22	60,303

>GI 156969559	(AT) <sub>6</sub>	178	TTTATGTATGTATGGAGTAGGAGCA	25	57,086	CGTCCTTTTAAGTCGGTTCA	20	57,879
>GI 156969485	(AT) <sub>8</sub>	385	TGCACTTGTGATGGTGGTG	19	60,149	CTGCATAATAAAACCAACTGATTGC	25	61,037
>GI 156969434	(AT) <sub>13</sub>	380	TCATTTTCGTCCTCCCTATGTT	22	59,835	GAACACACCTTTTGGATGCAC	21	60,412
>GI 156969288	(TTA) <sub>7</sub>	395	TCCGATGGAACCTTCTCTTTTA	22	60,068	CTCTTCGGGGTCGTATTGATT	21	60,326
>GI 156969285	(GA) <sub>6</sub>	221	AGAGAAGTGCCACCAATAGC	22	59,913	CTGCCATACTCTTCCAATTCCA	23	59,638
>GI 156969275	(TA) <sub>8</sub>	394	CACTGCAAACTCAACAACTCC	22	59,819	ACGTTGGGAACCCTAATATCCT	22	59,971
>GI 156969271	(AT) <sub>10</sub>	245	TAAGTGCGGTGAATCCTTTACG	22	61,346	CAGGGAGAGGAAGATGGAAAAT	22	60,783
>GI 156969265	(TTA) <sub>7</sub>	396	TCCGATGGAACCTTCTCTTTTA	22	60,068	CTCTTCGGGGTCGTATTGATT	21	60,326
>GI 156969260	(AAG) <sub>10</sub>	393	ATTGTGCAAGGCAGACTATCAA	22	59,775	TCCTATTTCTGAGGCACTCTCC	22	59,848
>GI 156969222	(GA) <sub>16</sub>	393	ATTGTGGATTTGGATCTGGTGT	22	60,484	ATCACTTCTTTTCTCTCTGCG	22	60,019
>GI 156969204	(GT) <sub>8</sub>	361	GCTGCAATGAATCCTCTGATTT	22	60,591	TGAGTTTGTATGGAATGGAACAG	22	59,971
>GI 156969186	(AT) <sub>8</sub>	344	AGTGAGAACCAGCCACTTTAG	22	59,810	GCAACAACAATCAACAACAAGC	22	60,584
>GI 156969118	(TTA) <sub>7</sub>	396	TCCGATGGAACCTTCTCTTTTA	22	60,068	CTCTTCGGGGTCGTATTGATT	21	60,326
>GI 156969104	(AT) <sub>8</sub>	390	ATTTCTTGTTGAGTTACGGGCA	22	60,877	GGTTCAAATCCTATTGGGCG	20	61,542
>GI 156969064	(CT) <sub>6</sub>	355	GCCTTTATCCCTTGCCATAGTC	23	60,212	CAGAGCTTGCATTTCTGCATT	21	60,537
>GI 156969033	(TAT) <sub>30</sub>	390	GGACAAGCAAGTAATCTGACCC	22	60,004	TATCGTAGCTCCAGTTATCGCA	22	59,896
>GI 156968874	(TA) <sub>7</sub>	338	CTCAACAACTCCTTCACTCCA	22	59,372	GGCCATCTACGTTGTCTAAGG	21	58,732
>GI 156968872	(AT) <sub>14</sub>	378	CCTTTTCCTTCTTCTAGTTTTCC	24	60,005	GATGATAACGGGGCAAATTCT	21	60,164
>GI 156968890	(TA) <sub>24</sub>	225	AGATCATGTGGTATGCGTTTT	21	57,104	GGGAACCCTAATATCCTCTACG	22	58,068
>GI 156968829	(GA) <sub>18</sub>	283	CGAGAACCAGAACAGGATTTCTA	23	59,770	TTCGCTCCTCTCACTATTCTC	22	59,983
>GI 156968737	(AAT) <sub>9</sub>	287	TGCTTTTCGTTCTTGTGTTG	20	57,539	CCAGCACATCATAAATACATCC	22	57,014
>GI 156968664	(AT) <sub>10</sub>	272	AGTGAGAACCAGCCACTTTAG	22	59,810	AAAGGCAGAAAACAATTCTCC	22	60,798
>GI 156968628	(TA) <sub>15</sub>	386	AAGTTCATGTTTGGGAGGAAC	21	58,015	TGACACCCTGAATACCACAATA	22	57,878
>GI 156968560	(TA) <sub>30</sub>	389	AGCTATCCATCCTCAGCAAGAG	22	60,004	CCCGAAATAAAGACTATGCTCG	22	60,108
>GI 146501811	(AT) <sub>8</sub>	304	TTTGCACGGTCTAACCTTTTGT	22	60,904	ATGGGACAAGGCATAATTGGTA	22	60,440
>GI 146501775	(AT) <sub>14</sub>	174	TATTTCCCTCTCTTTCCCTCC	22	59,912	ACGGTGAATCCTTTACGAAGAA	22	60,001

>GI 146501707	(TA) <sub>10</sub>	398	CACTGCAAACCTCAACAACTCC	22	59,819	ACGTTGGGAACCCTAATATCCT	22	59,971
>GI 146501503	(AC) <sub>12</sub>	399	CATGGCTGCGTATAGCTTTGAT	22	61,474	TCACCATTACACCATTACATTC	22	60,624
>GI 146501503	(AT) <sub>21</sub>	291	CACACACACACACACACACA	22	61,193	TCACCATTACACCATTACATTC	22	60,624
>GI 146501502	(AAT) <sub>23</sub>	382	TTTGTAGGTCATACAGGAGGAT	22	57,668	CAGAATCAGAGGAAGCAGTCAT	22	58,551
>GI 146501470	(AC) <sub>8</sub>	349	CAGCATAACTACCCTATCGTGAA	23	58,359	GAAGTGTGAAAAGCTGGCAC	20	58,498
>GI 146501444	(AT) <sub>9</sub>	393	TCCGAGAAGAAGAAAGGAGTTG	22	59,991	CGGTGGATCTTTTACGAAGAAT	22	59,502
>GI 146501444	(TA) <sub>20</sub>	393	TCCGAGAAGAAGAAAGGAGTTG	22	59,991	CGGTGGATCTTTTACGAAGAAT	22	59,502
>GI 146501385	(AT) <sub>7</sub>	250	AGGTGACAGAGGAAGAAGATGG	22	59,739	GGAGAATTTTATGCGTTATGGG	22	59,713
>GI 146501377	(TA) <sub>17</sub>	173	ATGACCGACACACAAGCTACAC	22	60,103	TGGGAATGTTGAAGTTACAGAGG	23	60,391
>GI 146501328	(TTC) <sub>8</sub>	103	CAGCTCCCTGACTCTGACTTTT	22	60,053	GAAATGGATGAAGAGGGTTTGA	22	60,299
>GI 146501323	(AT) <sub>7</sub>	163	ACCAGCCCTTTTAGGAGATTAG	22	59,985	TGCAACAGATGTAGTATGGCAGT	23	59,713
>GI 156970583	(AT) <sub>6</sub>	291	TGTTGTGTGGTCAAGTAAAGG	22	59,929	TTGCTCCTTACAAGCCTAAAGTG	23	59,959
>GI 156970564	(AG) <sub>7</sub>	380	ATGAGAGGAAAATGGGGAATCT	22	60,150	AATGAGGCAAAGACATCAACC	22	60,360
>GI 156970475	(ATT) <sub>7</sub>	191	CCATGACTGGATGGTATGTTTC	22	59,174	CATCGAATAAGGAAGAAGGTGG	22	59,960
>GI 156970318	(AT) <sub>6</sub>	330	CACCGACCAACGTATAACAAGA	22	59,920	GGGACATGAATCTCTATTGGAAG	23	58,971
>GI 156970310	(GA) <sub>6</sub>	359	TCGTAGAGAGGTTCGAGGTAAGG	22	59,901	AGTTCAGTTTGCTACTGCCTCC	22	59,950
>GI 156970300	(AT) <sub>15</sub>	326	CCTTTCTTCTATTCTCTCCAAGC	24	59,122	GGTGTGTTTGTGTAAGACCCAT	22	58,746
>GI 156970219	(TA) <sub>33</sub>	293	CTAGTTTGTAAACCCGTGCGTC	21	59,685	CGGTGTGGGAGTTATACTTTTCA	23	60,275
>GI 146499610	(TA) <sub>20</sub>	325	CCTTTTCCTTCCTTCTAGTTTTCC	24	60,005	GGTGTATTTGGATTTTGGCTC	22	59,722
>GI 146498381	(AGA) <sub>10</sub>	126	CATGGGTTTATTGTGGCTTT	20	57,487	CCCTTCTCATTCTCTCTCTCA	22	57,734
>GI 146498366	(AAT) <sub>11</sub>	357	GACTCTGACATTAGTGCAACACG	23	59,856	CTTGTGCTTTTCCAGCAATCA	22	60,284
>GI 146498331	(AT) <sub>25</sub>	391	AGTGGAGTTGCGAAATCTTTGT	22	60,172	TGTGTTACGGGTGAAATGGTAA	22	60,145
>GI 146501254	(TA) <sub>39</sub>	175	GCTTCCTTTGTTTGCCTTTCT	21	59,885	GTGACATGCGTAATGGTGATTT	22	59,758
>GI 146501229	(TA) <sub>28</sub>	393	CTACATGGAAAACGGAGCATAA	22	59,143	CTCAGGGATCATTGGGTTAGTC	22	59,827
>GI 146501094	(AT) <sub>6</sub>	196	CCCCTTGATGATAGTGAGAACC	22	59,827	TGCAACAGATGTAGTATGGCAA	22	59,254
>GI 146501072	(GA) <sub>9</sub>	386	CCAAATCACACATACACACTTG	24	60,246	GAAATATGCAAACACCAGCCTT	22	60,371

>GI 146501055	(TG) <sub>7</sub>	347	ATCACACCAAAACTCAACCA	22	60,312	TAATGAGAGGGGCAGAGATAGG	22	59,704
>GI 146501040	(AT) <sub>6</sub>	196	CCCCTTGATGATAGTGAGAACC	22	59,827	TGCAACAGATGTAGTATGGCAA	22	59,254
>GI 146500984	(AT) <sub>8</sub>	369	ACTCATGCGGTAGGACATTCTT	22	60,026	CCAGGAACAACCTGCTATGTGAA	22	60,168
>GI 146500954	(AT) <sub>8</sub>	397	CGGGTAACAGAGAGGAAGAAGA	22	59,879	CAAGATGAGAGAACAACACCCA	22	60,149
>GI 146500925	(AT) <sub>6</sub>	392	CTTCACACTCAACAAACCTTGG	22	59,674	TGATGCCGTTTAGAATTACTCG	22	59,275
>GI 146500872	(ATA) <sub>6</sub>	385	TGTAACGAACCCACTCTGATTT	22	58,627	TGCCGCTACTATAAACACTTCA	22	57,710
>GI 146500836	(AT) <sub>7</sub>	163	ACCAGCCCTTTAGGAGATTAG	22	59,985	TGCAACAGATGTAGTATGGCAGT	23	59,713
>GI 146500806	(TA) <sub>8</sub>	195	AAGAGGAAGATAGGCTGACGTG	22	59,907	TTTGTGATGTGATGTGAGGTGA	22	60,008
>GI 146500785	(AT) <sub>28</sub>	355	CGTAGGGAGGAAGAAGATGGA	21	60,575	TTGACACCGTTAGAATTACTCGTC	24	59,602
>GI 146500676	(TA) <sub>6</sub>	390	CACTGCAAACTCAACAAACTCC	22	59,819	ACGTTGGGAACCCATAATCCT	22	59,971
>GI 146500643	(AAT) <sub>37</sub>	384	AACATGGGAGGTTTAGGGTCTAC	23	59,664	CGTTTTCCATCTCCAAATAAGC	22	59,970
>GI 146500592	(AT) <sub>43</sub>	400	AGCAAAATCCCTATTCAACCC	21	59,324	ACACTTGTCCCCACGCATA	19	59,976
>GI 146500554	(GT) <sub>6</sub>	166	TCTTGGGCATCTAATTTGTGTG	22	59,996	TAGGGAGGATGGAAATGACCTA	22	59,793
>GI 146500538	(AT) <sub>8</sub>	376	CCTCTGTGTTCTTTCCTTTGC	22	60,275	TGATCTCCATGTTCTTCTCAGT	23	60,125
>GI 146500497	(TA) <sub>6</sub>	263	CCATCTGTCTCGTTCACATACC	22	59,478	GGTGCAATAGGGAAATCAAAAC	22	59,722
>GI 146500446	(AT) <sub>22</sub>	360	GTATTGAACTTGGTGGCGTTTT	22	60,276	GGCAGAGGAAGAAGAAGACGTA	22	60,019
>GI 146500444	(TTA) <sub>28</sub>	387	TGGTATTAAGAAGACGGCTATCG	23	59,672	TCAATGTGTGTGATATGTGCGT	22	59,918
>GI 146500318	(GA) <sub>12</sub>	323	TTCCGTTAGATACCTGAGCGAG	22	60,750	TCTCGTTTCTCTCCAATCCAA	21	59,799
>GI 146500294	(TA) <sub>23</sub>	400	TCAACAACTCCTTCACTCCAA	22	59,751	TGGGAACCCATAATCCTCTACG	23	60,543
>GI 146496376	(AT) <sub>17</sub>	338	GGAAGAAGATGGAAAAGTCGAA	22	59,704	TAACCTGCGGTGAATCCTTTG	20	58,771
>GI 146496318	(TA) <sub>10</sub>	326	CAGTAAACTCAAGAGAGGTGCG	22	59,189	TGTCATACGTCAAGGAAGCACT	22	59,803
>GI 146496314	(AT) <sub>9</sub>	395	AATGAAAATGGGAGAAAGGAGG	22	60,638	ACAAATCTTGGGCATCGAATAG	22	60,332
>GI 146496002	(AT) <sub>21</sub>	331	TCCTTTTCTTTTTCCTTCTTCTC	22	60,050	GTGTATTTTGGATTTTGGCTCG	22	60,701
>GI 146495955	(AT) <sub>18</sub>	397	CAACGAGGAAGTATGAAGCTGA	22	59,517	GCGTTATGGGTGAAATGGTAAT	22	59,976
>GI 146495773	(TTC) <sub>8</sub>	362	CCTCCAATAGCAAATTACCGAG	22	59,984	AACCACATCAAGAACACAATCG	22	59,898
>GI 146495757	(CA) <sub>9</sub>	375	ATGGGATTCTTTTGGATCAGC	21	60,280	TCAACTAATGGCACCCCTATGC	21	59,974

>GI 146495719	(GT) <sub>6</sub>	301	TGTCATATTCGTCCTCCTAGC	22	60,471	GCACAAGATTGGTTGAAAACAC	22	59,522
>GI 146495665	(TC) <sub>7</sub>	365	TGGTGCTATATTTGTCCAGCTA	22	57,513	TAGTTGCTAATGCGATTGGA	20	57,019
>GI 146495623	(AT) <sub>14</sub>	319	ACGAAAGATGAAAATGGAGGAG	22	59,593	TGTGTTACGGGTGAAATGGTAA	22	60,145
>GI 146495622	(TCT) <sub>6</sub>	328	AAGGCAATCTCCTCTTCCTCT	21	58,563	CAATGCTTCCAAATCCAG	20	58,214
>GI 146495361	(AG) <sub>10</sub>	303	TGTTAAATGGGTGTGGCTCATA	22	60,244	CCCTTACCGTTACCAAAGTTGT	22	59,343
>GI 146495299	(TAA) <sub>9</sub>	392	GGGTGAACAAAACCGAGTAGAA	22	60,385	CGTCATCGTCACTAACCTACA	22	60,052
>GI 146495264	(AT) <sub>8</sub>	202	ATAGTGAGGACCAGCCACTT	21	60,009	TCAAACAACAGATATGCAACAGAG	24	59,335
>GI 146495153	(TA) <sub>9</sub>	348	TTGGCAGACATCCATTTCTAT	22	60,692	TTTACGAACCCTCATCACCTCT	22	59,998
>GI 146495064	(TA) <sub>8</sub>	177	ATGTTTCACTTTCATCGTGGTG	22	59,898	CTCTTATGTTTTGGGTGGTGGT	22	60,144
>GI 146495045	(AT) <sub>18</sub>	375	ATTTCTGTGTTTTAGGGTGCAG	22	58,314	ATCCTTACCAAAGGTCTGTTC	22	57,724
>GI 146494987	(AT) <sub>6</sub>	316	TCCTTCTTTCTATTCTCTCCAAGC	25	60,673	GAATCCAATCCTGTAAGACCCA	22	60,187
>GI 146494950	(AT) <sub>35</sub>	303	CAGTTTTCTTCTCCCTTTT	22	59,979	GTGCGGTAAATCCTTTTCAGAG	22	60,129
>GI 146494947	(AT) <sub>20</sub>	166	CATAAGTGTAGGGGTGCTCAACT	23	59,595	CTTTGCTCACAACACAACCATT	22	60,074
>GI 146494921	(AT) <sub>10</sub>	320	GGTAGCAGAGGAAGAAGATGGA	22	59,848	TGACCCCGTTTAGAATTACTCG	22	60,356
>GI 146494885	(TAA) <sub>11</sub>	216	TGTTGACACCTAATTTGTCCG	22	59,898	GAGGCAAACAAGAAGTAAAGC	22	60,413
>GI 146494951	(AAT) <sub>6</sub>	331	GCTTAAAACCTTATCAGAGACTAACAG	27	57,655	CAAAGGCCGAGCATATTTA	20	57,947
>GI 146494885	(TAA) <sub>11</sub>	214	TGTTGACACCTAATTTGTCCG	22	59,898	GGCAAACAAGAAGTAAAGCA	21	60,414
>GI 146494797	(AT) <sub>6</sub>	361	CCTTCTTTCTATTCTCTCCAAGC	24	59,122	ACCCAGAACTATTTATCGACGC	22	59,528
>GI 146494783	(TTA) <sub>7</sub>	396	TCCGATGGAACCTTCTCTTTA	22	60,068	CTCTTCGGGTCGTATTGATT	21	60,326
>GI 146494763	(AT) <sub>8</sub>	173	AGTGAGAACCAGCCACTTTAG	22	59,810	TGCAACAGATGTAGTATGGCAG	22	58,873
>GI 146494727	(AC) <sub>18</sub>	363	TGATGAAGGGAGAAGGAAGAAG	22	59,821	GAAGAATTTAACACCGGACCCT	22	60,570
>GI 146494827	(AT) <sub>27</sub>	208	GTTTGTAATGCTCTCCTAATTGAC	25	57,611	ATCCAAGTGCATCTATTTC	21	58,149
>GI 270236512	(AT) <sub>8</sub>	120	TTCCCTCCCTTCTTTCTTTC	22	60,050	ATGGTTTGAGAGGTTATGGGTG	22	60,110
>GI 270236731	(AT) <sub>6</sub>	159	CCTTTCCTTCTTCTTTTCC	22	59,605	TGGTTTCAGAGGTTATGGGTG	21	59,838
>GI 270236748	(TA) <sub>7</sub>	290	AATATGCCGTTCCATTCCA	20	60,153	TGGTTGTGGGGTCTTTCAT	20	60,210
>GI 270236748	(TA) <sub>6</sub>	129	CTAAGAGCCGAAACTCGTGG	20	60,008	TTACTGTGGAAGGAGTGGGTG	21	60,013

>GI 270236760	(AAAT) <sub>4</sub>	210	GAAATAGTTAGCTCCACGGCA	21	59,375	ATTGCCTCTAAAGCCCCACT	20	60,096
>GI 270236781	(TA) <sub>7</sub>	279	GCACAATGCTTGCTTGA	17	55,113	AAATCTTGAGTCTTGGCATC	20	54,387
>GI 270236813	(AGT) <sub>4</sub>	208	GCAATATAGGTACAAGTATCAGAGC	25	55,699	GCATTAAGTACAAAAGGGG	19	55,658
>GI 270236823	(TA) <sub>22</sub>	284	TCGATTGGCTGAAATCC	17	55,332	GCCATCTACGTTGTCTAAGG	20	54,994
>GI 270236833	(AAAT) <sub>5</sub>	293	GAATGAGAGAAAGCGAGGTGA	21	59,565	TTGGCTTGTTTGTACCATCTG	22	60,032
>GI 270236849	(AAG) <sub>4</sub>	188	CGTATGATCCAGCAATGGAA	20	59,499	CCATCACAACCTCAACTCA	20	59,520
>GI 270236849	(AAAT) <sub>5</sub>	293	GAATGAGAGAAAGCGAGGTGA	21	59,565	TTGGCTTGTTTGTACCATCTG	22	60,032
>GI 270236863	(AT) <sub>13</sub>	297	TTCCACTCAAAACCTCTCCC	20	59,112	GCGCTATAAAAGATGCGCTA	20	58,388
>GI 270236912	(TA) <sub>7</sub>	290	AATATGCCGTTTCCATTCCA	20	60,153	TGGTTGTGGGGTTC TTCAT	20	60,210
>GI 270236912	(TA) <sub>6</sub>	268	CTAAGAGCCGAAACTCGTGG	20	60,008	TTGTGTCTCAATCTCTGGCT	21	60,008
>GI 270237016	(CAGGC) <sub>4</sub>	119	GCTTTAACAATAGCCTGAACTTGAC	25	59,766	ACCGCTAGGGATGGGAATAG	20	60,299
>GI 270237019	(AT) <sub>5</sub>	261	GGAGAAGGAGGGAGAAATGG	20	60,008	GCATTACGGGTGAAATGGTAA	21	59,712
>GI 270237020	(AT) <sub>22</sub>	268	AGTGCGGTGAATCCTTTACG	20	60,132	GGAGAAGAGGAATGTTGCGA	20	60,340
>GI 270237099	(TAA) <sub>14</sub>	265	TCCACCAGTCATATCAAGCA	20	57,608	CCGAGAAAGAGAAGAAAGTTGA	22	57,868
>GI 270237089	(ACA) <sub>7</sub>	341	CTCGACTATTAAAGCACCAAGA	22	56,432	ATGTGTGTGGGAATGAGTGA	20	57,226
>GI 270237250	(AT) <sub>7</sub>	250	AGGTGACAGAGGAAGAAGATGG	22	59,739	GGAGAATTTTATGCGTTATGGG	22	59,713
>GI 270237307	(TG) <sub>12</sub>	196	AGGAAGAAGAGAACTTGGTGGC	22	61,130	AAATGACAATCACTCAGCTCCC	22	60,505
>GI 270237250	(AT) <sub>7</sub>	268	AAATGGAGGAGAAGGAGGGA	20	60,008	GCGTTATGGGTGAAAGGGTA	20	59,823
>GI 270237307	(TG) <sub>12</sub>	287	AGACCTCCCAAAGAATGACG	20	59,137	CAATCACTCAGCTCCCCTTC	20	59,803



## **ÖZGEÇMİŞ**

1984 yılında Yozgat'ta doğan Aslı METİN, ilk, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Yavuz Selim İlkokulu, Celal Atik Ortaokulu ve Yozgat Anadolu Lisesinde tamamlamıştır. 2005 yılında kazandığı Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü'nden 2007 yılında Erciyes Üniversitesi'ne yatay geçiş yapmış ve 2009 yılında başarıyla bitirmiştir.

2010 yılında Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans eğitimine halen devam etmektedir.

### **İletişim Bilgileri**

Adres: Medrese Mah. Şeyhzade Cad.

Çelikkayalar Apt. Kat:1 No: 1

Yozgat/Merkez

66100 YOZGAT

Telefon: 0543 748 68 11

E-posta: asli\_metin83@hotmail.com