



**A, B, D GENOM TANIMLAMASI İLE MORFOLOJİK
OLARAK BENZER OLAN BUĞDAY TÜRLERİNİN AYIRT
EDİLMESİ**

Uzuk KASYMOVA

Yüksek Lisans Tezi

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ

2025

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**A, B, D GENOM TANIMLAMASI İLE MORFOLOJİK OLARAK BENZER
OLAN BUĞDAY TÜRLERİNİN AYIRT EDİLMESİ**

Uzuk KASYMOVA

Yüksek Lisans TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ

HAZİRAN-2025

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans Öğrencisi Uzun KASYMOVA'nın Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ danışmanlığında Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı “**A, B, D Genom Tanımlaması İle Morfolojik Olarak Benzer Olan Buğday Türlerinin Ayırt Edilmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

18/06

/2025

	Adı Soyadı	imza
Başkan	: Dr. Öğr. Üyesi Bircan TAŞKIRAN	
Üye	: Doç. Dr. Pınar AKSU KILIÇLE	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun . . / . . /20.. gün ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr Vedat ADIGÜZEL

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçlar bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğum,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi durumda aleyhime doğabilecek tüm hak ve kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Uzuk KASYMOVA

17/06/2025

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

A, B, D GENOM TANIMLAMASI İLE MORFOLOJİK OLARAK BENZER OLAN BUĞDAY TÜRLERİNİN AYIRT EDİLMESİ

Uzuk KASYMOVA

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ

Bu çalışmada, morfolojik olarak benzer olan *Triticum aestivum* ve *Triticum durum* buğday türlerini moleküler düzeyde ayırt edebilmek amacıyla çeşitli nükleer ve kloroplast gen bölgeleri analiz edilmiştir. Bu kapsamda 26S *rDNA*, ribulose 1,5-bisphosphate karboksilaz büyük alt birimi (*rbcL*), iç transkribe aralık bölgesi (*internal transcribed spacer 2, ITS2*), genler arası aralık bölgesi (*intergenic spacer, IGS*), gluten ve *XDuPw167* mikrosatellit gen bölgeleri incelenmiş ve iki tür arasındaki genetik varyasyonlar detaylı olarak ortaya konmuştur. Özellikle *IGS*, 26S *rDNA* ve *XDuPw167* lokuslarındaki varyasyonlar, iki türün genetik olarak birbirinden açık bir şekilde ayrılabilceğini göstermiştir. Ayrıca, *T. aestivum* ve *T. durum* türleri arasındaki ploidi düzeyi farkları, *IGS* bölgesinde gözlenen eklemeler ve baz değişimleri ile desteklenmiştir. Bu sonuçlar, özellikle D genomunun tür

ayrımında ayırt edici bir özellik taşıdığını ortaya koymuştur. Diğer gen bölgeleri olan *rbcL* ve *ITS2*, türler arasında belirgin bir varyasyon göstermemekle birlikte, tamamlayıcı belirteçler olarak kullanılabilir potansiyele sahiptir.

Elde edilen bulgular, buğday türlerinin doğru sınıflandırılmasında moleküler genetik analizlerin morfolojik yöntemlere kıyasla daha güvenilir bir yaklaşım sunduğunu ortaya koymuş ve bu sayede verimli, kaliteli ve dayanıklı buğday türlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalara önemli katkılar sağlamıştır. Bu çalışma, sürdürülebilir buğday üretimini desteklemek amacıyla genetik kimliklendirme yöntemlerinin kullanılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, moleküler, gen bölgesi, genom, tür ayrımı

ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

DIFFERENTIATION OF MORPHOLOGICALLY SIMILAR WHEAT SPECIES BY A, B, D GENOME IDENTIFICATION

Uzuk KASYMOVA

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of BIOLOGY

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Asiye ULUĞ

In this study, various nuclear and chloroplast gene regions were analyzed to distinguish the morphologically similar *Triticum aestivum* and *Triticum durum* wheat species at the molecular level. For this purpose, 26S rDNA, ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase large subunit (*rbcL*), internal transcribed spacer 2 (*ITS2*), intergenic spacer (*IGS*), gluten, and *XDUPw167* microsatellite gene regions were examined, and the genetic variations within these regions were detailed for both species. Notably, variations in the *IGS*, 26S rDNA, and *XDUPw167* loci clearly demonstrated the genetic differentiation between the two species. The ploidy differences between *T. aestivum* and *T. durum* were further supported by insertions and base substitutions observed in the *IGS* region. These results highlighted the D genome as a distinctive feature for species discrimination. Although the *rbcL* and *ITS2* gene regions did not

exhibit significant variation between species, they may serve as supplementary markers.

The findings confirm that molecular genetic analyses provide a more reliable approach than morphological methods for the accurate classification of wheat species and contribute valuable information for the development of productive, high-quality, and resilient wheat cultivars. This study emphasizes the necessity of using genetic identification to support sustainable wheat production.

Key Words: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, molecular, gene region, genom, species differentiation



ÖNSÖZ

Tez çalışması sırasında her türlü bilgi, teşvik ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen tez danışmanın Dr. Öğr. Üyesi Asiye ULUĞ'a, ve Yüksek Lisans eğitimim süresince her türlü maddi ve manevi destekleri ile göstermiş oldukları sabırdan dolayı aileme teşekkür ederim.

İmza

Uzuk KASYMOVA



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ETİK BEYAN	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
BÖLÜM 1: GİRİŞ	1
BÖLÜM 2: GENEL BİLGİLER	3
2.1 Buğday ve Önemi	3
3.2 DNA İzolasyonu ve DNA Barkod Primerleri	7
3.3 PZR Optimizasyonu	10
BÖLÜM 4: TARTIŞMA ve SONUÇ	12
BÖLÜM 5: SONUÇ	22
KAYNAKLAR.....	24
EKLER.....	29

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dH ₂ O	Distile su
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

Kısaltmalar

CTAB	Cetyltrimetil Amonyum Bromid
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Glu-1	Glutenin 1 Lokusu
HMW	High Molecular Weight
IGS	Intergenic Spacer Region
ITS	Internal Transcribed Spacer Region
LMW	Low Molecular Weight
MEGA	Molecular Evolutionary Genetic Analysis
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVP	Polyvinylpyrrolidone
rbcL	Ribuloz 1,5 bisfosfat Large Subunit
TBE	Tris Borate EDTA Buffer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin amplifiye edilmiş 26S rDNA gen bölgesi jel görüntüsü. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük moleküler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci.....	13
Şekil 2. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin 26S rDNA gen bölgesi için dizileme görüntüsü.....	13
Şekil 3. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin amplifiye edilmiş <i>rbcL</i> gen bölgesi jel görüntüsü. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük moleküler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci.....	14
Şekil 4. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin <i>rbcL</i> gen bölgesi için dizileme görüntüsü	15
Şekil 5. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin amplifiye edilmiş ITS2 gen bölgesi jel..	15
Şekil 6. <i>T. aestivum</i> ve <i>T.durum</i> türlerinin ITS2 gen bölgesi için dizileme görüntüsü	16
Şekil 7. <i>Triticum aestivum</i> ve <i>Triticum durum</i> türlerinin amplifiye edilmiş IGS gen	17
Şekil 8. <i>T. aestivum</i> ve <i>T.durum</i> türlerinin IGS bölgesi için dizileme görüntüsü.....	18
Şekil 9. <i>T. aestivum</i> ve <i>T. durum</i> türlerinin amplifiye edilmiş glüten geninin A,B, D	20
Şekil 10. <i>T. aestivum</i> ve <i>T.durum</i> türlerinin <i>Glu1</i> lokusları için dizileme görüntüsü.	20
Şekil 11. <i>T. aestivum</i> ve <i>T.durum</i> türlerinin <i>XDUPw167</i> lokusu için eşleşme görüntüsü (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/XM_044549473.1/)	22

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Çekirdek ve kloroplast DNA barkodlama bölgelerini çoğaltan primerlere ait özellikler.....	8
Çizelge 2. Çekirdek ve kloroplast gen bölgeleri için PZR koşulları ve döngü	11
Çizelge 3. Buğday tohumlarından izole edilen DNA konsantrasyonları ve saflık.....	12



BÖLÜM 1: GİRİŞ

Buğday (*Triticum* spp.), yaklaşık 10.000 yıl önce Yakın Doğu'da başlayan tarım devriminin ardından insanlık tarihinin en eski kültür bitkilerinden biri olarak yerleşik yaşama geçişte ve ilk medeniyetlerin oluşumunda belirleyici bir rol oynamıştır (Shewry, 2009). Dünyada pirinç ve mısırla birlikte en yaygın yetiştirilen tahıl türlerinden biridir ve yaklaşık 220 milyon hektarlık bir ekim alanına sahiptir (FAO, 2023). Buğday üretimi, küresel gıda güvenliği açısından kritik öneme sahip olup, dünya nüfusunun temel enerji ve protein kaynağını oluşturmaktadır (Yang vd., 2022).

Günümüzde buğday, insan beslenmesinin yanı sıra hayvan yemi ve endüstriyel hammaddesi olarak da geniş bir kullanım alanına sahiptir. Öğütülerek elde edilen buğday unu, ekmekten makarnaya, bisküvilerden hamur işlerine kadar çok çeşitli temel gıda ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca, nişasta, gluten ve yan ürünleri gıda sanayisinin yanı sıra kağıt, tekstil ve biyoyakıt endüstrilerinde de değerlendirilmektedir (Shewry ve Hey, 2015).

Buğdayın gıda endüstrisindeki belirleyici rolü, büyük ölçüde içerdiği depo proteinlerinden, özellikle gluten kompleksinden kaynaklanmaktadır (Shewry, 2009). Gluten, buğday endospermünde bulunan glutenin ve gliadin proteinlerinin suda çözünmeyen bir matriks oluşturmasıyla meydana gelir. Bu yapı, unun suyla karıştırılması sırasında esnek ve gaz tutabilen bir hamur oluşmasını sağlar ve bu özellik özellikle ekmekçilikte yüksek kabarma ve istenen doku özelliklerini mümkün kılar. Gluten miktarı ve kalitesi, unun teknolojik özelliklerini ve nihai ürün kalitesini doğrudan etkileyen başlıca unsurlar arasında yer almaktadır (Wieser, 2007).

Farklı buğday türleri (*Triticum aestivum* L.: ekmeklik buğday ve *Triticum durum* Desf.: makarnalık buğday) gluten içeriği ve kaliteleri açısından farklılık göstermektedir. Ekmeklik buğday, yüksek gluten içeriği ve güçlü gluten matriksi sayesinde ekmek ve mayalı hamur ürünleri için tercih edilirken; makarnalık buğday daha sert endospermi ve yüksek sarı pigment içeriği ile kaliteli makarna üretiminde öne çıkmaktadır (Shewry & Hey, 2015).



BÖLÜM 2: GENEL BİLGİLER

2.1 Buğday ve Önemi

Tarımsal ekonomiye dayalı yerleşik hayata geçiş olarak adlandırılan ‘Neolitik dönüşüm’ sürecinin günümüzden yaklaşık 13 bin yıl önce Doğu Akdeniz’in kıyı bölgesi (Güney Levant), İran ve Irak’ın Toros-Zagros sınırları, Kuzey Mezopotamya, Güneydoğu Anadolu ve Orta Anadolu’yu içeren Bereketli Hilal olarak adlandırılan bölgede gerçekleştiği açığa çıkarılmıştır (Özdoğan, 2011; Broushaki vd., 2016). Buğday ve arpa gibi tarımsal ürünler ilk olarak bu bölgelerde ıslah edilmiştir ve zamanla tüm kıtalara yayılmıştır. Günümüzde buğday dünya çapında geniş bir coğrafi dağılıma sahiptir. Başta Çin, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri, Rusya ve Fransa olmak üzere birçok ülkede büyük ölçekli buğday üretimi yapılmaktadır (Yue vd., 2022). Doğal olarak ılıman iklimlerde yetişen buğday, farklı toprak ve iklim koşullarına kolayca uyum sağlayabilmektedir. Buğday üretiminde öne çıkan ülkeler, yerel tüketim ihtiyaçlarının karşılanmasında ve ihracat yoluyla dünya pazarına katkı sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (FAO, 2023).

Türkiye, buğday üretimi açısından küresel ölçekte önemli bir konuma sahiptir. Türkiye’de buğday, iklim ve toprak koşullarına göre değişen farklı buğday türleriyle ülkenin çeşitli bölgelerinde yetiştirilmektedir. Orta Anadolu Platosu en fazla buğday üretilen bölgedir. Ege ve Akdeniz Bölgeleri’nde durum buğdayı (*Triticum durum*) üretilmektedir. Batı Karadeniz Bölgesi’nde siyez buğdayı (*Triticum monococcum* L.), Doğu Anadolu Bölgesi’nde özellikle Kars şehrinde kavılca buğdayı (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* (Asch. & Graebn.) Thell.) üretimi yaygındır (Morgounov vd., 2016).

2.2 Buğdayın Genetik Yapısı ve Evrimi

Birden fazla kromozom setine sahip olan buğday poliploid yapıya sahip bir bitki türüdür. Poliploidi, buğdayın genetik çeşitliliğini şekillendiren iki ana poliploidizasyon olayı ile buğdayın evriminde çok önemli rol oynamıştır. 500.000 ila

150.000 yıl önce *Triticum urartu* Thumanjan ex Gandilyan (A genomu) ile *Aegilops speltoides* Tausch' in (B genomu) melezleşmesi sonucu tetraploid buğday (*Triticum turgidum* L.) oluşmuştur. 10.000 yıl önce, tetraploid buğdayın *Aegilops tauschii* Coss (D genomu) ile melezlenmesiyle heksaploid ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) oluşmuştur. Bu olaylar, buğdayın çeşitli iklimlere uyum sağlamasına ve genetik çeşitliliğinin temelini oluşturmaya katkı sağlamıştır (Levy ve Feldman, 2022).

2.3 Morfolojik Ayırımın Zorlukları ve Genetik Ayırımın Önemi

Buğday türleri arasındaki ayırım tarih boyunca başak yapısı, tohum büyüklüğü, rengi, tohum kabuğunun sertliği ve bitkinin genel büyüme şekli gibi türlerin morfolojik özelliklere dayanmaktaydı (Van Slageren, 1994). Buğdayın poliploid yapısı ve melezleme yoluyla farklı türlerin oluşumu, morfolojik benzerlikleri oldukça yaygın hale getirmiştir. Özellikle A, B ve D genomlarını taşıyan tetraploid ve heksaploid buğday türleri dış görünüş açısından büyük benzerlikler göstermektedir. Bu karmaşıklık, doğru tür tanımlamasını zorlaştırmakta ve tarımsal uygulamalarda yanlış sınıflandırmaya neden olabilmektedir (Van Slageren, 1994; Salamini vd., 2002).

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) ve makarnalık buğday (*Triticum durum*) gibi türler gluten içeriği, protein yapısı ve bitki büyüme özellikleri bakımından farklılık gösterir, ancak dış görünüşleri genellikle bu farklılıkları yansıtmaz. Benzer şekilde, siyez (*Triticum monococcum*) ve emmer (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*) buğdayı gibi daha eski buğday türleri de benzer dış özellikleri paylaşabilir. Geleneksel morfolojik yöntemler, özellikle tarla koşullarında veya büyük ölçekli üretim alanlarında buğday türlerinin yanlış tanımlanmasına yol açabilir ve bu da hem tarımsal verimliliği hem de ürün kalitesini olumsuz etkileyebilir (Liu vd., 2025).

Morfolojik özelliklerin çevresel faktörlere duyarlılığı, bu ayırımı zorlaştıran bir sorundur. Örneğin, bitki büyümesi sırasında sıcaklık, nem ve toprak koşulları gibi faktörler buğdayın görünümünü ve büyüme şeklini önemli ölçüde etkileyebilir. Aynı türden iki bitki, değişen çevresel koşullar altında çok farklı morfolojik özellikler

sergileyebilir. Bu değişkenlik, morfolojik temelli sınıflandırmada hata payını artırarak buğdayın genetik çeşitliliği hakkında yanlış sonuçlara yol açmaktadır (Tekdal ve Yıldırım, 2015).

2.4 Buğday Türlerinin Teşhisinde Genetik Araştırmaların Rolü

Genetik analizler türlerin daha kesin bir şekilde ayırt edilmesi ve sınıflandırılması açısından çok önemlidir. Genetik yöntemler, bitkilerin gen yapılarını inceleyerek morfolojik benzerliklerin ötesine geçmemizi sağlar. Bu yöntemler, türler arasında yalnızca dış görünüşe dayanmayan moleküler düzeydeki farklılıkları ortaya koymaktadır. Buğday türlerinin doğru bir şekilde tanımlanmasında genetik ayırımın rolü, hem tarımsal uygulamalar hem de bilimsel araştırmalar için çok önemlidir. Genomik ve moleküler biyoloji teknolojilerindeki son gelişmeler, buğday türlerinin daha doğru bir şekilde sınıflandırılmasını sağlamıştır (Kilian vd., 2011). Bu yöntemler, A, B ve D genomlarına sahip buğday türlerinin doğru bir şekilde ayırt edilmesine olanak tanıyarak buğdayın evrimsel kökeni ve genetik çeşitliliği hakkında daha ayrıntılı bilgi sağlamaktadır. Hekzaploid ekmeklik buğdayın (*T. aestivum*) A, B ve D genomlarını içerdiği göz önüne alındığında, genomik analizler üç farklı atadan gelen genetik materyali inceleyerek bu genomlar arasındaki küçük varyasyonlarla morfolojik olarak benzer türlerin ayırt edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Genetik analizlerin buğday üretimindeki önemi sadece türlerin doğru tanımlanması ile sınırlı kalmaz. Aynı zamanda, hastalıklara karşı dayanıklı yeni buğday türlerinin geliştirilmesi, iklim değişikliği gibi çevresel stres faktörlerine karşı dirençli buğday çeşitlerinin seçilmesi ve tarımsal verimin artırılması için de hayati öneme sahiptir. Genetik bilgi, buğdayın ıslah programlarında etkili bir şekilde kullanılarak, hem yerel hem de küresel tarımda sürdürülebilir verimlilik ve kalite artışı sağlanabilir. Morfolojik yöntemlerle zor olan bu süreç, genetik yöntemlerle daha doğru ve hızlı bir şekilde yönetilebilir, böylece tarımda önemli kazançlar elde edilebilir (Liu vd., 2025).

Buğday, poliploid bir bitki olması nedeniyle A, B ve D genomlarına sahip türler arasında morfolojik açıdan belirgin benzerlikler göstermekte, bu durum özellikle

tarımsal üretimde ve bilimsel çalışmalarda doğru tür ayrımını güçleştirmektedir. Morfolojik benzerliklerin neden olduğu bu tanımlama güçlüğü, hatalı tür seçimine ve dolayısıyla verimlilik ve kalite üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında, buğdayın küresel ölçekte taşıdığı stratejik tarımsal ve endüstriyel önem, yüksek verim ve üstün kalite hedefi doğrultusunda genetik temelli, sürdürülebilir ıslah programlarının gerekliliğini bir kez daha ortaya koymaktadır (Chen vd., 2024).

Bu yüksek lisans çalışmasında, morfolojik olarak benzer buğday türlerinin çekirdek ve kloroplast gen bölgelerinin amplifikasyonu yoluyla A, B ve D genomlarını taşıyan türler arasındaki genetik farklılıkların ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması amaçlanmaktadır. Bu kapsamda, modern moleküler analiz teknikleri kullanılarak elde edilecek veriler, buğday türlerinin doğru ve güvenilir şekilde tanımlanmasına, genetik varyasyonun daha iyi anlaşılmasına ve bu bilgilerin kalite odaklı ıslah çalışmalarına entegre edilmesine katkı sağlayacaktır. Genetik çeşitliliğin tarımsal üretimde sürdürülebilirlik ve adaptasyon kapasitesi açısından taşıdığı kritik önem göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmanın bulgularının doğru tür seçimi, verimli genotip geliştirilmesi ve üretim stratejilerinin iyileştirilmesi için değerli bir bilimsel kaynak oluşturması beklenmektedir. Ayrıca, elde edilen sonuçların ülkemizde buğday üretiminde kalite parametrelerinin iyileştirilmesine, gıda sanayisinde ürün çeşitliliğinin artırılmasına ve küresel ölçekte artan kaliteli gıda talebine cevap verecek yüksek performanslı buğday genotiplerinin geliştirilmesine katkı sağlaması hedeflenmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma; buğday türleri arasındaki genetik ve morfolojik farklılıkların bilimsel temelde doğru biçimde saptanması ve bu bulguların tarımsal uygulamalara ve modern ıslah programlarına entegre edilmesi yoluyla tarımsal verimlilik, adaptasyon yeteneği ve kaliteyi artırmaya yönelik somut ve uygulanabilir bilgiler sunmayı amaçlamaktadır.

BÖLÜM 3: MATERYAL ve METOT

3.1 Bitki Materyalleri

Morfolojik olarak benzerlik gösteren *Triticum aestivum* ve *Triticum durum* buğdayları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden alınmıştır.

3.2 DNA İzolasyonu ve DNA Barkod Primerleri

Ekmeklik ve makarnalık buğdaya ait tohumlar DNA izolasyonundan önce saksılara ekilmiştir. On gün boyunca çimlendirilen buğday örneklerinden taze yapraklar toplanarak sıvı nitrojenle havanda toz haline gelecek şekilde ezilmiştir. Buğday tohumlarından DNA izolasyonu modifiye edilmiş CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) metodu ile yapılmıştır (Doyle ve Doyle, 1987). Her tür için beş farklı buğday tohumunun toz haline getirilmiş numunelerinden 15 mg tartılarak önceden 65°C'de ısıtılmış ekstraksiyon tamponu (2%CTAB, 0.1 M Tris-HCl pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl ve kullanım öncesi 1 % PVP) içeren 2 ml eppendorf tüpüne koyularak karıştırılmıştır. Karışımlar 65°C'de iki saat inkübe edildikten sonra 13,000 rpm'de 10dk santrifüj edilmiştir. Karışımların üst fazı alınıp 500µL kloroform içeren yeni tüplere aktarılmıştır. Karışımlar 13,000 rpm'de 7 dk santrifüj edildikten sonra üst fazları yeni tüplere aktarılmıştır. Üzerlerine 0.08 hacim 7.5 M amonyum asetat ve 0.54 hacim isopropanol eklendikten sonra 2 saat -20°C de bekletilmiştir. 14,000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, üst fazları dökülmüştür. Kalan çökelti bir kez %70 etanol, bir kez de %95 etanol ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra izole edilen DNA örnekleri 100 µl steril/nükleazdan arındırılmış suda çözülmüştür. İzole edilen buğday DNA'larının miktarı ve kalitesi Biodrop Duo mikro hacim spektrofotometresi (Biodrop µLite 7141 V.1.0.4) kullanılarak ölçülmüştür. Numunedeki fenolik bileşikler, protein ve ikincil metabolitlerin kontaminasyon seviyesi A260/A230 nm oranı ile, numunedeki RNA'nın kontaminasyon seviyesi ise A260/A280 nm oranı belirlenmiştir (O'Neill vd., 2011).

BM Labosis (Çankaya, Ankara) tarafından sentezlenen nükleer ve kloroplast DNA barkodlama primerleri, amplifikasyon başarısını değerlendirmek ve tohumların moleküler tanımlanması için kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan primer çiftlerinin bilgileri Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Çekirdek ve kloroplast DNA barkodlama bölgelerini çoğaltan primerlere ait özellikler

Primer	5’-3’ Sekans	Ürün boyutu (bç)	Referans
26S rDNA	F: TTCCCAAACAACCCGACTC R: GCCGTCCGAATTGTAGTCTG	150	Alvarez ve Wendel, 2003
<i>rbcL</i>	F: ATCTTGGCAGCATTCGAGT R: GCAACAGGCTCGATCTCGTA	200	
52F	F: ATTGCTCCTTGCTTATCCAGC 172 R: GGTGAAGGTTTCAGGAC	132	Fernandez vd. 2013
B52F	F: ATTGCTCCTTGCTTATCCAGC 172 R: GGTGAAGGTTTCAGGAC	132	Fernandez vd. 2013
Dy	F: ATTGCTCCTTGCTTATCCAGC D156R: ACAATGGTTGTGTGCAC	118	Fernandez vd. 2013
<i>ITS2</i>	F: CAAAACACGCTCCCAACCACT R: GCTTCGTTTGTTCCTCGTTC	200	White vd., 1990
<i>IGS</i>	F:CGCCATGGAAAACCTGGGCAA R:ACCTCTCGTACCCGTTACGT	87-158	Li vd., 2011
<i>XDUPw167</i>	F: CGGAGCAAGGACGATAGG R: CACCACACCAATCAGGAACC	210	Eujayl vd., 2002

Kloroplast DNA’sı için ribuloz 1,5 bisfosfat büyük alt birimi (*rbcL*) gen bölgesinin ~200bç’lik kısmını çoğaltan primer çifti tarafımızdan tasarlanmıştır. Küçük boyutu, hücre başına yüksek kopya sayısı ve hızlı evrimleşme özelliği sebebiyle filogenetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan 26S rDNA gen bölgesi buğday türleri için çoğaltılmıştır (Kuzoff vd., 1998). 26S rDNA bölgesinin yanı sıra yine yüksek kopya sayısına sahip ribozomal DNA Internal Transcribed Spacer (*ITS2*) bölgesi de amplifiye edilmiştir. ITS gen bölgesinde bulunan Intergenic spacer (*IGS*)

bölgesi buğdayda ploidlik (sahip olduğu temel kromozom seti) durumunu gösterir şekilde farklı büyüklüklerde olmaktadır. D genomuna sahip buğdaylarda IGS'de 71 bazlık bir insersiyon gözlenmektedir (Brown vd., 1994; Sallares vd.,1995, 1999). Amplifikasyon sonrası primer çifti D genomunda yaklaşık 158 baz çiftlik bir ürün verirken (heksaploid buğdaylar), A ve B genomu için yaklaşık 87 baz çiftlik bir ürün vermektedir (diploid ve tetraploid buğdaylar). IGS bölgesi de amplifiye edilerek buğday tohumlarının ploidlik seviyesinin belirlenerek türlerin kesin tayininde kullanılmıştır. (Ekmeklik buğday *Triticum aestivum*-AABBDD ve makarnalık buğday *Triticum durum*-AABB).

Buğday türlerinde Glu-1 (Glutenin 1 lokusu) ekmek kalitesinde etkin olan Yüksek Moleküler Ağırlık (HMW) depo proteinini kodlamaktadır. Bu gen buğday A, B ve D genomlarında kromozom 1 üzerinde konumlanır ve iki farklı gluten altünitesini kodlayan X ve Y paralog genlerine sahiptir (Glu-x (132 bç) and Glu-y (132 bç)) (Brown,1999). Bu genler çok alelli ve genoma özgüdür. Yukarıda verilen primer çiftlerinin D genomuna özgü bir dizi elde edilmesine olanak vermediği için onlara ek olarak Fernandez vd. (2013)'de verilen Glu-1 lokuslarının ORF'ye (Open reading frame) yakın bir bölgesini çoğaltan (118 bç) primerler ile iç içe PZR (Nested PZR) kullanılmıştır (Çizelge 1).

XDuPw167 lokusu buğdayda A genomu üzerinde 6. kromozomda ifade edilen genetik bölgede bulunan bir mikrosatellit markerdir. Mikrosatellit markörler DNA dizilerinde bulunan genellikle 1-6 baz çifti uzunluğundaki tekrar motiflerini içeren gen bölgeleridir. Mikrosatellitler, tüm genomda yaygın olarak bulunur ve yüksek polimorfizm seviyelerine sahip oldukları için genetik çalışmalar için ideal araçlardır. İfade edilen mikrosatellit markörler, geleneksel mikrosatellitlerden farklı olarak, ekspresyon halinde olan genler ile ilişkilidir ve belirli biyolojik fonksiyonlara doğrudan bağlantılıdır. XDuPw167 lokusu buğdayda kallos sentaz enzimini sentezleyen genle bağlantılıdır. Kallos sentaz bitkilerde kallos adı verilen polisakkaritin sentezinden sorumludur. Kallos, β -1,3-glukan adı verilen bir yapıda olup, hücre duvarında yer alır ve genellikle stres yanıtları veya gelişimsel süreçlerde biriktirilir (Zhu vd., 2021). Bu mikrosatellit markörde hexaploid ve tetraploid

buğday türlerindeki tekrar sayılarını açığa çıkarmak ve buğday türlerinin genetik ayırımında kullanılmak üzere çoğaltılmıştır.

3.3 PZR Optimizasyonu

Gen bölgelerinin amplifikasyonu için 15mM MgCl₂ içeren 5x HOT FIREPol® Blend karışımı (Solis BioDyne, Tartu, Estonya) kullanılmıştır. Her gen bölgesi için optimize edilmiş PZR koşulu ve PZR döngüsü Çizelge 2'de verilmiştir. Mavi ışık (Vilber Lourmat, Fransa) altında etidyum bromür ile boyanmış %3 agaroz jelde 100 V'da 45 dakika yürütülmüş PZR ürününün beklenen boyutta olduğu doğrulandıktan sonra, örnekler saflaştırma ve dizileme prosedürleri için BM Labosis'e (Ankara) gönderilmiştir.

3.4 Data Analizi

Amplifiye edilen gen bölgeleri, ABI 310 Genetik Analizör (PE Applied Biosystem) ve ABI 3730XL 96-kapiler otomatik dizileme cihazı kullanılarak BM Labosis'te hem ileri hem de geri yönde dizilenmiştir. Bu yaklaşım, sekans verilerindeki herhangi bir hata veya belirsizliğin üstesinden gelinmesini sağlayarak daha doğru ve güvenilir kromatogram verileri elde edilmesini sağlamıştır. DNA dizilerinin kromatogram verilerinin görselleştirilmesi, hizalanması, BLAST araması ve filogenetik analizi için MEGA 11.0 yazılımı kullanılmıştır (Tamura vd., 2021). NCBI BLAST programı , yüksek oranda benzer dizileri bulmak için dizilerin veritabanlarını taramak için kullanılmıştır (Johnson vd., 2008). Moleküler çeşitlilik parametreleri, MEGA 11.0 yazılımı kullanılarak çalışılan buğday tohumları ve BLAST ile hizalanmış diziler arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Bu analizler, elde edilen diziler ile aynı ya da yakın türlerin daha önce çalışılmış dizileri arasındaki uygunluk seviyesini değerlendirmiştir.

Çizelge 2. Çekirdek ve kloroplast gen bölgeleri için PZR koşulları ve döngü parametreleri

Lokuslar	İçerik	Hacim (µL)	PZR Döngüsü	
26S rDNA, rbcL	dH ₂ O	13	İlk Denatürasyon 5dk 95°C	
	Master Karışımı	5	30 döngü	Denatürasyon 35 san 94°C
	Primerler (10µM)	0.5+0.5		Bağlanma 30 san 58°C
	DNA (10ng/µL)	5		Uzama 45 san 72°C
	Toplam	24	Son Uzama 10dk 72°C	
ITS2/ XDuPw167	dH ₂ O	14	İlk Denatürasyon 3dk 95°C	
	Master Karışımı	5	30 döngü	Denatürasyon 30 san 95°C
	Primerler (10µM)	0.5+0.5		Bağlanma 40 san 60°C
	DNA (10ng/µL)	5		Uzama 45 dk 72°C
	Toplam	25	Son Uzama 10dk 72°C	
IGS	dH ₂ O	13	İlk Denatürasyon 3min 95°C	
	Master Karışımı	3.5	35 döngü	Denatürasyon 1dk 94°C
	Primerler (10µM)	0.4+ 0.4		Bağlanma 1dk 60°C
	DNA (10ng/µL)	5		Uzama 1dk 72°C
	Toplam	23.5	Son Uzama 10dk 72°C	
Glu-1, 52F/172R 52F/156R/Dy256R	dH ₂ O	13	İlk Denatürasyon 4min 94°C	
	Master Karışımı	5	35 döngü	Denatürasyon 45 san 94°C
	Primerler (10µM)	0.5+0.5		Bağlanma 50 san 58°C
	DNA (10ng/µL)	5		Uzama 45 san 72°C
	Toplam	24	Son Uzama 10dk 72°C	

BÖLÜM 4: TARTIŞMA ve SONUÇ

Buğday tohum örneklerinden yüksek kalitede nükleer DNA($\text{ng}/\mu\text{l}$) elde edilmiştir. İzole edilen DNA örneklerin saflığı 230, 260 ve 280 nm absorbans değerlerinin oranları ile belirlenmiştir. Bu ölçümler her protokolda her tohum örneğinin aDNA'sı için üç kez tekrar edilmiştir. DNA miktarları Çizelge 3'de verilmiştir. Buğday tohum örneklerinden iyi kalitede ve miktarda DNA izole edildiği için gen bölgelerinin amplifikasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3. Buğday tohumlarından izole edilen DNA konsantrasyonları ve saflık değerleri

Buğday türü	DNA konsantrasyonu $\mu\text{g}/\text{ml}$	230/260	260/280
<i>Triticum aestivum</i> 1- T.a1	213	1.97	1.82
<i>Triticum aestivum</i> 2- T.a2	68	1.89	1.65
<i>Triticum aestivum</i> 3- T.a3	183	1.85	1.65
<i>Triticum aestivum</i> 4- T.a4	215	1.85	1.65
<i>Triticum aestivum</i> 5- T.a5	258	1.87	1.66
<i>Triticum durum</i> 1-T.d1	168	1.85	1.66
<i>Triticum durum</i> 2- T.d2	200	1.85	1.74
<i>Triticum durum</i> 3- T.d3	220	1.86	1.74
<i>Triticum durum</i> 4- T.d4	150	1.84	1.67
<i>Triticum durum</i> 5- T.d5	140	1.84	1.67

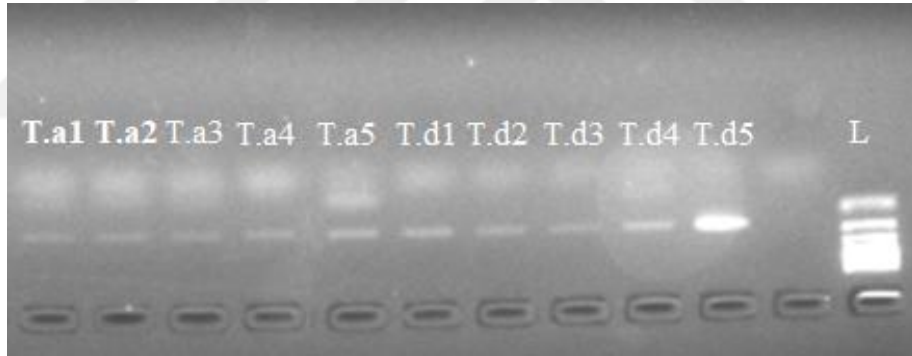
4.1. 26S rDNA Bölgesinin Analizi

26S rDNA bölgesi başarıyla amplifiye edilmiş ve bu gen bölgesinin uzunluğu incelenen buğday türleri için yaklaşık 149 baz çifti olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Çalışmada elde edilen 26S rDNA dizileri, NCBI GenBank veritabanında daha önce yayımlanmış aynı türlere ait dizilerle yüksek düzeyde uyum göstermiştir (GenBank, 2025). *T. aestivum*, MK413186.1 aksesyon kodlu örnekle %100 eşleşme ve %100 genetik benzerlik göstermiş; benzer şekilde *T. durum* da MK413187.1 aksesyon kodlu örnekle %100 eşleşme oranına sahip bulunmuştur (Şekil 2).

Amplifiye edilen *T. aestivum* ve *T. durum* türlerine ait 26S rDNA dizileri karşılaştırıldığında, 21., 111. ve 122. baz konumlarında üç değişken bölge tespit

edilmiştir (Şekil 2). GenBank veritabanındaki aynı türlerin dizileriyle karşılaştırıldığında bu bölgelerde herhangi bir varyasyon gözlenmemiştir. Ancak, iki tür arasında yapılan karşılaştırmada 21. ve 111. baz pozisyonlarında C-T nükleotid değişimi (substitüsyonu) ve 122. baz pozisyonunda *T. aestivum* türünde bir delesyon belirlenmiştir (Şekil 2).

Bu üç değişken konum, *T. aestivum* ve *T. durum* arasında küçük fakat anlamlı genetik farklılıkları ortaya koymakta ve özellikle poliploid buğday türlerinin moleküler düzeyde ayırımında potansiyel belirteçler olarak değerlendirilmektedir. 26S rDNA bölgesinin genetik analizi, farklı poliploid buğday türleri arasındaki genetik varyasyonların güvenilir bir şekilde ayırt edilmesine önemli katkı sağlamıştır. Bu bulgular, tür tayininde daha güvenilir bir yaklaşım sunmanın yanı sıra, A, B ve D genomlarına sahip buğday türlerinin doğru sınıflandırılmasında kritik bir rol oynayabilir. Özellikle tespit edilen bu genetik farklılıklar, poliploid türler arasında moleküler belirteç olarak kullanılma potansiyeline sahiptir.



Şekil 1. *T. aestivum* ve *T. durum* türlerinin amplifiye edilmiş 26S rDNA gen bölgesi jel görüntüsü. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük moleküler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci

26S rDNA	1	21
<i>Triticum aestivum</i>	T T C C C A A A C A A C C C G A C T C G C T G A C A G C G C C T C G T G G G G C G A C A G G G T C C G G G C C G G A C G G G G C T C T C A C C C T C C C A G G C	
<i>Triticum aestivum</i> (MK413186.1)		
<i>Triticum durum</i>		T
<i>Triticum durum</i> (MK413187.1)		T

26S rDNA	111	122	148
<i>Triticum aestivum</i>	G C C C C T T C C A G G G G A C T T G G G C C C G G T C C G C C G C T G A G G A C	C T T C T C C A G A C T A C A A T T C G G A C G G C	
<i>Triticum aestivum</i> (MK413186.1)			
<i>Triticum durum</i>		T	G
<i>Triticum durum</i> (MK413187.1)		T	G

Şekil 2. *T. aestivum* ve *T. durum* türlerinin 26S rDNA gen bölgesi için dizileme görüntüsü

4.2 Ribuloz 1,5 Bisfosfat Büyük Alt Birimi (*rbcL*) Gen Bölgesi'nin Analizi

rbcL gen bölgesi, *Triticum aestivum* ve *Triticum durum* türlerinde amplifiye edilmiş ve her iki türde de aynı gen dizisine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 3, Şekil 4). Ayrıca, GenBank veri tabanında eşleştikleri buğday örnekleriyle de tamamen aynı sekansa sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4). Elde edilen sonuçlar, *T. aestivum* ve *T. durum* arasında *rbcL* gen bölgesinde genetik bir farklılık olmadığını göstermektedir. Bu durum, bu gen bölgesinin buğday türleri arasındaki ayrımı tek başına yapma kapasitesinin sınırlı olduğunu düşündürmektedir. Buna karşın, *rbcL* dizilerinin GenBank veritabanındaki sekanslarla %100 uyum göstermesi, amplifikasyon ve dizileme süreçlerinin güvenilirliğini desteklemektedir. Daha önceki çalışmalar da benzer bulgular ortaya koymuştur; özellikle Kress ve Erickson (2007), *rbcL* gen bölgesinin yakın akraba türler arasında genetik farklılıkları ayırt etme kapasitesinin sınırlı olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar, *rbcL* gen bölgesinin poliploid buğday türlerinin ayırımında tek başına yeterli olmadığını, ancak diğer genetik belirteçlerle birlikte kullanıldığında tamamlayıcı ve destekleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Tür tayininde, *rbcL*'nin diğer moleküler markerlarla kombinasyon halinde daha etkili bir araç olarak kullanılabilirliği söylenebilir.



Şekil 3. *T. aestivum* ve *T. durum* türlerinin amplifiye edilmiş *rbcL* gen bölgesi jel görüntüsü. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük moleküler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci

ITS2	
Triticum aestivum	TTTGTGGGTGCGTTCAAAGGCCATAATGCCAGCTGCGCGCCGGATGCACTGCATTGATAAAGCGAGGACGCCACCATGG
Triticum aestivum KF482104.1	
Triticum durum	
Triticum durum MH618756.1	
ITS2	
Triticum aestivum	GCTGTGTCCGGCGCGGTACGCCGGCAGCCCAATCTTCGGTCCACCGTCCCTTGAGAGACGAGGGACCAGATGCCGCATCG
Triticum aestivum KF482104.1	
Triticum durum	
Triticum durum MH618756.1	
ITS2	
Triticum aestivum	CGAATCCCGTTGAGGGTGGTTGGGAGCGTGTTTTGA
Triticum aestivum KF482104.1	
Triticum durum	
Triticum durum MH618756.1	

Şekil 6. *T. aestivum* ve *T.durum* türlerinin ITS2 gen bölgesi için dizileme görüntüsü

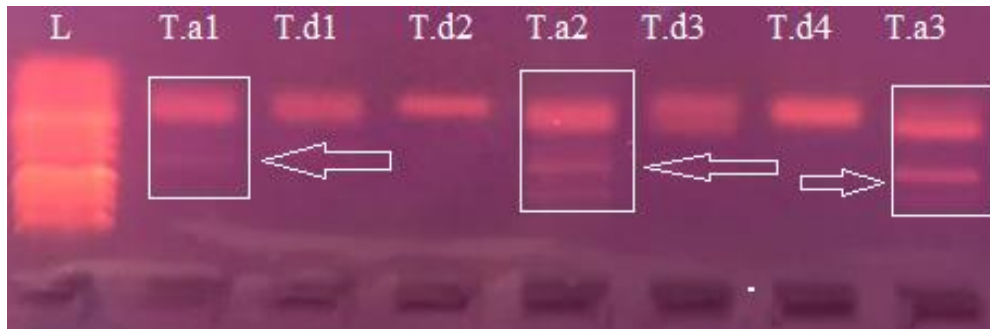
A, B ve D genomlarını içeren poliploid buğday türleri arasında morfolojik açıdan büyük benzerlikler bulunması, türlerin yalnızca morfolojik özelliklere dayanarak sınıflandırılmasında hata payını artırmaktadır (Van Slageren, 1994; Hyun vd., 2020). Bu durum, poliploid türlerin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi için daha hassas ve güvenilir yöntemlerin kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. DNA barkodlama teknikleri, bitkilerde tür düzeyinde doğru tanımlama yapılabilmesi için kritik bir araç olup, özellikle morfolojik benzerliklerin yanıltıcı olabildiği poliploid buğday türlerinde etkili bir çözüm sunmaktadır (Brown vd., 1999; Kilian vd., 2011; Li vd., 2015). Bu yöntemler, genetik düzeydeki farklılıkları ortaya çıkararak türlerin doğru bir şekilde sınıflandırılmasına olanak tanımaktadır. Buğday türleri arasındaki ploidik farklılıklarından kaynaklanan genetik çeşitliliğin moleküler düzeyde ayırt edilebilmesi, bu genetik bilginin tarımda yenilikçi yaklaşımlar için kullanılmasına imkan sağlayabilir. Böylece, buğday ıslah programlarında genetik materyal daha etkin bir şekilde değerlendirilebilir, bu da tarımsal verimliliğin artırılmasına ve iklim değişikliğine daha dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir (Fernandez vd., 2013).

IGS bölgesi, buğdayda ploidik düzeyinin (temel kromozom seti sayısının) belirlenmesinde önemli bir rol oynamakta olup, farklı genom kombinasyonlarına sahip türlerde farklı büyüklüklerde amplifikasyon ürünleri oluşturmaktadır. ITS bölgesinde yer alan ve genler arası boşluk olarak işlev gören bu DNA dizisi, farklı ploidik düzeyine sahip türlerde ayırt edici boyutlarda PZR ürünleri vermektedir. IGS bölgesi, genetik çeşitliliğin ve ploidik düzeyinin belirlenmesinde özellikle bitki çalışmalarında yaygın olarak kullanılan önemli bir moleküler belirteçtir. Çalışmamızda kullanılan primer çifti, D genomunu da içeren *T. aestivum*

örneklerinde (heksaploid buğday) yaklaşık 158 baz çiftlik bir PZR ürünü verirken, yalnızca A ve B genomlarına sahip *T. durum* örneklerinde (tetraploid buğday) yaklaşık 88 baz çiftlik bir ürün elde edilmiştir (Şekil 7).

Ploidlik düzeyi, bir organizmanın sahip olduğu kromozom seti sayısını tanımlar ve bitki ıslahı, çeşitlendirme ve genetik analizlerde önemli bir parametredir. Buğday gibi poliploid bitkilerde, genom düzeyindeki farklılıklar, türler arasında ploidlik farklarına yol açar. Bu farkların doğru bir şekilde belirlenmesi, genetik çeşitliliğin incelenmesinde ve tür tanımlamalarında kritik öneme sahiptir (Feldman vd., 2012). IGS bölgesinin kullanılması, ploidlik farklarının moleküler düzeyde belirlenmesine olanak tanır. *T. aestivum* ve *T. durum* arasındaki farklılık, yalnızca genom büyüklüklerine değil, aynı zamanda genetik materyalin yapılandırılmasına dayanmaktadır. IGS bölgesindeki baz çifti uzunlukları, farklı ploidlik düzeylerini ayırt etmede önemli bir rol oynar (Oliviera vd., 2012; Değirmenci vd., 2022). Bu çalışmada elde edilen veriler, her iki tür arasında belirgin ploidlik farklarını doğrulamaktadır.

Çalışmada kullanılan primer çifti, D genomunun tanımlanmasında oldukça spesifik bir şekilde çalışmış ve *T. aestivum* örneklerinden yalnızca D genomunu içeren bandı üretmiştir. Bu durum, primerlerin yüksek hassasiyetle ve doğru bir şekilde hedef bölgeyi tanıdığına işaret etmektedir. Ayrıca, *T. durum* örneklerinde yalnızca A ve B genomlarına ait ürünlerin elde edilmesi, primerlerin genom içeriği spesifikliğini bir kez daha doğrulamaktadır.



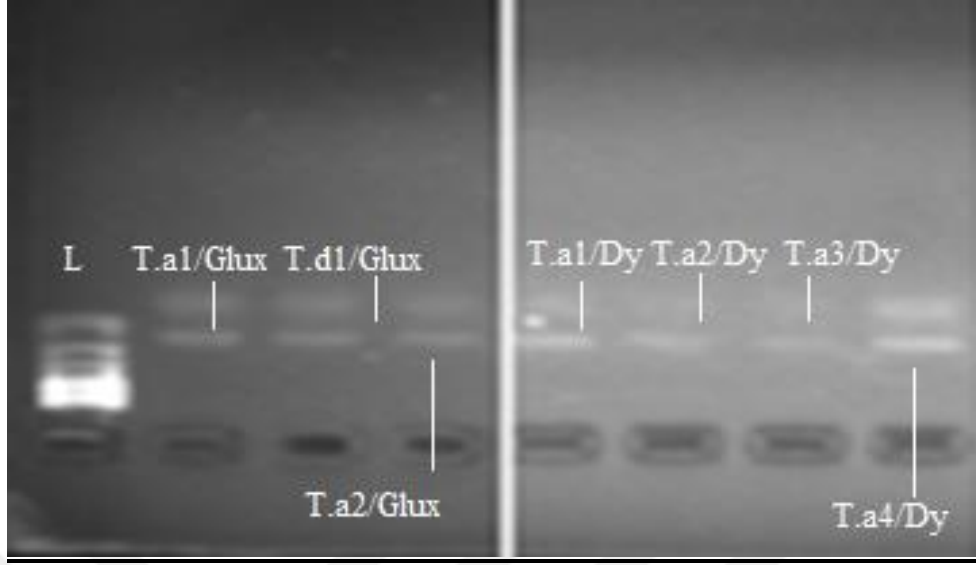
Şekil 7. *Triticum aestivum* ve *Triticum durum* türlerinin amplifiye edilmiş IGS gen bölgesi. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük molelüler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci

bölgesinin amplifikasyonu ile elde edilen sonuçlar, heksaploid ve tetraploid buğday türlerinin kesin olarak ayırt edilmesini sağlamıştır. Bu sonuçlar, poliploid buğday türlerinin genomik farklılıklarını ortaya koyarak, morfolojik yöntemlere göre daha hassas bir tür tayini yapılabileceğini göstermektedir. *IGS* bölgesindeki bu tür farklılıklar, yalnızca taksonomik sınıflandırmada değil, aynı zamanda genetik çeşitlilik analizi ve buğday ıslah programları gibi uygulamalarda da önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmanın bulguları, buğday türlerinin doğru tanımlanmasında genetik analizlerin ne denli önemli olduğunu vurgulamaktadır. Genetik farkların belirlenmesi, tarımda doğru türlerin seçilmesine ve ıslah çalışmalarının daha verimli yapılmasına olanak tanımaktadır (Li vd., 2011; Chen vd., 2024).

4.4 Gluten Gen Bölgesi'nin Analizi

Buğdayda glutenin 1 lokusu (*Glu-1*), ekmek kalitesinde önemli rol oynayan yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) glutenin alt birimlerini kodlar. Bu proteinler, buğday hamurunun elastikiyet ve viskozite özellikleriyle doğrudan ilişkilidir. *Glu-1* lokusu, buğdayın A, B ve D genomlarının her birinde 1. kromozomun uzun kolunda yer alır ve her genomda iki farklı HMW glutenin alt birimini kodlayan paralog genler bulunur: x-type ve y-type genleri. Bu genler, glutenin alt birimlerinin kalitatif ve kantitatif özelliklerini belirlemede önemli rol oynar.

Bu genler, çok alelli (multiple alleles) ve genoma özgüdür; dolayısıyla her bir genomda farklı aleller bulunabilir. Her bir gen paralogu, farklı protein alt birimlerinin sentezlenmesini sağlayarak buğdayın kalite özelliklerine katkıda bulunur (Wang vd., 2013; Guzman vd., 2022). Bu çalışmada, buğday örneklerinde Glutenin gen bölgesinde, A, B ve D genomlarına sahip buğday türlerinin DNA dizileri arasındaki değişimi belirlemek amacıyla her bir genom için x-type ve y-type *Glu-1* genleri çoğaltılmıştır. Ancak, 52F ve B52F primer çiftlerinin amplifikasyonu, D genomuna özgü bir dizi elde edilmesine olanak vermediğinden, ek olarak Fernandez vd. (2013) tarafından verilen ve *Glu-1* lokusunun açık okuma çerçevesine (ORF) yakın bir bölgesini (-209'dan -130'a kadar) hedefleyen primerler kullanılarak iç içe PCR (Nested PCR) uygulanmış ve böylece D genomuna ait diziler elde edilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. *T. aestivum* ve *T. durum* türlerinin amplifiye edilmiş glüten geninin A,B, D genom içeren buğdaylardaki alt birimlerinin jel görüntüsü. Tohum kodları Çizelge 1’de verilmiştir. L: Düşük moleküler ağırlıklı 100 bç DNA belirteci

Triticum aestivum HMW-GS (GluB1.1) gene GluB1.1 Bx1 allele partial cds KM116485.1	1	11	80
T3-B-B52F	ATTGGCTCCTTACTTATCCAGCTTCTTTTGTGTTGGCAAAC	TGCCCTTTTCCAACCGATTTTGTCTTCTCACGCTTTC	
M1-B-172R			
E2-S2F-172R		G	
Triticum aestivum cultivar A4 HMW-GS (GluD1.1) gene GluD1.1-Dx3 allele partial cds KM116493.1			
T3B-DY-DY156R		G	
E2B-DY-DY156R		G	
E2S-DY-DY156R		G	
Triticum aestivum HMW-GS (GluB1.1) gene GluB1.1 Bx1 allele partial cds KM116485.1	81	117118	131
T3-B-B52F	TTCATAGGCTAAACTAACCTCGGC	GTGCACACACCATGTCTTGAACCTT	CAC
M1-B-172R			
E2-S2F-172R			
Triticum aestivum cultivar A4 HMW-GS (GluD1.1) gene GluD1.1-Dx3 allele partial cds KM116493.1		T	
T3B-DY-DY156R		T	
E2B-DY-DY156R		TG	
E2S-DY-DY156R		TG	

Şekil 10. *T. aestivum* ve *T.durum* türlerinin *Glu1* lokusları için dizileme görüntüsü

Triticum durum türünün B genomu için çoğaltılan 131 bç uzunluğundaki X aleli, *Triticum aestivum*’un A ve D genomları için çoğaltılan 131 bç uzunluğundaki X aleliyle karşılaştırıldığında, 11. baz pozisyonunda Adenin (A) ile Guanin (G) arasında gözlenen tek bir nükleotid değişimi dışında tamamen aynı bulunmuştur (Şekil 10). Bu durum, B genomunun her iki türde de büyük ölçüde korunmuş olduğunu, ancak belirli bir baz pozisyonunda küçük bir varyasyon içerdiğini göstermektedir. Ayrıca, *T. durum* ve *T. aestivum*’un B genomuna ait 131 bç uzunluğundaki X aleli, GenBank veri tabanında kayıtlı *T. aestivum*’un buğday kalitesi ile ilişkili HMW-GS (Glu B1.1) aleli (KM116485.1) ile %100 uyum göstermektedir. Bu sonuç, her iki türün B genomunda aynı kalite belirleyici aleli

taşıdığını doğrulamaktadır.

Öte yandan, *T. aestivum*'un D genomuna ait 118 bç uzunluğundaki Dx aleli çoğaltılarak GenBank veri tabanı ile karşılaştırıldığında, *T. aestivum* cultivar A4'ün HMW-GS (Glu D1.1-DX3) aleli (KM116493.1) ile yüksek oranda uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Bu alele, 11. ve 118. baz pozisyonlarında Adenin–Guanin (A/G) ve Timin–Guanin (T/G) değişimleri belirlenmiştir (Şekil 10). B genomuna ait X aleli hem *T. aestivum* hem de *T. durum* türlerinde büyük oranda korunmuş olup yalnızca tek bir nükleotid değişimiyle ayrılmaktadır. Bu genler, buğdayın glutenin içeriğini ve dolayısıyla ekmek kalitesini belirlemede kritik rol oynamaktadır (Wang vd., 2013).

D genomunun Dx aleli de benzer şekilde, *T. aestivum*'un kalite ile ilişkili HMW-GS alelini yansıtmaktadır. Belirlenen nükleotid değişimleri (A/G ve T/G substitüsyonları), bu alellerdeki genetik varyasyonu göstermektedir. Bu tür baz değişimleri, buğday türleri arasındaki genetik çeşitliliğin ve kalite özelliklerinin belirlenmesinde HMW-Glu genlerinin önemli genetik belirteçler olduğunu ortaya koymaktadır (Fernandez vd., 2013). Genel olarak elde edilen bulgular, B ve D genomlarının özellikle HMW-Glu gen bölgelerinin dizilimlerinin kullanılmasıyla *T. aestivum* ve *T. durum* türleri arasındaki genetik farklılıkların daha hassas bir şekilde ortaya konabileceğini göstermektedir. Bu tür genetik analizler, buğday türlerinin doğru tanımlanmasına ve tarımsal üretimde kalite ile verimliliğin artırılmasına katkı sağlayacaktır.

4.5. XDuPw167 Mikrosatellit Gen Bölgesinin Analizi

Sadece *Triticum aestivum* türünde amplifiye edilebilen XDuPw167 mikrosatellit gen bölgesinin dizisi, GenBank veri tabanında kayıtlı buğday türlerine ait kallos sentaz gen dizileriyle karşılaştırıldığında, XM_044549473.1 erişim numaralı *T. aestivum* kallos sentaz geni ile %99 eşleşme ve %97,60 benzerlik göstermiştir. Tetraploid buğday türleri incelendiğinde, *T. durum* türüne ait kallos sentaz genine ilişkin bir dizi veritabanında mevcut değildir. Ancak, *T. aestivum* örneğinden elde edilen bu dizinin, tetraploid *T. dicoccoides* türü ile %99 eşleşme ve %91,35 benzerlik oranına sahip

oyunmaktadır. Genetik farklılıkların belirlenmesi, tarımsal üretimde doğru türlerin seçilmesi ve buğday genetik kaynaklarının etkin yönetimi için sağlam bir temel oluşturmaktadır.

Araştırmanın genetik bulguları, tür tanımlamanın ötesinde, tarımsal verimliliği artırma, çevresel streslere dayanıklılık geliştirme ve ürün kalitesini iyileştirme gibi önemli hedeflere de katkı sağlamaktadır. Özellikle *IGS*, *Glu* ve *XDUPw167* gen bölgelerindeki detaylı varyasyon incelemeleri, iklim değişikliği ve diğer çevresel zorluklara karşı daha dayanıklı ve uyum sağlayabilen buğday çeşitlerinin geliştirilmesine destek olabilir. Ayrıca, bu gen bölgelerindeki genetik çeşitliliğin ortaya konması, endüstriyel uygulamalarda buğday türlerinin fonksiyonelliğini ve verimliliğini artırmak için yeni fırsatlar sunmaktadır.

Sonuç olarak, çalışma, poliploid buğday türlerinin genetik belirteçler aracılığıyla daha hassas şekilde sınıflandırılabilceğini ve bu yaklaşımın tarımsal ıslah programlarında kullanılan geleneksel yöntemlere güçlü bir alternatif oluşturduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler, sürdürülebilir buğday üretimi ve küresel gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

Álvarez, I.J.F.W., Wendel, J.F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution*, 29(3), 417-434.

Broushaki, F., Thomas, M. G., Link, V., López, S., Van Dorp, L., Kirsanow, K., Burger, J. (2016). Early Neolithic genomes from the eastern Fertile Crescent. *Science*, 353(6298), 499-503.

Brown, T.A., Allaby, R.G., Brown, K.A., O'Donoghue, K., Sallares, R. (1994). DNA in wheat seeds from European archaeological sites, *Experientia*, 50, 571-575.

Brown T.A. (1999) How ancient DNA may help in understanding the origin and spread of agriculture. *Philos Trans R Soc Lond B* 354, 89–98.

Chen, F., Shen, Y., Li, G., Ai, M., Wang, L., Ma, H., He, W. (2024). Classification of wheat grain varieties using terahertz spectroscopy and convolutional neural network. *J. Food Compos. Anal.*, 129, 106060.

Değirmenci, F.Ö., Ulaş, B., Kansu, Ç., Uluğ, A., Caneva, I., Asal, R., Kaya, Z. (2022).

The ancient DNA and archaeobotanical analysis suggest cultivation of *Triticum aestivum subsp. spelta* at Yumuktepe and Yenikapı Pottery Neolithic sites in Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-20.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1987) A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.

Eujayl, I., Sorrells, ME., Baum, M., Wolters, P., Powell, W. (2002). Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 104:399-407.

FAO. (2023). FAOSTAT Statistical Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 12 Mayıs 2025 tarihinde <https://www.fao.org/statistics/en> adresinden erişildi.

Feldman, M., Levy, A.A., Fahima, T., Korol, A. (2012). Genomic asymmetry in allopolyploid plants: wheat as a model, *Journal of Experimental Botany*, 63:14, 5045–5059, <https://doi.org/10.1093/jxb/ers192>.

Fernandez, M., Salamini, F., Bohn, M. (2013). Characterization of glutenin genes in wheat. *Plant Molecular Biology*, 81(5), 473–490.

GenBank: National Center for Biotechnology Information. (2023). 10 Mayıs 2025 tarihinde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> adresinden erişildi.

Guzmán, C., Crossa, J., Mondal, S., Govindan, V., Huerta, J., Crespo-Herrera, L., et al. (2022). Effects of glutenins (Glu-1 and Glu-3) allelic variation on dough properties and bread-making quality of CIMMYT bread wheat breeding lines. *Field Crops Res.* 284: 108585.

Hyun, D.Y., Sebastin, R., Lee K.J., Le, G.A., Shin, M.J., et al. (2020) Genotyping-by-sequencing derived single nucleotide polymorphisms provide the first well-resolved phylogeny for the genus *Triticum* (Poaceae). *Front Plant Sci* 11:688.

Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezhuk, Y., McGinnis, S., Madden, T. L. (2008). NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*, 36, 5-9.

Kilian, B., Özkan, H., Kohl, J., von Haeseler, A., Barale, F., Deus, O., Salamini, F. (2011). Molecular diversity at 18 loci in 7 species of the genus *Triticum* and the origin of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Genetics and Genomics*, 285(2), 143-157.

Kress, W.J., & Erickson, D.L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the combination of rbcL and matK for species identification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 292-297. DOI: 10.1073/pnas.0709936104

Kuzoff, R.K., Sweere, J.A., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Zimme, E.A. (1998). “The phylogenetic potential of entire 26S rDNA sequences in plants”, *Molecular Biology and Evolution*, 15(3), 251–263.

Levy, A.A., Feldman, M. (2022). Evolution and origin of bread wheat. *Plant Cell*. 4, 34(7):2549-2567. doi: 10.1093/plcell/koac130.

Li, C., Lister, D.L., Li, H., Xu, Y., Cui, Y., Bower, M.A., Jones, M.K., Zhou, H. (2011). Ancient DNA analysis of desiccated wheat grains excavated from a Bronze Age cemetery in Xinjian. *Journal of Archaeological Sciences*, 38(1), 115–119.

Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y. ve Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90(1), 157–166. doi:10.1111/brv.12104.

Liu, Z., Zhang, Y., & Teng, G. (2025). Identification Method of Mature Wheat Varieties Based on Improved DenseNet Model. *Agriculture*, 15(7), 736. <https://doi.org/10.3390/agriculture15070736>.

Morgounov, A., Keser, M., Kan, M., Koksel, H., Mert, Z., Qualset, C. O. (2016).Wheat landraces of Turkey: Distribution, diversity, and productivity. *Field Crops Research*, 191, 35-45.

O'Neill, M., McPartlin, J., Arthure, K., Riedel, S., McMillan, N.D. (2011). Comparison of the TLDA with the Nanodrop and the reference Qubit system. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 307, No. 1, p. 012047). IOP Publishing.

Özdoğan, M. (2011). Archaeological Evidence on the Westward Expansion of Farming Communities from Eastern Anatolia to the Aegean and the Balkans, *Cur. Anthology*, 52(4), 415-S430.

Salamini, F., Özkan, H., Brandolini, A., Schäfer-Pregl, R., Martin, W. (2002). Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. *Nature Reviews Genetics*, 3(6), 429-441.

Sallares, R., Allaby, R. G., Brown, T.A. (1995). PZR-based identification of wheat genomes. *Molecular Ecology*, 4(4), 509-514.

Sallares, R., Brown, T.A. (1999). PZR-based analysis of the intergenic spacers of the Nor loci on the A genomes of *Triticum* diploids and polyploids. *Genome*, 42(1), 116-128.

Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553.

Shewry, P.R., Hey, S.J. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food Energy Secur.* 4(3), 178-202. doi: 10.1002/fes3.64.

Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.

Tekdal, S., Yıldırım, M. (2015). Sıcaklık stresine maruz bırakılan bazı makarnalık buğday çeşitlerinin kalite özelliklerinin incelenmesi. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2): 68-76.

Van Slageren, M.W. (1994). *Wild wheats: A monograph of Aegilops L. and Amblyopyrum (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae)*. Wageningen Agricultural University Papers.

Vieira, M.L., Santini, L., Diniz, A.L., Munhoz, C.F. (2016). Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genet Mol Biol.* 39(3), 312-28. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.

Wang, S., Yu, Z., Cao, M., Shen, X., Li, N., Li, X., Ma, W., Weißgerber, H., Zeller, F., Hsam, S., Yan, Y. (2013). Molecular mechanisms of HMW glutenin subunits from 1S(l) genome of *Aegilops longissima* positively affecting wheat breadmaking quality. *PLoS One.* 4, 8(4):e58947.

Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol.* 24(2), 115-9. doi: 10.1016/j.fm.2006.07.004.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols: A guide to methods and applications. *Academic Press*, 315-322.

Yang, R., Dai, P., Wang, B., Jin, T., Liu, K., Fahad, S., Harrison, M. T., Man, J., Shang, J., Meinke, H., Liu, D., Wang, X., Zhang, Y., Zhou, M., Tian, Y., & Yan, H. (2022). Over-Optimistic Projected Future Wheat Yield Potential in the North China Plain: The Role of Future Climate Extremes. *Agronomy*, 12(1), 145.

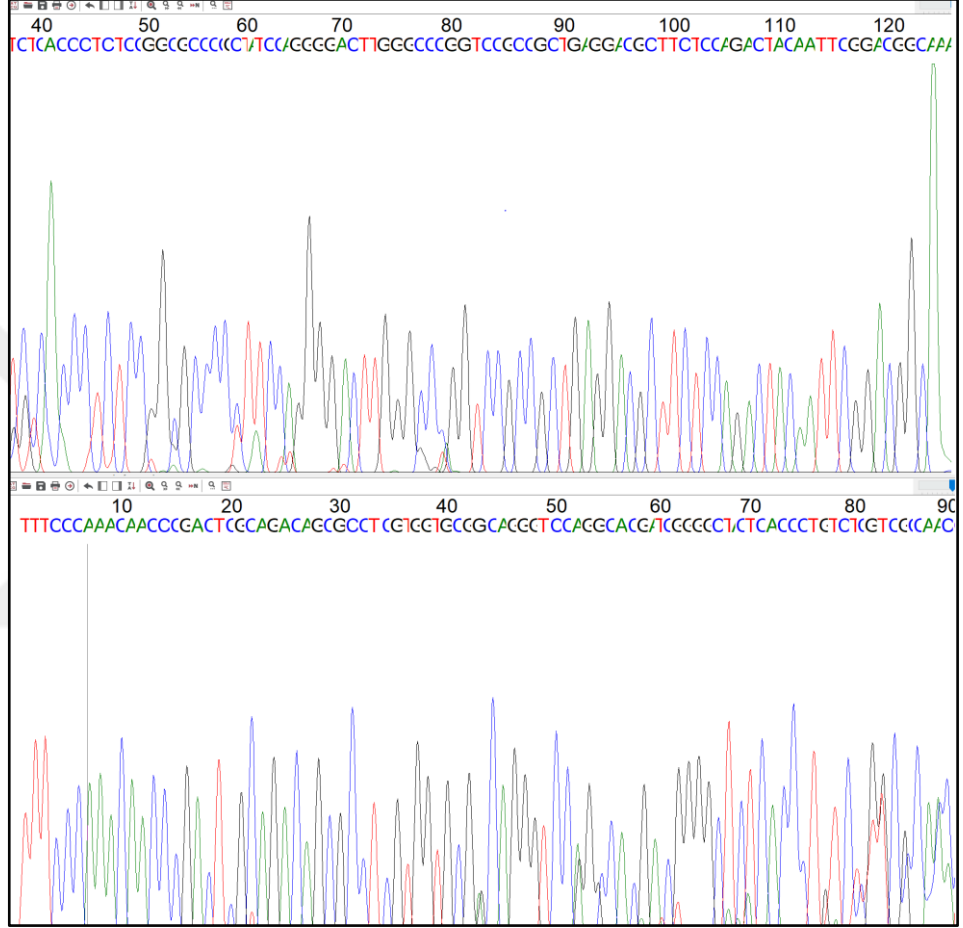
Yue, Z., Wang, H., Wu, Y., Zhao, J. (2022). Global wheat production trends and their implications for food security. *Nature Sustainability*, 5, 24-34.

Zhu, T., Wang, L., Rimbart, H., Rodriguez, J.C., Deal, K.R., et al. (2021). Optical maps refine the bread wheat *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring genome assembly. *Plant J.* 107(1):303-314. doi: 10.1111/tpj.15289.

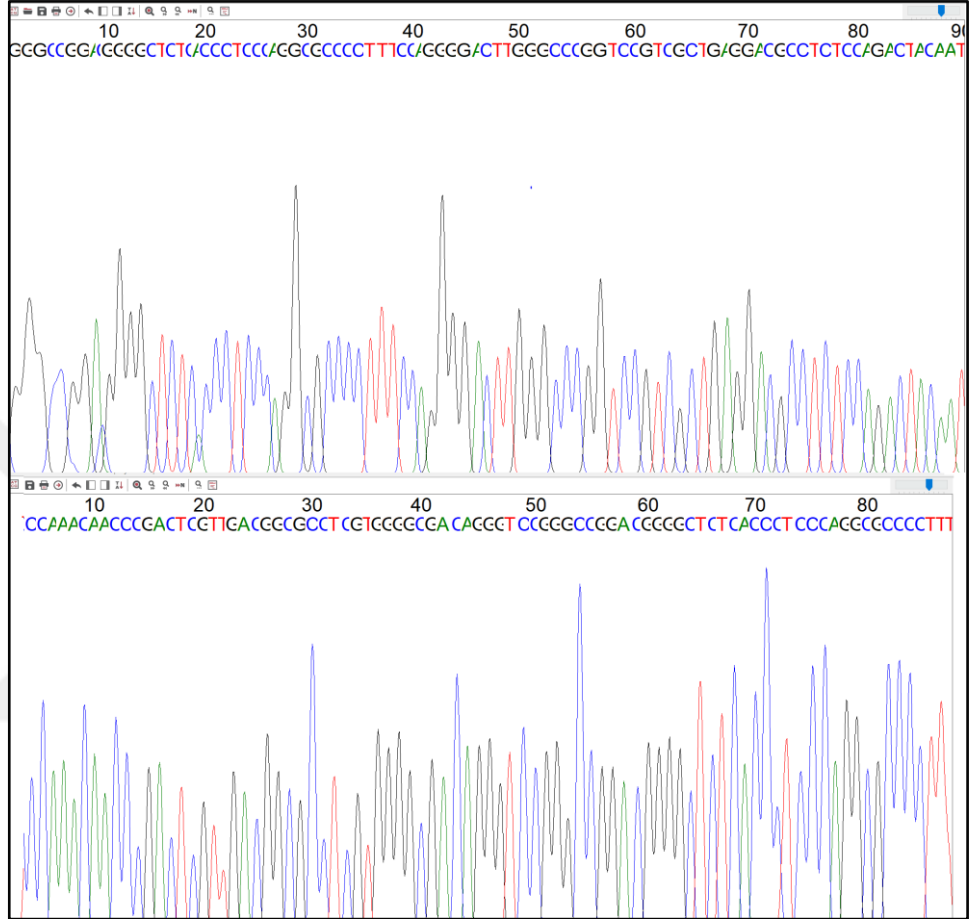
EKLER

EK 1. Kromatogram Görüntüleri

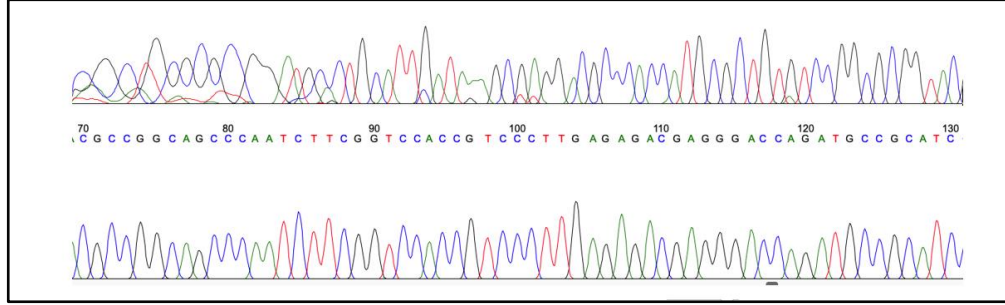
T. aestivum türü için 26S rDNA gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



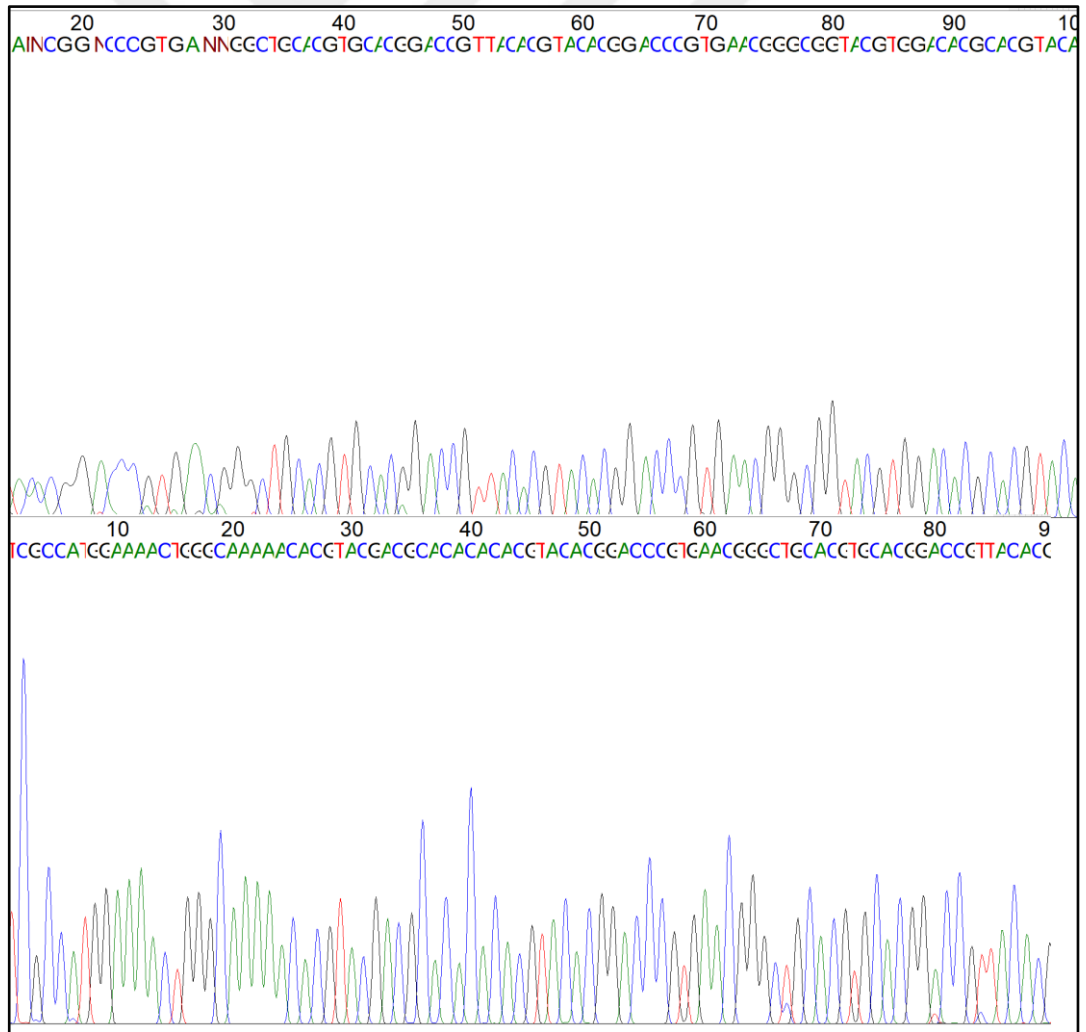
T. durum türü için 26S rDNA gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



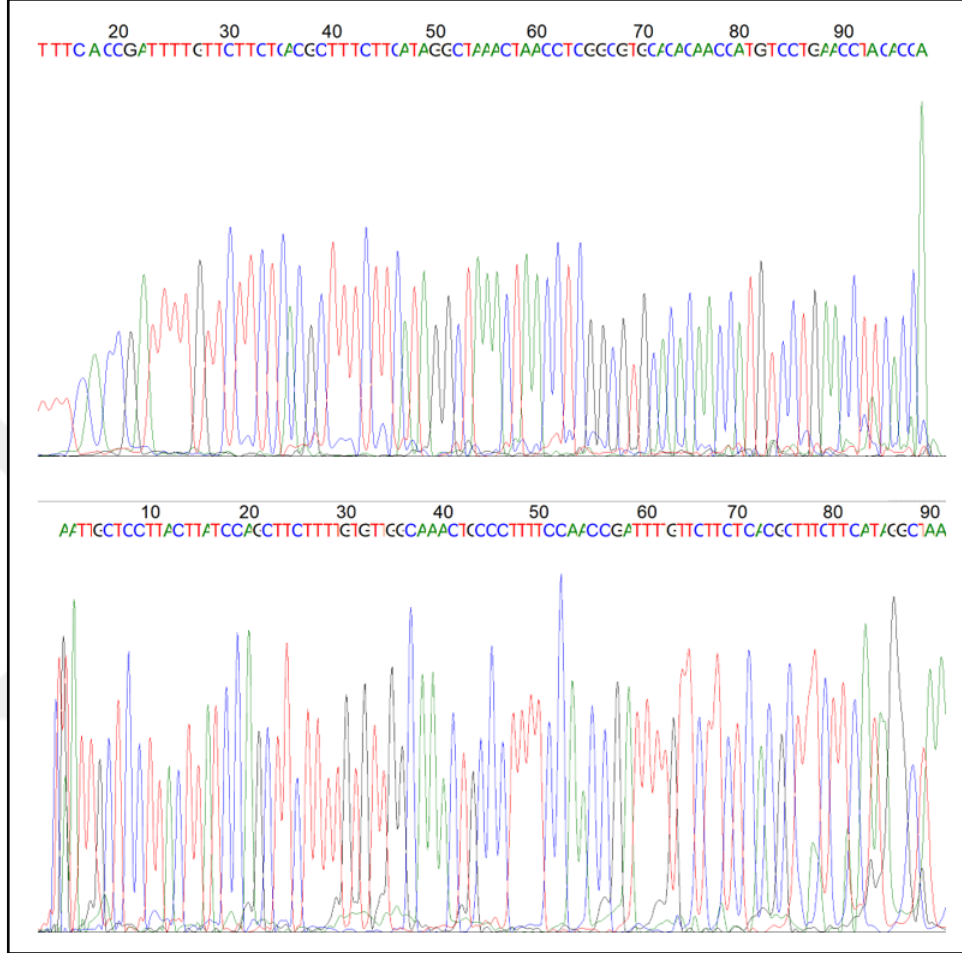
T. aestivum türü için ITS2 gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



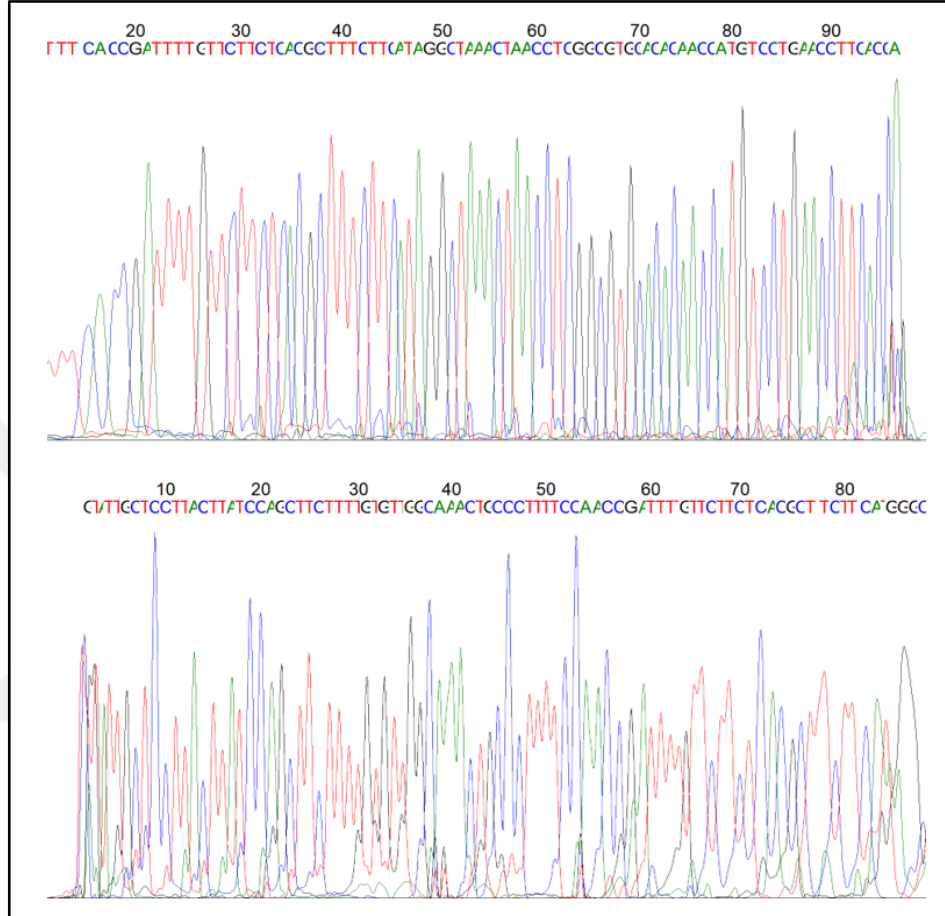
T. aestivum türü için IGS gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



T. aestivum türü için 52F gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



T. durum türü için B52F gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü



T. aestivum türü için DY156 gen bölgesi ileri (F) ve geri (R) dizileme kromatogram görüntüsü

