



**BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK  
BUĞDAY GENOTİPLERİNİN GENETİK  
YAPISININ MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE  
BELİRLENMESİ**

**Büşra YÜRÜK**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN**

**2020**

**T.C.**  
**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK BUĞDAY GENOTİPLERİNİN  
GENETİK YAPISININ MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE  
BELİRLENMESİ**

**Büşra YÜRÜK**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN**

**TEKİRDAĞ-2020**

**Her hakkı saklıdır.**



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde eksiksiz biçimde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Büşra YÜRÜK

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN danışmanlığında, Büşra YÜRÜK tarafından hazırlanan “Bazı Yerli ve Yabancı Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Genetik Yapısının Moleküler Belirteçler ile Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından 15.01.2020 tarihinde Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Semra HASANÇEBİ

*İmza:*

Üye : Doç. Dr. Alpay BALKAN

*İmza:*

Üye : Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN (Danışman)

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK BUĞDAY GENOTİPLERİNİN GENETİK YAPISININ MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE BELİRLENMESİ

**Büşra YÜRÜK**

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

Buğday, Türkiye’de ve dünyada toplam tarım alanları içerisinde oldukça yüksek bir paya sahip olması ve en temel besin maddelerinin hammaddesini oluşturması nedeniyle, hem geçmişte hem de günümüzde oldukça önem arz etmekte olan stratejik bir bitkidir. Dünyadaki ekilebilir tarım arazilerinin kısıtlı olmasından dolayı, zamanla artacağı öngörülen nüfusun besin ihtiyacını karşılamak ancak birim alandaki verim artışıyla mümkün olacaktır. Verimi artırmanın en iyi yolu ise yeni çeşitlerin ıslah edilmesidir. Islahçılar son yıllarda klasik bitki ıslahında karşılaşılan sorunları aşmak amacıyla genetik karakterizasyon çalışmalarına yönelmişlerdir. Bu tez çalışmasında yerli ve yabancı 96 buğday genotipinde 8 SSR lokusu (Xgwm136, Xgwm160, Xgwm161, Xgwm295, Xgwm312, Barc53, Barc84 ve Barc319) ve 4 ISSR lokusu (UBC811, UBC823, UBC835 ve UBC844) kullanılarak genetik karakterizasyon yapılmıştır. Çalışmada kullanılan SSR lokuslarının 5 tanesi (Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136 ve Xgwm295) monomorfik, 3 tanesi (Xgwm160, Xgwm161 ve Xgwm312) ise polimorfik olarak belirlenmiştir (%37,5). Analizi yapılan buğday genotiplerine ait 8 SSR lokusu için toplam 18 allel tespit edilmiştir. Çalışmada yapılan ISSR analizinde 40 bant belirlenmiş ve 33 bant polimorfik (%82,5) olarak saptanmıştır. Ortalama Shannon Sabiti  $I_{SSR}=0,112$  ve  $I_{SSR}=0,346$  olarak hesaplanmıştır. Ortalama heterozigotluk değeri ise SSR ve ISSR için sırasıyla 0,153 ve 0,246 olarak hesaplanmıştır. Bütün belirteçler bir arada değerlendirildiğinde ortalama polimorfik bilgi içeriği  $PIC=0,269$  olarak hesaplanmıştır. Genetik benzerlik değerleri kullanılarak UPGMA kümelendirme yöntemi ile dendrogram oluşturulmuş ve çalışılan buğday çeşitlerinin 2 ana kümeye ayrıldığı gözlenmiştir. Bu tez çalışması sonucunda elde edilen bilgiler buğdayda genetik çeşitlilik, genetik yapı, ıslah ve çeşit geliştirme üzerine olan diğer çalışmalara, bazı buğday çeşitlerinin ıslah çalışmaları için seleksiyonunun kolaylaştırılması ve ıslah çalışmalarının temelini oluşturması açısından önemli katkılar sağlayacaktır. Çalışma sonucunda genetik olarak birbirine uzak olarak belirlenen genotipler arasında yapılacak melezlemeler ile varyasyon miktarı ve buğday ıslah çalışmasının başarı şansı artırılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Buğday, SSR, ISSR, Genetik Çeşitlilik, Moleküler Belirteçler

2020, 65 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### DETERMINATION OF GENETIC STRUCTURE OF SOME LOCAL AND FOREIGN BREAD WHEAT GENOTYPES WITH MOLECULAR MARKERS

**Büşra YÜRÜK**

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Behiye Banu BİLGEN

Wheat is a strategic crop due to having a high ratio in the total agricultural area both in Turkey and the world, and also being raw material for the most basic nutrients. Therefore, it constitutes a considerable important place in both past and present. Due to the limited number of arable land in the world, it will be possible to meet the nutritional needs of the population which is predicted to increase in time only with the increase in the yield per unit area. The best way to increase yield is the breeding of new plant varieties. In recent years, breeders have turned to genetic characterization studies in order to overcome the problems encountered in classical plant breeding. In this thesis, the genetic characterization of 96 wheat genotypes was performed by 8 SSR loci (Xgwm136, Xgwm160, Xgwm161, Xgwm295, Xgwm312, Barc53, Barc84, and Barc319) and 4 ISSR loci (UBC811, UBC823, UBC835, and UBC844). Five SSR loci (Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136, and Xgwm295) were monomorphic and three (Xgwm160, Xgwm161, and Xgwm312) were polymorphic (37.5%). A total of 18 alleles were identified for 8 SSR loci. In the study, 40 bands were determined in ISSR analysis and 33 bands were found to be polymorphic (82.5%). The mean Shannon Index was calculated as  $I_{SSR}=0.112$  and  $I_{ISSR}=0.346$ . The mean heterozygosity value for SSR and ISSR was calculated as 0.153 and 0.246, respectively. When all markers were evaluated together, the mean polymorphic information content was calculated as  $PIC=0.269$ . Dendrogram was formed by UPGMA clustering method with genetic similarity values and it was observed that wheat varieties were divided into two main clusters. The information obtained as a result of this thesis will contribute to other studies on genetic diversity, genetic structure, breeding and cultivation development in wheat in order to facilitate the selection of some wheat varieties for breeding studies and to form the basis of breeding studies. Genetically distant genotypes determined from this study can be used to increase the amount of variation and the success of the wheat breeding study.

**Key words:** Wheat, SSR, ISSR, Genetic Diversity, Molecular Markers

2020, 65 pages

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>2</b>
2.1. Buğdayın Özellikleri ve Önemi .....	2
2.2. Genetik Belirteçler ve Kullanım Alanları .....	5
2.2.1. Morfolojik Belirteçler .....	6
2.2.2. Biyokimyasal Belirteçler .....	6
2.2.3. Moleküler Belirteçler .....	7
2.3. Buğdayda Yapılan Moleküler Çalışmalar .....	9
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>15</b>
3.1. Bitki Materyali .....	15
3.2. Bitki Materyalinin Çimlendirilmesi .....	16
3.3. DNA İzolasyonu .....	17
3.4. DNA Miktar ve Kalite Tayini .....	19
3.5. SSR Analizleri .....	21
3.5.1. SSR Primerlerinin Belirlenmesi .....	21
3.5.2. SSR Lokuslarının PCR Analizleri ve Elektroforez .....	22
3.6. ISSR Analizleri .....	23
3.6.1. ISSR Primerlerinin Belirlenmesi .....	23
3.6.2. ISSR Lokuslarının PCR Analizleri ve Elektroforez .....	23
3.7. Verilerin İstatistiksel Analizi .....	25
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>26</b>
4.1. SSR Lokuslarına ait Allellerin Belirlenmesi .....	26
4.2. ISSR Primerlerine ait Bantların Belirlenmesi.....	34
4.3. Genetik Çeşitlilik Parametreleri .....	38
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>42</b>

<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>47</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>55</b>





## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan buğday çeşitleri.....	15
Çizelge 3.2. İzole edilen buğday genomik DNA örneklerinin Nanodrop ölçüm sonuçları.....	20
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmak üzere belirlenen SSR primerlerine ait bilgiler.....	21
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilmiş PCR içeriği .....	22
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilen PCR koşulları.....	22
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılmak üzere belirlenen ISSR primerlerine ait bilgiler .....	23
Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri için optimize edilmiş PCR içeriği .....	24
Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri için optimize edilen PCR koşulları .....	24
Çizelge 4.1. Tez çalışmasında analiz edilen 8 SSR lokusuna ait allel frekansları .....	26
Çizelge 4.2. Tez çalışmasında analiz edilen 4 ISSR primerine ait bant frekansları .....	35
Çizelge 4.3. Tez çalışmasında kullanılan 8 SSR ve 4 ISSR primerlerine ait bazı genetik parametreler.....	39

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 3.1. Buğday tohumlarının yüzey sterilizasyonu ve petrilere ekimi.....	16
Şekil 3.2. Çimlenen buğday tohumlarının santrifüj tüplerine alınması.....	17
Şekil 3.3. Buğday örneklerinin bistüri ile parçalanması ve cam çubuk ile ezilmesi.....	17
Şekil 3.4. DNA ölçüm sonuçlarının Nanodrop® 1000 (ThermoScientific) spektrofotometre cihazı programdaki görüntüsü.....	19
Şekil 4.1. Xgwm136, Xgwm160 ve Xgwm161 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'lük agaroz jel görüntüleri.....	27
Şekil 4.2. Xgwm295, Xgwm312 ve Barc319 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'lük agaroz jel görüntüleri.....	28
Şekil 4.3. Barc53 ve Barc84 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'lük agaroz jel görüntüleri.....	29
Şekil 4.4. Barc53 ve Barc84 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü.....	30
Şekil 4.5. Xgwm136 ve Xgwm160 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü.....	31
Şekil 4.6. Xgwm161 primerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü.....	32
Şekil 4.7. Xgwm295 ve Xgwm312 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü.....	33
Şekil 4.8. Barc319 primerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü.....	34
Şekil 4.9. UBC811 ve UBC823 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,2'lik agaroz jel görüntüleri.....	36
Şekil 4.10. UBC835 ve UBC844 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,2'lik agaroz jel görüntüleri.....	37
Şekil 4.11. Buğday genotiplerinin SSR analizleri sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre oluşturdukları dendrogram.....	41

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AB	: Avrupa Birliği Ülkeleri
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi)
ALP	: Amplikon uzunluk polimorfizmi
bç	: Base pair – Baz çifti
C:I	: Chloroform isoamylalcohol
CAPS	: Bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi
cm	: Santimetre
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide
dH <sub>2</sub> O	: Distile su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EST	: İfade edilmiş dizi etiketleri
f	: Frekans
FAM	: 6-carboxyfluorescein
gr	: Gram
h	: Nei (1987)'nin genetik çeşitlilik değeri
HCl	: Hidroklorik asit
Het	: Heterozigotluk
I	: Shannon sabiti
ISSR	: Inter simple sequence repeat (Basit baz dizilimi arası tekrarlamalar)
kg	: Kilogram
m	: Metre
M	: Molarite
mg	: Miligram
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür

ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
$\mu$ l	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
$\mu$ M	: Mikromolar
N	: Örnek sayısı
n	: Tekrar sayısı
NaCl	: Sodyum klorür
NaClO	: Sodyum hipoklorit
NaOAc	: Sodyum asetat
NoA	: Gözlenen allel sayısı
Ng	: Nanogram
NKÜ	: Namık Kemal Üniversitesi
nM	: Nanomolar
PCR	: Polimeraz chain reaction – Polimeraz zincir reaksiyonu
PIC	: Polymorphic information content – Polimorfik bilgi içeriği
PVP	: Polyvinylpyrrolidone
RAPD	: Random amplification of polymorphic dna (Rastgele çoğaltılmış polimorfik dna)
RFLP	: Kesilen parça uzunluğu polimorfizmi
rpm	: Rounds per minute – Dakikadaki devir sayısı
SDS-PAGE	: Sodiumdodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis - Sodyumdodesilsülfat poliakrilamid jel elektroforezi
sn	: Saniye
SNP	: Single nükleotid polymorphism – Tek nükleotid polimorfizmi
SSCP	: Tek iplik tamamlama polimorfizmi
SSR	: Simple sequence repeats-Basit dizi tekrarları
STS	: Dizisi etiketlenmiş sekanslar
TBE	: Tris borat EDTA tamponu
TE	: Tris EDTA tamponu

T <sub>M</sub>	: DNA'nın erime sıcaklığı
TOB	: T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı
TTSM	: Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkez Müdürlüğü
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U	: Ünite - Enzim birimi
USDA	: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığının
UV	: Ultraviyole ışığı
vb.	: Ve benzeri
vd.	: Ve diğerleri
Volt	: Voltaj
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince ders ve tez çalışmalarım sırasında benden ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, her türlü desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tezin son şeklini almasıyla yapıcı eleştirileri ve önerileriyle değerli katkılarını esirgemeyen Tez Savunma Sınav Jüri Üyeleri Doç. Dr. Semra HASANÇEBİ ve Doç. Dr. Alpay BALKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında benimle çalışan ve benden yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Tuğba SÜTÇÜ'ye, ayrıca bu güne kadar her daim yanımda olan, maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen eşime ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ocak, 2020

Büşra YÜRÜK

## 1. GİRİŞ

Buğday, Türkiye’de ve dünyanın hemen her yerinde yetiştirilebilen, temel gıdalarının hammaddesini oluşturan, toplam tarım alanları içerisinde yüksek bir paya sahip olan, oldukça önemli, stratejik bir bitkidir. Yüksek adaptasyon yeteneği sayesinde her iklimde yetiştirilebilir, tarımı kolay ve makinaya dayalıdır. Ayrıca dünya toplam tahıl üretiminin %28’ini buğday oluşturur (Tarım ve Orman Bakanlığı [TOB], 2019). Bu sebepler nedeniyle buğdaydaki çalışmalar oldukça önem arz etmektedir (Özberk, Karagöz, Özberk ve Atlı, 2016).

Artacağı öngörülen dünya nüfusunun en önemli sorunlarından biri olan beslenme, ancak üretimin artırılmasıyla çözülebilir. Üretimin artırılması için, dünyada yeni tarım alanlarının oluşturulması mümkün olmayacağından, birim alandaki verimin artırılması gerektiği aşikârdır. Bu da ıslah metotları ile mümkündür. Ancak geleneksel ıslah metotları, bazı kısıtlarından ve getirdiği sorunlardan dolayı çözüm için yeterli değildir. Bu nedenle yeni teknolojilerin kullanılması gereklidir. Islahçılar, geleneksel ıslah metotlarının getirdiği sorunları çözmek için genetik belirteçleri kullanmışlardır (Collard ve Mackill, 2007). Belirteç, genomun özgül bölgelerinde bulunan, belirli bir genin veya özelliğin yerini belirlemede kullanılan işaretleyicilerdir (Devran, 2016). Belirteçlerin özelliklerine göre farklı çeşitleri bulunmaktadır. Kullanılan belirteçler yapılan çalışmaya ve istenilen sonuca göre farklılık gösterebilir. Genetik belirteçlerinin kullanılmasıyla, DNA düzeyinde ayırt edici özellik tespit edilebilir ve bitkinin büyümesine gerek kalmadan erken dönemde pozitif seçim yapılabilir. Böylece verimli bitki hatlarının geliştirilebilmesi için istenilen karakterlerin etkili ve hızlı bir şekilde aktarılabilmesi sağlanabilmektedir. Genetik çeşitlilik çalışmalarında farklı DNA belirteçleri kullanılmaktadır ve bu sistemlerinin kullanılabilirliğinin karşılaştırılması bitki ıslahı analizleri için önemlidir. Çünkü kullanılan sistemlerin laboratuvaradan laboratuvara transfer edilmesi ve tekrarlanabilir sonuçlar için standart hale getirilmesi, elde edilen verilerin karşılaştırılmasına yardımcı olacaktır.

Bu tez çalışmasında yerli ve yabancı ekmeklik buğday genotiplerinin ISSR ve SSR lokusları ile genetik yapılarının saptanması, çalışılan buğday genotiplerinde bazı genetik parametrelerin tahmin edilmesi ve buğday genotiplerinin moleküler filogenetik analizinin yapılması amaçlanmıştır. Tez çalışma sonunda elde edilen bilgilerin buğdayda genetik çeşitlilik, genetik yapı, ıslah ve çeşit geliştirme üzerine olan diğer çalışmalara önemli katkılar sağlaması beklenmektedir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Buğdayın Özellikleri ve Önemi

Buğday, buğdaygiller (Poaceae) familyasına ait tek yıllık otsu bir bitkidir. Buğdayın tarihi neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir ve buğday medeniyetle birlikte gelişen bir kültür bitkisidir. Adaptasyon yeteneği gelişmiştir ve her iklime uyum sağlayabilecek özelliktedir. Tarımının makinaya dayalı olması, pazarlama, taşıma, depolama ve işlenmesindeki kolaylık, üreticileri buğday tarımına teşvik etmektedir (Yılmaz ve Ezici, 2016). Buğday insan beslenmesindeki en temel gıdaların (unlu mamuller, makarna, irmik, bisküvi ve bulgur) hammaddesini oluşturmaktadır ve besin değeri oldukça yüksektir (Atar, 2017). Aynı zamanda çiftlik hayvanları için bir yem maddesi olarak da yetiştirilmektedir. Tarımı yapılan buğdayların yaklaşık %95'i heksaploid genoma sahiptir, kalan %5'lik kısım ise makarnalık buğday ve nispeten daha az yetiştirilen diğer türleri içermektedir (Venske, dos Santos, Busanello, Gustafson ve de Oliveira, 2019). Anadolu, Batı İran ve Kafkasya bölgeleri buğdayın orijin merkezi olarak bilinmektedir. Kromozom sayıları ve genom formüllerine göre buğday diploid (AA), tetraploid (AABB) ve heksaploid (AABBDD) olarak 3 grupta sınıflandırılmaktadır. *Triticum* cinsinde yer alan türler sahip oldukları genom bakımından üç grupta toplanmıştır (Gülmezoğlu ve Tolay, 2016);

- Diploid grup (Kaplıca grubu buğdaylar)
- Tetraploid grup (Makarnalık buğday)
- Heksaploid grup (Ekmeklik buğday)

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) birbiriyle ilişkili 3 diploid genomun kombinasyonu olan alloheksaploid bir türdür ( $2n = 6 \times = 42$ , AABBDD genomları). A genomu *T. urartu*, B genomu *Aegilops speltoides*'in yakın akrabası olan bir tür ve D genomu ise *Aegilops tauschii* kaynaklıdır. Heksaploid *T. aestivum* türünün ise muhtemelen Verimli Hilal olarak adlandırılan bölgede günümüzden 8.500-10.000 yıl öncesi dönemler *T. turgidum* ve *Aegilops tauschii* arasındaki doğal melezlemeler sonucu ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (Venske vd., 2019). Tahılların tarımının dünya üzerinde geniş alanlarda yapılabilmesi alloplod doğası gereği çevresel adaptasyonunun yüksek olmasından yani genomik esneklik adı verilen özellikten kaynaklandığı bildirilmektedir (Venske vd., 2019).



Tahılların ülke ekonomisine katkısı çok yönlüdür. Bu katkılar tarım arazilerinin kullanılmasında, tarımsal üretimde, halkın beslenmesinde, iç ve dış ticarete ve milli gelirde kendini göstermektedir. Bugün dünyadaki ülkelerin büyük bir kısmı buğdayı stratejik bir ürün olarak kabul etmektedir. Buğdayın ekonomik önemi yanında Türkiye için sosyal, kültürel, tarihi değeri de vardır ve Türk insanının başlıca gıda hammaddesidir. Türkiye’de buğday yetiştirilen tüm alanlarda buğdayla bağlantılı en değerli ürün ekmektir. Ekmek, Türk insanının gıda tüketiminde önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle buğdayın diğer ülkelere göre Türkiye için önemi daha fazladır (Kızılaslan, 2004).

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığının (USDA) 2018/19 üretim sezonu Aralık ayı verilerine göre 2,6 milyar ton olan dünya toplam tahıl üretiminin %28’ini buğday üretimi, 432,4 milyon ton olan dünya toplam tahıl ihracatının %42’sini buğday ihracatı oluşturmaktadır. Dünya buğday ekim alanının yaklaşık %55’ini Hindistan, Avrupa Birliği (AB) ülkeleri, Rusya, Çin ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) oluştururken, bu ülkeler dünya buğday üretiminin yaklaşık %66’sını oluşturmaktadır. Dünya buğday ihracatında önemli üretici ülkeler olan AB, Rusya, Kanada ve ABD ilk sıralarda yer alırken Ukrayna ve Avustralya da önemli buğday ihracatı yapan ülkeler arasındadır (TOB, 2019).

Türkiye’de ise tarım yapılabılır alan içerisinde %41’lik payı tahıllar oluştururken toplam tahıl alanı içerisinde %49’luk payı buğday oluşturmaktadır. Türkiye, USDA’nın verilerine göre, 6 milyon tonluk buğday ihracatı ile dünya sıralamasında 9. sırada yer almaktadır ve ülkemizde buğday kendi kendine yeterlilik seviyesi yıllar itibariyle %95-100 arasında seyretmektedir. Ancak bazı yıllar iklim koşullarının elverişsiz olmasından dolayı buğdaya olan talep karşılanamamakta ve ithalat yapılmaktadır. Yıllar itibariyle buğday ithalatındaki artışın temel sebebi iç tüketimi karşılamak değil buğdaya dayalı mamul madde ihracatının giderek artmasıdır (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2018). Buğday insanların beslenmesinde böylesine önem arz etmesine rağmen, son yıllarda üretimi pirinç ve mısır üretiminin gerisine düşmüştür. Gelecekte artacağı öngörülen insan nüfusuna yeterli gelebilmesi için üretiminin artırılması gereklidir (Atar, 2017). Dünyadaki üretim miktarlarına bakıldığında buğdayın mısırdan sonra ikinci sırayı aldığı görülmesine rağmen Türkiye’de buğday üretimi birinci sırada yer almaktadır (Balkan, 2019). Dünyada yaklaşık 14 milyar hektar karasal alan bulunmaktadır. Bu alanların sınırlı bir kısmında tarımsal üretim yapma imkânı vardır. Dünya, üzerinde var olan toprakların azımsanamayacak bir miktarı ise erozyon, toprağın bir yolla kaplanması, yanlış ve aşırı sulama, tuzlanma, organik maddesi ve yapısının bozulması, asitleşme, uygun olmayan kullanımlarla

kirlenme, aşırı kimyasal gübre kullanımı, hatalı toprak işleme vb. yollarla bozulmakta ve gerçek niteliğini kaybetmektedir. Yeni üretim teknikleri ve uygulamalar ortaya koyulmadığı takdirde, 2050 yılında işlenen verimli arazi miktarının 50 yıl öncesinin ancak dörtte biri kadar olacağı ileri sürülmektedir (Özaytekin ve Gezgin, 2015). Dünya nüfusunun gün geçtikçe arttığı göz önünde bulundurulduğunda; şu anki nüfus artış hızıyla, 2050 yılında dünya nüfusunun 10 milyara yaklaşacağı; bununla birlikte dünyadaki açlık oranının da, nüfusun artması ve tarım alanlarının azalmasıyla gün geçtikçe artacağı tahmin edilmektedir. Gelecekte dünya nüfusunun beslenebilmesi için gıda üretiminin artırılması gerekecektir.

Ülkemiz açısından toprak varlığımızı değerlendirecek olursak durum daha da ciddidir. Türkiye, günümüzde üretebildiği pek çok tarımsal ürünü dışarıdan almaya yönelmiştir. Bu durum bir yandan dışa bağımlılığı arttırırken, bir yandan da tarım alanlarının boşalmasına yol açmıştır. Türkiye'nin son 10 yılda toplam tarım alanlarının %4'üne yakını, işlenen tarım alanlarının ise %9'una yakını, tarım alanlarının amaç dışı kullanımı ve yanlış işlemler gibi sebeplerle kaybedilmiştir. Nüfus artış hızının ve kişi başına tahıl tüketiminin yüksek olduğu ülkemizde üretim miktarının arttırılması, bunun için de verimi arttırıcı tedbirlerin alınması gerekmektedir (Bayar, 2018). Yeni alanların tarıma açılmasının mümkün olmadığı ve ülkemizde kullanılan tarım alanlarının maksimum sınırına ulaştığı düşünüldüğünde, üretimi artırmanın en etkili yolunun, birim alandaki verimin artırılmasını sağlayacak olan bitki ıslahı olması kaçınılmazdır (Atar, 2017). Ülkemizde buğday ıslahı ile ilgili ilk çalışmaların 1925 yılında Eskişehir Tohum Islah İstasyonu'nda başladığı bildirilmektedir (Altay, 2006). 1929 yılında Kuru Ziraat Deneme İstasyonu kurulmuş ve ıslah çalışmaları hız kazanmıştır. Ülkemizde geçmişten bu yana yapılan buğday ıslah çalışmaları 2 dönemde değerlendirilmektedir; 1926-1970 arası dönem ve 1970 sonrası dönem. 1926-1970 arası dönemde geliştirilen buğday çeşitlerinden bazıları Sarı Buğday 710, Sertak 52, Kıraç-66 ve Kunderu 1149'dur. 1970 sonrası geliştirilen buğday çeşitlerinden bazıları Cumhuriyet-75, Pamukova-97, Pehlivan, Ceyhan-99, Tosunbey, Amanos-97 ve Fırat-93'tür (Doğal Hayatı Koruma Vakfı [WWF], 2016). Geliştirilen buğday çeşitlerinde tarımsal araştırma enstitülerinin, üniversitelerin ve özel sektördeki firmaların önemli katkıları aşikârdır. Ülkemizde 2016 yılı verilerine göre, tescilli ekmeklik buğday çeşidi sayısı 301 adet ve makarnalık çeşidi sayısı 79 adettir (Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkez Müdürlüğü [TTSM], 2019). Milli çeşit listesinde üniversitemiz Tarla Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilen tescilli NKÜ Ziraat (2015) isimli makarnalık buğday ve NKÜ Ergene (2016), NKÜ Lider (2016) ve NKÜ Asiya (2018) isimli ekmeklik buğday çeşitlerimiz bulunmaktadır.

## 2.2. Genetik Belirteçler ve Kullanım Alanları

Bitki ıslahı, herhangi bir bitki türünde, yetiştirici ve pazar talepleri doğrultusunda, bitkinin istenilen özelliklerinin planlı bir şekilde değiştirilmesi ve geliştirilmesiyle, verim, kalite, hastalık ve zararlılara dayanıklılıklarını artırmak için, insan eliyle uygulanan melezleme ve seleksiyon yöntemlerine verilen genel isimdir (Yorgancılar, Yakışır ve Erkoyuncu, 2015). Başlangıçta bitkilerin fiziksel özellikleri, gözlem ve sezgiye dayalı yöntemlerin kullanıldığı klasik ya da diğer ismiyle geleneksel ıslah, teknolojinin ve yeni tekniklerin geliştirilmesiyle günümüzde bir endüstri haline gelmiştir. Islahçılar, geleneksel ıslah çalışmalarının getirdiği bazı zorlukların aşılmasını sağlayabilecek yeni metotlara yönelmişlerdir. Bu açıdan çok sayıda avantaja sahip olan belirteçler tercih edilmektedir (Altun, 2006).

Moleküler belirteçler, genomun özgül bölgelerinde bulunan, belirli bir genin veya özelliğin yerini belirlemede kullanılan işaretleyiciler olarak tanımlanmaktadır. Belirteçlerin kullanılmasının amacı; bireyde aranan özelliğin olup olmadığını tespit edebilmek için gereken süreyi azaltmak ve güvenilirliği artırmaktır. Ayrıca özelliğin belirlenebilmesi için maliyeti ve işgücünü en aza indirmektir. Eğer DNA düzeyinde ayırt edici özellik tespit edilirse, bitkinin büyümesine gerek kalmadan erken dönemde pozitif seçim yapılabilir (Güleç, Yıldırım ve Sönmezoğlu, 2010). Belirteçlerin;

- Genotip tanımlama,
- Çeşit tescili,
- Islah hatlarının tanımlanması ve tohum saflık testleri,
- Hibrit çeşit saflık testleri,
- Genetik çeşitliliğin belirlenmesi,
- Evrimsel çalışmalar,
- Heterosisin belirlenmesi,
- Akralık düzeylerinin belirlenmesi,
- Gen kaynaklarının genetik kökeni,
- Belirtece dayalı seleksiyon,
- Genetik haritalama,
- Tarımsal performansın belirlenmesi,
- Adaptasyon yeteneğinin tahmini gibi birçok uygulama alanı bulunmaktadır (Altun, 2006; Güleç vd., 2010; Kanlıtepe, Aras ve Duman, 2010; Nadeem vd., 2018).

### **2.2.1. Morfolojik Belirteçler**

Çiçek rengi, tohum rengi, tohum şekli, tohum yapısı, bitki boyu, gibi fenotipik olarak gözlenebilen tarımsal karakterlerin seçiliminde kullanılan işaretleyicilerdir. Morfolojik belirteçlerden veri elde edilmesinin kolay olması, spesifik cihazlara gereksinim duymaması, herhangi bir biyokimyasal ve moleküler yöntemler gerektirmemesi gibi avantajları bulunmasının yanında sayılarının az oluşu, bitki büyüme evrelerinden, çevresel faktörlerden ve genotip-çevre interaksyonlarından etkilenmeleri nedeniyle günümüzde belirli bir amaç için tek başlarına fazla kullanılmamaktadırlar. Bunların yanı sıra birbirine yakın genotipler arasındaki polimorfizm düzeyinin düşük olması ve dominant özellikte olduklarından heterozigot bireyleri birbirinden ayıramamaları da morfolojik belirteçlerin dezavantajlarından (Nadeem vd., 2018; Özşensoy ve Kurar, 2012).

### **2.2.2. Biyokimyasal Belirteçler**

Biyokimyasal belirteçler, temeli proteinlere dayanan işaretleyicilerdir. Depo proteinleri ve enzim proteinleri olarak iki ana grupta incelenmektedirler. Biyokimyasal belirteçlerden biri olan izoenzimler, bir enzimin farklı moleküler ağırlığa ve elektroforetik mobilitateye sahip olan fakat aynı göreve sahip formları veya yapısal varyantlarıdır. Bu belirteçlerin kodominant olmaları, analizlerinin hızlı, ucuz, güvenilir ve tekrarlanabilir olması avantajları arasındadır. En büyük dezavantajları ise sayılarının çok az olması ve sadece özel dokularda ve belirli bir gelişme döneminde gözlenebilmeleridir. Morfolojik belirteçler kullanılarak belirlenen polimorfizm oranlarının nispeten düşük olması ise bir diğer dezavantajdır. Ayrıca, hem proteinler hem de izozimler gen ifadesinin ürünleri olduğu için çevresel etkilerden ve bireysel etmenlerden daha kolay etkilenebilirler bundan dolayı kullanım alanları sınırlıdır. Biyokimyasal belirteçlerin buğday kalite ıslahında kullanımı oldukça yaygındır. Buğdayda kullanılan biyokimyasal belirteçlerden yaygın olarak kullanılanları tohumunda bulunan iki depo protein grubu olan gliadin ve glutenindir. Depo proteinleri bir jel üzerinde hareket ettirilip boyandıklarında genotipler arasında ortaya çıkan farklılıklar genetik belirleyici olarak kullanılabilir. Depo proteinleri buğday ıslahında genellikle seleksiyon amaçlı kullanılmaktadır. Depo protein belirteçlerinde gözlenen farklılıklarla, kalite ve diğer bazı özelliklerin ilişkilendirilmesi ve erken jenerasyonlarda hat seçimi yapılabilmektedir. İzoenzimler ise buğdayda çoğunlukla geliştirilen yeni çeşitlerin ve anaçların tanımlanmasında ayrıca çeşitlerin saflıklarının korunması çalışmalarında kullanılmaktadırlar (Nadeem vd., 2018; Sönmezoğlu, Yıldırım, Güleç ve Kandemir, 2010; Yang, Kang, Yang, Lin ve Fang, 2013).

### 2.2.3. Moleküler Belirteçler

Moleküler belirteçler farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan işaretleyicilerdir. Moleküler belirteçler, morfolojik ve biyokimyasal belirteçlere göre daha güvenilir olmaları, polimorfizm oranlarının yüksek olması, genotip-çevre interaksiyonlarından etkilenmemeleri, bitki gelişiminin her aşamasında kullanılabilmesi, bitkinin olgunlaşmasının beklenmesine gerek olmaması ve geniş bir varyasyon göstermeleri gibi avantajları nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kanlıtepe vd., 2010).

Moleküler belirteçler;

- Restriksiyon enzimleri ile kesilmiş parçaların uzunluk polimorfizmi (RFLP),
- Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA (RAPD),
- Çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP),
- Dizisi etiketlenmiş sekanslar (STS),
- Mikrosatellitler- Basit dizi tekrarları (SSR),
- Basit dizi tekrarları arası polimorfizm (ISSR)
- Bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (CAPS),
- Tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP),
- Amplikon uzunluk polimorfizmi (ALP),
- Dizi ilişkili çoğaltılmış polimorfizm (SRAP),
- Hedef bölge çoğaltım polimorfizmi (TRAP),
- İfade edilmiş dizi etiketleri (EST),
- Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) gibi farklı tekniklerden oluşmaktadır (Filiz ve Koç, 2011; Kanlıtepe vd., 2010).

Moleküler belirteçler, ıslah çalışmalarında bitki seleksiyonu için en uygun araçlardır. Farklı moleküler belirteç çeşitlerinin geliştirilmesi, teknolojik ihtiyaçlardan, laboratuvar ve maddi imkân farklılıklarından, farklı tür özelliklerinden, çalışılmak istenen konuların farklılıklarından ve belirteçlerin birbirlerine kıyasla üstün ve zayıf yönlerinden kaynaklanmaktadır. Moleküler belirteçler birbirleriyle karşılaştırıldığında günümüzde polimorfizm düzeyi oldukça yüksek olduğu için SSR ve SNP belirteçleri daha çok tercih edilmektedir (Sönmezoğlu vd., 2010).

Genomun bir lokusunda tekrarlayan rastgele nükleotit dizilerine kısa ardışık tekrarlar (STR-“Short Tandem Repeat”) denilmektedir. Kısa ardışık tekrarlardan 1-6 bç tekrarlara ise mikrosatellit veya basit dizi tekrarları denir (Liu, 1998; Weber ve May, 1989). SSR veya mikrosatellitler, ökaryotik genomlarda bulunan genomun farklı bölgelerinde ardışık olarak tekrarlanan 1-6 baz çifti uzunluğunda kısa dizilerden (tekrar motiflerinden) oluşmaktadır. Örnek olarak (AT)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub>, (GACA)<sub>n</sub> şeklinde gösterilirler. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizilerinin genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduğu bildirilmektedir. Farklı genotiplerde ortak bulunan tekrar bölgelerinin korunmuş kenar dizilerine özgü primerler kullanılarak DNA’lar polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) çoğaltılmaktadır ve lokuslardaki tekrar motiflerinin sayısından kaynaklanan farklı alleller tespit edilebilmektedir (Gupta, Chyi, Romeo ve Owen, 1994). SSR belirteçlerinin kodominant olması, çok allelli olması, polimorfizm oranının yüksek olması, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, genoma dağılmış olması ve PCR kolaylığına sahip olması en önemli avantajlarını oluştururken; genom bilgisine ihtiyaç duyulması, dizi analizi gerektirmesi, yeni belirteç geliştirmenin güçlüğü, zaman alması ve pahalı olması dezavantajlarını oluşturmaktadır (Röder vd., 1995). SSR polimorfizminin belirlenmesinde, tekrar bölgesinin yan bölgelerine komplementer primerler geliştirilerek PCR analizi yapılır ve elde edilen DNA parçalarının (fragmentlerin) büyüklükleri elektroforetik yöntemler ile belirlenir (Bandelj, Jakse ve Javornik, 2004; Varshney, Graner ve Sorrels, 2005).

Basit dizi tekrarları arası polimorfizm (ISSR), mikrosatellit lokusları arasındaki genom bölgeleri için kullanılan genel bir terimdir. Ökaryotik genomlarda tekrar eden nükleotid birimlerinin, lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını belirlemeyi esas alan bir yöntemdir. ISSR analizinde çok sayıda lokus aynı anda izlenebilmektedir ve 20-60 arasında bant elde edilebilir (Zietkiewicz, Rafalski ve Labuda, 1994). ISSR belirteçleri kullanım avantajları nedeniyle genotiplemede, genetik çeşitlilik çalışmalarında, filogenetik çalışmalarda ve genom haritalarının oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan etkili bir belirteçtir (Reddy, Sarla ve Siddiq, 2002). ISSR analizinde kullanılan primerler herhangi bir tekrar diziden dizayn edilebilir ve özgünlük için tekrar dizilerine baz eklenerek uzatılabilir. ISSR primerlerinin uzunlukları 15-30 nükleotid olabilmektedir (Filiz ve Koç, 2011). ISSR belirteçlerinin kullanımının hızlı ve maliyetinin düşük olması, kolay bir yöntem olması, yüksek derecede güvenilirliğinin olması, ön dizi bilgisine ihtiyaç duyulmaması ve eş zamanlı amplifikasyon yapılabilmesi avantajlarını; dominant olması ise en önemli dezavantajını oluşturmaktadır (Bornet ve Branchard, 2001; Ng ve Tan, 2015; Reddy vd., 2002; Zietkiewicz vd., 1994).

### 2.3. Buğdayda Yapılan Moleküler Çalışmalar

Literatüre baktığımızda çeşitli moleküler belirteçler kullanılarak farklı orijinli buğday çeşit, hat veya genotiplerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesine ve genetik karakterizasyona yönelik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalara bazı örnekler aşağıda verilmiştir.

Prasad, Varshney, Roy, Balyan ve Gupta (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, 6 kıtayı temsil eden 29 farklı ülkeden orijinlenen 55 adet buğday genotipinin; genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi, genotiplerinin tanımlanması ve polimorfizminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 20 SSR belirteci kullanılarak 21 lokusta toplam 155 allel tespit edilmiştir. Ayrıca DNA polimorfizminin tespitinde SSR belirteçlerinin faydalı olduğu bildirilmiştir.

Gao vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada ekmeklik buğdayda 101 EST-SSR belirteci geliştirilmiş ve belirteçlerin 74 tanesinin hüresel yapı, stres toleransı ve depo proteinlerinin sentezi gibi bilinen gen bölgeleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Adana ilinde 2007 yılında yapılan bir çalışmada, 2 *T. urartu*, 51 yabancı kaplıca ve 2 kaplıca genotiplerinin morfolojik, agronomik ve moleküler farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Moleküler karakterizasyonda polimorfizm oranı en yüksek ISSR primerlerinin belirlenmesi için 35 ISSR primeri, 7 kaplıca genotipinde ön taramaya tabi tutulmuştur. Seçilen en polimorfik 16 ISSR primeri 55 buğday genotipinde toplam 88 bant üretmiş ve bunların 79 tanesi polimorfik olarak belirlenmiştir (Aktaş, 2007).

Altıntaş vd. (2008)'nin çalışmasında, 34 adet yerli ve yabancı çeşidin (12 makarnalık buğday, 22 ekmeklik buğday) genetik çeşitliliğini belirlemek için AFLP ve SAMPL belirteci kullanılmıştır. 344 ampikon arasından 214'ü polimorfik bulunmuştur. Çeşitlerin çoğu moleküler olarak benzer saptanmıştır.

Noli, Teriaca, Sanguineti ve Conti (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, buğday genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla; SSR ve AFLP belirteçlerinin, günümüzde kullanımda olan morfolojik belirteçlerle karşılaştırılmaları amaçlanmıştır. Çalışmada 69 buğday hattı, 98 SSR primeri, 7 AFLP primeri ve 27 morfolojik karakter kullanılmıştır.

Salem, El-Zanaty ve Esmail (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, SSR belirteçlerinin morfolojik karakterlerle karşılaştırılmasıyla, buğday genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 7 buğday genotipi, 15 SSR belirteci ve 9 morfolojik belirteç

kullanılarak DNA düzeyinde değerlendirilmiştir. Genotiplerin morfolojik karakterler ve SSR belirteçleri için farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Morfolojik karakterlere dayanan ortalama genetik çeşitlilik, SSR belirteçlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Iqbal, Tabasum, Sayed ve Hameed (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, 48 Pakistan buğday çeşidinin ve 12 yerel hatların genetik çeşitliliği değerlendirilmiş, ekmeklik buğdayda genetik çeşitlilik kaybı incelenmiş ve ulusal buğday yetiştirme programlarının son durumları belirlenmiştir. Her bir buğday kromozomundan en az bir tanesini temsil eden toplam 29 SSR belirteci kullanılarak, genetik çeşitlilik kayıpları ve genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 29 lokusta toplam 80 allel belirlenmiştir. Yerel çeşitlerde ve elit hatlarda önemli derecede genetik çeşitlilik kaybı gözlenmiştir. Araziler arasındaki ortalama genetik benzerlik %61 iken, 1990'dan sonra salınan çeşitler %73 benzerlik göstermiştir. Tüm olası çiftler arasında gözlenen genetik mesafe aralığı 1,41 ile 4,90 arasında bulunmuştur.

Tahir (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı kökenlere sahip 11 buğday çeşidi, 12 SSR belirteci kullanılarak değerlendirilmiştir. Ekmeklik buğday için toplam 18 polimorfik allel ve durum buğdayı için 20 polimorfik allel tespit edilmiştir. Çalışmada genetik benzerlik değeri ekmeklik buğdayda 0,286-1,000, makarnalık buğdayda 0,333-0,818 olarak saptanmıştır.

Najaphy, Parchin ve Farshadfar (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, 30 buğday genotipinin genetik çeşitliliği, 10 ISSR belirteci kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda toplam 86 banttan 69'u (%80,2) polimorfik olarak tespit edilmiştir. Primerlerin çoğunda ortalama PIC değeri 0,21-0,23 olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada değerlendirilen moleküler çeşitliliğin, geleneksel ve moleküler ıslah programlarında faydalı olabileceği belirtilmiştir.

Islam, Haque, Emon, Islam ve Begum (2012)'un çalışmasında, 12 buğday genotipinin, 4 SSR belirteci kullanılarak genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 10 allel tespit edilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri, 0,276 ile 0,541 arasında değişiklik göstermiştir. 12 buğday genotipi için tüm SSR lokuslarında ortalama genetik çeşitlilik, en yüksek 0,604 ve en düşük 0,330 olarak belirlenmiştir.

Spanic, Buerstmayr ve Drezner (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, 30 buğday genotipinin genetik çeşitlilikleri 24 SSR belirteci kullanılarak belirlenmiştir. Locus başına düşen allel sayısı 1 ile 14 arasında, PIC değerleri ise 0,07 ile 0,90 arasında değiştiği



saptanmıştır. En polimorfik SSR belirteci Xgwm681 olarak belirlenmiştir. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinin ıslah programlarının belirlenmesinde önemli olduğu vurgulanmıştır.

Demirel (2013)'in yapmış olduğu tez çalışmasında, Kastamonu'dan örneklenen diploid (*T. monococcum*) ve tetraploid (*T. dicoccum*) kavuzlu buğday köy çeşitlerinin morfolojik özellikleri ve 54 ISSR belirteci kullanılarak moleküler özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 14 ISSR primeri değerlendirilebilir bantlar vermiştir. Kullanılan 14 ISSR primeri ile ortalama polimorfik bant sayısı 10,21 olup ortalama polimorfizm oranı ise %95,42 olarak belirtilmiştir.

Sadigova, Sadigov, Eshghi, Salayeva ve Ojaghi (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Azerbaycan Cumhuriyeti'nin farklı bölgelerinden gelen 33 buğday çeşidinin, 22 RAPD ve 20 ISSR belirteci kullanılarak genetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda en yüksek genetik çeşitliliği gösteren ISSR belirteci ISSR-8, ISSR-11, ISSR-19 olarak belirlenmiştir. Çalışılan iki belirteçte tipinde de yüksek düzeyde polimorfizm tespit edilmiştir. RAPD ve ISSR belirteçleri için ortalama PIC değerleri sırasıyla 0,789 ve 0,863 olarak belirlenmiştir. Genetik çeşitlilik çalışmalarında ISSR analizlerinin RAPD analizlerine göre daha başarılı bulunduğu belirtilmiştir.

Bafghi, Baghizadeh, Mohammadi-Nejad ve Nakhoda (2014)'nın yapmış oldukları bir çalışmada, 20 buğday genotipinin genetik çeşitliliği 126 SSR belirteci kullanılarak değerlendirilmiştir. 126 SSR lokusu için toplam 1557 allel tespit edilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerinin 0,66 ile 0,94 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda buğday genetik çeşitliliğini incelemek için SSR belirteçlerinin etkili olduğu vurgulanmıştır.

Çorum'da 2015 yılında yapılan bir çalışmada, Türkiye'de doğal olarak yetişen ve 9 lokasyondan toplanan yerel emmer buğday [*Triticum turgidum* ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] popülasyonlarına ait örneklerin 9 adet SSR belirteci kullanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda uzunlukları 57-376 bç arasında değişen ve %100 polimorfik toplam 497 allel tespit edilmiştir. Popülasyon içindeki genetik varyasyon %85 iken popülasyonlar arasında %15 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre SSR belirteçlerinin popülasyon genetiği analizlerinde, genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısını belirleme çalışmalarında kullanılabilirliği belirtilmiştir (Demir, 2015).

Khan vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Hindistan ve Türkiye kaynaklı 95 tetraploid ve hekzaploid buğday genotipinin genetik ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 10 ISSR ve 10 RAPD belirteci kullanılmıştır. Çalışma sonucunda toplam 198 lokus (116 ISSR ve 82 RAPD) saptanmıştır. ISSR primerleri arasında, ISSR M3 maksimum sayıda polimorfik bant (16) üretmiştir. Bu çalışmanın, Hindistan ve Türkiye buğday çeşitlerinin genetik ilişkilerini daha iyi anlamaya yönelik ilk çalışma olduğu belirtilmiştir.

Hajiyev vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Azerbaycana ait 110 makarnalık buğday çeşidinin genetik çeşitliliği, 8 ISSR belirteci kullanılarak değerlendirilmiştir. Lokus başına 9 ile 18 arasında değişen toplam 107 allel belirlenmiştir. Çeşitler arasında yüksek polimorfizm (%87) olduğu tespit edilmiştir. ISSR belirteçlerinin genetik çeşitliliğin belirlenmesi çalışmaları için ayırt edici olduğu belirtilmiştir.

Olgun vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, 12 buğday çeşidinin arasındaki genetik mesafelerin belirlenerek ayırımının yapılması amaçlanmıştır. Çalışmada 5 ISSR ve 17 RAPD belirteçleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda ISSR bantlarının polimorfizm ortalamaları %95 olarak belirlenmiştir. RAPD ve ISSR yöntemlerinin genetik çeşitliliği değerlendirmek, yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve sınıflandırılmasında kullanılabilir yöntemler olduğu belirtilmiştir.

Yakışır (2015)'in tez çalışmasında bazı ekmeklik buğday genotiplerinin SSR belirteçleri kullanılarak kurağa karşı dayanıklılıkları belirlenmiştir. Çalışmada 40 SSR lokusundan 10 tanesi kurağa karşı dayanıklılığı belirlemek için seçilmiştir. Yapılan analizler sonucunda Barc004, Barc018, Barc108 ve Wmc596 primerlerinin ayırma gücünün yüksek olduğu ve kuraklığa dayanıklılığın belirlenmesinde ıslah çalışmalarında erken seleksiyona olanak sağlayacağı bildirilmiştir.

Erayman, İlhan, Eren, Güngör ve Akgöl (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye'deki toplam buğday alanının %25'inde yetişen ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik, agronomik ve kalite özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. 24 SSR belirteci kullanılarak toplam 24 buğday çeşidi incelenmiştir. Çalışmada toplam 72 bant, 939 allel belirlenmiştir. Çalışma sonucunda SSR belirteçlerinin türleri ayırt etmede etkili bulunduğu belirtilmiştir.

Mwale, Tang ve Chilembwe (2016)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, 60 adet buğday çeşidinde 60 SSR belirteci kullanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda 276 allel tespit edilmiş ve 48 SSR lokusu polimorfik olarak belirlenmiştir.

Altındal, Altındal ve Akgün (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan dört tritikale çeşidi ve dört tritikale hattı arasındaki genetik uzaklıkların belirlenmesi amacıyla 16 ISSR belirteci kullanılmıştır. Çalışma sonucunda kullanılan genotiplerdeki ortalama polimorfizm oranı %42,27 olarak belirlenmiş; ayrıca, toplamda 41'i polimorfik 97 bant belirlenmiştir. Çalışmada, genotipik benzerlik ve farklılıkların tespitinde ISSR belirteçlerinin oldukça güvenilir ve yararlı bir teknik olduğu belirtilmiştir.

Geboloğlu ve Furan (2017) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 23 adet ekmeklik buğday çeşidinin, 32 SSR belirteci kullanılarak genetik benzerlik ve farklılıklarını moleküler düzeyde saptanması amaçlanmıştır. Yapılan analizlerde 174 polimorfik, 5 monomorfik olmak üzere toplamda 179 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Locus başına düşen allel sayısı 1 (WMC43) ile 12 (WMC153) arasında değişim göstermiştir. Çalışma sonucunda buğday çeşitlerinin tanımlandırılması ve sınıflandırmalarının yapılabilmesi için SSR belirteçlerini kullanılmasının yararlı ve kullanışlı olduğu belirtilmiştir.

Van'da 2017 yılında yapılan bir çalışmada, Irak'ta yetiştirilen on adet ekmeklik buğday genotipinin (*Triticum aestivum* L.) genetik çeşitliliğinin 8 SSR belirteci kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 16'sı polimorfik, 13'ü monomorfik toplam 29 allel tespit edilmiştir. PIC değeri ortalaması 0,387 olarak belirlenmiştir. SSR belirteçlerinin genetik çeşitliliği belirlemede iyi bir araç olduğu vurgulanmıştır (Saadi, 2017).

Fu vd. (2017)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, uzun süre saklanan buğday tohumlarının genetik karakterizasyon çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Çalışmada 37 SSR belirteci ve 16 buğday genotipi kullanılmıştır. SSR analizi sonucunda 449 allel tespit edilmiştir. Buğday tohumlarının çimlenme oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirtilmiştir.

Wang vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, ekmeklik buğdayın atası olarak kabul edilen yabani buğday çeşidinin (*T. urartu*) genetik çeşitliliği ve genom bilgisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada farklı coğrafi bölgelerden toplanan 238 buğday genotipi; morfolojik karakterleri, genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı bakımından incelenmiştir. Çalışmada kullanılan 62 SSR belirteciyle bazı morfolojik özellikler arasında önemli ilişkiler gözlenmiştir. Locus başına düşen allel sayısı 19,37, polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri ise 0,76 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda SSR primerlerinin; önemli özellikleri kontrol eden faydalı

genlerin tanımlanmasında, önemli çeşitlerin korunmasında ve gelecekteki kullanımları için faydalı belirleyiciler olduğu belirtilmiştir.

Abbasov vd. (2018)'nin çalışmasında diploid buğday türlerinin SSR analizi ile genetik ilişkileri belirlenmiştir. Çalışmada *Triticum* türlerine (*Triticum urartu*, *Triticum boeoticum* ve *Triticum monococcum*) ait 139 aksesyon 11 SSR lokusu kullanılarak analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda 111 allel (lokus başına ortalama 10 allel) saptanmıştır. PIC değerleri ise 0,3 ile 0,9 (ortalama 0,62) olarak hesaplanmıştır. Türkiye'den örneklenen 3 genotip yüksek derecede genetik çeşitlilik (PIC=0,6) göstermiştir. Yapılan kümeleme analizi sonucunda 139 aksesyon tür seviyesinde birbirinden ayrılmıştır. *Triticum urartu* ve *Triticum monococcum* aksesyonları arasında coğrafik bölgelere göre herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Salehi, Arzani, Talebi ve Rokhzadi (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, Kuzey ve Batı İran kaynaklı buğday ile yabani akraba olan 3 türe ait 21 genotipin genetik çeşitliliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 30 SSR belirteci kullanılmış ve bunlardan 20 tanesi tür içi ve türler arasında polimorfik bulunmuştur. Lokus başına 5 ile 13 arasında değişen toplam 180 allel çoğaltılmıştır. Tüm lokuslar için genetik çeşitlilik değeri ortalama 0,74 ve 0,90 arasında, polimorfik bilgi içeriği ise ortalama 0,70 ve 0,89 arasında değişmiştir.

Şen ve Sarsu (2018)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, sodyum azid ( $\text{NaN}_3$ ) kullanılarak indüklenen ileri mutant buğday hatlarında (*Triticum aestivum*), genetik çeşitliliğin belirlenmesi için SSR belirteçleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda: ortalama polimorfizm oranı %29,44, polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri 0,82, belirteç indeksi (MI) 1,95 ve belirteç çözünürlük gücü ( $R_p$ ) 1,31 olarak hesaplanmıştır. 28 SSR belirteci arasından ikisi (Xwmc170 ve Xcfd6) en yüksek polimorfizm oranına sahip belirteçler olarak tespit edilmiştir.

Yadav, Vijapura, Dave, Shah ve Memon (2019)'un yapmış oldukları bir çalışmada, 9 buğday genotipinin genetik çeşitliliklerinin 14 SSR belirteci kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. 14 primer arasında bir primer herhangi bir amplifikasyon göstermemiştir. Kalan 13 primer arasında dördü polimorfik bantlar üretmiş ve geri kalan dokuzu monomorfik bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, belirteç yardımcı seleksiyon teknolojisi ile genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinin ve buğday çeşitlerinin tanımlanmasının geleneksel ıslah yaklaşımlarına kıyasla kolay ve hızlı bir yaklaşım olduğu sonucuna varılmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Materyali

Bu araştırma, 2019 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan ekmeçlik buğday çeşitlerine ait tohumlar Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan yerli ve yabancı buğday çeşitleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan buğday çeşitleri

Örnek Kodu	Örnek Adı	Örnek Kodu	Örnek Adı	Örnek Kodu	Örnek Adı
1	Aglica	33	Alka	65	MAY 8462
2	Esperia	34	Artico	66	Nota
3	Genesi	35	Avorio	67	Rumeli
4	Kate A1	36	Bono Dea	68	Saban
5	MAY 8059	37	Dena	69	TT 601
6	Mihelca	38	Enola	70	Venka 1
7	Nogal	39	Fiorino	71	Benostaja 1
8	Tekirdağ	40	Glosa	72	Bereket
9	Tsarevets	41	Hakan 1	73	Delebrad 2
10	Yüksel	42	Iridium	74	Geya 1
11	Antille	43	İnci 20	75	BC Mandica
12	Albatros	44	Kaan	76	Milena
13	Atilla 12	45	Montar	77	Momtchill
14	BC Anica	46	Nina	78	Muratbey
15	Dropia	47	Prostor	79	Nomade
16	Enargo	48	Sarı Mustafa	80	Rebelde
17	Fetih	49	Selimiye	81	Safir
18	Galayeta	50	Tanya	82	Segor
19	Gelibolu	51	Tekira	83	Sagittario
20	Hüseyinbey	52	Turkuaz	84	MV Suba
21	Köprü	53	Yunak	85	Syrena odes'ka
22	Krasunia odes'ka	54	BC Bernarda	86	Viktoria
23	KWS WW-01	55	BC İrena	87	Quality
24	Pehlivan	56	BC Lira	88	NKÜ Asiya
25	Prima	57	BC Tena	89	Maden
26	Saraybosna	58	Deya	90	Sana
27	Sertori	59	NKÜ Ergene	91	Pandas
28	Turan	60	Flamura 85	92	Bora
29	Yubileynaya 100	61	Golia	93	Andino
30	Adagio	62	İveta	94	NKÜ Lider
31	Adelaide	63	KWS WW-02	95	Tina
32	Aldane	64	Lorena	96	Tosunbey

### 3.2. Bitki Materyalinin Çimlendirilmesi

Çalışmada kullanılacak yerli ve yabancı buğday tohumları, her çeşitten 10'ar tane olacak şekilde kırık olmayan, embriyo kararması bulunmayan ve nispeten dolgun olanlarından seçilmiştir. Ekimden önce tohumların yüzey sterilizasyonu manyetik karıştırıcı kullanılarak %5'lik sodyumhipoklorit (NaClO) çözeltisiyle yapılmıştır. 15 dk NaClO çözeltisiyle sterilize edilen tohum örnekleri 3'er kez 5'er dk saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Son durulama işleminden sonra tohumlar süzülerek kurutma kağıdına alınmış ve bir miktar kuruduktan sonra içerisinde kurutma kağıtları bulunan steril petri kaplarına 10 adet/petri olarak ekimleri yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Buğday tohumlarının yüzey sterilizasyonu ve petrilere ekimi

Petrilerin üzerine 4 ml saf su eklenmiştir ve su miktarı azaldıkça petrilere saf su ilavesi yapılmıştır. Çimlenme süresince içerisinde küf oluşumu gözlenen petrilere kurutma kağıtları değiştirilmiştir. Ortalama 6 gün çimlendirilen tohumların 6 cm uzunluğuna ulaşan buğday filizleri, her birey ayrı ayrı olmak üzere, 2 ml'lik steril santrifüj tüplerine stok bitki materyali olarak alınmış ve DNA izolasyonuna kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.2). Daha yavaş gelişen örneklerin hasadı, buğday filizleri yeterli uzunluğa gelinceye kadar bekletilmiştir.

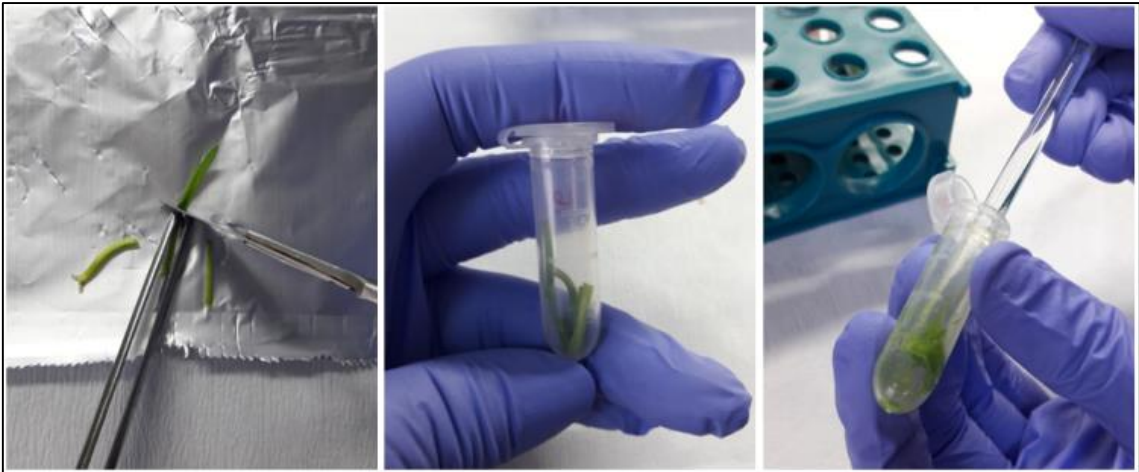


Şekil 3.2. Çimlenen buğday tohumlarının santrifüj tüplerine alınması

### 3.3. DNA İzolasyonu

Yeterli miktarda ve kaliteli DNA elde etmek amacıyla, bu tez çalışması kapsamında manuel DNA izolasyon yöntemi ve bu yöntemin modifikasyonları denenmiştir. Yapılan ön çalışmalar sonucunda Doyle ve Doyle, (1990) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. DNA izolasyonları optimize edildikten sonra yeterli miktar ve kalitede, PCR analizlerinde istenilen kalitede sonuç veren DNA örneği elde edilmiştir.

2 ml'lik santrifüj tüplere hazırlanmış olan buğday örnekleri daha iyi ezilebilmesi için önce bistüri yardımıyla küçük parçalara kesilmiş daha sonra cam çubukla tüp içerisinde iyice ezilerek DNA izolasyonuna hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Buğday örneklerinin bistüri ile parçalanması ve cam çubuk ile ezilmesi

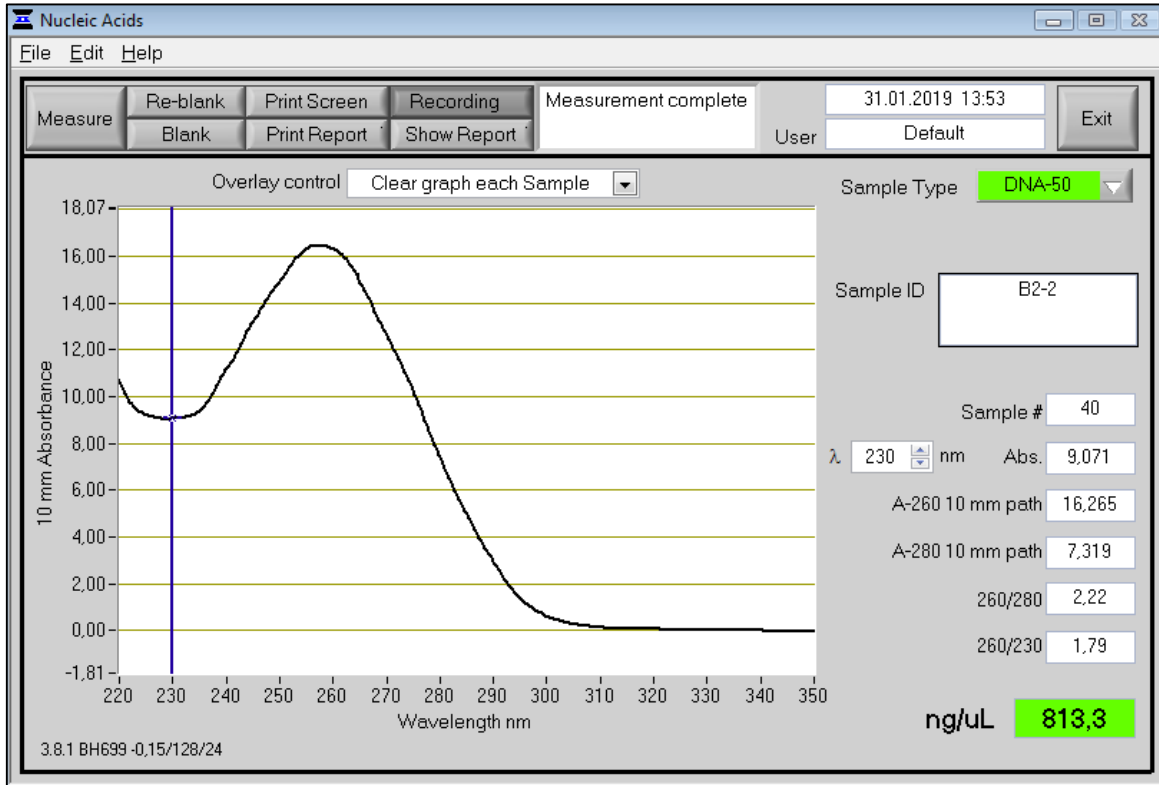
DNA izolasyon yönteminde uygulanan basamaklar şu şekilde sıralanmaktadır:

1. İyice ezilen örneklerin bulunduğu her bir tüp üzerine önceden hazırlanmış ve 65 °C'de bir süre ısıtılmış özütleme tamponundan (200 mM Tris-HCL, 50 mM EDTA, 2 M NaCl, 10 mM  $\beta$ -Mercaptoethanol, %2 CTAB, pH: 8) 800  $\mu$ l eklenmiştir.
2. Örneklerin üzerine 0,025 gr PVP eklendikten sonra iyice karışması için vorteks yapılmıştır.
3. Örnekler 65 °C ısıtıcılı blokta 60 dk 800 rpm'de çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır.
4. İnkübasyon işlemi bittikten sonra örneklerin üzerine 700  $\mu$ l kloroform:izoamilalkol (C:I) (24:1) eklenmiş ve 10 dk vortekslenerek iyice karışması sağlanmıştır.
5. 10 dk 10.000 rpm'de santrifüj yapılmış ve süpernatant 1,5 ml'lik steril santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
6. Örneklerin üzerine 700  $\mu$ l C:I (24:1) eklenmiş ve 10 dk vortekslenerek iyice karışması sağlanmıştır.
7. 10 dk 10.000 rpm'de santrifüj yapılmış ve süpernatant 1,5 ml'lik steril santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
8. Örneklerin üzerine 500  $\mu$ l soğuk isopropanol, 60  $\mu$ l sodyum asetat (3M), 50  $\mu$ l potasyum asetat (5M) eklendikten sonra tüpler nazikçe karıştırılmış ve -20 °C'de 2 saat bekletilmiştir.
9. 10 dk 13.000 rpm'de santrifüj yapıldıktan sonra pelletin düşmemesine dikkat edilerek üstteki sıvı kısım dökülmüştür ve tüpler ters çevrilerek pellet kısa bir süre kurutulmuştur.
10. Pellet nazikçe yerinden oynatıldıktan sonra üzerine 1.000  $\mu$ l etil alkol (%70) eklenmiş ve 10 dk 13.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.
11. Pelletin düşmemesine dikkat edilerek üstteki sıvı kısım dökülmüştür ve tüpler ters çevrilerek pellet bir süre kurutulmuştur.
12. Pellet nazikçe yerinden oynatıldıktan sonra üzerine 1.000  $\mu$ l etil alkol (%70) eklenmiş ve 10 dk 13.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.
13. Pelletin düşmemesine dikkat edilerek üstteki sıvı kısım dökülmüştür ve tüpler ters çevrilerek pellet tamamen kuruyuncaya kadar ortalama 2 saat kurutulmuştur.
14. Pellet 100  $\mu$ l TE (10 Mm Tris-HCL, 1 Mm EDTA, pH:8) tamponu içinde çözülmüş ve 37 °C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
15. İzole edilen DNA'lar PCR işlemine kadar +4 °C'de saklanmıştır.



### 3.4. DNA Miktar ve Kalite Tayini

İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve kalite ölçümleri Nanodrop® 1000 spektrofotometre cihazı (Şekil 3.4) ve Nanodrop Lite Spectrophotometer (ThermoScientific) kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Moleküler Genetik Laboratuvarında ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü Biyometri Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır.



Şekil 3.4. DNA ölçüm sonuçlarının Nanodrop® 1000 (ThermoScientific) spektrofotometre cihazı programdaki görüntüsü

Yapılan ölçümlerin sonucunda DNA miktarları, 173,4 ng/µl ile 1495,0 ng/µl arasında, 260nm/280nm değerleri ise 1,99 ile 2,14 arasında belirlenmiştir (Çizelge 3.2). Elde edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları SSR analizi için 50 ng/µl, ISSR analizi için 10 ng/µl olacak şekilde sulandırılmıştır.

Çizelge 3.2. İzole edilen buğday genomik DNA örneklerinin Nanodrop ölçüm sonuçları

Örnek Kodu	260/280	ng/µl	Örnek Kodu	260/280	ng/µl	Örnek Kodu	260/280	ng/µl
1	2,09	909,0	33	2,08	720,4	65	2,04	409,5
2	2,07	463,9	34	2,05	661,0	66	2,06	485,2
3	2,06	834,1	35	2,07	593,2	67	2,06	492,5
4	2,07	541,9	36	2,05	802,0	68	2,02	581,8
5	2,07	307,2	37	2,05	946,4	69	2,04	468,4
6	2,08	694,8	38	2,06	902,3	70	2,08	303,9
7	2,10	765,1	39	2,07	896,6	71	2,06	429,8
8	2,10	849,5	40	2,11	793,0	72	2,02	302,4
9	2,02	581,4	41	2,06	801,6	73	2,11	197,2
10	2,08	391,8	42	2,05	826,0	74	2,06	236,4
11	2,11	1222,8	43	2,07	1193,0	75	2,04	244,9
12	2,11	1289,1	44	2,07	1096,1	76	2,08	444,8
13	2,07	821,6	45	2,08	1495,0	77	2,01	228,0
14	2,14	867,5	46	2,06	730,2	78	2,08	261,3
15	2,06	936,0	47	2,07	654,3	79	2,02	260,5
16	2,09	936,7	48	2,05	676,4	80	2,04	324,6
17	2,10	1088,6	49	2,06	757,4	81	2,06	227,0
18	2,10	1222,4	50	2,08	953,0	82	2,08	409,3
19	2,09	665,6	51	2,06	914,3	83	2,04	451,7
20	2,10	1180,6	52	2,06	711,3	84	2,06	207,7
21	2,07	1178,6	53	2,01	635,9	85	2,05	682,1
22	2,09	1385,2	54	2,00	495,5	86	2,03	397,2
23	2,07	932,0	55	2,04	226,6	87	2,05	307,6
24	2,07	525,5	56	2,08	175,2	88	2,05	299,7
25	2,10	626,9	57	2,06	248,1	89	2,03	595,1
26	2,08	554,0	58	2,06	290,6	90	2,04	497,3
27	2,07	854,6	59	2,02	285,8	91	2,01	341,4
28	2,03	544,4	60	2,06	411,3	92	2,03	256,7
29	2,14	510,7	61	1,99	448,7	93	2,01	173,4
30	2,07	819,1	62	2,08	183,2	94	2,14	687,4
31	2,07	1031,2	63	2,03	260,2	95	2,06	316,0
32	2,09	938,7	64	2,05	443,8	96	2,12	703,7

### 3.5. SSR Analizleri

#### 3.5.1. SSR Primerlerinin Belirlenmesi

Buğday çeşitlerinin genetik yapısının araştırılması için seçilecek SSR primerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan literatür taramaları sonucunda (Röder vd., 1998, 2002; Song vd., 2005) 8 SSR Primer çifti tez çalışmasında kullanılmak üzere belirlenmiştir. Bu primerlerin belirlenmesinde; primerlerin polimorfizm oranlarının yüksek olması, aynı floresan boya ile işaretlenmiş olan primerlerin multiplex PCR analizinde kullanılabilmesi için PCR ürünü uzunluklarının farklı olması, primerlerin bağlanma sıcaklıklarının birbirine yakın olması ve PIC değerlerinin yüksek olması gibi özellikler dikkate alınmıştır. Belirlenen SSR primer çiftlerine ait bilgiler ve beklenen bant büyüklüğü Çizelge 3.3'te verilmiştir. Kullanılacak SSR lokuslarının analizlerinde M13 işaretleme yöntemi (FAM, NED, PET veya VIC floresan boya ile işaretli) kullanılmıştır (Schuelke, 2000).

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmak üzere belirlenen SSR primerlerine ait bilgiler

SSR Primeri	Primer Dizisi (Sekansı) 5'→3' [F: Forward (İleri) Primer, R: Reverse (Geri) Primer]	Tekrar Motifi	Bant Büyüklüğü
Xgwm136	F: 5'-FAM-GACAGCACCTTGCCCTTTG-3' R: CATCGGCAACATGCTCATC	(CT) <sub>58</sub>	278 bç
Xgwm160	F: 5'-PET-TTCAATTCAGTCTTGGCTTGG-3' R: CTGCAGGAAAAAAGTACACCC	(GA) <sub>21</sub>	184 bç
Xgwm161	F: 5'-NED-GATCGAGTGATGGCAGATGG-3' R: TGTGAATTACTTGGACGTGG	(CT) <sub>15</sub>	154 bç
Xgwm295	F: 5'-NED-GTGAAGCAGACCCACAACAC-3' R: GACGGCTGCGACGTAGAG	(GA) <sub>25</sub>	254 bç
Xgwm312	F: 5'-PET-ATCGCATGATGCACGTAGAG-3' R: ACATGCATGCCTACCTAATGG	(GA) <sub>37</sub>	216 bç
Barc53	F: 5'-VIC-GCGTCGTTCTTTGCTTGTACCAGTA-3' R: GCGCGTCCTTCCAATGCAGAGTAGA	(TAGA) <sub>7</sub>	298 bç
Barc84	F: 5'-VIC-CGCATAACCGTTGGGAAGACATCTG-3' R: GGTGCAACTAGAACGTAAGTCCAGTC	(ATG) <sub>8</sub>	110 bç
Barc319	F: 5'-FAM-GCAGAGCTACGGCAATGT-3' R: GCGTAAGTCCCGGAAGTAACAGAA	(ATT) <sub>25</sub>	208 bç

### 3.5.2. SSR Lokuslarının PCR Analizleri ve Elektroforez

Tez çalışmasında PCR analizlerinde kullanılan primerler için laboratuvar şartlarına uygun gerekli optimizasyonlar yapılmıştır. SSR primerleri için belirlenen optimum reaksiyon içeriği Çizelge 3.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilmiş PCR içeriği

PCR Karışımı	Son Konsantrasyon
DreamTaq Buffer	1X
dNTPler	0,2 mM
M13 Primer	0,2 µM
Geri (R) Primer	0,2 µM
İleri (F) Primer	0,05 µM
DreamTaq DNA Polimeraz	1,5 U
DNA	100 ng

PCR işlemine başlamadan önce kullanılacak kimyasallar hazırlanmıştır. Daha sonra PCR tüplerine 50 ng DNA örneklerinden 2 µl eklenmiştir ve PCR karışımı (mastermix) hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım vorteks yardımıyla iyice karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra PCR tüplerine eşit şekilde dağıtılmıştır. Tüplerin son hacimleri 20 µl olarak ayarlanmıştır. DNA amplifikasyonları Çizelge 3.5’te verilen koşullarda, Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler ve Applied Biosystems® Proflex™ PCR System Thermal Cycler kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilen PCR koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü
94°C	5 dk	1
94°C	30 sn	30
56°C	45 sn	
72°C	45 sn	
94°C	30 sn	10
53°C	45 sn	
72°C	45 sn	
72°C	10 dk	1

PCR ürünleri elektroforez işlemine kadar alüminyum folyoya sarılarak +4 °C’de saklanmıştır. PCR bantlarının istenilen nitelikte olup olmadığını kontrol etmek için elektroforez işlemi yapılmıştır. RedSafe Nucleic Acid Staining Solution içeren %1,5’luk Agaroz jelde, 1X TBE tamponunda ve 90 voltta ortalama 90 dk yürütülmüştür. Daha sonra jeller UV ışık altında Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 cihazında görüntülenmiştir. Bunun sonucunda PCR’ın düzgün çalışıp çalışmadığı ve elde edilen PCR ürünlerinin istenen nitelikte olup olmadığı kontrol edilmiştir.

PCR ürünlerinin DNA parça (fragment) analizleri hizmet alımı ile analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ise GeneMapper Software 5.0 (Applied Biosystems) programı kullanılarak yapılmıştır. DNA parça analizinde PCR ürünlerinin büyüklüğünü belirlemek için 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Life Technologies,UK) cihazı ve büyüklük standardı olarak GeneScan 500 LIZ kullanılmıştır.

### 3.6. ISSR Analizleri

#### 3.6.1. ISSR Primerlerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılmak üzere literatür araştırmaları sonucu (Aktaş, 2007; Altındal vd., 2017; Demirel, 2013) belirlenen ISSR primerlerine ait bilgiler Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılmak üzere belirlenen ISSR primerlerine ait bilgiler

ISSR Primeri	Primer Dizisi (Sekansı)	T <sub>M</sub> (°C)
UBC811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	58
UBC823	TCT CTC TCT CTC TCT CA	56
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	54
UBC844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	54

$T_M = \text{DNA'nın erime sıcaklığı}$

#### 3.6.2. ISSR Lokuslarının PCR Analizleri ve Elektroforez

Tez çalışmasında PCR analizlerinde kullanılan primerler için laboratuvar şartlarına uygun gerekli optimizasyonlar yapılmıştır. ISSR primerleri için belirlenen optimum reaksiyon içeriği Çizelge 3.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri için optimize edilmiş PCR içeriği

PCR Karışımı	Son Konsantrasyon (1X)
DreamTaq Buffer	1X
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
dNTPler	0,2 mM
Primer	0,2 µM
DreamTaq DNA Polimeraz	1,5 U
DNA	20 ng

PCR işlemine başlamadan önce kullanılacak kimyasallar hazırlanmıştır. Daha sonra PCR tüplerine 10 ng DNA örneklerinden 2 µl eklenmiştir ve PCR karışımı (mastermix) hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım vorteks yardımıyla iyice karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra PCR tüplerine eşit şekilde dağıtılmıştır. Tüplerin son hacimleri 10 µl olarak ayarlanmıştır. DNA amplifikasyonları Çizelge 3.8’de verilen koşullarda, Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler ve Applied Biosystems® Proflex™ PCR System Thermal Cycler kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri için optimize edilen PCR koşulları

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
95	4 dk	1
95	1 dk	40
T <sub>M</sub>	1 dk	
72	1 dk 30 sn	
72	10 dk	1

*T<sub>M</sub>* = DNA'nın erime sıcaklığı

PCR ürünleri elektroforez işlemine kadar +4 °C’de saklanmıştır. Daha sonra PCR bantlarının değerlendirilmeleri için elektroforez işlemi yapılmıştır. PCR ürünleri RedSafe Nucleic Acid Staining Solution içeren %1,2’lik agaroz jelde, 1X TBE tamponunda ve 90 voltta ortalama 120 dk yürütülmüştür. Daha sonra jeller UV ışık altında Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 cihazında görüntülenmiştir. Jellerde görülen bant büyüklükleri görüntüleme sistemine ait programda belirlenmiştir. DNA standardı olarak 250 ile 10.000 bp arasında bantlar içeren DNA standardı (Generuler™ 1 kb DNA ladder) kullanılmıştır.

### 3.7. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışılan SSR ve ISSR lokuslarının polimorfizm oranının belirlenmesinde lokustaki allel sayısı ölçüt olarak alınmıştır. Polimorfik lokuslar ikiden daha fazla allele sahip lokuslardır. İstatistiksel analizlerde polimorfik lokuslar ve polimorfizm yüzdeleri, polimorfik lokuslarda gözlenen allel sayısı (NoA), Nei (1987)'nin heterozigotluk ve Shannon sabiti (I) hesaplanmıştır. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) lokusların allelik çeşitliliğini ölçen, kullanılan primerlerin polimorfizmi hakkında bilgi veren ve primerin etkinlik derecesini ifade eden bir parametredir. PIC değeri, bir lokustaki allel sayısına ve allellerin popülasyondaki dağılımına göre değişiklik gösterebilmektedir. Tez çalışmamızda kullanılan bireylerdeki her bir lokus için polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri Botstein, White, Skolnick ve Davis (1980)'in formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Çalışmadaki her bir örnek için SSR ve ISSR belirteç analizleri sonucunda belirlenen allellerin gözlenmesi durumunda allel var (1) veya gözlenmemesi durumunda allel yok (0) şeklinde skorlama yapılarak istatistiksel analizler yapılmıştır.

İstatistiki değerlerin hesaplanmasında ve uygun veri analizlerin yapılmasında GenAEx [(Version 6.5) (<http://biologyassets.anu.edu.au/GenAEx/Download.html>)] (Peakall ve Smouse, 2006) istatistik yazılım programından yararlanılmıştır. Elde edilen sonuçların daha net bir şekilde ortaya konulabilmesi için Nei'nin genetik mesafe kat sayısı ve hatların genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) kümelendirme yöntemi kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur (Işık, Semiz ve Kurt, 2005; Sneath ve Sokal, 1973). Uzaklık matris ve dendrogramın oluşturulmasında NTSYS-pc Versiyon 2.2 (Numerik Taksonomi Çok Değişkenli Analiz sistemi, Exeter Software, Setauket, N.Y.) bilgisayar programı kullanılmıştır. Bu yöntemler genellikle nümerik taksonomide farklı taksonların (alt tür, tür veya daha üst düzey taksonomik birimlerin) birbirleriyle olan benzerlik ve farklılık derecelerini bulmak için kullanılmaktadır (Sneath ve Sokal, 1973).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

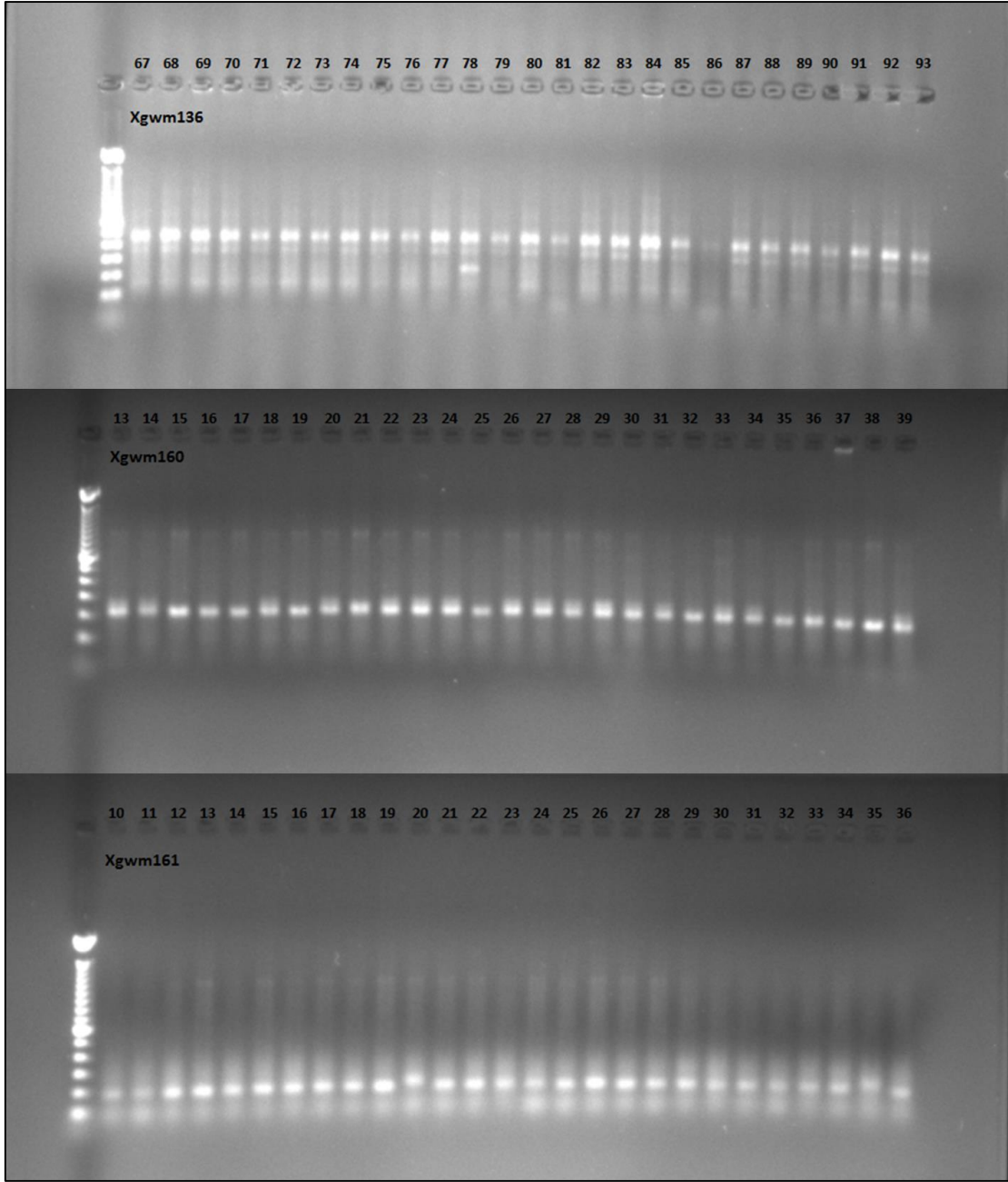
### 4.1. SSR Lokuslarına ait Allellerin Belirlenmesi

SSR primerlerine ait her bir primer bir lokus ve her bir primerin çoğalttığı farklı uzunluklardaki DNA parçaları da tek bir allel olarak değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında analiz edilen 8 SSR primeri için, 96 buğday çeşidinin her birinin sahip olduğu alleller tespit edilmiş ve frekansları ayrı ayrı hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). SSR lokuslarına ait agaroz jel görüntüleri Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’de verilmiştir. Çalışılan 8 SSR lokusuna (Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136, Xgwm160, Xgwm161, Xgwm295 ve Xgwm312) ait alleller ve baz çifti (bç) olarak büyüklükleri belirlenmiştir. Çalışılan 8 SSR primerinden 5 tanesi (Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136, Xgwm295) monomorfik, 3 tanesi (Xgwm160, Xgwm161, Xgwm312) ise polimorfik olarak belirlenmiştir. Analizi yapılan buğday genotiplerine ait 8 lokus için toplam 18 allel tespit edilmiştir. Çalışılan primerlerden en çok allel (8) Xgwm161 primerinde, en az allel (1) ise olan Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136 ve Xgwm295 primerlerinde gözlenmiştir. Xgwm160 primerinde 3 allel ve Xgwm312 primerinde 2 allel belirlenmiştir.

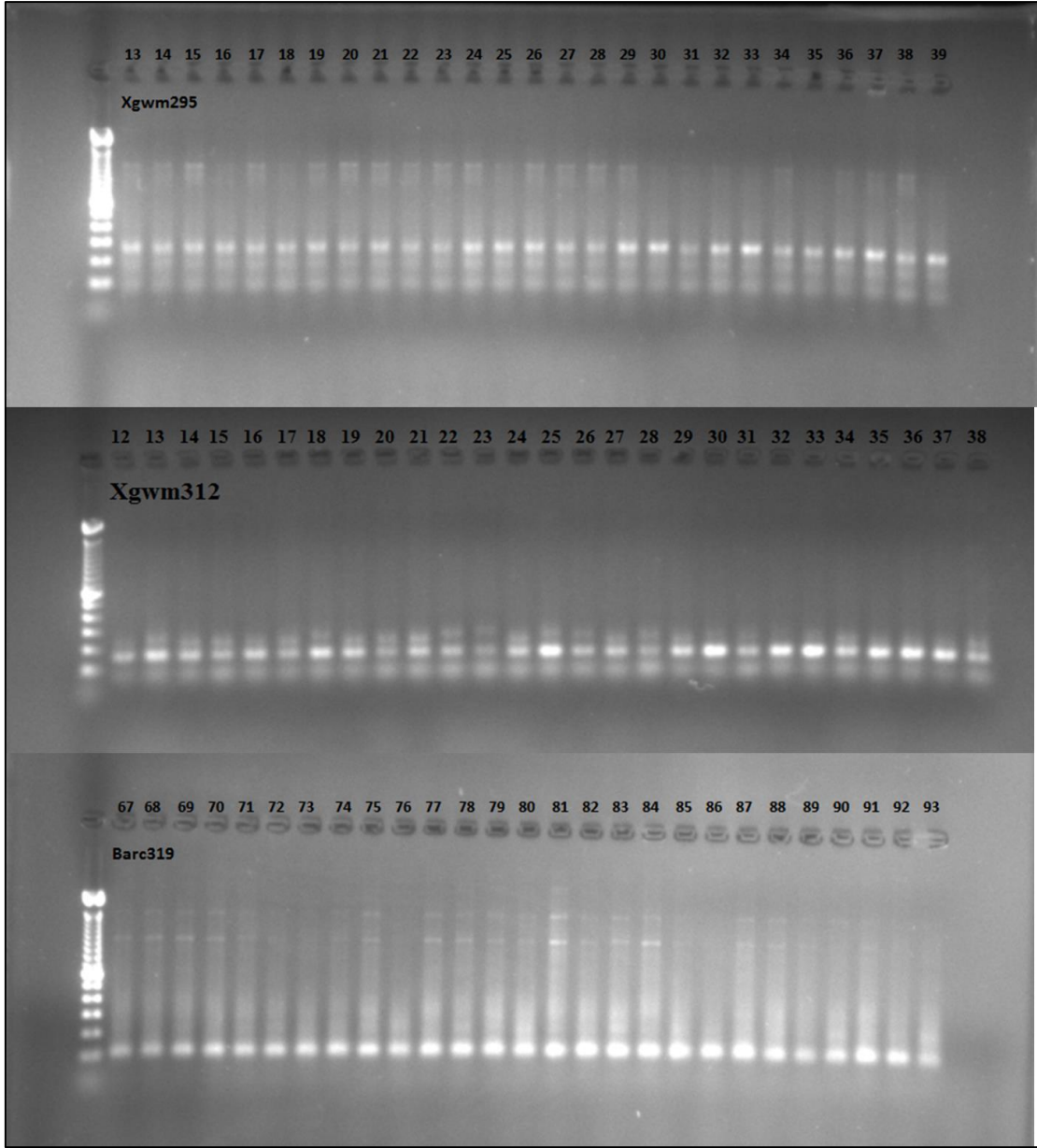
Çizelge 4.1. Tez çalışmasında analiz edilen 8 SSR lokusuna ait allel frekansları

SSR Lokusu	Allel	Allel Frakansları (f)
<b>Barc53</b>	320	1,000
<b>Barc84</b>	119	1,000
<b>Barc319</b>	209	1,000
<b>Xgwm136</b>	342	1,000
<b>Xgwm160</b>	198	0,521
	202	0,469
	208	0,104
<b>Xgwm161</b>	169	0,313
	171	0,510
	173	0,063
	187	0,052
	189	0,021
	191	0,010
	193	0,031
	195	0,010
<b>Xgwm295</b>	250	1,000
<b>Xgwm312</b>	136	0,990
	138	0,010

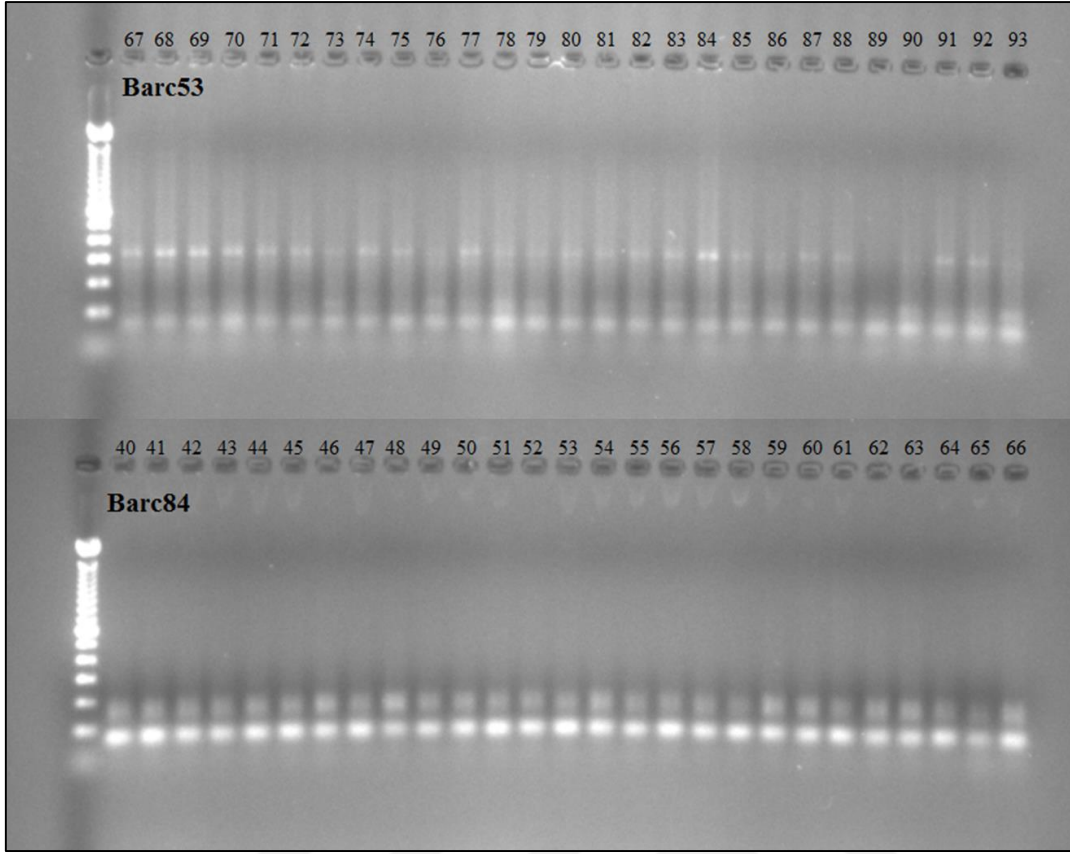




Şekil 4.1. Xgwm136, Xgwm160 ve Xgwm161 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'lük agaroz jel görüntüleri



Şekil 4.2. Xgwm295, Xgwm312 ve Barc319 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'luk agaroz jel görüntüleri



Şekil 4.3. Barc53 ve Barc84 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel görüntüleri

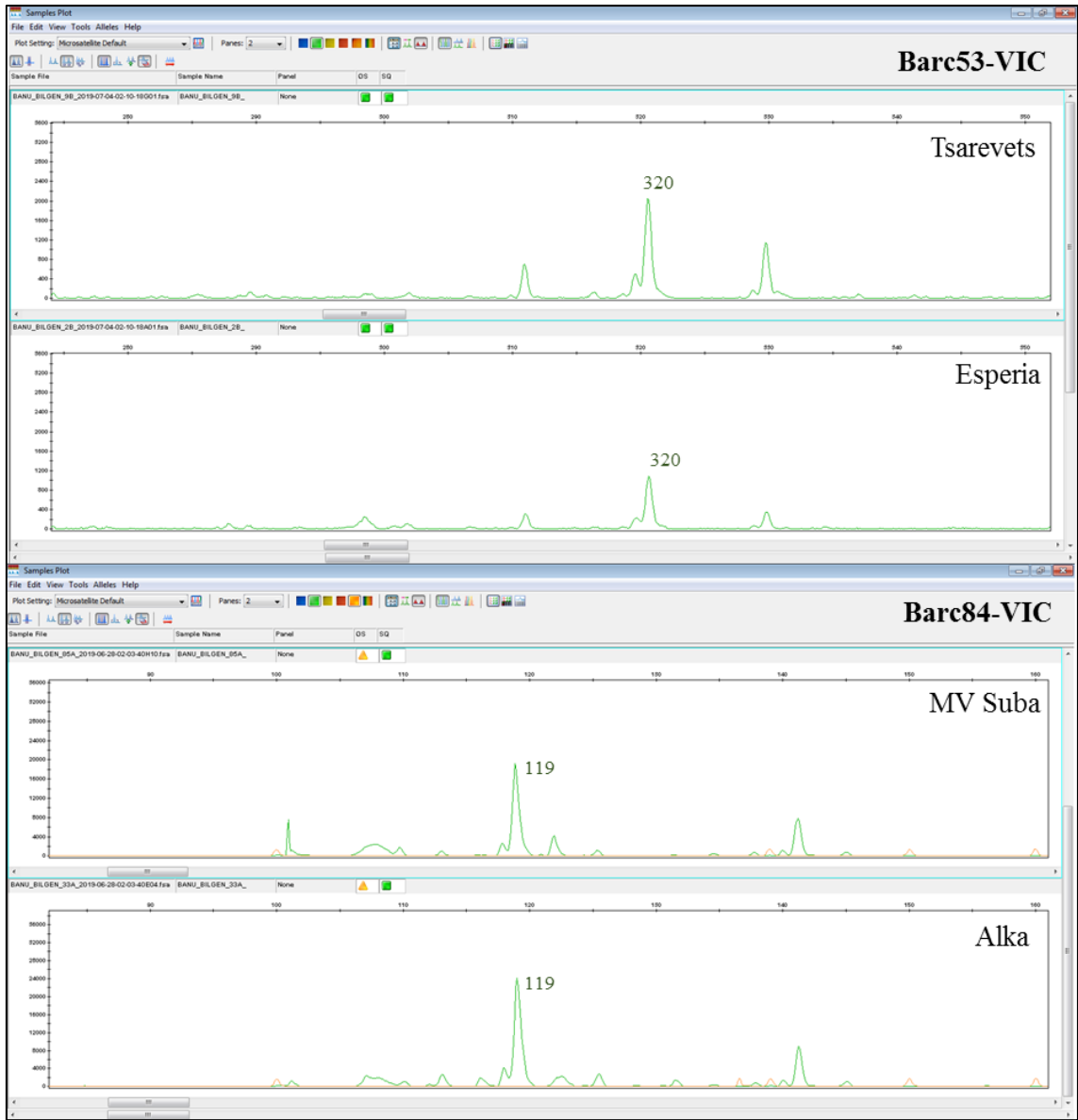
PCR ürünlerinin DNA parça (fragment) analizleri sonuçları elde edilen bazı allellerin elektroferogram görüntüleri Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Barc53, Barc84, Barc319, Xgwm136 ve Xgwm295 primerleri için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında sırasıyla 320, 119, 209, 342 ve 250 bç büyüklüklerindeki allel frekanslarının en yüksek değere ( $f=1$ ) sahip olduğu gözlenmiş ve bu alleller tez çalışmamızda kullanmış olduğumuz tüm buğday genotiplerinde görülmüştür.

Xgwm160 lokusunda 198, 202 ve 208 bç uzunluğunda 3 allel gözlenmiş, 198 bç'lik allel %52 oranında, 202 bç'lik allel %47 oranında, 208 bç'lik allel %10 oranında görülmüştür. 208 bç'lik allel Esperia, Genesi, May8059, Gelibolu, Bona Dea, Hakan 1, Prostor, Sarı Mustafa, Delebrad 2 ve BC Mandica çeşitlerinde gözlenmiştir. Esperia, May8059, Gelibolu, Prostor, Sarı Mustafa, Delebrad 2 ve BC Mandica Xgwm160 lokusu bakımından heterozigot genotipe sahiptir (198/202bç). Tez çalışmasında kullanılan çeşitlerin 87 tanesi Xgwm160 lokusu bakımından homozigot olarak gözlenmiştir.

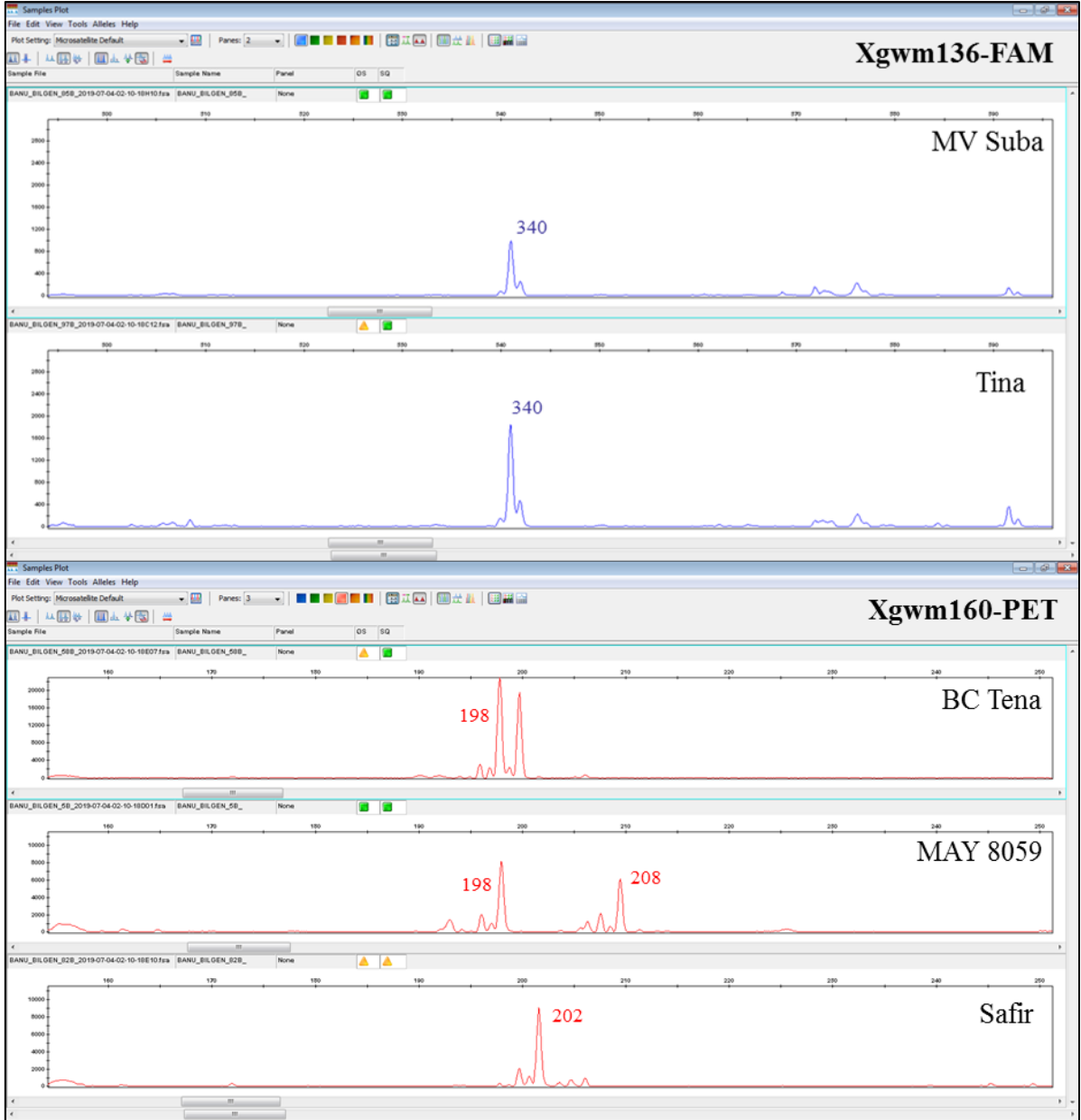
Xgwm161 lokusunda 169, 171, 173, 187, 189, 191, 193 ve 195 bç uzunluğunda 8 allel gözlenmiştir. 191 ve 195 bç'lik alleller 0,01 frekans ile nadir allellerdir ve sadece birer çeşitte

(sırasıyla Safir ve Avorio) gözlenmiştir. Bu primer için hesaplanan allel frekansları değerlendirildiğinde, 169 bp'lik allel %31 oranında, 171 bp'lik allel %51 oranında, 173 bp'lik allel %6 oranında, 187 bp'lik allel %5 oranında, 189 bp'lik allel %2 oranında, 193 bp'lik allel %3 oranında görülmüştür.

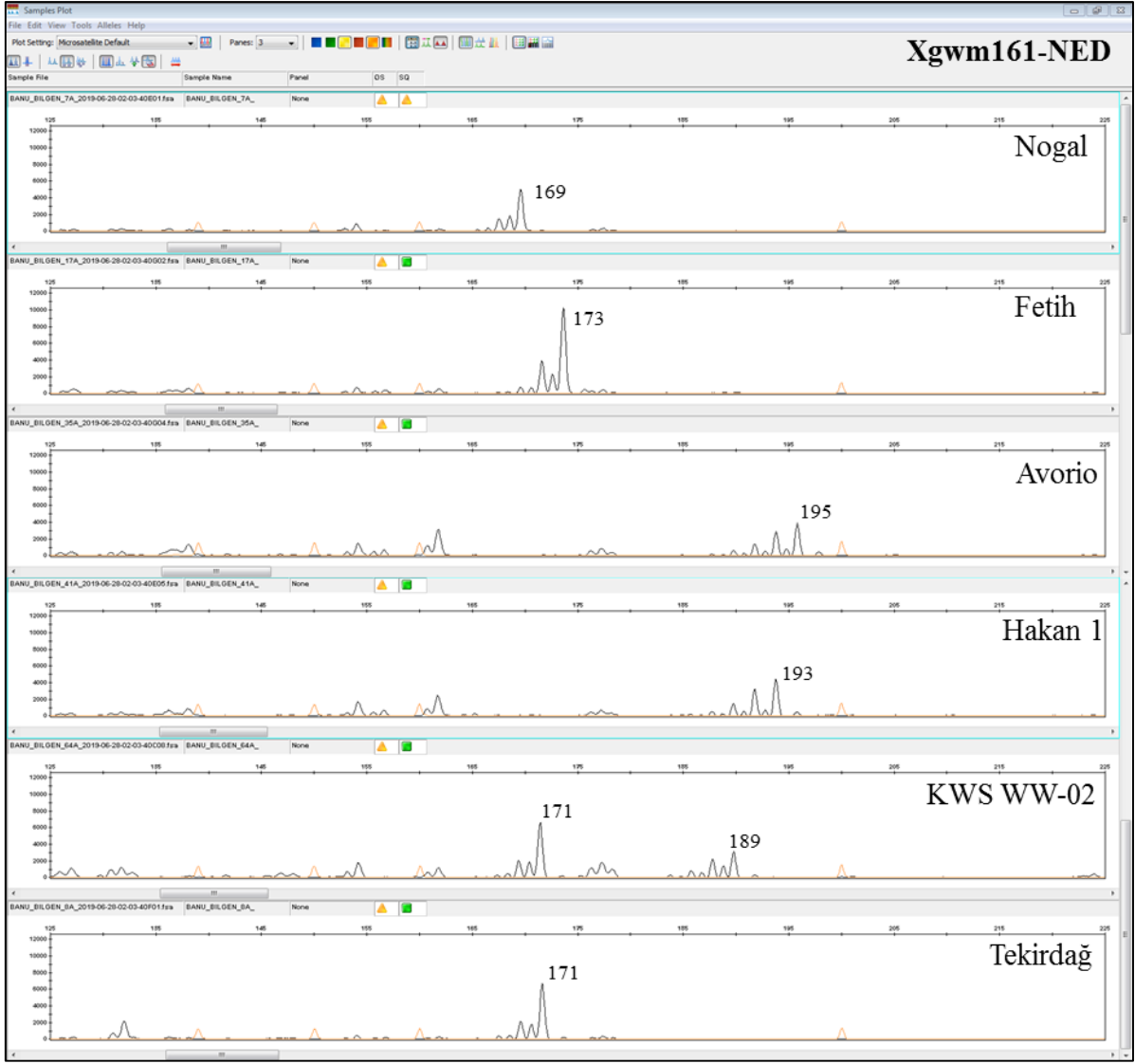
Xgwm312 lokusunda 136 ve 138 bp'lik alleller gözlenmiştir. Xgwm312 primerinde bulunan, 136 bp'lik allel tez çalışmamızda kullanmış olduğumuz buğday genotiplerinden Albatros örneği hariç hepsinde, 138 bp'lik allel ise tam tersine yalnızca Albatros örneğinde görülmüştür.



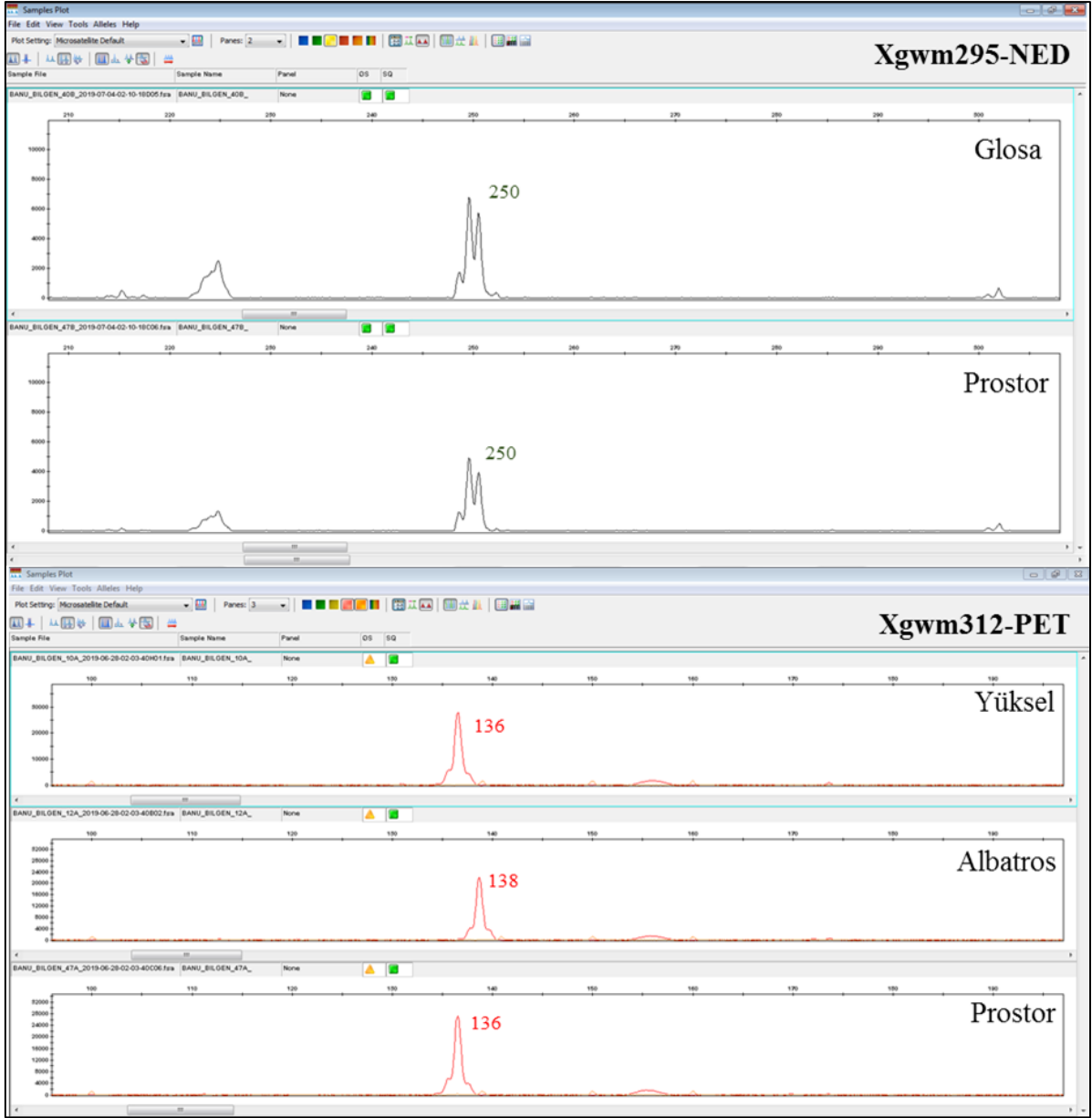
Şekil 4.4. Barc53 ve Barc84 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü



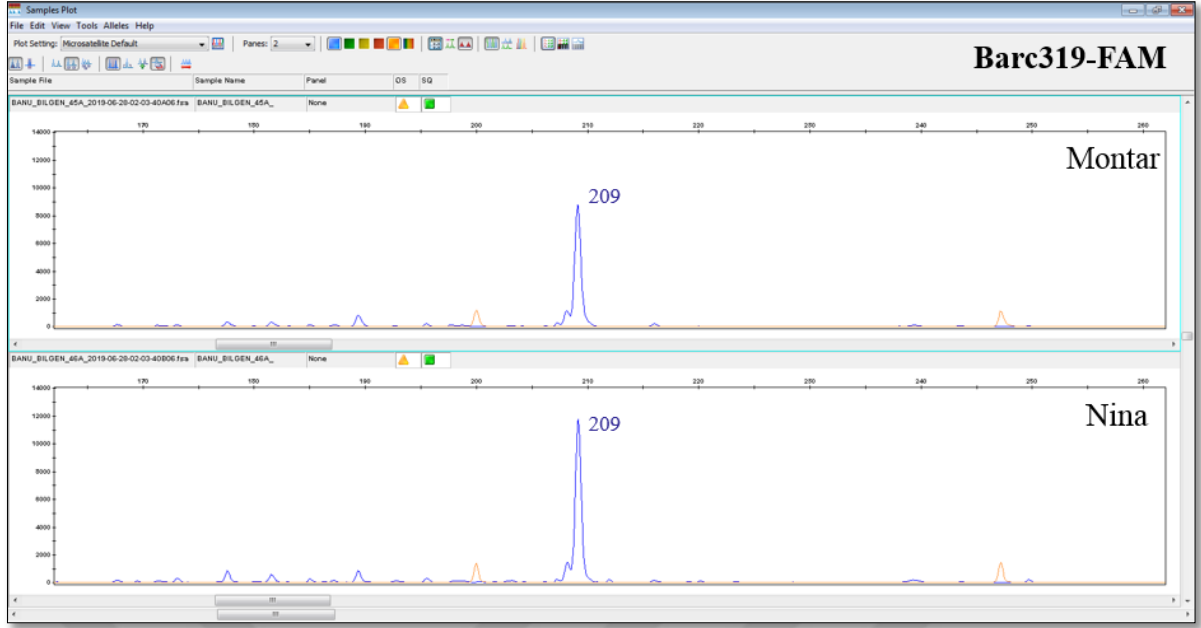
Şekil 4.5. Xgwm136 ve Xgwm160 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.6. Xgwm161 primerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.7. Xgwm295 ve Xgwm312 primerlerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 4.8. Barc319 primerine ait allellerin elektroferogram görüntüsü

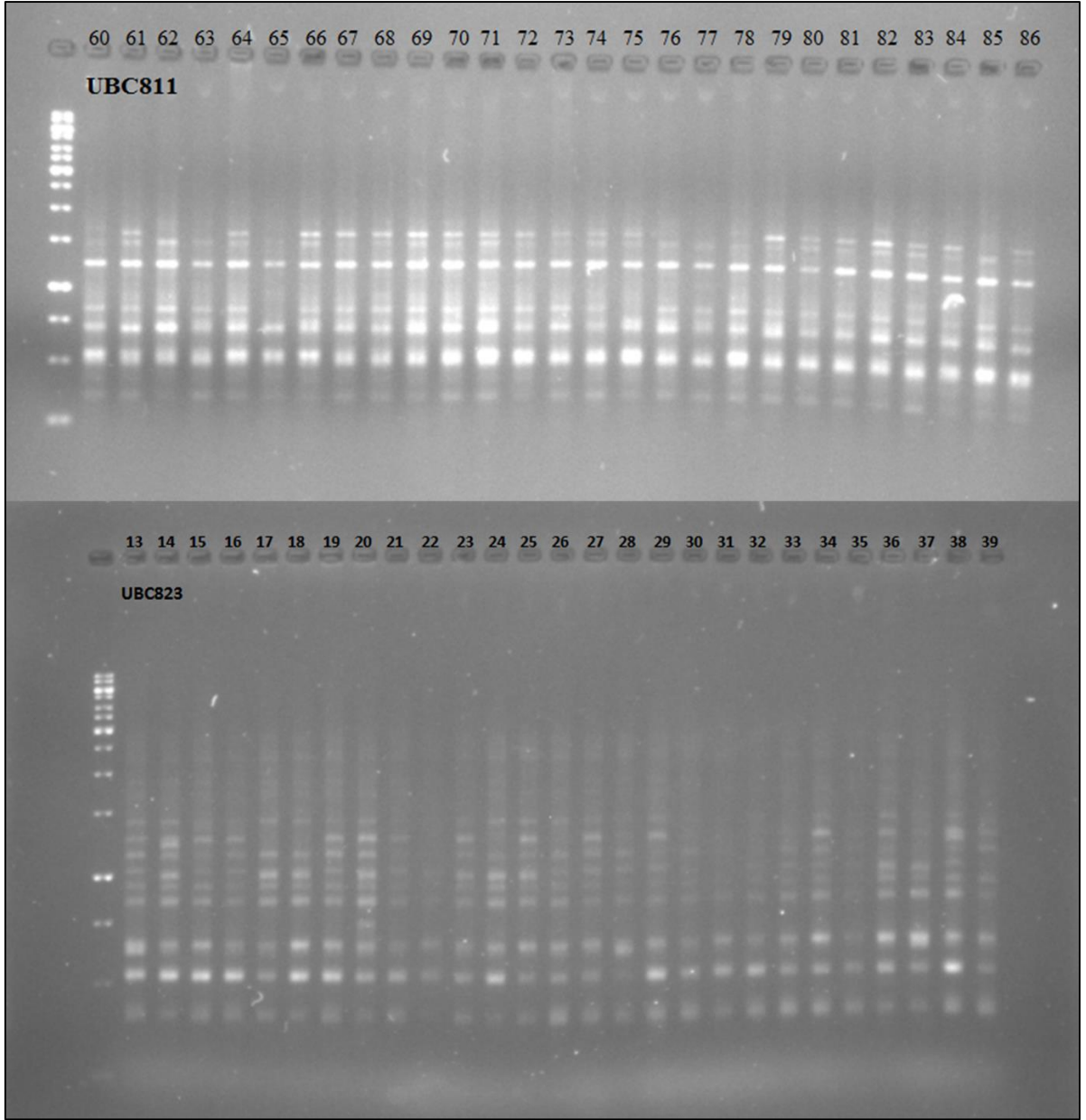
#### 4.2. ISSR Primerlerine ait Bantların Belirlenmesi

ISSR analizi sonucu elde edilen değerlendirilebilir bantlar ve frekansları ayrı ayrı hesaplanmış ve Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çalışılan 4 ISSR lokusuna (UBC811, UBC823, UBC835 ve UBC844) ait bantlar ve baz çifti (bç) olarak büyüklükleri belirlenmiştir. Analizi yapılan buğday genotiplerine ait 4 ISSR primeri için toplam 40 bant tespit edilmiştir. Çalışılan primerlerden en çok bant (12) UBC844 primerinde, en az bant (8) ise UBC811 primerinde gözlenmiştir. UBC823 ve UBC835 primerlerinde ise 10 bant belirlenmiştir. ISSR lokuslarına ait agaroz jel görüntüleri Şekil 4.9 ve 4.10’da verilmiştir.

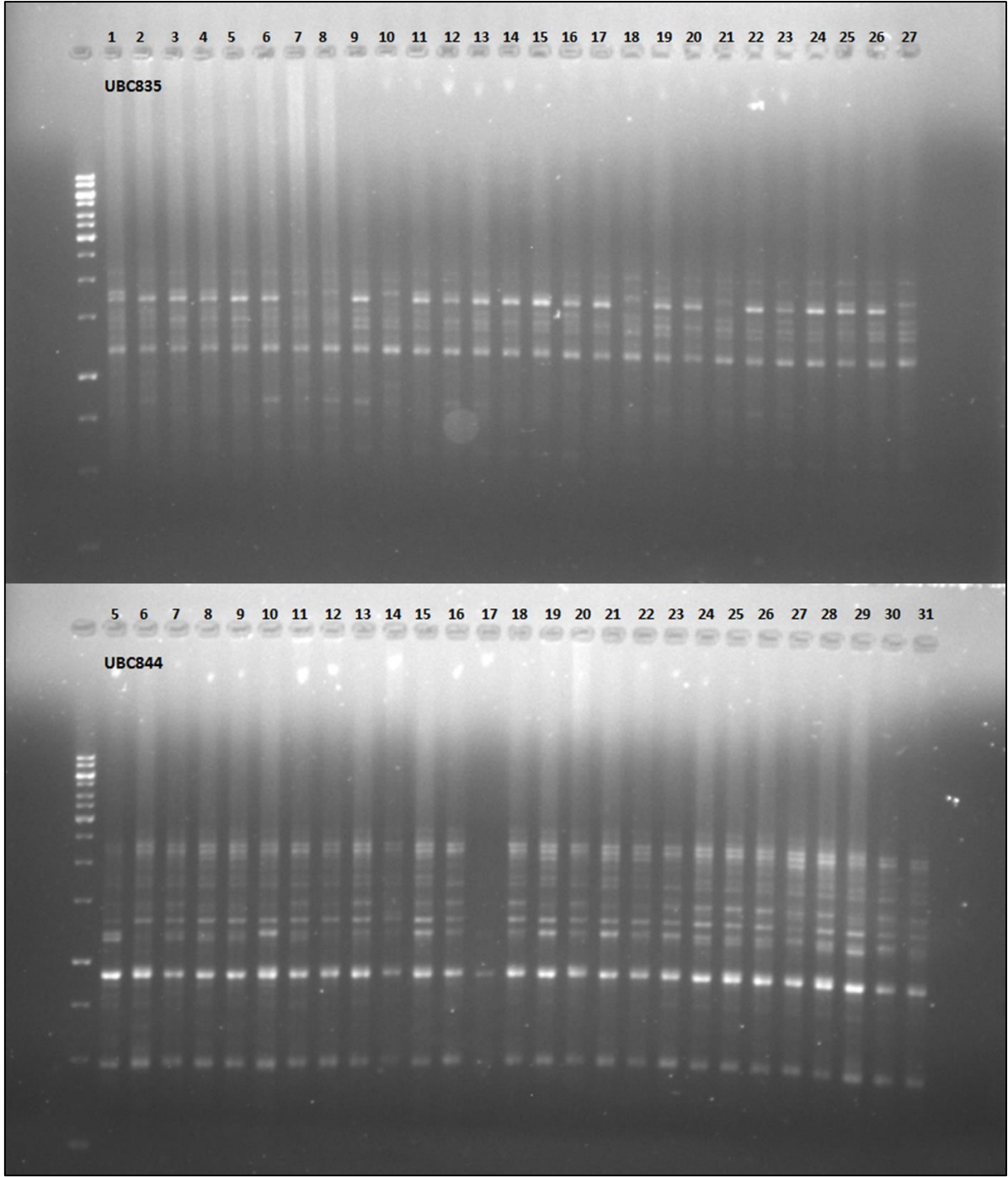


Çizelge 4.2. Tez çalışmasında analiz edilen 4 ISSR primerine ait bant frekansları

<b>ISSR Primeri</b>	<b>Bant</b>	<b>Bant Frekansı (f)</b>
<b>UBC811</b>	1600	0,656
	1500	0,885
	1350	0,073
	1260	1,000
	936	0,104
	820	0,906
	700	1,000
	515	0,990
<b>UBC823</b>	1420	0,688
	1290	0,708
	1160	0,823
	1040	0,823
	960	0,958
	890	0,990
	760	0,010
	650	1,000
	536	1,000
	402	1,000
<b>UBC835</b>	2148	0,542
	2000	0,542
	1839	0,656
	1745	0,802
	1581	0,719
	1489	0,875
	1427	0,656
	1324	0,302
	1215	0,979
	847	0,490
<b>UBC844</b>	2390	0,990
	2300	0,990
	2200	0,208
	1700	0,323
	1600	0,781
	1400	0,854
	1300	0,875
	1200	0,865
	1150	0,135
	900	1,000
	750	0,521
	480	1,000



Şekil 4.9. UBC811 ve UBC823 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,2'lik agaroz jel görüntüleri



Şekil 4.10. UBC835 ve UBC844 primerlerine ait PCR ürünlerinin %1,2'lik agaroz jel görüntüleri

UBC811 primerinde 1260 ve 700 bç'lik bantlar kullanmış olduğumuz buğday genotiplerinin tamamında görülmüştür. 515 bç'lik bant ise Andino çeşidi hariç bütün çeşitlerde saptanmıştır ( $f=0,99$ ). UBC811 primerinde belirlenen diğer bantlar; 1600 bç'lik bant %65 oranında, 1500 bç'lik bant %88 oranında, 1350 bç'lik bant %7 oranında, 936 bç'lik bant %10

oranında ve 820 bç'lik bant %90 oranında gözlenmiştir. UBC811 primerinin polimorfizm oranı %75 olarak hesaplanmıştır.

UBC823 primerinde 650, 536 ve 402 bç'lik bantlar çalışılan buğday çeşitlerinin tamamında gözlenmiştir. 1420 bç'lik bant %68 oranında, 1290 bç'lik bant %70 oranında, 1160 bç'lik bant %82 oranında, 1040 bç'lik bant %82 oranında, 960 bç'lik bant %95 oranında görülmüştür. 890 bç'lik bant tez çalışmamızda kullanmış olduğumuz buğday genotiplerinden Tanya örneği hariç hepsinde ( $f=0,99$ ), 760 bç'lik bant ise yalnızca Hüseyinbey örneğinde görülmüştür ( $f=0,01$ ). UBC823 primerinin polimorfizm oranı %70 olarak hesaplanmıştır.

UBC835 primerinde bulunan, 2148 bç'lik bant %54 oranında, 2000 bç'lik bant %54 oranında, 1839 bç'lik bant %65 oranında, 1745 bç'lik bant %80 oranında, 1581 bç'lik bant %71 oranında, 1489 bç'lik bant %87 oranında, 1427 bç'lik bant %65 oranında, 1324 bç'lik bant %30 oranında, 1215 bç'lik bant %97 oranında, 847 bç'lik bant %49 oranında görülmüştür. 1324 bç'lik bant en düşük frekansa sahip ( $f=0,302$ ) banttir. UBC835 primerinin polimorfizm oranı %100 olarak hesaplanmıştır.

UBC844 primerinde 900 ve 480 bç'lik bantlar kullanılan çeşitlerin tamamında saptanmıştır. 2200 bç'lik bant %20 oranında, 1700 bç'lik bant %32 oranında, 1600 bç'lik bant %78 oranında, 1400 bç'lik bant %85 oranında, 1300 bç'lik bant %87 oranında, 1200 bç'lik bant %86 oranında, 1150 bç'lik bant %13 oranında, 750 bç'lik bant %52 oranında görülmüştür. 2390 ve 2300 bç'lik bantlar Fetih çeşidi hariç çalışmada kullanılan tüm buğday çeşitlerinde gözlenmiştir. UBC844 primerinin polimorfizm oranı %83,3 olarak hesaplanmıştır.

### **4.3. Genetik Çeşitlilik Parametreleri**

Çalışma kapsamında kullanılan 8 SSR ve 4 ISSR primerine ait genetik parametreler Çizelge 4.3'te verilmiştir. Analizi yapılan buğday genotiplerine ait 8 SSR lokusunda lokus başına düşen ortalama allel sayısı 2,25 olarak hesaplanmıştır. ISSR analizinde ise 4 ISSR primerin için ortalama bant sayısı 10 olarak hesaplanmıştır. SSR lokusları için ortalama PIC değeri en yüksek Xgwm161 primerinde (0,583), en düşük Xgwm312 primerinde (0,022) hesaplanmıştır. ISSR için ortalama PIC değeri en yüksek UBC835 primerinde (0,298), en düşük UBC811 primerinde (0,148) hesaplanmıştır. SSR ve ISSR sonuçları birlikte değerlendirildiğinde ortalama PIC değeri 0,269 olarak hesaplanmıştır. Polimorfizm oranı SSR primerlerinde %37,5 ve ISSR primerlerinde %82,5 olarak hesaplanmıştır. SSR ve ISSR

sonuçları birlikte değerlendirildiğinde polimorfizm oranı %79,31 olarak saptanmıştır. Kullanılan primerlerin buğday genotiplerindeki polimorfizm oranları karşılaştırılacak olursa, ISSR primerlerinin SSR primerlerine göre daha yüksek oranda polimorfik olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3. Tez çalışmasında kullanılan 8 SSR ve 4 ISSR primerlerine ait bazı genetik parametreler

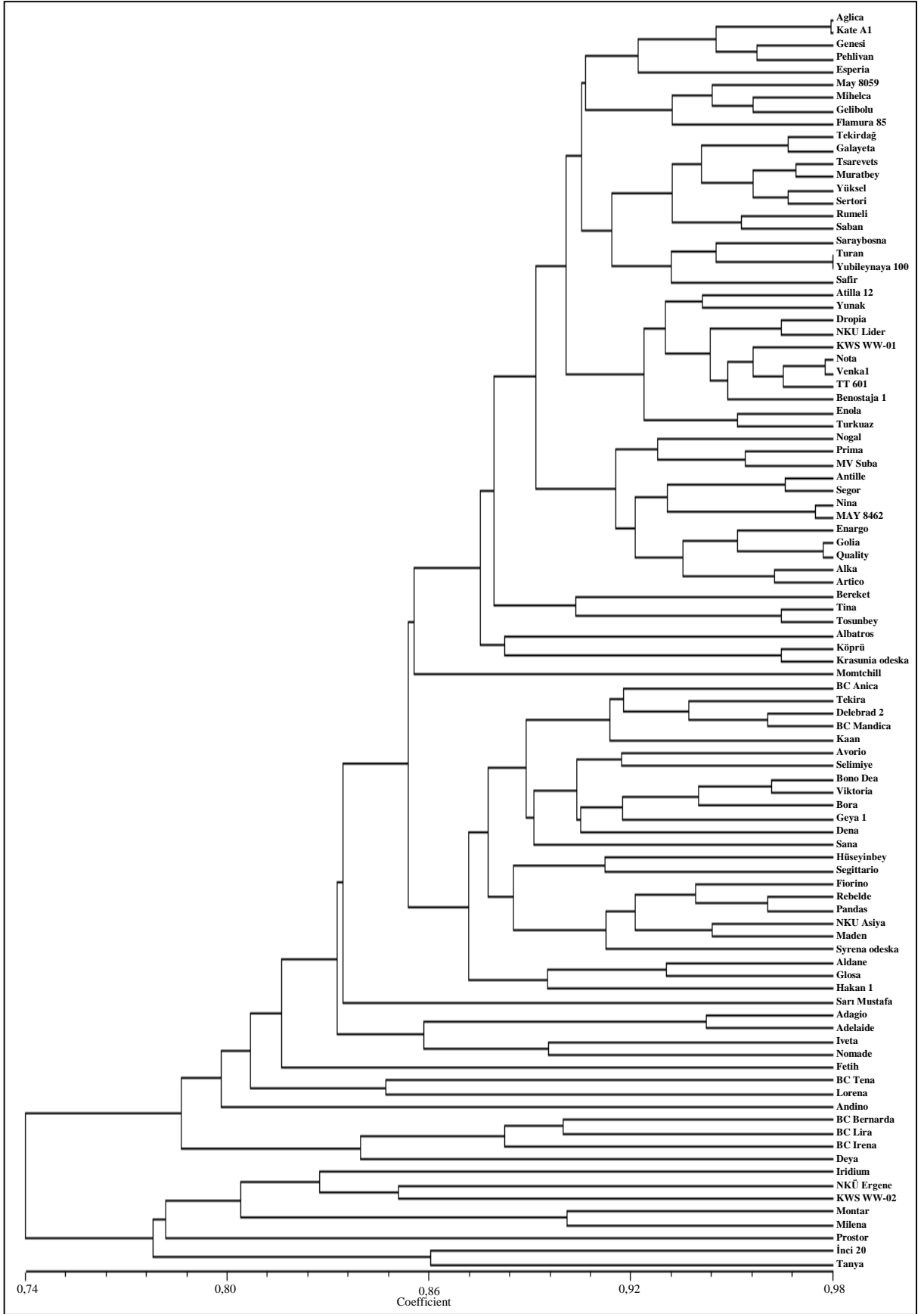
SSR Primer	NoA	Bant Aralığı	Ort. PIC	Ort. I	Ort. Het.
<b>Barc53</b>	1	320	0	0	0
<b>Barc84</b>	1	119	0	0	0
<b>Barc319</b>	1	209	0	0	0
<b>Xgwm136</b>	1	342	0	0	0
<b>Xgwm160</b>	3	198-208	0,46	0,573	0,56
<b>Xgwm161</b>	8	169-195	0,583	0,264	0,639
<b>Xgwm295</b>	1	250	0	0	0
<b>Xgwm312</b>	2	136-138	0,022	0,058	0,022
<b>Ortalama</b>	2,25	-	0,133	0,112	0,153
ISSR Primer	NoB	Bant Aralığı	Ort. PIC	Ort. I	Ort. Het
<b>UBC811</b>	8	515-1600	0,148	0,245	0,168
<b>UBC823</b>	10	402-1420	0,163	0,245	0,190
<b>UBC835</b>	10	847-2148	0,298	0,554	0,380
<b>UBC844</b>	12	480-2390	0,208	0,338	0,245
<b>Ortalama</b>	10	-	0,204	0,346	0,246
<b>Polimorfik SSR ve ISSR Ortalama</b>	4,83	-	0,269	0,31	0,315

\*Het= Heterozigotluk, I= Shannon Sabiti, NoA= Gözlenen Allel Sayısı, NoB= Gözlenen Bant Sayısı, Ort.= Ortalama, PIC= Polimorfik bilgi içeriği.

Analiz edilen bütün örnekler bir bütün olarak ele alındığında ortalama Shannon sabiti (I) 0,31 olarak tespit edilmiştir. SSR lokuslarında Shannon sabiti (I), 0,573 değeri ile en yüksek Xgwm160 primerinde, ISSR primerlerinde ise 0,554 değeri ile en yüksek UBC835 primerinde gözlenmiştir. Yüksek I değeri önemli oranda varyasyonun göstergesidir fakat bu tez çalışmasında 0,31 değeri ile varyasyonun fazla olmadığı gözlenmiştir. Nei (1987)'nin ortalama heterozigotluk değeri SSR ve ISSR belirteçleri için ayrı ayrı hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Nei (1987)'nin heterozigotluk değeri ortalama 0,315 olarak hesaplanmış, en yüksek değer 0,639 ile

Xgwm161 lokusunda, en düşük değer ise 0,022 ile Xgwm312 lokusunda gözlenmiştir. SSR lokuslarında heterozigotluk değeri ortalama 0,153, ISSR primerlerinde ise ortalama 0,246 olarak belirlenmiştir. SSR lokuslarının çoğunluğu monomorfik olduğu için heterozigotluk değeri ISSR'dan düşük bulunmuştur.

Tez çalışmasında kullanılan buğday genotiplerindeki genetik farklılaşmanın görsel bir grafik üzerinde görülebilmesi adına benzerlik matris ve dendrogramın oluşturulması için NTSYS-pc Versiyon 2.2 bilgisayar programı kullanılmıştır (Şekil 4.11). Genetik benzerlik değerlerinden faydalanılarak oluşturulan dendrograma göre, genetik benzerlik değerlerinin 0,74 ile 0,98 arasında değiştii görülmektedir. Çalışmamızda kullanılan 96 buğday genotipi dendrogramda 2 ana kümeye ayrılmıştır. Birinci kümede 88 buğday çeşidi, ikinci kümede ise 8 buğday çeşidi yer almaktadır. Bu iki ana grup kendi içerisinde tekrar 2 gruba ve onlar da diğer alt gruplara ayrılarak genetik olarak birbirine yakın buğday çeşitlerinin ayırt edilmesinde faydalı olmuştur. Çalışılan çeşitlerden genetik olarak birbirine en benzer olan çiftler; (1) Turan-Yubileynaya 100, (2) Aglica-Kate A1, (3) Nota-Venka ve (4) Golia-Quality buğday çeşitleridir. Üniversitemizin tescilli çeşitleri NKÜ-Ergene ile KWS WW-02, NKÜ-Lider ile Dropia ve NKÜ-Asiya ile Maden çeşitleri genetik olarak benzer bulunmuştur. Tekirdağ ile Galayeta çeşidi de birbirine benzer bulunan bir diğer buğday çeşitleridir. Yapılan analizler sonucunda tez çalışmasında kullanılan çeşitler arası genetik benzerliğin yüksek olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.11. Buğday genotiplerinin SSR analizleri sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre oluşturdukları dendrogram

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışmamızda, yerli ve yabancı ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik analizleri SSR ve ISSR belirteçleri kullanılarak yapılmıştır. 96 buğday çeşidinin petrilere ekimlerinden sonra çimlenmeleri beklenmiş ve taze buğday filizi örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri kullanılarak 8 SSR (Xgwm136, Xgwm160, Xgwm161, Xgwm295, Xgwm312, Barc53, Barc84 ve Barc319) ve 4 ISSR (UBC811, UBC823, UBC835 ve UBC844) primeri PCR ile çoğaltılarak genetik yapıları incelenmiştir. Çalışmamızda, her popülasyon için örnek sayısı (N), Shannon sabiti (I), Nei (1987)'nin heterozigotluk değeri ve PIC değeri gibi genetik parametreler hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerle çalışmada kullanılan 96 buğday çeşidinin genetik çeşitliliği ve genetik yapısı hakkında önemli bilgilere ulaşılmıştır.

Literatürde bulunan buğday ile ilgili çalışmalar incelendiğinde; buğdayda moleküler karakterizasyon, genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi, genotiplerin tanımlanması, polimorfizmin belirlenmesi, ıslah çalışmalarında belirtece dayalı seleksiyon (MAS) (kuraklığa, hastalığa, herbisit ve pestisite dayanıklılık vb.) gibi birçok konuda farklı belirteçler kullanılarak araştırmalar yapılmıştır. DNA parça (fragment) analizleri sonucunda SSR lokuslarına ait toplam 18 allel belirlenmiştir. ISSR primerlerinin oluşturduğu toplam bant sayısı ise 40 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda kullanılan primerler bir bütün olarak ele alındığında ortalama polimorfizm oranı %79,31 olarak tespit edilmiştir. ISSR primerleri SSR primerleriyle polimorfizm oranlarına bakılarak kıyaslandıklarında ISSR belirteçlerinin ayırım güçleri daha yüksek bulunmuştur. Kullanılan 8 SSR lokusunun (Xgwm136, Xgwm160, Xgwm161, Xgwm295, Xgwm312, Barc53, Barc84 ve Barc319) %37,5 oranında polimorfik olduğu, 4 ISSR primerinin (UBC811, UBC823, UBC835 ve UBC844) ise %82,5 oranında polimorfik olduğu belirlenmiştir. SSR lokusları için ortalama PIC değeri 0,022 ile 0,583 arasında, ISSR için 0,148 ile 0,298 arasında hesaplanmıştır. SSR ve ISSR sonuçları birlikte değerlendirildiğinde ortalama PIC değeri 0,269 olarak hesaplanmıştır.

Benzer genetik çalışmalarla karşılaştırıldığında; Röder vd. (1995) tarafından çalışılan 18 buğday genotipinde, 15 mikrosatellit lokusunda toplam 69 allel tespit edilmiştir. PIC değerleri 0,29 ile 0,79 arasında değişmektedir ve ortalama 0,63 olarak belirlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada 40 buğday çeşidinde 23 mikrosatellit çalışılarak toplamda 142 allel ortaya çıkarılmıştır. PIC değerleri 0,29 ile 0,79 arasında değişmektedir (Plaschke, Ganai ve Röder, 1995). Bohn, Utz ve Melchinger, (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, kışlık buğday



çeşitlerinde genetik çeşitlilik seviyelerinin tespiti için, 21 SSR primeri kullanılmış ve ortalama PIC değeri 0,30 olarak bulunmuştur. Prasad vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, 55 buğday genotipinde genetik çeşitlilik araştırılmıştır. Çalışmada 20 mikrosatellit lokusunda toplam 155 allel tespit edilmiştir. Çalışmada PIC değerleri 0,21 ile 0,90 arasında değişmekte olup, ortalama PIC değeri 0,71 olarak bulunmuştur. Aktaş (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, 55 buğday genotipinde 35 ISSR primeri kullanılarak yapılan analiz sonucunda, toplam 191 bant oluştuğu ve 162'sinin polimorfik olduğu saptanmıştır. Ortalama polimorfizm oranı ise %85 olarak bulunmuştur (%67-%100 arasında). Seçilen en polimorfik 16 ISSR primeri 55 buğday genotipinde toplam 88 bant üretmiş ve bunların 79 tanesi polimorfik olarak belirlenmiştir. Ortalama polimorfizm oranı %90 olup, %67 ile %100 arasında değişmektedir. Noli vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, buğday genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla; 69 buğday hattında 98 SSR primeri çalışılmış toplam polimorfizm oranı %76 olarak belirlenmiştir. Salem vd. (2008)'in çalışmasında 7 buğday genotipi, 15 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiş ve toplam 48 allel tespit edilmiştir. PIC değerleri 0,27 ile 0,81 arasında değişmekte olup ortalama 0,54 olarak bulunmuştur. Iqbal vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, 48 buğday çeşidinin genetik çeşitliliği değerlendirilmiş, 29 SSR lokusu tarafından toplam 80 allel üretilmiştir. PIC değerleri 0 ile 0,72 arasında değişmekte olup ortalama 0,48 olarak belirlenmiştir. Najaphi vd. (2011)'nin çalışmasında ise 30 buğday genotipi 10 ISSR belirteci kullanılarak değerlendirilmiş, belirlenen toplam 86 allelin 69'u (%80,2) polimorfik olarak bildirilmiştir. PIC değerleri ise 0,21 ile 0,23 arasında belirlenmiştir.

Islam vd. (2012) tarafından 12 buğday genotipinde yapılan çalışmada 4 SSR belirtecinde toplam 10 allel tespit edilmiştir. PIC değerleri, 0,27 ile 0,54 arasında değişiklik göstermiştir. Spanic vd. (2012)'in çalışmasında 30 buğday genotipinde 24 SSR belirteci için toplam 152 allel ve lokus başına allel sayısı 1 ile 14 arasında belirlenmiş, PIC değerleri ise 0,07 ile 0,90 arasında saptanmıştır. Demirel (2013)'in 32 buğday genotipinde yapmış olduğu tez çalışmasında 14 ISSR primerinde toplam 143 allel belirlenmiştir. PIC değeri ortalama 0,55, polimorfizm oranı ise %95 olarak tespit edilmiştir. Sadigova vd. (2014) tarafından 33 buğday genotipinde yapılan çalışmada ise 20 ISSR primerinin ortalama PIC değeri 0,86 olarak belirlenmiştir. Bafghi vd. (2014)'nin çalışmasında 126 SSR primeri kullanılmış, toplam 1557 allel belirlenmiştir. SSR lokuslarının PIC değerleri 0,66 ile 0,94 arasında bulunmuştur. Erayman vd. (2016) tarafından 29 buğday genotipinde yapılan çalışmada ise 24 SSR primerinde toplam 939 allel bildirilmiştir. PIC değeri 0,11 ile 0,35 arasında değişmekte olup ortalama 0,20 olarak belirlenmiştir.

Khan vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada 10 ISSR primerinin analizi sonucunda toplam 116 allel belirlenmiştir. Çalışmada ortalama polimorfizm oranı %94 olarak tespit edilmiştir. Hajiyev vd. (2015)'in çalışmasında 8 ISSR belirteci kullanılarak genetik çeşitlilik değerlendirilmiş ve toplam 107 allel belirlenmiştir. ISSR lokuslarının ortalama polimorfizm oranı %94 olarak tespit edilmiştir. Olgun vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada ise 5 ISSR primeri çalışılmış ve 45 allel belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ortalama polimorfizm oranı %95 olarak belirlenmiştir. Geboloğlu ve Furan (2017) tarafından yapılan çalışmada 32 SSR primeri kullanılarak toplamda 179 allel elde edilmiştir. Toplam polimorfizm oranı %96 olarak belirlenmiştir. PIC değerleri 0,11 ile 0,99 arasında, ortalama 0,40 olarak tespit edilmiştir. Salehi vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise 30 SSR lokusunda 180 allel belirlenmiştir. PIC değerleri 0,70 ve 0,89 arasında değişmekte olup, ortalama 0,82 olarak saptanmıştır. Şen ve Sarsu (2018)'nin yapmış oldukları çalışmada 28 SSR primeri kullanılmış, 197 allel belirlenmiştir. Ortalama polimorfizm oranı % 29,44, ortalama PIC değeri 0,82 olarak hesaplanmıştır. Buğdayda SSR ve ISSR analizleri ile yapılan genetik çalışmalar ile yaptığımız tez sonuçlarını belirlenen polimorfizm oranı, PIC değeri ve elde edilen allel sayısı bakımından karşılaştırdığımızda sonuçların genellikle birbirine uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda örnek sayısının fazla olması, kullanılan belirteç tipi ve sayısının fazla olması ve kullanılan buğday çeşitlerinin örneklenen bölge farklılıkları gibi nedenler ile belirlenen değerlerde farklılıklar gözlenmesi beklenen bir sonuçtur.

Tez çalışmamız sonucunda Shannon sabiti (I) ortalama 0,31 olarak tespit edilmiştir. SSR lokuslarında en yüksek 0,573, ISSR primerlerinde ise en yüksek 0,554 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca Nei (1987)'nin heterozigotluk değeri ise ortalama 0,315 olarak hesaplanmıştır. Abouzied, Eldemery ve Abdellatif (2013) tarafından 11 SSR lokusu kullanılarak yapılan çalışmada Nei'nin genetik çeşitlilik değeri (H) 0,2827 ve Shannon sabiti (I) 0,4533 olarak bildirilmiştir. Erayman vd. (2016)'nin çalışmasında 24 buğday çeşidinde 24 SSR lokusunda yapılan analizler sonucunda ortalama I değeri 0,673 ve ortalama heterozigotluk değeri ise 0,481 olarak tespit edilmiştir. Figliuolo ve Perrino (2003) tarafından 194 *Triticum turgidum* bitkisinde 15 SSR lokusu ile yapılan çalışma sonucunda genetik çeşitlilik 0,05 ile 0,94 arasında (ortalama 0,38) saptanmıştır. Wang vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, 238 buğday genotipinde 62 SSR lokusu ile yapılan analizler sonucunda H değeri 0,80 ve I değeri 2,04 olarak belirlenmiştir.

Yapılan UPGMA ile oluşturulan dendrograma göre, genetik benzerlik değerlerinin 0,74 ile 0,98 arasında değiştiği görülmektedir. Tez çalışmamızda kullanılan 96 buğday genotipi

dendogramda 2 ana kümeye ayrılmıştır. Birinci kümede 88 buğday çeşidi, ikinci kümede ise 8 buğday çeşidi bulunmakla birlikte iki ana grup kendi içerisinde de tekrar 2 gruba ve onlar da diğer alt gruplara ayrılarak genetik olarak birbirine benzer buğday çeşitlerinin belirlenmesinde faydalı olmuştur. Tez çalışmasında kullanılan buğday çeşitlerinin genetik benzerliğinin yüksek olarak bulunması ortak atadan geldiğini düşündürülebilir, ancak yakın bulunan çeşitlerin pedigrilerine ayrıntılı olarak bakıldığı zaman bunu belirlemek mümkündür. Bazen ortak pedigreeye sahip bireyler genetik olarak farklı olarak belirlenebilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen genetik veriler ve pedigriler incelendiğinde birbiri ile uyumsuzluklar gözlenebilmektedir. Bu uyumsuzluklara seleksiyon baskısı, eşit olmayan ebeveyn katkısı ve atasal akrabalık derecesi gibi nedenler yol açabilmektedir. Benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında; Aktaş (2007) tarafından yapılan çalışmada, hazırlanan dendograma göre genetik benzerlik değerleri 0,52 ile 0,95 arasında belirlenmiştir. Demirel (2013) tarafından yapılan çalışmada ise hazırlanan dendograma göre genetik benzerlik değerleri 0,22 ile 0,98 arasında tespit edilmiştir. Hajiyeve vd. (2015)'nin çalışmasında oluşturulan dendograma göre genetik benzerlik değerlerinin 0,2 ile 1 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yakışır (2015)'in çalışmasında elde edilen genetik benzerlik değerleri 0,67 ile 1 arasında bulunmuştur. Erayman vd. (2016)'nin çalışmasında genetik benzerlik değerleri 0,52 ile 0,98 arasında saptanmıştır. Altındal vd. (2017)'nin çalışmasında hazırlanan dendograma göre genetik benzerlik değerleri 0,58 ile 0,89 arasında bildirilmiştir.

Buğdayın genetik çeşitliliğinin diğer tarım bitkileri ile kıyaslandığında nispeten düşük olduğu bilinmektedir. Birbiri ile yakından ilişkili 3 diploid türün melezlenmesi ile oluşan alloheksaploid bir tür olması ve poliploidleşmenin genetik çeşitliliği sınırlaması düşük genetik çeşitliliğin nedenlerinden biridir. Diğer bir neden olarak atasal türlere ait birkaç türün buğdayın ortaya çıkmasında rol oynamasının başlangıçtaki genetik çeşitliliği sınırladığı söylenmektedir. Ayrıca, yeterli derecede mutasyonu biriktirmesi, genlerin/allellerin türler arası doğal veya yapay melezlemeler ile alınabilmesi için 8.000-10.000 yıl önce ortaya çıkan genç bir tür olması da neden olarak bildirilmektedir. Buğday ıslahı için mevcut genetik çeşitliliğini arttırmada mutasyon uygulaması, genetik transformasyon, genom düzenleme (editing) ve ikincil veya üçüncül gen havuzlarından gen geçişi (introgresyonu) gibi uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır (Venske vd., 2019). Yerel buğday genotipleri kültüre alınan buğdayın genetik çeşitliliğini genişletmek için değerli kaynaklarımızdır. Yerel genotiplerin verim ve stabiliteilerinin geliştirilmesi için yerel popülasyonlardan yeni çeşitlerin geliştirilmesi önemli bir stratejidir. Ayrıca yerel popülasyonlar kalite karakterleri, çeşitli biyotik ve abiyotik strese dayanıklılık,

farklı tarım sistemlerine adaptasyon gibi özellikleri kodlayan genler veya gen kompleksleri içermektedir (Jaradat, 2012). Buğday ıslah çalışmaları için genetik çeşitliliğin farklı moleküler belirteç sistemleri kullanılarak belirlenmesi önemlidir. Var olan genetik kaynakların kullanımı ve korunması için yerel popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik çeşitlilik hakkında bilgilerin saptanması planlanacak çalışmalar için çok önemli veriler sağlamaktadır (Warburton ve Hoisington, 2001; Zhang vd., 2006).

Buğdaygiller familyasına ait tek yıllık otsu bir bitki olan buğday gelişmiş adaptasyon yeteneği ve farklı iklimlere uyum sağlama özelliği olan önemli bir besin kaynağımızdır. Özellikle besin değeri oldukça yüksek olan buğday hem insan besini hammaddesi hem de çiftlik hayvanları için bir yem maddesi olarak da yetiştirilmektedir. Buğdayın ekonomik önemi yanında ülkemiz için tarihi, kültürel ve sosyal, kültürel değeri de önemlidir. Buğday, ülkemizde tarım alanları içerisinde oldukça büyük bir paya sahiptir. Buğdayın insanların beslenmesinde yüksek önem arz etmesine rağmen, son yıllarda çeşitli nedenler ile üretimi azalmış ve talebi karşılamak için ithalat yapılmaya başlanmıştır. Ülkemizde yüksek verimli olduğu bilinen yabancı kökenli yeni çeşitlerin son yıllarda kullanımının yaygınlaşması genetik kaynaklarımızın yok olmasına ve ciddi anlamda genetik erozyona neden olmaktadır. Yerel buğday çeşitlerimizin toplam buğday ekim alanının çok az bir alanında (%1'den daha az) ekiminin devam ettiği bildirilmekte (Mazid vd., 2009), buğday ıslah çalışmaları için önemli genetik kaynak olan yerel çeşitlerle yapılacak klasik ve moleküler ıslah çalışmalarının önemi her çalışmada vurgulanmaktadır. Gelecekte hem ülkemizde hem de dünyada artacağı aşikar olan nüfusa yeterli olabilmesi için buğday üretiminin artırılması ve istenilen özelliklere sahip buğdayın elde edilmesi için buğday ıslahı çok önem taşımaktadır. Bu çalışma sonucunda elde edilen bilgiler buğdayda genetik yapı ve çeşitlilik, ıslah ve çeşit geliştirme üzerine olan diğer çalışmalara önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca tez çalışmasında buğday çeşitlerinin seleksiyonunun kolaylaştırılması ve bu çeşitlerle ileride yapılabilecek ıslah çalışmalarının temelini oluşturması açısından önemli veriler elde edilmiştir. Yapılan moleküler analizler sonucunda genetik olarak birbirine uzak olarak belirlenen genotipler arasında yapılacak melezlemeler ile elde edilecek varyasyon miktarı ve buğday ıslah çalışmasının başarı şansı arttırılabilir. Kombinasyon ıslahı ile yeni çeşit geliştirmede kullanılacak çeşitlere genetik olarak birbirine uzak olan Tanya-Muratbey çifti ve Tanya-Genesi çifti örnek olarak verilebilir. Yeni buğday çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanılacak materyallerin gen havuzunun genetik akrabalık ve genetik farklılık seviyelerinin belirlenmesi etkin ıslah programlarının oluşturulması için büyük önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abbasov, M., Akparov, Z., Gross, T., Babayeva, S., Izzatullayeva, V., Hajiyev, E., Rustamov, K., Gross, P., Tekin, M., Akar, A., Chao, S. ve Brueggeman, R. (2018). Genetic relationship of diploid wheat (*Triticum* spp.) species assessed by SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(5), 1441-1453.
- Abouzied, H. M., Eldemery, S. M. ve Abdellatif, K. F. (2013). SSR-based genetic diversity assessment in tetraploid and hexaploid wheat populations. *British Biotechnology Journal*, 3(3), 390-404.
- Aktaş, H. (2007). *Türkiye orjinli yabani diploid buğday (T. monococcum spp. boeoticum) populasyonlarının morfolojik ve moleküler karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Altay, F. (2006). Kışlık Buğdayda Verim İstikrarı. Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Raporu.
- Altındal, D., Altındal, N. ve Akgün, I. (2017). Triticale (*X. Triticosecale wittmack*) genotiplerinin ISSR-PCR yöntemi ile moleküler düzeyde tanımlanması. *Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty*, 14(3), 19-26.
- Altıntaş, S., Toklu, F., Kafkas, S., Kılıan, B., Brandolini, A. ve Özkan, H. (2008). Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. *Plant Breeding*, 127, 9-14.
- Altun, Z. G. (2006). DNA işaretleyiciler (markör) ve Türkiye’de orman ağaçları ıslahında kullanımı. *Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü Dergisi*, 295, 20-36.
- Atar, B. (2017). Gıdamız buğdayın, geçmişten geleceğe yolculuğu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi*, 2(1), 1-12.
- Bafghi, R. M., Baghizadeh, A., Mohammadi-Nejad, G. H. ve Nakhoda, B. (2014). Assessment of genetic diversity in iranian wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and lines using microsatellite markers. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 2(1), 74-89.
- Balkan, A. (2019). Agronomic performance of seeds of some bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars exposed to drought stress. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 16(1), 82-91.

- Bandelj, D., Jakse, J. ve Javornik, B. (2004). Amplification of fluorescent-labelled microsatellite markers in olives by a novel, economic method. *Acta Agriculturae Slovenica*, 83(2), 323-329.
- Bayar, R. (2018). Arazi kullanımını açısından Türkiye’de tarım alanlarının değişimi. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 16(2), 187-200.
- Bohn, M., Utz, H. F. ve Melchinger, A. E. (1999). Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. *Crop Science*, 39(1), 228-237.
- Bornet, B. ve Branchard, M. (2001). Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3), 209-215.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, K. ve Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314-331.
- Collard, B. C. Y. ve Mackill, D. J. (2007). Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 363(1491), 557-72.
- Demir, S. (2015). *Türkiye’de yetişen yerel emmer buğday [Triticum turgidum L. ssp. dicoccon (Schrank) Thell.] popülasyonlarında genetik çeşitliliğin moleküler yöntemlerle karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Demirel, F. (2013). *Kastamonu’dan toplanan diploid (T. monococcum) ve tetraploid (T. dicoccon) kavuzlu buğday köy çeşitlerinin moleküler ve morfolojik Tanımlanması*. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Devran, Z. (2016). Moleküler işaretleyicilerin dayanıklılık ıslahında kullanılması. *Derim*, 20(1), 1-6.
- Doğal Hayatı Koruma Vakfı (WWF) (2016). Türkiye’nin Buğday Atlası. Erişim adresi [http://awsassets.wwftr.panda.org/downloads/turkiye\\_nin\\_buday\\_atlas\\_web.pdf](http://awsassets.wwftr.panda.org/downloads/turkiye_nin_buday_atlas_web.pdf)
- Doyle, J. J. ve Doyle, J. I. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(13), 39-40.

- Erayman, M., İlhan, E., Eren, A. H., Güngör, H. ve Akgöl, B. (2016). Diversity analysis of genetic, agronomic and quality characteristics of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(1), 83-94.
- Figliuolo, G. ve Perrino, P. (2003). Genetic diversity and intra-specific phylogeny of *Triticum turgidum* L. subsp. *dicoccon* (Schrank) Thell. revealed by RFLPs and SSRs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(5), 519-527.
- Filiz, E. ve Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Fu, Y., Yang, M., Horbach, C., Kessler, D., Diederichsen, A., You, F. ve Wang, H. (2017). Patterns of SSR variation in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds under ex situ genebank storage and accelerated ageing. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(2), 277-290.
- Gao, L. F., Jing, R. L., Huo, N. X., Li, Y., Li, X. P., Zhou, R. H., Chang, X. P., Tang, J. F., Ma, Z. Y. ve Jia, J. Z. (2004). One hundred and one new microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(7), 1392-1400.
- Geboloğlu, M. D. ve Furan, M. A. (2017). Bazı Türk yazlık ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki genetik farklılığın SSR markörleriyle belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(1), 132-138.
- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero, J. ve Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 89(7-8), 998-1006.
- Güleç, T. E., Yıldırım, A. ve Sönmezoğlu, Ö. A. (2010). Bitkilerde markör destekli seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2), 67-79.
- Gülmezoğlu, N. ve Tolay, İ. (2016). Eskişehir kuru koşullarında ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin bazı verim unsurları, verim ve kalite özelliklerinin karşılaştırılması. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 9(1), 05-08.
- Hajiyev, E. S., Akparov, Z. I., Aliyev, R. T., Saidova, S. V., Izzatullayeva, V. I., Babayeva, S. M. ve Abbasov, M. A. (2015). Genetic polymorphism of durum wheat (*Triticum durum* desf.) accessions of Azerbaijan. *Russian Journal of Genetics*, 51(9), 863-870.
- Iqbal, N., Tabasum, A., Sayed, H. ve Hameed, A. (2009). Evaluation of genetic diversity among bread wheat varieties and landraces of Pakistan by SSR markers. *Cereal Research Communications*, 37(4), 489-498.

- Islam, S., Haque, M., Emon, R., Islam, M. ve Begum, S. (2012). Molecular characterization of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through SSR markers. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 37(3), 389-398.
- Işık, K., Semiz, G. ve Kurt, Y. (2005). *Farklı doğal alanların, içerdikleri türler açısından UPGMA kümelendirme yöntemine göre karşılaştırılması*. Korunan Doğal Alanlar Sempozyumu, SDÜ, Isparta.
- Jaradat, A. A. (2012). Wheat landraces: Genetic resources for sustenance and sustainability. USDA-ARS, 803 Iowa Ave., Morris, MN 56267 USA. Erişim adresi <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/36450000/products-wheat/AAJ-Wheat%20Landraces.pdf>
- Kanlıtepe, Ç., Aras, S. ve Duman, D. (2010). Bitki ıslahında moleküler belirteçlerin kullanımı ve gen aktarımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(1), 33-43.
- Khan, M. K., Pandey, A., Thomas, G., Akkaya, M. S., Kayis, S. A., Özşensoy, Y., Hamurcu, M., Gezgin, S., Topal, A. ve Hakkı, E. E. (2015). Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey. *AoB Plants*, 7, 1-14.
- Kızılaslan, H. (2004). Dünya’da ve Türkiye’de buğday üretimi ve uygulanan politikaların karşılaştırılması. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 23-38.
- Liu, B. H. (1998). *Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis*. CRC Press LLC, Boca Raton New York.
- Mazid, A., Amegbeto, K. N., Keser, M., Alexey, M., Peker, K., Bağcı, A., Akın, M., Küçükçongar, M., Kan, M., Karabak, S., Semerci, A., Altıkat, A. ve Yakutbay, Ş. (2009). *Adoption and impacts of improved winter and spring wheat varieties in Turkey*, ICARDA-Allepo/Syria. 53 pp.
- Mwale, V. M., Tang, X. ve Chilembwe, E. (2016). Assessment of genetic diversity among sixty bread wheat (*Triticum aestivum*) cultivars using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 15(21), 960-973.
- Najaphy, A., Parchin, R. A. ve Farshadfar, E. (2011). Evaluation of genetic diversity in wheat cultivars and breeding lines using inter simple sequence repeat markers. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 25(4), 2634-2638.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G. ve Baloch, F. S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements



- in genomic selection and genome editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 32(2), 261-285.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Ng, W. L. ve Tan, S. G. (2015). Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Are we doing it right? *ASM Science Journal*, 9(1), 30-39.
- Noli, E., Teriaca, M. S., Sanguineti, M. C. ve Conti, S. (2008). Utilization of SSR and AFLP markers for the assessment of distinctness in durum wheat. *Molecular Breeding*, 22(2), 301-313.
- Olgun, M., Ayter, N. G., Başçiftçi, Z., Turan, M., Koyuncu, O., Ardiç, M., Açar, G. ve Takıl, E. (2015). Identification of genetic divergence in some bread wheat varieties by RAPD and ISSR analyses. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(2), 94-101.
- Özaytekin, H. H. ve Gezgin, S. (2015). 2015 toprak yılının düşündürdükleri. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 14, 34-37.
- Özberk, F., Karagöz, A., Özberk, İ. ve Atlı, A. (2016). Buğday genetik kaynaklarından yerel ve kültür çeşitlerine; Türkiye'de buğday ve ekmek. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(2), 218- 233.
- Özşensoy, Y. ve Kurar, E. (2012). Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2), 11-19.
- Peakall, R. ve Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: Genetic analysis in excel. population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295.
- Plaschke, J., Ganal, M. W. ve Röder, M. S. (1995). Detection of genetic diversity in closely-related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 91(7), 1001-1007.
- Prasad, M., Varshney, R. K., Roy, J. K., Balyan, H. S. ve Gupta, P. K. (2000). The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(3-4), 584-592.
- Reddy, M. P., Sarla, N. ve Siddiq, E. A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9-17.

- Röder, M., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, H., Leroy, P. ve Ganal, W. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149(4), 2007-2023.
- Röder, M., Plaschke, P., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D. ve Ganal, M. W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics*, 246(3), 327-333.
- Röder, M., Wendehake, K., Korzun, V., Bredemeijer, G., Laborie, D., Bertrand, L., Isaac, P., Rendell, S., Jackson, J., Cooke, R., Vosman, B. ve Ganal, M. (2002). Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(1), 67-73.
- Saadi, O. (2017). *Molecular characterization by SSR molecular markers on mostly cultivated bread wheat varieties (Triticum aestivum L.) in Duhok/Iraq*. (Master's thesis), Yüzüncü Yıl University Department of Agricultural Biotechnology, Van.
- Sadigova, S., Sadigov, H., Eshghi, R., Salayeva, S. ve Ojaghi, J. (2014). Application of RAPD and ISSR markers to analyses molecular relationships in Azerbaijan wheat accessions (*Triticum aestivum* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20(1), 87-95.
- Salehi, M., Arzani, A., Talebi, M. ve Rokhzadi, A. (2018). Genetic diversity of wheat wild relatives using SSR markers. *Genetika*, 50(1), 131-141.
- Salem, K. F. M., El-Zanaty, A. M. ve Esmail, R. M. (2008). Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using morphological characters and microsatellite markers. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5), 538-544.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18(2), 233-234.
- Sneath, P. H. A. ve Sokal, R. R. (1973). *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 573 pp.
- Song, O. J., Shi, J. R., Singh, S., Fickus, E. W., Costa, J. M., Levis, J., Gill, B. S., Ward, R. ve Cregan, P. B. (2005). Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(3), 550-560.
- Sönmezoğlu, Ö. A., Yıldırım, A., Güleç, T. E. ve Kandemir, N. (2010). Markör destekli seleksiyonun buğday ıslahında kullanımı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 105-112.

- Spanic, V., Buerstmayr, H. ve Drezner, G. (2012). Assessment of genetic diversity of wheat genotypes using microsatellite markers. *Periodicum Biologorum*, 114(1), 37-42.
- Şen, A. ve Sarsu, F. (2018). Genetic Diversity in sodium azide induced wheat mutants studied by SSR markers. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 19(2), 129-135.
- Tahir, N. A. (2008). Germination characteristics and molecular characterizations of some wheat varieties in Sulaimanyah by SSR marker. *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 109-117.
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2019). Tarım ürünleri piyasaları, buğday. Erişim adresi <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler>
- Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkez Müdürlüğü (2019). Milli çeşit listesi. Erişim adresi <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/TTSM/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=85>
- Türkiye İstatistik Kurumu (2018). 17 Ocak 2019, Erişim adresi [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001)
- Varshney, R. K., Graner, A. ve Sorrels, M. E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology*, 23(1), 48-55.
- Venske, E., dos Santos, R. S., Busanello, C., Gustafson, P. ve de Oliveira, A. C. (2019). Bread wheat: a role model for plant domestication and breeding. *Hereditas*, 156(1), 16.
- Wang, X., Luo, G., Yang, W., Li, Y., Sun, J., Zhan, K., Liu, D. ve Zhang, A. (2017). Genetic diversity, population structure and marker-trait associations for agronomic and grain traits in wild diploid wheat *Triticum urartu*. *BMC Plant Biology*, 17(1), 112.
- Warburton, M. ve Hoisington, D. (2001). Applications of molecular marker techniques to the use of international germplasm collections. in: Henry, R. (ed.), *Plant Genotyping-The DNA Fingerprinting of Plants*. CAB International, Oxon, UK.
- Weber, J. L. ve May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44(3), 388-396.
- Yadav, S., Vijapura, A., Dave, A., Shah, S. ve Memon, Z. (2019). Genetic diversity analysis of different wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties using SSR markers. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(2), 839-846.

- Yakışır, E (2015). *Bazı ekmeklik buğday (Triticum aestivum L.) genotiplerinin kurağa karşı tepkilerinin SSR markörleri ile belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Yang, W., Kang, X., Yang, Q., Lin, Y. ve Fang, M. (2013). Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4(1), 2.
- Yılmaz, H. ve Ezici, A. A. (2016). Buğday. Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 5 Eylül 2019, Erişim adresi <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/cukurovataem/Belgeler/cv/BU%C4%9EDAY%20b%C3%BCIten%202016%20-%20Kopya.pdf>
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu, M. (2015). Moleküler markerların bitki ıslahında kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
- Zhang, P., Dreisigacker, S., Buerkert, A., Alkhanjari, S., Melchinger, A. E. ve Warburton, M. L. (2006). Genetic diversity and relationships of wheat landraces from Oman investigated with SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(3), 1351-1360.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A. ve Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183.

## ÖZGEÇMİŞ

Büşra Yürük 1992 yılında Altındağ'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ankara'nın Yenimahalle ilçesinde Oğuzlar İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini ise Prof. Dr. Şevket Raşit Hatipoğlu Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimi için 2012 yılında Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'ne girdi. Bu bölümden 2016 yılında mezun oldu. Ocak 2017'de Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, Bitki Biyoteknolojisi üzerine yüksek lisans (Bilimsel hazırlık) eğitimine başladı. Ocak 2018'de Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, Bitki Biyoteknolojisi üzerine yüksek lisans eğitimine devam etti.

