

TC
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

YABANI BUĞDAY TÜRLERİNİN
iPBS-RETROTRANSPON DNA MARKÖRLERİ İLE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Bora BAYHAN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Ferhat KIZILGEÇİ

Mardin-2021

TC
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

YABANI BUĞDAY TÜRLERİNİN
iPBS-RETROTRANSPON DNA MARKÖRLERİ İLE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Bora BAYHAN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Ferhat KIZILGEÇİ

Bu çalışma Mardin Artuklu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Başkanlığı tarafından MAÜ.BAP.20.KMY.024 No'lu proje olarak
desteklenmiştir.

Mardin-2021

TC
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Eğitim Bilimleri Ana Bilim Dalı 19203009 numaralı öğrencisi Bora BAYHAN'ın hazırladığı “**Yabani Buğday Türlerinin iPBS-Retrotranspozon DNA Markörleri İle Moleküler Karakterizasyonu**” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezi ile ilgili TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 14/07/2021 Pazartesi günü saat 10:00’da yapılmış, tezin onayına OY BİRLİĞİYLE karar verilmiştir.

Başkan..... (İmza)

Doç. Dr. Ferhat KIZILGEÇİ (Danışman)

Üye (İmza)

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Üye (İmza)

Doç. Dr. Hüsnü AKTAŞ

ONAY

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu’nun..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.
...../...../20.....

Doç. Dr. Ziya POLAT
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tez çalışmasının hazırlık, bilgi, belge, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarda bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun davrandığımı,
- Tez çalışmada kullanılan tüm eserlere eksiksiz atıf yaptığımı ve kullanılan tüm eserlere kaynaklar/kaynakçada yer verdiğimi,
- Tez çalışmasının özgün olduğunu,
- Tez çalışmasının Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabullendiğimi bildiririm.

İmza

Bora BAYHAN

14/07/2021

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Yabani Buğday Türlerinin iPBS-Retrotranspozon DNA Markörleri ile Moleküler Karakterizasyonu

Bora BAYHAN

Mardin Artuklu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

2021: 48 sayfa

Türkiye buğday çeşitliliğinin ana merkezi olmak ile beraber çeşitli tahılların yabani formlarını yoğun olarak içinde barındırmaktadır. Verimli hilâl içinde yer alan Türkiye, genetik zenginliğini günümüze taşımış ve keşfedilmek için çalışmaları beklemektedir. Bununla birlikte ilk kültüre alınmış olan buğday formlarının Türkiye'nin Güneydoğusundan köklendiği bilinmektedir. Bu çalışmada, 2018 yılında Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış olan yabani buğday türleri (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *T. dicocoides*, *Ae. columnaris*) iPBS-Retrotranspozon marker tekniği kullanılarak genotiplerinin genetik çeşitliliği ve populasyon yapısı tespit edilmiştir. iPBS-Retrotranspozon marker tekniğinde 11 adet iPBS markeri toplam 61 allel üretmiş, marker başına allel sayısı 2 (2085) ile 9 (2394) arasında değişmiş ve ortalama allel sayısı 5.55 olarak bulunmuştur. iPBS için beklenen heterozigotluk 0.2330 ile 0.2666 arasında değişkenlik göstermiştir. Nei gen çeşitliliği ortalaması 0.4861 olmuştur. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.22-0.47 arasında değişkenlik gösterirken ortalama 0.35 olarak bulunmuştur. Genotipler arasındaki genetik benzerlik, NTSYS-pc yazılımı kullanılarak hesaplanmış ve % 19 ile % 98 arasında değişim gösterdiği gözlemlenmiştir. En yüksek genetik benzerliğin YB66 (*Ae. triuncialis*) ile YB67 (*Ae. triuncialis*) (% 98) arasında ve en düşük genetik benzerlik ise YB70 (*Ae. triuncialis*) ile YB2 (*Ae. cylindrica*) (% 19) arasında görülmüştür. Nei'nin genetik mesafesi kullanılarak yapılan kümeleme analizinde 70 yabani buğday genotipi 3 gruba ayrılmıştır. Bu 3 grubun içerisindeki türler arasında genetik farklılıklar ve benzerlikler olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen bilgiler ışığında genetik çeşitlilik ve benzerliklerin saptanması aşamasında iPBS-Retrotranspozon markırlarının potansiyeli ortaya konulmuştur. iPBS-Retrotranspozon markırlarının evrensel doğasından dolayı çeşitli bitkiler üzerinde yapılacak olan filogenetik ilişkilerin araştırılması üzerine etkili bir biçimde kullanılabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Ae. cylindrica*, genetik çeşitlilik, markör, yabani buğday.

ABSTRACT

Master Thesis

Molecular Characterization of Wild Wheat Species with IPBS-Retrotransposon DNA Markers

Bora BAYHAN

Mardin Artuklu University

Institute of Graduate Education

Department of Field Crops

2021: 48 Pages

Turkey is the main center of wheat diversity and contains wild forms of various cereals. Turkey, located in the Fertile Crescent, has conserved its genetic richness to the present day and is waiting for studies to be discovered. However, it is known that the first cultivated wheat forms are rooted in the Southeast of Turkey. In this study, wild wheat species (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *T. dicocoides*, *Ae. columnaris*) collected in the Eastern and Southeastern Anatolia regions of Turkey (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) in 2018. The genetic diversity and population structure of the genotypes were determined by IPBS-Retrotransposon the marker technique. In the IPBS-retrotransposon marker technique, 11 IPBS markers produced a total of 61 alleles, the number of alleles per marker ranged from 2 (2085) to 9 (2394), and the mean number of alleles was 5.55. The expected heterozygosis for IPBS ranged from 0.2330 to 0.2666. The mean of Nei gene diversity was 0.4861. Polymorphic information content (PIC) varied between 0.22-0.47, with an average of 0.35. Genetic similarity between genotypes was calculated using NTSYS-pc software and it was observed that it varied between 19 % and 98 %. The highest genetic similarity was observed between YB66 (*Ae. triuncialis*) and YB67 (*Ae. triuncialis*) (98 %), and the lowest genetic similarity was between YB70 (*Ae. triuncialis*) and YB2 (*Ae. cylindrica*) (19 %). In the cluster analysis using Nei's genetic distance, 70 wild wheat genotypes were divided into 3 groups. It has been observed that there are genetic differences and similarities between the species in these 3 groups. According to the results obtained, the potential of IPBS-Retrotransposon markers was demonstrated in the detection of genetic diversity and similarities. It has been determined that IPBS-Retrotransposon markers can be used effectively to investigate phylogenetic relationships on various plants.

Keywords: *Ae. cylindrica*, genetic diversity, marker, wild wheat.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konumun belirlenmesi ve bu araştırmanın her adımında yardım ve desteğini üzerimden esirgemeyen, bana yol gösteren ve her daim daha iyiye ulaşabilmem için zorluklar karşısında çözümcü duruşunu yansıtan, bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan kaçınmayan, maddi ve manevi her daim desteğini sonuna kadar gösteren değerli bilim insanı danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ferhat KIZILGEÇİ'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın başladığı günden itibaren bitirme anına kadar her zaman yanımda olan, sabır göstermiş ve desteklerini esirgememiş olan hocalarım Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM'a, Sayın Doç. Dr. Emre İLHAN ve değerli ekibine, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökhan YÜRÜMEZ'e, Sayın Arş. Gör. Hasan KOŞUNKARTAY ve ailelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamın sonuçlandırılması kısmında istatistik paket programlarını kullanarak değerli bilgi ve yardımlarını esirgememiş olan Sayın Dr. Arash HOSSEIN POUR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca yapmış bulunduğum tüm işlerde maddi, manevi desteklerini üzerimden esirgemeyen ve en büyük dayanağım olan babam Tayfun BAYHAN'a, annem Yeter BAYHAN'a ve ablam Ezgi BAYHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya MAÜ.BAP.20.KMY.024 nolu proje ile destek veren Mardin Artuklu Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLOLAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3. MATERYAL ve METOT	12
3.1. Materyal	12
3.1.1. Materyallerin özellikleri.....	14
3.2. Metot	18
3.2.1. Yabani buğdaylardan tohum elde edilmesi ve DNA izolasyonu için bitki yetiştirilmesi	18
3.2.2. Kullanılan araç-gereçler	19
3.2.3. Genomik DNA izolasyonu	19
3.2.4. DNA konsantrasyon ayarı	20
3.2.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) iPBS – Retrotranspozon taramaları.....	22
3.2.6. iPBS - PCR reaksiyonu optimizasyonu	22
3.2.7. iPBS-PCR reaksiyonunun elektroforez hazırlığı ve gerçekleştirilmesi Agaroz jel hazırlanışı	25
3.2.8. Verilerin analizi.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	29
4.1. iPBS Primer Bilgileri	30
4.2. Genetik Benzerlik.....	31
4.3. Kümeleme ve Komponent Analizi.....	32
4.4.Dendrogram Analizi.....	33

4.5. Structure Analizi ve ΔK Değeri	35
4.6. Genotiplere Ait Gözlenen Allel Sayısı (N_a), Etkili Allel Sayısı ($*N_e$), Nei'nin Gen Çeşitliliği ($*H$), Shannon's Bilgi İçeriği ($*I$).....	38
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	44
EKLER.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	49



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 3.1: Yabani buğday türlerinin toplandığı yerlere ait lokasyon bilgileri.....	12
Tablo 3.2: Çalışmada yapılmış olan nanodrop ölçümleri	21
Tablo 3.3: iPBS-retrotranspozon PCR protokolü.....	23
Tablo 3.4: Tez çalışması için taraması yapılan ve polimorfik bant sayılarına göre seçilecek olan iPBS-Retrotranspozon primerleri ve baz dizilimleri listesi.....	23
Tablo 3.5: Tarama işleminin ardından seçilmiş olan 11 iPBS primeri	24
Tablo 3.6: iPBS analizinde kullanılan PCR sıcaklık ve döngü koşulları	24
Tablo 4.1: iPBS primerlerinden elde edilmiş bilgiler	30
Tablo 4.2: iPBS primerlerinden elde edilmiş verilere göre Allel frekansı.....	37
Tablo 4.3: 3 Yabani buğday alt-popülasyonlarında beklenen heterozigotluk oranı ve FST (F-istatistik)	38
Tablo 4.4: Genotiplere ait etkili allel sayısı (*Ne), Nei nin gen çeşitliliği (*H), Shannon's bilgi içeriği (*I)	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1: Yabani buğday türlerinin toplandığı iller	12
Şekil 3.2: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan <i>Ae. triuncialis</i> 'e ait başak görüntüsü	14
Şekil 3.3: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan <i>Aegilops cylindrica</i> 'ya ait başak görüntüsü	15
Şekil 3.4: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan <i>Aegilops columnaris</i> 'e ait başak görüntüsü.....	16
Şekil 3.5: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan <i>Aegilops geniculata</i> 'ya ait başak görüntüsü.....	17
Şekil 3.6: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan <i>Triticum dicoccoides</i> 'e ait başak görüntüsü.....	18
Şekil 4.1: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (1-24).....	31
Şekil 4.2: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (25-49).....	31
Şekil 4.3: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (49-70).....	31
Şekil 4.4: iPBS verileri ile belirlenmiş komponent analizi	33
Şekil 4.5: iPBS primeri kullanarak UPGMA metoduyla oluşturulan soyağacı	34
Şekil 4.6: K değerleri ve Delta K.....	36
Şekil 4.7: iPBS verilerine dayalı popülasyon yapısının grafiksel gösterimi	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu tez çalışmasında kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda belirtilmiştir.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
µl	Mikrolitre
dk	Dakika
g	Gram
M	Molar
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
n	Döngü Sayısı
ng	Nanogram
rpm	Revolutions Per Minute (Dakikada Devir)
sn	Saniye
Taq	Taq Polymerase (Thermus aquaticus'dan İzole Edilen Enzim)
V	Volt
µM	Mikrogram

Kısaltmalar	Açıklama
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluk Polimorfizmi)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DNTP	Deoksi-Nükleotit Trifosfat
EDTA	Ethylene Di-Amin Tetra Acetic Acid (Etilen Diamin Asetik Asit)

I	Shanon Bilgi İndeksi
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
iPBS	Inter-primer Binding Site (Primerler Arası Bağlanma Bölgesi)
LTR	Long Terminal Repeat
MÖ	Milattan Önce
PCoA	Principal Coordinates Analysis-PCoA (Temel Koordinat Analizi)
PCR	Polymerase Chain Reaction
POGP	Peroxidase Gene Based Markers
PIC	Polymorphic Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
PAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rasgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi)
SB	Sodium Borate
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (Sodyum Dodesil Sülfat)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TE	Tris-EDTA Tamponu
Tris-HCl	Tris-Hidroklorür
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average (Aritmetik Ortalamaları ile Tartılı Olmayan Çift Grup Metot Analizi)
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Poaceae familyasının *Triticum* cinsine bağı olan ve tek yıllık olarak yetişen buğday, kromozom sayılarına göre *Triticum* L. ve *Aegilops* L.'nin 3 ploidi seviyesinde birkaç türü vardır: diploid ($2n = 14$), tetraploid ($2n = 28$) ve hexaploid ($2n = 42$). Tetraploid, makarnalık buğday (*Triticum durum* L.) ve hekzaploid, ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) özel olan kültürel bir öneme sahip olması ile bilinmektedir (Karagöz ve ark., 2006; Nazlı, 2017).

Bitkilerin biyoçeşitlilik durumu ve gen kaynağı açısından Türkiye, dünya üzerinde var olan en zengin çeşitliliğe sahip ülkedir (Ceylan, 2010). Türkiye'nin jeomorfolojik durumundan dolayı daha farklı ekolojik imkana sahip olması ülkemize bitkisel gen kaynağı açısından büyük çeşitlilik sağlamıştır. Çünkü Türkiye Avrupa-Akdeniz-İran alanlarının birleştirici kısmı Güneybatı Asya ile Avrupa geçiş güzergâhında yer almaktadır, bu sebeple çok sayıda tür ve cins için bir gen havuzu ve farklılığı oluşturmaktadır (Nazlı, 2017). Dünya üzerinde tahıllar açısından mısır ve çeltikten sonra üretimi en yüksek miktarda olan buğday bitkisinin ülkemiz sınırlarında 28 yabani buğday çeşidinin yaşam merkezi olduğu bilinmektedir (Karaozan, 2019). Kültüre alınmış olan çeşitlerde, çiftçiler aracılığı ile yabani türlerden seçilmiş olan verimi yüksek ve istenen diğer özellikleri sağlayan yerel çeşitlerin topluluğundan oluşmaktadır (Ceylan, 2010).

M.Ö. 10.000'e kadar uzanan, dünyadaki en eski ve en önemli serin iklim tahılı olan buğday beslenme alışkanlığımızın önemli bir konumunda yer almaktadır (Karaozan, 2019). Ülkemizin hemen hemen yedi bölgesinde de buğday üretimi yapılmakta ve bu üretim ile insan beslenmesine önemli katkılar sunulmaktadır. Dünya popülasyonunun gerekli besini alabilmesi adına gerekli karbonhidratın % 55'i ve kalori miktarının % 20'si buğday kaynaklı üretilmiş olan besinlerden alınmaktadır (Arystanbek Kyzy, 2019).

Ekim alanı ve verim bakımından tarla mahsullerinde birinci sırada devamlılığını koruyan buğday, 2019 yılında buğday ekim çalışmalarında ekilmiş alan 68.4 milyon dekar ve buğday üretim miktarı 20.5 milyar ton olarak belirlenmiştir

(TÜİK, 2020). Buğdayın bu kadar ekilmesinin ve önemsenmesinin nedeni diğer serin iklim tahıllarında olduğu gibi buğdayın adaptasyon yeteneğinin yüksek olması alışagelmemiş iklim koşullarında bile yetiştirebilecek bir düzeye erişmiş olmasıdır (Uyğan, 2014). Tropikal ülkelerden olan Amerika'nın güney alanlarında, Avrupa'nın kuzey kısımlarında ılıman iklim şartlarıyla birçok coğrafya ve farklı iklim ve koşullarında da buğdayın yetiştigi görülebilmektedir. Türkiye'de ise her 5 çiftçimizden 4'ü buğday tarımı yapmaktadır (Karaozan, 2019).

Artmakta olan nüfus ile beraber besin ihtiyacı aynı doğrultuda artmıştır, bu artış ile beraber insanlık için temel besin ihtiyaçlarının karşılanmasında buğday ön plana çıkmış ve bu bitki ıslah çalışmalarının önemli adımlarında bir kaynak olmuştur (Ceylan, 2010). Buğday çeşit geliştirme amacı ile yapılmış olan sürekli ıslah çalışmaları ile birlikte kültür durumunda bulunan buğdayların genetik çeşit özellikleri gitgide azalmış ve bununla birlikte tarla üzerinde bulunan zararlı, hastalıklar ve çevresel streslere karşı hassas duruma gelmişlerdir. Bu sebeple var olan stres koşulları ve verim ve kalite özellikleri adına genetik varyabiliteyi artırmak için gen kaynaklarının araştırılıp bilime kazandırılması gerekmektedir. Islah çalışmalarında esas gaye şunlarla belirtilebilir; verim doğrusu ile artan ve kaliteli genler ile birlikte kalite çeşidi elde edebilmek, umut veren hatlar ile birlikte değişik zamanlarda, değişik yörelerde yetiştirilen genotiplerin durumuna bakılmaktır (Çay, 2020). İnsan beslenmesinde önemli rol oynayan ve önceki dönemlerden günümüz şartlarına kadar temel besin ihtiyacımızın vazgeçilmezi olan ülkemizde ekim alanlarının büyük çoğunluğunu oluşturan buğdayın verim ve kalite parametrelerinde sağlanabilecek en küçük artış dahi ülkemizin ekonomisi üzerinde büyük ve önemli katkılar sunabilir (Uyğan, 2014).

Araştırmalar ile birlikte son dönemlerin genetik kalıntıları arasında tahılların merkezi olarak Kuzey Suriye ve Dicle-Fırat nehirlerinin birleştiği Mezopotamya yani günümüz Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesini içine alan verimli hilal bölgesini belirli bir alan halinde belirtilmiştir. Uygarlık adımlarının atılması (örn; Diyarbakır Ergani; Çayönü ve Hilar mağaraları) ve buna ekstra bir hız kazandıran tarımın bununla birlikte buğdayın kültür ortamına alınması nerede, nasıl ve ne zaman olduğu hakkında çalışmaların artırılarak kanıtlarla bilime ışık tutması gerekmektedir.

10000 yıl öncesinde yaşamış insan topluluğunun bu kültüre alınma sürecinde buğdayın türleşmesi, doğal seleksiyonu ve adaptasyonu modern uygarlık adına değişim ve gelişimin adımlarından olmuştur, göçebe hayatından yerleşik tarım hayatına geçiş sağlanmıştır (Nazlı, 2017). Bu yerleşik hayata geçiş ile birlikte kış mevsiminin koşullarına bağlı olarak kışlık ve yazlık ekimi yapılan buğday kültür ortamına ilk örneklerden biridir (Karaozan, 2019).

Tarım üzerinde ıslah çalışmalarının olumlu yönde ilerleyebilmesi için çeşitli gen kaynaklarına sahip olmamız gerekmektedir. Bu kaynaklar üretici ve ıslahçılar arasında bir köprü bağlantısı görerek tarla üzerinde oluşabilecek problemlerin üretici tarafından belirlenip genetikçilerin bu problemlerin çözümüne odaklanarak var olan gen kaynaklarından faydalanması gerekecektir. Gen kaynaklarında en mühim olan hususlardan faydalanabilmek adına bilim insanları tarafından çeşitli genlerin araştırılarak ortaya çıkacak olan karakterizasyon, agronomik ve morfolojik özellikler belirlenmeli ve bu özelliklerden yararlanılmalıdır (Sadık, 2017).

Geçmişten günümüze kadar bilim insanları dünya üzerinde var olan biyolojik çeşitliliğin farkına varmak ve bunları kıymetlendirmek için büyük emek sarf etmişlerdir (Nazlı, 2017). Bu emekler ile birlikte kültür bitkilerinde doğal genetik çeşitlilik istismar edilmiştir (Arystanbek Kyzy, 2019). Linnaeus hiyerarşik tabanlı sistematik kullanmakta iken daha sonrasında bilim insanları araştırmaları için filogenetik akrabalık önemi üzerine vurgu yapmış ve DNA keşfi ile moleküler sistematik metodu kullanılmaya başlanmıştır (Nazlı, 2017).

Bitki üzerinde hedeflenmiş gen kaynaklarının genotipik ve fenotipik varyasyonlarını belirlenme işlemi en önemli noktalardan bir tanesidir. Genetik çeşitlilik bitki ıslah çalışmalarında gen kaynaklarını etkin olarak kullanmak için önemli bir parçadır. Moleküler sistematik metotlarında çevresel faktörlere bağlı kalınsızın önceki çalışmalara göre daha seyrek miktarda genomik DNA ile sonuçlar gün yüzüne çıkabilmektedir (Arystanbek Kyzy, 2019). Daha yaygın olarak, bitki genotiplerinde aralarında var olan benzerlik veya farklılıklar moleküler teknikler ile belirtilmektedir (Sadık, 2017).

Moleküler düzeyde çalışmalar ıslahın süresi ve maliyetini kısaltmış bunun yanında genetik harita ve gen klonlaması gibi önemli konularda kullanılmaktadır (Nazlı, 2017). Moleküler tekniklerin etkinlik ve zaman kazançları ile ıslah programında yapılmak istenen gen bölge belirlenmesi ve genlerin belirlenmesi ıslahçılar için odaklandıkları hedefe ulaşmak için daha etkili olmuştur (Sadık, 2017). Moleküler markerler genom üzerinde belirli bir gen bölgesi ile ilgili DNA parçası olarak bilinmektedir (Uğurbaşçiçek, 2018). Moleküler markerler DNA markerleri olarak da adlandırılabilir çünkü genetik markerlerin, DNA tabanlı tipini oluşturmaktadırlar (Yorgancılar ve ark., 2015). DNA markerleri içinden seçim yapılırken yapılacak olan çalışma, bitkiler ve diğer önemli kriterler göz önünde bulundurulmalıdır (Uğurbaşçiçek, 2018). Çalışmaların başlangıcından bu yana dek çeşitli DNA markerleri kullanılmıştır. Bunlar; RAPD, ISSR, AFLP, SSR markerleridir, bu markırlar tür içi polimorfizm oran hesapları ve tür ayrımı çalışmalarında kullanılmış ve belirli bir başarı katsayısı elde etmiştir (Alkan ve ark., 2019).

Buğday gen kaynaklarının morfolojik ve moleküler düzeyde araştırılması, Türkiye’de gerçekleştirilecek buğday ıslah denemeleri açısından çok yüksek bir değere sahiptir. Bununla birlikte literatürde yaptığımız araştırma sonuçlarına göre, fazla sayıda Türkiye orjinli yabancı buğday genotiplerini içine alan, iPBS-retrotranspozonlar moleküler marker kullanarak karakterizasyon çalışmalarına rastlanamamıştır. Genellikle yerel ve az sayıda yabancı genotip materyali ile çalışmalara rastlanmıştır (Aydın, 2016).

Çeşitli moleküler marker sistemlerinden bir diğeri olan iPBS (Primer Bağlanma Konumları Arası Çoğaltma) retrotranspozon (Sınıf I transpozonlar) temelli moleküler marker tekniğidir (Sadık, 2017; Arystanbek Kyzy, 2019). Retrotranspozon temelli markırlar genel uygulanma temeli sayesinde ve bununla birlikte genotip ayırma gücünün başarısı sebebi ile genetik çalışmalar üzerine aktif bir şekilde kullanılmıştır (Kalendar ve ark., 2010; Sadık, 2017; Arystanbek Kyzy, 2019). Retrotranspozonlar yinelenen ve hareketli DNA dizileri olup kendi kendilerini kopyalama çalışması ile var oldukları genomun başka alanına özünü taşıma özelliğini taşıyan transpozonlardır. Bununla beraber genetik çeşitliliğe neden olması ile müthiş

bir marker referansı olarak kullanılabilir (Alkan ve ark., 2019). Primer arası bağlanma bölgesi (iPBS) sekans bilgisine ihtiyaç duyulmayan dayanıklı bir DNA parmak izi yöntemi olarak kanıtlanmıştır ve evrensel marker sistemi içerisinde tercih edilme durumuna gelmiştir (Koçak ve ark., 2020). Ayrıca iPBS-retrotranspozon moleküler markır sisteminde avantaj olarak bitki genomlarının yayılış göstergeleri nedeni ile genomların geniş alanda taranma oranının artması ve belli başlı moleküler genetik laboratuvarlarında PCR ve agaroz jel elektroforez uygulamalarının kullanılabilirlik yüksek oranı da sayılabilmektedir (Arystanbek Kyzy, 2019).

Bu çalışmada; Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış yabani buğday türlerinin genetik karakterizasyonu belirlemek, mevcut genetik çeşitliliği çoğaltmak amacı ile iPBS-retrotranspozon marker yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kalender ve ark. (2010), Uzun terminal tekrarı (LTR) retrotranspozonlarının moleküler markır olarak uygun olduğunu bildirmişlerdir. Retrotranspozonların genel yapısı bütün ökaryotlar üzerinde yüksek oran korunmasında belirlendiğini, primer bağlanma bölgesi olarak tanımladıkları bu yöntem ile sekans bilgisi ihtiyaç duyulmaksızın sağlam bir DNA parmak izi teknolojisi olduğunu göstermişlerdir.

Ceylan (2010), Buğdayda peroksidaz gen polimorfizmi belirlemek amacı ile yürüttüğü araştırmasında 59 buğday çeşidi (diploid, tetraploid, hekzaploid) kullanmıştır. Çeltik genomu üzerinde peroksidaz genlerinin sekansına göre düzenlenmiş 14 POX primeri kullanmış, polimeraz zincir reaksiyonunu yapmıştır. Çeşitler arası polimorfizm oranının % 74, genotipler arası genetik mesafe ortalamasının 0.82 olduğunu bildirmiştir. POGP markerlarının diğer markır sistemlerine göre daha avantajlı olduğunu bildirmiştir.

Yorgancılar ve ark. (2015), yapmış oldukları bu çalışmada bitkiler üzerinde yaygın bir şekilde kullanılan moleküler markerlerin avantaj ve dezavantajları üzerine ve bitki ıslah kullanımları ile ilgili çalışma yapmışlardır. Yapmış oldukları bu çalışmanın sonucuna bağlı olarak moleküler markerlerin bitki ıslahı için kullanımında önemli bir yeri olduğunu, avantajları ile klasik ıslahın etkinliğinin artırılması için moleküler markerlerin bir avantaj sağladığını ve klasik ıslaha oranla zaman kavramını çok daha aza indirdiğini ve bu kısa sürede daha başarılı sonuçlar elde edildiğini çalışmalarında bildirmişlerdir.

Aydın (2016), 96 adet fasulye genotipi kullanarak iPBS retrotranspozon primerleri ile genetik çeşitlilik araştırması yapmıştır. Bu çalışmada primerlerin polimorfizm oranı % 33 ile % 90 arasında değişim göstermiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri en düşük polimorfizm değeri 0.65 en yüksek polimorfizm değeri 0.93 olarak saptamıştır. Genetik olarak uzak ebeveynler seçmek için önemli bilgiler olarak kullanılabilineceğini bildirmiştir.

Nazlı (2017), 10 adet ISSR primeri kullanarak 160 adet buğday genotipinde (yerel buğday genotipi ve belirli Azerbaycan hekzaploid buğday genotipleri) genetik

çeşitlilik belirlemek amacı ile yürüttüğü çalışmada; UPGMA metodu kullanmış olup genotiplerin türler bazında kümелendiğini bildirmiştir. Genotipler üzerinde genetik çeşitlilik oranı çok yüksek bulunmuştur (91.68). AMOVA ile gruplar arası % 25.37, grup içi % 13.96, popülasyon içerisinde % 60.67 varyasyon olduğunu gözlemlemiştir.

Saadi (2017), SSR primerleri ile ekmeklik buğday genotipleri arasındaki genetik varyasyon tahmini elde etmeyi hedeflemiştir. SSR markörlerinden 8 primer kullanmış, 16 polimorfik ve 13 monomorfik veri elde etmiştir. Elde edilen verilerden genetik benzerlik 0.73 ile 0.98 arasında değişkenlik göstermiştir. 8 SSR belirtecinin ortalama polimorfizm değeri % 57.44 olarak belirlenmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.3874 olarak bulunmuştur. SSR markörleri ekmeklik buğday genotipleri üzerinde genetik çeşitlilik açıklanması için kullanılabileceğini belirtmiştir.

Sadık (2017), 7 farklı *Daucus* türünün 17 genotipinde genetik farklılığı değerlendirmek üzere yürütmüş olduğu çalışmada; *Daucus* türleri üzerinde 24 adet polimorfik olan iPBS primeri ile toplamda 201 adet skorlaması yapılabilecek bant elde edebilmiştir. Primer başına ortalama polimorfik bant sayısı 8.3 ve bunlar içerisinde en yüksek bant sayısı ise 12, en düşük 5 olarak bulunmuştur. Ortalama PIC değeri 0.89 olarak belirtmiştir.

Demirel (2018), 58 buğday genotipinin morfolojik ve moleküler özelliklerini incelediği çalışmada; bitki boyu, başak uzunluğu, başakta dane sayısı, başak verimi, bitki verimi, biyolojik erim, hasat indeksi, başaklanma süresi, olgunlaşma süresi, bin dane ağırlığı ve hektolitreye ağırlığı morfolojik özellikler için parametre olarak kullanmıştır. Kalitatif özellikler içerisinde mumsuluk ve tüylülük oranını hesaplamıştır. 10 adet iPBS primeri kullanmış ve 163 adet polimorfik bant elde etmiştir. Polimorfizm yüzde ortalaması % 95.08 olarak belirlenmiştir. Primer ortalama gen çeşitliliği 0.26, ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) ise 0.22 olarak belirlenmiştir. 58 buğday genotipi üç alt popülasyona ayrılmıştır. Genotiplerin popülasyon yapısı STRUCTURE software ile incelenmiş; Delta K=3 hesaplandığı bildirilmiştir.

Yaldız ve ark. (2018), 90 adet yerel tür ile 6 adet ticari çeşidin çalışıldığı Türk tütün germplazmındaki genetik farklılığı değerlendirmek üzere yürütmüş olduğu çalışmada; 119 adet puanlanabilir bant ve bu bantların 98 adetinin polimorfik olduğunu (% 82.35), ortalama polimorfizm bilgi içeriğinin 0.10-0.80 arasında değişip ortalama değerinin 0.33 olduğunu bildirmiştir. Bayes kümeleme metodu ile Türk tütün germplazmı genetik yapısı belirlenerek, 2 ana grup halinde yayılım gösterdiğini belirtmişlerdir.

Özkan (2018), 45 kuru fasulye genotipi üzerinde genetik çeşitliliği belirleyebilmek amacı ile yürüttüğü çalışmada; 27 SSR primeri kullanmıştır. Bu primerlerden 142 polimorfik bant üretmiş, ortalama allel sayısı ise 5.26 olarak bildirmiştir. Markır başına gen çeşitliliği 0.37-0.87 değişkenlik gösterirken, polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri ise 0.33-0.86 arasında değişkenlik göstermiştir. Nei'nin genetik mesafesi kullanılarak yapılmış olan bu çalışmada 45 kuru fasulye genotipi kümeleme analizinde 3 gruba ayrıldığını bildirmiştir. Oluşan dendrogram ile coğrafi mesafeler arası çok az uyuşma olduğu gözlemlenmiştir.

Arystanbek Kyzy (2019), iPBS-retrotranspozon tekniğini kullanarak 38 buğday genotipinde (29 yabancı gernik, 4 emmer ve 5 makarnalık buğday) genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısının tespitini gerçekleştirmiştir. Ortalama polimorfizm oranı % 87.85 ve polimorfizm bilgi içeriği (PBI) 0.660 olarak saptamıştır. iPBS verileri ile elde edilmiş ortalama etkili allel sayısı ise 1.961 olarak bulmuştur. iPBS primerlerinin sergilemiş olduğu kendi yapısından kaynaklı bitkilerin filogenetik ve taksonomik ilişki araştırması içerisinde etkili bir biçimde uygulanabilirliği olduğunu belirtmiştir.

Alkan ve ark. (2019), Türkiye ve Azerbaycan buğday yetiştirme alanlarından 32 adet Fusarium türü izole etmişlerdir. 7 adet iPBS retrotranspozon primeri kullanıp 99 polimorfik (% 86.8), 114 bant elde etmişlerdir. Primer başına ortalama 14.14 polimorfik bant eldesi sağlamışlardır. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) ortalama 0.17 ve bu değerler 0.10-0.29 değerleri arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca UPGMA küme analizi sonrası edinilen dendrogramda, izolatların tür seviyelerinde 3 farklı grubu ayrıldıklarını bildirmişlerdir.

Hossein-Pour ve ark. (2019a), Türkiye’de yetiştirilmiş 17 kinoa genotipinin moleküler karakterizasyonunun iPBS primerleri ile kullanımının amaçlandığı bu çalışmada, 25 iPBS primeri kullanmışlardır. Primer başına ortalama 2.83 bant gözlemlenmiş ve 19 allel üreten yeterli polimorfik veri sağladığı çalışma verilerinde elde etmişlerdir. (PIC) değeri 0.02-0.49 arasında değiştiği, ortalamanın 0.20 olduğunu saptamışlardır. iPBS primerleri kinoa genotiplerinin tanımlanmasında ve genetik çeşitlilik analizlerinde uygun bir yöntem olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Yıldız ve ark. (2019), iPBS primerleri ile 94 biber çeşidi üzerinden genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısı karakterize edilmiştir. Primer başına ortalama 8.6 bant sayısı ile 20 iPBS primerinde 172 bant elde edilmiştir. % 92 polimorfizm oranı ile primerler ayırt edilmiştir. Farklı uygulamalar ile küme analizleri (UPGMA, STRUCTURE ve Principal Coordinate Analysis) kullanılmış, polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.15-0.99 arasında değişkenlik göstermiştir.

Hossein-Pour ve ark. (2019b), 3 farklı buğday çeşidinde 5 alüminyum konsantrasyonu genetik ve epigenetik değerlendirilmesi yapılabilmesi için bu çalışmayı yapmışlardır. Konsantrasyon, iPBS primerlerinin polimorfizm oranını arttırmış olup bütün çeşitlerin genomik şablon stabilite oranını düşürmüştür. Al stresinde hipermetilasyon ve hipometilasyon gözlemlenmiş, Al DNA metilasyonuna sebep olduğu tespit edilmiştir.

Uysal (2019), 59 buğday (55 ekmeklik, 4 makarnalık) genotipinde 14 SSR primeri kullanarak çeşitli hastalık ve kalite özellikleri gibi parametreler için tarama yapmıştır. Bu tarama sonucunda 14 primer toplam 68 allel üretmiştir. Bu allellerin 67 si polimorfik geriye kalan 1 tanesi ise monomorfik olarak tespit edilmiştir. Ortalama allel sayısı 4.78, ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri ise 0.57 olarak bildirilmiştir.

Yürük (2020), yapmış olduğu bu çalışmada yerli ve yabancı 96 buğday genotipi üzerinde 8 SSR ve 4 ISSR primeri kullanarak genetik karakterizasyon çalışması yapmıştır. ISSR primerlerinde 33 polimorfik (% 82.5) bant elde edilmiştir. Ortalama polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri 0.269 olarak hesaplamıştır. UPGMA

kümeleme yöntemi kullanılmış, dendrogram oluşturulmuş ve buğday çeşitlerinin 2 ana gruba ayrıldığını bildirmiştir.

Divitlioğlu (2020), 63 adet fonksiyonel olan DNA markörü ve 54 adet yerel ve yabancı orjinli buğday çeşidini moleküler olarak karakterize etmiştir. Belirlenmiş gen bölgeler için (adaptasyon, kalite, biyotik ve abiyotik faktörler, dayanıklılık) fonksiyonel olan DNA markörleri ile allel durumu ve alleller arasında var olan genetik çeşitlilik durumları belirlemiştir.

Barut ve ark. (2020), iPBS retrotranspozon tekniğini kullanarak en polimorfik olan 11 primer ile 8 ülkeden toplanmış olan kinoa bitkisinin genetik farklılık araştırmasını gerçekleştirmişlerdir. Toplam 235 okunabilir bant elde edilmiş, % 66.8'i polimorfik olarak bildirilmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.410, allel sayısı 1.269, shannon bilgi indeksi 0.160 ve gen çeşitliği 0.247 olarak bildirilmiştir. Bunun doğrultusunda genetik açıdan farklı katılımlar belirlendiği ve gelecek faaliyetleri açısından ebeveyn seçimi önerileri bu çalışmada gösterilmiştir.

Öztürk ve ark. (2020), 27 iPBS primeri kullanarak 71 fasulye genotipi ve 4 farklı ticari fasulye çeşidinde genetik çeşitlilik araştırması yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada tüm primerlerde polimorfizm oranı % 100 olarak belirlenmiş ve primelerdeki allel sayısı 13-69 arasında değişkenlik göstermiştir.

Koçak ve ark. (2020), Van gölü havzasından toplamış oldukları 74 ters lale genotipi arasındaki genetik çeşitlilik araştırılması yapılan bu çalışmada 19 farklı iPBS primeri kullanmışlardır. Kullanılan primerlerin tamamı % 100 polimorfizm oranı göstermiş 94 bant oluşmuştur. En düşük bant veren primer 2 iken en yüksek 10 olarak bildirilmiş, primer başına ortalama bant sayısı 4.94 olarak hesaplanmıştır. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.58 olduğu bulunmuştur.

Kumlay ve ark. (2021a), 12 soya çeşidinde 6 iPBS primeri kullanarak bu genotipler arasındaki genetik çeşitliliği tanımlamaya çalışmışlardır. Çalışmanın analiz sonuçlarına göre toplam 44 polimorfik bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı % 85.83 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlarla birlikte soya ıslah çalışmalarında uygun ebeveyn seçiminde genotiplerin karakterize edilebilmesi için iPBS primerlerin kullanılabileceği uygun görülmüştür.

Kumlay ve ark. (2021b), gelecekteki pamuk ıslahı çalışmalarına yol tutabilmek amacı ile yapmış oldukları bu çalışmada 10 adet pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) genotipinde DNA temelli 6 iPBS primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerler ile birlikte 36 polimorfik bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı % 77.65 olarak bulunmuştur. Moleküler varyasyon göstermiş olan bu genotipler, genetik çeşitlilik sonuçları ile birlikte gelecekteki pamuk ıslah çalışmalarında kullanılabileceğini göstermiştir.



3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak kullanılan yabancı buğday türleri (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *Ae. dicocoides*, *Ae. columnaris*) 2018 yılında Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmıştır (Şekil 3.1). Araştırmada kullanılan yabancı buğday türlerinin toplandığı yerlere ait lokasyon bilgileri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Yabancı buğday türlerinin toplandığı iller

Tablo 3.1: Yabancı buğday türlerinin toplandığı yerlere ait lokasyon bilgileri

Sıra no.	Gen no.	Yabancı Buğday Türü	Lokasyon	Koordinat	Rakım (m)
1	YB1	<i>Ae. cylindrica</i>	Başkale/Van	37°56'47''K; 44°04'57''D	1910
2	YB2	<i>Ae. cylindrica</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15''K; 43°27'07''D	1437
3	YB3	<i>Ae. triuncialis</i>	Adilcevaz/Bitlis	38°47'30''K; 42°39'42''D	1670
4	YB4	<i>Ae. cylindrica</i>	Edremit/Van	38°25'54''K; 43°23'55''D	1930
5	YB5	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°27'15''K; 42°41'21''D	1033
6	YB6	<i>Ae. cylindrica</i>	Dağkonak/Şırnak	37°29'25''K; 42°29'50''D	1322
7	YB7	<i>Ae. cylindrica</i>	Yüksekova/Hakkâri	37°41'46''K; 43°57'08''D	1457
8	YB8	<i>Ae. triuncialis</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45''K; 43°48'26''D	1300
9	YB9	<i>Ae. cylindrica</i>	Van	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kampüsü	1660
10	YB10	<i>Ae. triuncialis</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15''K; 43°27'37''D	1159
11	YB11	<i>Ae. geniculata</i>	Uludere/Şırnak	37°27'16''K; 42°41'21''D	1033
12	YB12	<i>Ae. triuncialis</i>	Gürpınar/Van	38°21'53''K; 43°33'21''D	1830
13	YB13	<i>Ae. cylindrica</i>	Edremit/Van	38°25'54''K; 43°23'55''D	1930
14	YB14	<i>Ae. triuncialis</i>	Van	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Edebiyat Fakültesi	1660
15	YB15	<i>Ae. cylindrica</i>	Ahlat/Bitlis	38°50'48''K ; 42°26'36''D	1700
16	YB16	<i>Ae. cylindrica</i>	Van	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Edebiyat Fakültesi	1660

Tablo 3.1: (Devam) Yabani buğday türlerinin toplandığı yerlere ait lokasyon bilgileri

17	YB17	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"D	1610
18	YB18	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"D	1610
19	YB19	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"D	1610
20	YB20	<i>Ae. cylindrica</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Edebiyat Fakültesi	1660
21	YB21	<i>Ae. cylindrica</i>	Dağkonak/Şırnak	37°29'25"K; 42°29'50"D	1322
22	YB22	<i>Ae. cylindrica</i>	Başkale/Van	37°56'47"K; 44°04'57"D	1910
23	YB23	<i>Ae. triuncialis</i>	Uludere/Şırnak	37°20'51"K; 43°14'11"D	1130
24	YB24	<i>Ae. triuncialis</i>	Erciş/Van	38°57'21"K; 43°13'42"D	1660
25	YB25	<i>Ae. cylindrica</i>	Edremit/Van	38°25'54"K; 43°23'55"D	1930
26	YB26	<i>Ae. triuncialis</i>	Ahlat/Bitlis	Ahlat girişi Van tarafından	1666
27	YB27	<i>Ae. triuncialis</i>	Başkale/Van	37°56'51"K; 44°04'46"D	1970
28	YB28	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"D	1610
29	YB29	<i>Ae. triuncialis</i>	Edremit/Van	38°25'54"K; 43°23'55"D	1930
30	YB30	<i>T. dicocoides</i>	Edremit/Van	38°25'54"K ; 43°23'55"	1930
31	YB31	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"	1610
32	YB32	<i>Ae. cylindrica</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Kampüsü	1660
33	YB33	<i>Ae. triuncialis</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Kampüsü	1660
34	YB34	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'17"K; 43°01'58"D	1610
35	YB35	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°54'47"K; 44°04'55"D	1900
36	YB36	<i>Ae. triuncialis</i>	Adilcevaz/Bitlis	38°47'28"K; 42°47'13"D	1660
37	YB37	<i>Ae. geniculata</i>	Edremit/Van	38°25'54"K; 43°23'55"D	1930
38	YB38	<i>Ae. cylindrica</i>	Gürpınar/Van	38°20'49"K; 43°42'33"D	1950
39	YB39	<i>Ae. triuncialis</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15"K; 43°27'37"D	1159
40	YB40	<i>Ae. triuncialis</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15"K; 43°27'37"D	1159
41	YB41	<i>Ae. columnaris</i>	Ahlat/Bitlis	38°50'48"K; 42°26'36"D	1700
42	YB42	<i>Ae. cylindrica</i>	Edremit/Van	38°22'25"K; 43°23'36"D	2190
43	YB43	<i>Ae. cylindrica</i>	Başkale/Van	38°04'54"K; 44°06'20"D	2090
44	YB44	<i>Ae. geniculata</i>	Edremit/Van	38°25'54"K; 43°23'55"D	1930
45	YB45	<i>Ae. cylindrica</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1300
46	YB46	<i>Ae. triuncialis</i>	Edremit/Van	38°22'25"K; 43°23'36"D	2190
47	YB47	<i>Ae. cylindrica</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Kampüsü	1660
48	YB48	<i>Ae. cylindrica</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15"K; 43°27'07"D	1437
49	YB49	<i>Ae. cylindrica</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1300
50	YB50	<i>Ae. triuncialis</i>	Uludere/Şırnak	37°27'15"K; 42°41'21"D	1033
51	YB51	<i>Ae. geniculata</i>	Uludere/Şırnak	37°27'15"K; 42°41'21"D	1033
52	YB52	<i>Ae. cylindrica</i>	Çukurca/Hakkâri	37°19'15"K; 43°27'07"D	1437
53	YB53	<i>Ae. triuncialis</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Kampüsü	1660
54	YB54	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°22'59"K; 42°54'18"D	1660
55	YB55	<i>Ae. cylindrica</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1080
56	YB56	<i>Ae. triuncialis</i>	Dağkonak/Şırnak	37°29'25"K; 42°29'50"D	1300
57	YB57	<i>T. dicocoides</i>	Dağkonak/Şırnak	37°29'25"K; 42°29'50"D	1322
58	YB58	<i>Ae. triuncialis</i>	Van	Yüzüncüyıl Üniversitesi Kampüsü	1660
59	YB59	<i>T. dicocoides</i>	Edremit/Van	38°25'54"K; 43°23'55"D	1930
60	YB60	<i>Ae. cylindrica</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1300
61	YB61	<i>Ae. cylindrica</i>	Başkale/Van	37°56'51"K; 44°04'46"D	1970
62	YB62	<i>Ae. cylindrica</i>	Yüksekova/Hakkâri	37°41'46"K; 43°57'08"D	1457
63	YB63	<i>Ae. cylindrica</i>	Uludere/Şırnak	37°20'51"K; 43°14'11"D	1130
64	YB64	<i>Ae. cylindrica</i>	Edremit/Van	38°22'25"K; 43°23'36"D	2190
65	YB65	<i>Ae. cylindrica</i>	Ahlat/Bitlis	38°55'11"K; 43°35'57"D	1700
66	YB66	<i>Ae. triuncialis</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1300
67	YB67	<i>Ae. triuncialis</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45"K; 43°48'26"D	1300

Tablo 3.1: (Devam) Yabani buğday türlerinin toplandığı yerlere ait lokasyon bilgileri

68	YB68	<i>Ae. geniculata</i>	Uludere/Şırnak	37°56'47''K; 44°04'57''D	1457
69	YB69	<i>Ae. triuncialis</i>	Edremit/Van	38°25'54''K; 43°23'55''D	1930
70	YB70	<i>Ae. triuncialis</i>	Konak/Hakkâri	37°35'45''K; 43°48'26''D	1300

3.1.1. Materyallerin özellikleri

Aegilops triuncialis (2n = 4x = 28; UUCC)

Çok sıralı subslindirik sivri uçlu yabani türlerinden olan *A. triuncialis*, Güney Avrupa'nın her yerinde ve Yakın Doğu, Orta Asya'ya kadar uzanmaktadır. Verimli hilal boyunca oldukça fazla görülmektedir. Genellikle kuru, biraz bozulmuş habitatlarda, tepelerin ve dağların kuru kayalık yamaçlarında yerel olarak bol miktarda bulunur. 20-30 cm boyutları arasında değişim gösteren *Ae. triuncialis*, 2-6 cm uzunluğuna kadar başak oluşturabilmektedir.



Şekil 3.2: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan *Ae. triuncialis* 'e ait başak görüntüsü

***Aegilops cylindrica* (4x=28 tetraploid; CCDD)**

Yaygın, otsu davranış eğilimi gösteren *Ae. cylindrica* türü, Türkiye'den batıya doğru Bulgaristan, Romanya, Balkanlar ve Macaristan'a, kuzeye doğru Kafkasya bölgesi ve Karadeniz kıyısı boyunca ve doğuya doğru Orta Asya'ya doğru uzanır ve Bereketli Hilal'de, çoğunlukla kuzey kesiminde bulunur. 40-80 cm boyunca uzayan gövde yapısı, ince sivri uçlu 5-9 cm aralığındaki başakçık yapısı ve 5-7 başakçıklı yapısı ile dikkat çekmektedir. Kayalık ve engebeli arazilerde, kuru tepelik dağ yamaçlarında, otlak veya yakın ekim alanlarında genellikle görülebilmektedir.



Şekil 3.3: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan *Aegilops cylindrica* 'ya ait başak görüntüsü

***Aegilops columnaris* (4x=28 tetraploid; UUMM)**

Sınırlı bir morfolojik varyasyon göstermekte olan ve bazen ayırt etmekte zorlanılan bir tür olan *Ae. columnaris*, ağırlıklı olarak Türkiye'de ve Bereketli Hilal'in batısında bulunur. Ancak yakın doğu kısmına da dağılmıştır. Dağılım alanı batıya doğru Girit'e, doğuya doğru Ermenistan ve Azerbaycan'a kadar uzanır ki bu

İran'da nadir olarak görülebilmektedir. 20-50 cm boyunda bitkiler 2-4 cm boyutlarında başak oluşturabilmektedirler. Kuru açık arazilerde, yol ve yamaçlarda, nadiren ormanlarda yetişebilen bu tür ağırlıklı olarak taşlık alanlarda görülmektedir.



Şekil 3.4: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan *Aegilops columnaris*'e ait başak görüntüsü

***Aegilops geniculata* (4x=28 tetraploid; UUMM)**

Güney Avrupa ve Ege'de yaygın, ancak Türkiye ve Transkafkasya'da nispeten nadir olarak bulunabilen *Ae. geniculata*, çorak araziler, yol kenarları, tepelerin ve dağların kuru kayalık yamaçları gibi genellikle kuru, biraz bozulmuş habitatlarda yerel olarak bol miktarda bulunabilmektedir. Bitki örtüsü olarak başlıca çalılık, maki, ormanlık alanlar ve bozkırdır. *Ae. geniculata* çok taşlı ve kayalık topraklarda yetişebilir. Çok sıralı yapıya sahip bu bitki 10-30 cm boyutlarında gövde uzunluğuna ve 1-2 cm başak boyutlarına ulaşabilmektedirler.



Şekil 3.5: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan *Aegilops geniculata* 'ya ait başak görüntüsü

***Triticum dicoccoides* (4x=28 tetraploid; AABB)**

Yabani gernik (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) kültürü yapılmış olan tetraploid ve ekmeklik buğdayın yabani atalarındandır. Türkiye buğday çeşitliliğinin ana merkezidir olarak bilinmektedir ve kıtalar arasında çeşitli tahılların dağılmasında önemli bir pay taşıdığı anlaşılmıştır. Karacadağ bölgesinde emmer buğdayın kültüre alındığı merkez olarak kabul edilmektedir ve bugünlerde halen yüzlerce arazi alanına hâkim olduğu yapılmış gözlemler ile bildirilmiştir (Arystanbek Kyzy, 2019).



Şekil 3.6: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Seralarında çekilmiş olan *Triticum dicoccoides*’e ait başak görüntüsü

3.2. Metot

3.2.1. Yabani buğdaylardan tohum elde edilmesi ve DNA izolasyonu için bitki yetiştirilmesi

Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri serasında 2019 yılında Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden toplanmış, yabani buğday türleri (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *T. dicoccoides*, *Ae. columnaris*) tohumlarının çoğaltımı için sera koşullarında saksılarda yetiştirilmiş hasat olgunluğuna ulaştığında elle hasat edilerek tohum elde edilmiştir. DNA izolasyonu için Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi seralarında yetiştirilecek olan tohumlar ayrıştırılmış ve uygun saklama koşullarında bekletilmiştir.

DNA izolasyonu için kullanılacak olan yabani buğday genotipleri Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi seralarında yetiştirilmiştir. Her genotip örneği için 4-5 tohum hazır toprak ile viyollere ekilmiş ve gerçek yapraklı olduğu dönemde,

DNA izolasyonu için yabani buğday genotiplerinin taze yapraklarından günlük olarak 1cm × 1cm numune örneği alınıp 12 adet bitkinin izolasyonu yapıp -20 °C’de saklanmıştır.

3.2.2. Kullanılan araç-gereçler

Çalışmada kullanılan ekipmanlar; MIKRO 22R santrifüj cihazı, Memmert su banyosu, WiseMix VM-10 vortex, TissueLyser LT (QIAGEN), PCR Pipet (pipetman), SBA 41 hassas terazi, UV cihazı, SENSOQUEST Labcycler PCR cihazı, VWR AccuPower güç kaynağı, SIGMA-ALDRICH Elektroforez

3.2.3. Genomik DNA izolasyonu

1. 1 × 1 cm kadar genç yapraklarından 3-4 örnek alınıp alınan örnekler direkt olarak eppendorf içerisine aktarılır.

2. Eppendorflar buz içerisinde tutulur.

3. Extraction buffer hazırlığı yapılır ve hazırlanan buffer buz içerisinde bekletilir. Buffer hazırlanırken;

Her bir örnek için 750 µL buffer kullanılır.

Buffer hazırlanırken şu tablo dikate alınır;

1.25 ml 2M Tris pH=8.0

2.5 ml 0.5M EDTA pH=8.0

2.5 ml 5M NaCl

17.5 µL β-Mercaptoethanol

Hazırlanan karışım 25 mL’ye saf su ile tamamlanır.

Not: Hazırlanan buffer günlük olarak kullanılır.

4. Her eppendorf tüpüne 375 µL extraction buffer eklenir ve TissueLyser bilyesi bırakılıp TissueLyser cihazına yerleştirilir. TissueLyser 4 dk, 50 oscillation devrinde çalıştırılır. Bittikten sonra tekrar 375 µL extraction buffer eklenir.

5. 100 µL % 10 SDS eklenir 65 °C’de 10 dk su banyosunda bekletilir, DNA’lar elde hafif bir şekilde sallanarak tekrar aynı sıcaklıkta 10 dk su banyosuna alınır.

6. Su banyosundan sonra 250 µL sodyum asetat eklenir 20 dk buzun içerisinde bekletilir.
7. Buzdan alınan eppendorflar 15 dk 14000 rpm’de santrifüje alınır. Eppendorf içinde oluşan Supernatant kısmı yeni eppendorflara alınır (yeni eppendorfa aktarım yapılırken TissueLyser bilyeleri yeni eppendorfa düşmemelidir). Supernatant aktarımı yapılan eppendorflar tekrar 3 dk 14000 rpm santrifüje alınır.
8. Eppendorflara 500 µL isopropanol eklenip over night için -20 °C ye alınır (over night:30dk-bir gece.)
9. -20 °C’den alınan eppendorflar 10 dk 14000 RPM de santrifüjlenir ve santrifüjde bekletilmeden direkt supernatant kısmı uzaklaştırılır ardından tekrar santrifüj yapılır (2dk) ve pipetle eppendorf içinde kalan supernatant alınıp kurutmaya alınır. 15-20 dk kurutma için beklenir ve 25µ L TE buffer eklenir.

3.2.4. DNA konsantrasyon ayarı

PCR aşamasına hazırlık için DNA konsantrasyonlarının optimizasyonu büyük önem taşımaktadır. Çünkü moleküler marker teknikleri ile yapılan çalışmalarda PCR reaksiyonu bu optimizasyonlar ile cevap niteliğinde sonuçlar vermektedir. Bu nedenle yapılmış olan izolasyonların konsantrasyonları iyi ayarlanmalı ve gerekli kalite parametreleri referans değerlerine yakın hale getirilmelidir. Yapılan izolasyonlar sonrası DNA konsantrasyonları 50 ng/µL olarak ayarlanmıştır. Bu çalışmada her bir genotipin DNA yoğunluğu ve kalitesi nanodrop cihazında ölçülmüştür. Bununla birlikte her izolasyon aşaması sonrasında DNA kalite ve konsantrasyonu için % 0.8’lik agarose jel hazırlanıp, etidyum bromid eklenmiş ve UV ışık altında görüntülemeler bilinen yoğunluklar ile karşılaştırılıp tahmini olarak DNA ile ilgili parametreler belirlenmiştir. Bu görüntüleme için DNA’ dan 3 µL alınmış, 3µL loading buffer eklenmiş ve saf su ile 20 µL ye tamamlanıp jel kuyucuklarına aktarılmıştır. Yüklemlerin ardından DNA’lar 80V ile 30-40 dk koşturulmuştur. Bu aşamalar ile birlikte DNA konsantrasyonları ayarlanmış ve PCR işlemi için izole DNA’lar hazır hale getirilmiştir.

Tablo 3.2: Çalışmada yapılmış olan nanodrop ölçümleri

Jel sıra no.	Gen no.	Konsantrasyon (ng/ μ L)	260/280
1	YB1	713.24	1.93
2	YB2	1506.35	2.09
3	YB3	1428.11	2.10
4	YB4	1004.81	2.13
5	YB5	1114.61	2.12
6	YB6	1286.39	2.09
7	YB7	4451.95	1.86
8	YB8	1809.29	2.07
9	YB9	2522.69	2.06
10	YB10	1973.78	2.13
11	YB11	2535.63	2.10
12	YB12	1927.88	2.10
13	YB13	935.63	2.16
14	YB14	133.04	2.09
15	YB15	1407.18	2.10
16	YB16	2302.52	2.07
17	YB17	1710.12	2.08
18	YB18	168.53	2.13
19	YB19	253.47	2.09
20	YB20	1793.14	2.13
21	YB21	809.93	2.06
22	YB22	1465.80	2.10
23	YB23	895.10	2.06
24	YB24	318.03	2.08
25	YB25	168.84	1.60
26	YB26	1932.84	2.08
27	YB27	1502.85	2.05
28	YB28	1868.50	2.08
29	YB29	2478.11	2.01
30	YB30	954.12	2.08
31	YB31	1303.05	1.89
32	YB32	130.47	2.12
33	YB33	441.73	2.02
34	YB34	1575.98	2.05
35	YB35	1946.31	2.06
36	YB36	1749.75	2.05
37	YB37	947.77	1.98
38	YB38	2972.11	2.07
39	YB39	1729.73	2.08
40	YB40	986.09	2.07
41	YB41	4030.24	1.95
42	YB42	1104.99	2.11
43	YB43	362.49	1.69
44	YB44	1611.38	2.06
45	YB45	3492.90	2.08

Tablo 3.2: (Devam) Çalışmada yapılmış olan nanodrop ölçümleri

46	YB46	1352.72	2.09
47	YB47	671.24	2.12
48	YB48	1114.69	1.92
49	YB49	1554.42	2.09
50	YB50	2137.35	2.13
51	YB51	173.04	1.95
52	YB52	2018.49	2.02
53	YB53	566.02	2.04
54	YB54	232.02	2.10
55	YB55	127.77	2.03
56	YB56	1655.54	1.99
57	YB57	471.20	2.03
58	YB58	887.78	2.06
59	YB59	473.51	2.08
60	YB60	1222.18	2.03
61	YB61	320.08	1.87
62	YB62	2301.28	2.03
63	YB63	1244.87	2.08
64	YB64	2407.14	2.07
65	YB65	915.85	2.07
66	YB66	1795.34	2.03
67	YB67	1297.38	2.04
68	YB68	1198.91	1.92
69	YB69	1779.65	2.06
70	YB70	362.65	2.05

3.2.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) iPBS – Retrotranspozon taramaları

Bu çalışma için Kalendar ve ark. (2010)'nın oluşturdukları 35 primer deneme aşamasına alınmıştır. Ön çalışma ile primerler polimorfik bant oluşturma seçeneğine dayanarak 6 yabancı buğday genotipinde taranmıştır. Ayrıca baz dizilimlerinin farklı olmasından kaynaklı DNA bağlanma (annealing) sıcaklıkları farklı olduğu için bu taramalarda sıcaklık denemeleri (Gradient PCR) eklenmiş PCR sonuçları değerlendirilmiştir.

3.2.6. iPBS - PCR reaksiyonu optimizasyonu

Tarama sonuçları ve izole edilen DNA sonuçları bir çatı altında toplanarak PCR protokolüne başlanmıştır. İzolasyon sonucunda elde edilen DNA örneklerinden 1 ng/μL, 0.2 mL'lik PCR tüplerine aktarılmıştır. Bu aktarma sonucunda amplifikasyon çözeltisi ile 20 uL'ye tamamlanıp PCR tablasına geçiş yapılacaktır. Amplifikasyon çözeltileri için eppendorf tüplerine stok durumundan çözelti haline

getirilip karışım hazırlanacaktır. PCR protokolüne bağlı olarak hazırlanan karışım ve miktarları Tablo 3.3’de gösterilmiştir.

Tablo 3.3: iPBS-retrotranspozon PCR protokolü

PCR Karışım	Miktar (µL)
Dntp (10mM)	2
DNA	2
Tag	0.5
Buffer	2
Primer	1
MgCL2	0.5
Distile su (ddH2O)	12
TOPLAM	20

iPBS-PCR reaksiyonu için sıcaklık ve döngü sayıları için Kalendar ve ark. (2010)’nın geliştirdiği protokol takip edilmiştir. PCR için her kullanılmış olan primerin değişken bağlanma sıcaklığı ve baz içeriği göz onunda bulundurularak gerekli ayarlamalar yapılmıştır (40-60°C).

Tablo 3.4: Tez çalışması için taraması yapılan ve polimorfik bant sayılarına göre seçilecek olan iPBS Retrotranspozon primerleri ve baz dizilimleri listesi

Markır	Sekans 5'-3'	At (°C)	Optimize edilen sıcaklık	Markır	Sekans 5'-3'	At (°C)	Optimize edilen sıcaklık
2074	GCTCTGATACCA	40.5	45.0 °C	2380	CAACCTGATCCA	41.4	45.0 °C
2075	CTCATGATGCCA	42.1	50.0 °C	2381	GTCCATCTTCCA	40.9	45.0 °C
2076	GCTCCGATGCCA	50.4	50.0 °C	2382	TGTTGGCTTCCA	44.9	47.0 °C
2077	CTCACGATGCCA	46.1	50.0 °C	2383	GCATGGCCTCCA	50.5	53.0 °C
2078	GCGGAGTCGCCA	54.2	50.0 °C	2384	GTAATGGGTCCA	40.9	50.0 °C
2079	AGGTGGGCGCCA	56.6	50.0 °C	2385	CCATTGGGTCCA	45.7	50.0 °C
2080	CAGACGGCGCCA	54.6	50.0 °C	2386	CTGATCAACCCA	41.4	50.0 °C
2081	GCAACGGCGCCA	56.5	55.0 °C	2387	GCGCAATACCCA	47.3	50.0 °C
2083	CTTCTAGCGCCA	45.7	50.0 °C	2388	TTGGAAGACCCA	43.4	44.0 °C
2085	ATGCCGATACCA	43.8	44.0 °C	2389	ACATCCTTCCCA	43.0	50.0 °C
2087	GCAATGGAACCA	43.5	45.0 °C	2390	GCAACAACCCCA	47.6	50.0 °C
2095	GCTCGGATACCA	44.8	47.0 °C	2391	ATCTGTCAGCCA	43.6	44.0 °C
2374	CCCAGCAAACCA	47.1	44.0 °C	2392	TAGATGGTGCCA	43.1	50.0 °C
2375	TCGCATCAACCA	45.1	47.0 °C	2393	TACGGTACGCCA	47.1	50.0 °C
2376	TAGATGGCACCA	43.1	45.0 °C	2394	GAGCCTAGGCCA	48.5	51.3 °C
2377	ACGAAGGGACCA	47.2	49.0 °C	2271	GGCTCGGATGCCA	54.3	57.4 °C
2378	GGTCCTCATCCA	44.2	50.0 °C	2776	ACCTCTGATACCA	42.7	50.0 °C
2379	TCCAGAGATCCA	41.5	50.0 °C	2278	GCTCATGATACCA	42.3	44.8 °C

Daha önce yabani buğday genotiplerinin genetik karakterizasyonunu görebilmek amacı ile yapılan tarama işleminin ardından seçilmiş olan 11 farklı iPBS primerlerinin bilgileri Tablo 3.5 üzerinde belirtilmiştir.

Tablo 3.5: Tarama işleminin ardından seçilmiş olan 11 iPBS primeri

iPBS- retrotranspozon isimleri	Baz dizilimi	Optimize edilmiş Bağlanma sıcaklığı (°C)
2075	CTCATGATGCCA	50.0
2081	GCAACGGCGCCA	55.0
2083	CTTCTAGCGCCA	50.0
2271	GGCTCGGATGCCA	57.4
2276	ACCTCTGATACCA	50.0
2278	GCTCATGATACCA	44.8
2374	CCCAGCAAACCA	44.0
2377	ACGAAGGGACCA	50.0
2387	GCGCAATACCCA	50.0
2388	TTGGAAGACCCA	44.0
2394	GAGCCTAGGCCA	51.3

Tablo 3.6: iPBS analizinde kullanılan PCR sıcaklık ve döngü koşulları

PCR adımları	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Pre-denatürasyon	95.0	4:00	1
Denatürasyon	94.0	1:00	38
Primerin DNA'ya bağlanması	40-60	1:00	38
Uzama safhası	72.0	1:00	38
Son uzama safhası	72.0	10:00	1

PCR sıcaklık ve döngü koşulları olarak; 95°C'de 4 dk pre-denatürasyon işleminden sonra, 38 döngü boyunca örnekler denatürasyon için 94 °C'de 1 dk, primerin DNA'ya bağlanması için 40-60 °C'de (primere göre değişmek üzere) uzama safhası için 72 °C'de 1dk ve en son uzama safhası için 72°C 10 dk tutulmuştur. PCR ürünleri gerektiğinde +4 °C'de buzdolabında saklanmış ve daha sonra agaroz jel elektroforezde koşturulmuştur.

3.2.7. iPBS-PCR reaksiyonunun elektroforez hazırlığı ve gerçekleştirilmesi Agaroz jel hazırlanışı

Belirli aşamalar sonunda elde edilen PCR ürünlerinin görüntüleme işlemi elektroforez yöntemi ile yapılacaktır. Bu görüntüleme için PCR ürünleri % 1.2'lik agarose jelde koşturulmuştur. Jeli hazırlamak için 1.920 gr agarose tozu, erlenmayerde 160mL 1X SB tampon çözeltisi ile karıştırılarak mikrodalga fırın içinde 700 °C de 2-3 dakika kaynatılmış homojen hale getirilene kadar eritilmiştir. Eritmenin ardından 4 µL etidyum bromid karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışım yeteri miktarda soğutularak önceden tarakları yerleştirilmiş olan elektroforez tepsisine dökülmüş ve 15-20 dakika oda sıcaklığında agarose jelin donması beklenmiştir.

Elektroforez ve jel görüntülemesi

Agarose jelin donmasının ardından DNA örneklerinin yükleneceği kuyucukların oluşması için tepsiye önceden bırakılış olan taraklar dökülen jele zarar vermeyecek şekilde çıkarılır ve PCR ürünlerinin yüklenmesi için hazır hale getirilir. Homojen halde bulunan PCR ürünlerinin 1X SB tampon çözeltisi ile karışmaması adına PCR ürünlerine önceden seyreltilmiş olan 6X loading buffer çözeltisinden 3µL ilave edilerek PCR ürünü ile homojen karıştırılıp tüp içersindeki numune örneği 23 µL olarak tamamlanır. PCR ürünlerine pipet yardımı ile 23µL olacak şekilde sırası ile jel kuyucuklarına aktarılır. Aktarılan PCR ürünleri 100V 90 dakika elektrik akımına maruz bırakılarak birbirinden ayrılmaları için 1X SB tampon çözeltisi içersinde koşturulmuştur. Koşturmanın ardından jel görüntüsü için UV ışık altında jel görüntüleri fotoğraflanmıştır.

3.2.8. Verilerin analizi

Agaroz jel üzerinde görüntülerini almış olduğumuz bantlar polimorfik olup olmadığı belirlenerek, her örnekte bant bulunduran görüntüler için 1 (var) veya bant bulundurmayan görüntüler için 0 (yok) olarak skorlamaya tabi tutulmuş ve Microsoft Office Excel dosyası içerisine kayıt altına alınmıştır.

IPBS belirteçlerinin Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) değerlerinin hesaplanması

Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC); popülasyon polimorfizminin belirlenmesi amacı ile kullanılan primer değerini tanımlamaktadır. PIC değerleri polimorfik olan allel sayısı ve frekans dağılımlarına bağlı olmakla birlikte her bir primer polimorfizm oranında ayırt etme gücü ile ifade edilmektedir. Bu değerler 0 ile 0.5 arasında değişim gösterebilmektedir (Botstein ve ark., 1980). Her IPBS belirteci PIC değerleri aşağıda belirtilmiş olan formül ile hesaplanmıştır. Sayı 0.5 düzeyine yaklaşma sağladıkça ayırt etme gücü doğru orantılı artmaktadır (Anderson ve ark., 1993).

$$PIC: 1 - \sum p_i^2$$

Formülde p ve q mevcut ve kayıp bantın frekansı;

pi= allelin frekansı

Genotipler içindeki genetik çeşitliliğin tahmini

Genotipler içerisinde var olan genetik çeşitlilik Nei'nin genetik çeşitlilik indeksi (Nei ve ark., 1983) ve Shannon bilgi indeksi (Lewontin, 1972) kullanılmış olup aşağıda belirtilmiş olan eşitlikler üzerinden ve Popgen programı ile (Yeh ve ark., 1997) hesaplamaları yapılmıştır.

$$D = 1 - \sum p_i^2$$

$$H = - \sum p_i \log_2 p_i$$

Pi= i'inci allel için allel frekansı

Genotipler arasındaki genetik mesafenin tahmini

Genotipler arası genetik mesafe Nei'nin katsayısını (Nei ve ark., 1983) kullanıp, Popgen programı (Yeh ve ark., 1997) yardımı ile hesaplama yapılmıştır.

$$D = \frac{-\ln[\sum X_i Y_j]}{\sqrt{X_i Y_j}}$$

X_i =i allel frekansı X popülasyonunda

Y_j = j allel frekansı Y popülasyonunda

Genetik yakınlığın belirlenmesi

iPBS belirteçleri üzerinden elde edilmiş olan verilerin kümeleme analizi için NTSYS-pc versiyon 2.02 (Rohlf, 2000) bu çalışmada kullanılmıştır. Skorumla sonucunda elde edilen 0 ve 1 değerleri ile matriks oluşturulmuş ve genetik benzerlik katsayısı Jaccard (1908) yöntemi üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Bireylerin aralarında var olan benzerlik indeksleri hesaplanmıştır. Aritmetik ortalama ile tartılı olmayan çift grup metot analizi (UPGMA) metodu kullanılmış, benzerlik matriksi oluşturularak dendrogram yolu ile grupların belirlenmesi sağlanmıştır. Genotipler arası kıyas yapıldığı zaman ise; 0'a yakınlık az benzerlik düzeyini ve 1'e yakınlık genetik yakınlık faaliyetlerini bildirmektedir.

Populasyon yapısının belirlenmesi

Bu çalışmada materyal olarak kullanmış olduğumuz genotiplerin genetik yapılarının belirlenebilmesi için STRUCTURE 2.2 programında çalışılmıştır (Pritchard ve ark., 2000). STRUCTURE programı ayırt edilebilir allel frekans durumları ile popülasyon üzerindeki grupları tanımlamaktadır. Yabani buğday genotipleri ile yapılmış olan genetik çeşitlilik çalışmaları içerisinde STRUCTURE programı kullanılmış genotiplerin başarılı bir şekilde gruplara ayrıldığı bildirilmiştir. (Arystanbek Kyzy, 2019) . F-istatistik F_{ST} değeri alt popülasyonlar içerisinde görülmüş olan farklılaşma durumunu belirtmektedir. Popülasyon üzerindeki grup sayısı K değeri olarak tanımlanmaktadır. En uygun K değeri ise 1-10 arasında olan değerler ile hesaplanmıştır. Burn-in period and burn-in length için 100.000 Markov Chain Monte Carlo tekrarı ve her bir K değeri için 10 tekrar yapılmıştır. Her bir K

değeri için, en yüksek olasılık gösteren değer kabul edildi ve ΔK hesaplanarak grup sayısı belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

2018 yılında Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış, yabani buğday türleri (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *Ae. dicoccoides*, *Ae. columnaris*) ile toplam 70 adet yabani buğday genotipi sera koşullarında viyollere ekimi yapılmış ve çıkış yapmış her genotipten bir bitki seçilerek çalışmaya başlanmıştır. Her genotipten seçilmiş olan tek bitki üzerinden genetik çeşitliliği anlamak ve moleküler olarak karakterizasyonunu elde edebilmek için iPBS-Retrotranspozon moleküler markör sistemi kullanılmıştır. Moleküler düzeyde karakterizasyonu elde edebilmek adına ve çalışmış olduğumuz genotipler arası genetik ilişki tanımlanması aşaması için DNA moleküler markörü seçimi Kalender ve ark. (2010)'nın geliştirmiş olduğu ve evrensel biçimde adlandırılmış olan iPBS retrotranspozon kullanılmıştır.

Araştırmamızda iPBS-Retrotranspozon DNA markörü kullanılarak, 70 adet yabani buğday genotipi üzerinde genetik karakterizasyon belirlenmiştir. Yabani buğday genotiplerinde en polimorfik iPBS primerini belirleyebilmek için 35 adet iPBS primeri ile rastgele seçilmiş 6 yabani buğday genotipinde ön tarama yapılmıştır. Yapılmış olan ön tarama sonucu ile kullandığımız 35 adet iPBS primerinin hepsinin PCR ürünü verdiği görüntülenmiş olup, 11 adet iPBS primeri polimorfik olarak belirlenmiş ve esas çalışma için kullanıma hazır hale getirilmiştir. Ön tarama ile birlikte kullanılmış olan 35 adet iPBS primerinden skorlana bilinen bant sayısı, polimorfik derecedeki bant sayıları ve agaroz jel görüntülerinden skorlama yapılabilme durumlarına göre değerlendirilmiş olup, bu değerlendirme sonuçlarının tümü bir araya getirilerek denemesi yapılmış 35 adet iPBS primerinden 11 adet iPBS primeri (iPBS2075, iPBS2081, iPBS2085, iPBS2271, iPBS2276, iPBS2278, iPBS2374, iPBS2377, iPBS2387, iPBS2388, iPBS2394) araştırmada kullanılmış olan 70 yabani buğday genotipinde genetik karakterizasyonu belirlemek için çalışılmıştır.

4.1. iPBS Primer Bilgileri

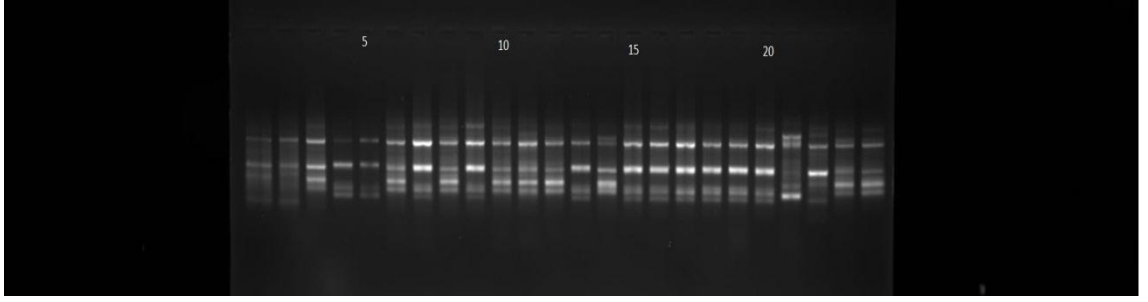
Seçilmiş olan 11 adet iPBS primerinin hepsi 70 yabancı buğday genotipinde taranmış olup, tarama sonuçlarına göre 11 adet iPBS primeri toplam 61 allel üretmiş, allel sayısının 2 (2085) ile 9 (2394) arasında değışkenlik gösterdiği belirlenmiş ve primer başına ortalama allel sayısı 5.55 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: iPBS primerlerinden elde edilmiş bilgiler

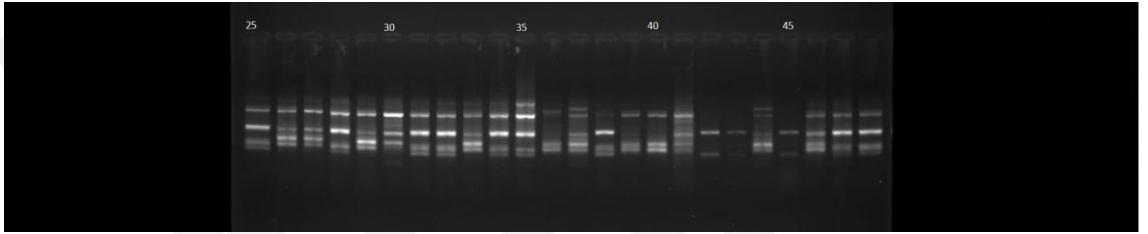
Primer (iPBS)	Allel Sayısı (adet)	Polimorfik bant sayısı	PIC	Polimorfizm oranı (%)
2075	5	5	0.32	%100
2081	3	3	0.42	%100
2085	2	2	0.37	%100
2271	6	6	0.34	%100
2276	4	4	0.22	%100
2278	7	7	0.22	%100
2374	7	7	0.35	%100
2377	8	8	0.40	%100
2387	4	4	0.39	%100
2388	6	6	0.34	%100
2394	9	9	0.47	%100
Ortalama	5.55	5.55	0.35	100

iPBS primeri ile yapılmış olan analizlerle beraber elde edilmiş polimorfizm bilgi içeriğı (PIC) ortalama değeri 0.35 olduğu belirlenmişken, en düşük değeri 2276, 2278 numaralı primerlerde 0.22 ve en yüksek değeri 2394 numaralı primerde 0.47 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). PIC değeri markır'ın ayırım gücünü belirtmektedir. İpbs markır'ı ile yapılmış olan diğer çalışmalarda PIC değeri, Arystanbek Kyzy (2019), 0.0306 ile 0.913 arasında (ortalama 0.660), Sadık (2017), 0.74 ile 0.97 arasında (ortalama 0.89), Alkan ve ark. (2019), 0.10 ile 0.29 arasında (ortalama 0.17) olduğunu gözlemlemişlerdir.

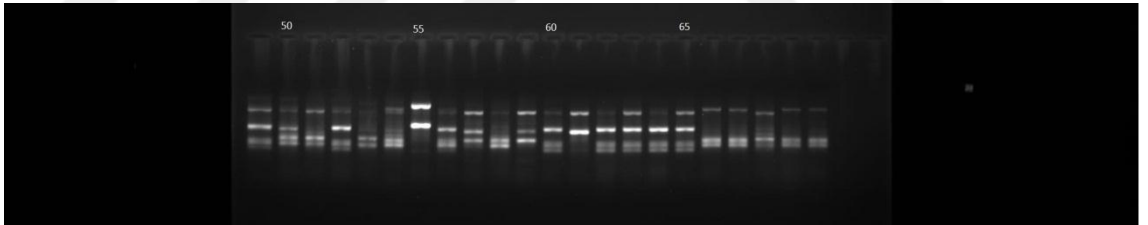
Çalışmada kullanılmış olan 11 adet iPBS primerlerinden elde edilmiş PCR sonuçlarından bazılarının bant görüntülemeleri Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 4.1: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (1-24)



Şekil 4.2: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (25-49)



Şekil 4.3: 2374 numaralı primer ile oluşan bantların jel görüntülemesi (49-70)

4.2. Genetik Benzerlik

Türkiye'nin Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis illerinden toplanmış, yabani buğday genotiplerine ait genetik uzaklık tablosu EK-1 üzerinde belirtilmiştir.

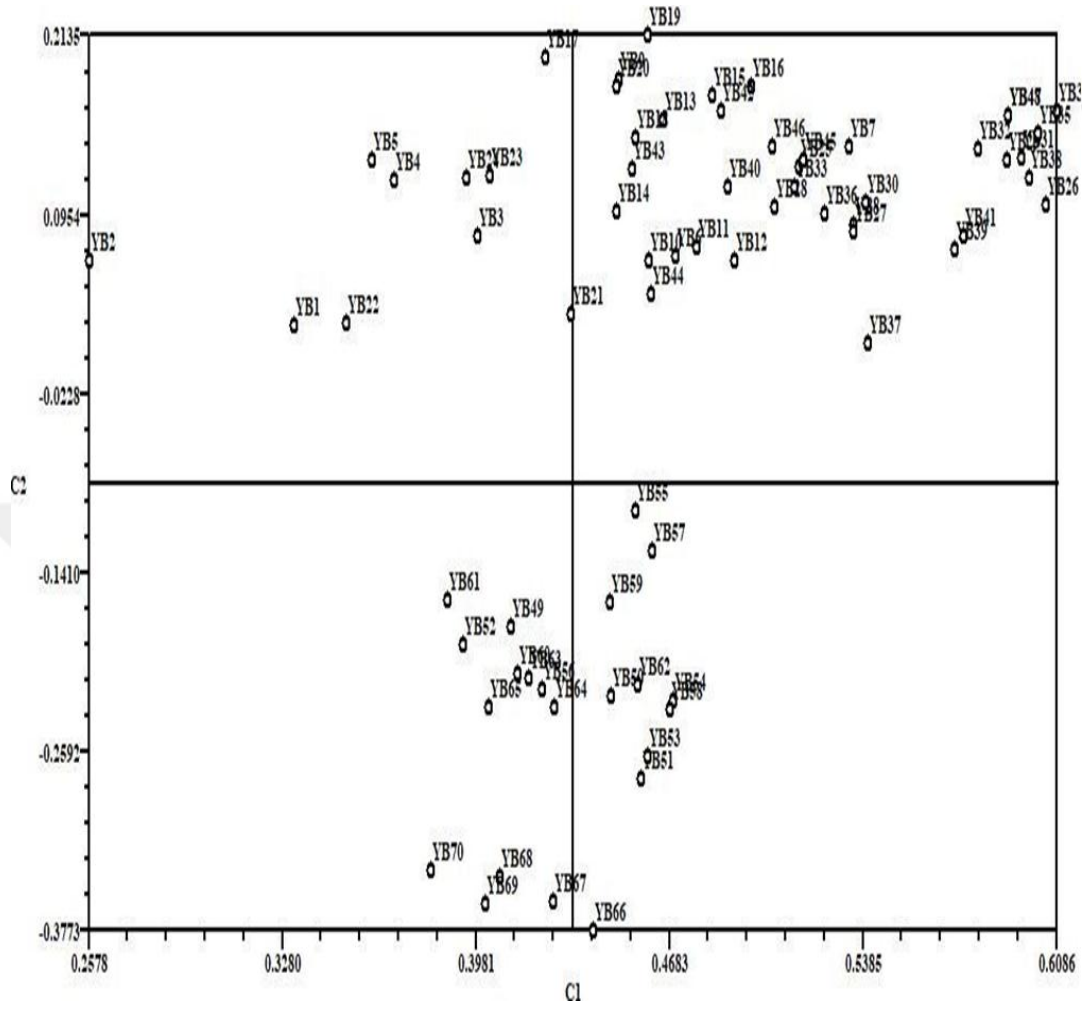
Genetik benzerlik analizi sonuçlarına göre genotipler arasındaki genetik benzerliklerin %19 ile % 98 değerleri arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (EK-1). Genotipler arasında en yakın ilişkiye baktığımız zaman YB66 ile YB67 genotipleri arasında olurken, en uzak ilişki ise YB70 ile YB2 genotipleri arasında gözlemlenmiştir. Bu genetik benzerlik değerini % 97'lik bir oranla YB4 ile YB5 genotipleri takip etmiştir. YB16 ile YB13, YB32 ile YB31 genotipleri ve YB64 ile

YB63 genotipleri arasındaki genetik benzerlik değerleri sırasıyla % 96 ve % 95 olduğu belirlenmiştir. YB35 ile YB34, YB65 ile YB62 ve YB70 ile YB66 genotipleri arasındaki genetik benzerlik değerinin % 93 olduğu anlaşılmıştır. YB27 ile YB26 ve YB35 ile YB31 genotipleri arasındaki genetik benzerlik değeri ise % 91 olarak ölçülmüştür. YB45 ile YB42, YB60 ile YB48, YB63 ile YB60, YB31 ile YB25 ve YB32 ile YB25 genotipleri arasındaki genetik benzerlik değerinin % 90 olduğu belirlenmiştir. Farklı noktalardan toplanmış olan YB70 ile YB2 genotiplerinin birbirine en uzak genetik benzerlik değerine % 19 sahip olduğu ve bu değeri % 23 oranında YB68 ile YB19 genotiplerinin takip ettiği belirlenmiştir. YB69 ile YB2, YB70 ile YB9 ve YB70 ile YB19 genotiplerinde genetik benzerlik değerinin % 24 olduğu anlaşılmıştır. YB68 ile YB17 ve YB70 ile YB20 genotipleri arasındaki genetik benzerliğinin % 25 olduğu tespit edilmiştir. YB70, YB17 genotiplerinde genetik benzerlik değerinin % 26 olduğu tespit edilmiştir.

Genetik benzerlik değerleri ve genotiplerin toplama noktaları göz önüne alındığı zaman toplanmış olan materyallerin kendi içlerinde birbirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. Ancak YB70 genotipinin diğer genotiplere oranla genetik benzerlik değerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Birbirine yakın noktalardan toplanan genotipler arasında da farklılıklar olduğu görülmüştür.

4.3. Kümeleme ve Komponent Analizi

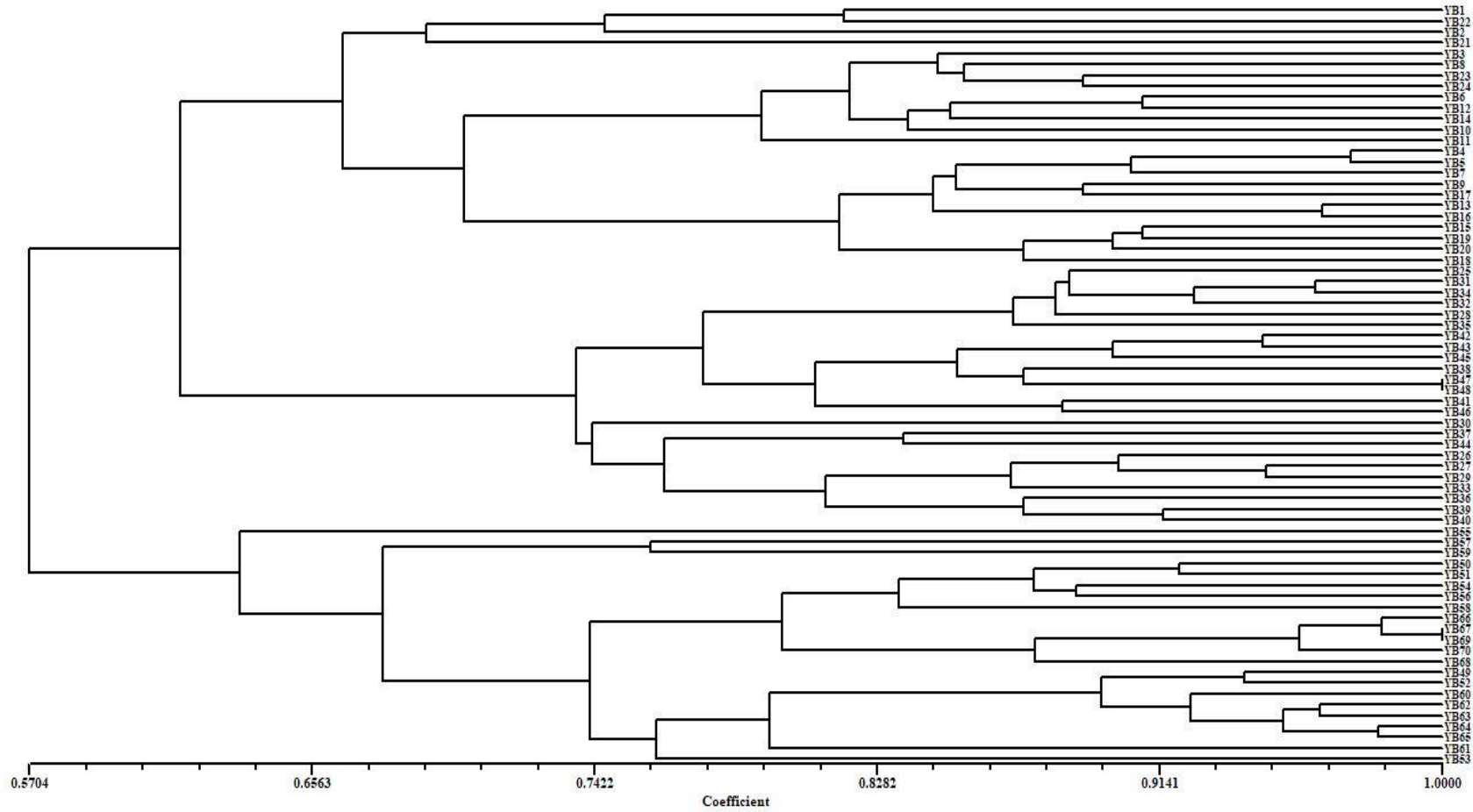
Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış, yabani buğday genotiplerine ait iPBS verileri ile yapılmış koordinat analizi sonuçları Şekil 4.4 üzerinde belirtilmiştir.



Şekil 4.4: iPBS verileri ile belirlenmiş komponent analizi

4.4.Dendrogram Analizi

Yabani buğday genotiplerine ait iPBS verileri ile UPGMA metodu kullanılarak çizilmiş soyağacı Şekil 4.5 üzerinde belirtilmiştir.



Şekil 4.5: iPBS primeri kullanarak UPGMA metoduyla oluşturulan soyağacı

Moleküler dizi verileri ile kıyaslamalı analizi farklı genotiplerin aralarında varolan yakınlık veya uzaklık mesafelerinin belirlenebilmesi amacı ile kullanılır ve bununla birlikte filogenetik ağaç oluşumunu gerçekleştirerek genotiplerin kümelenmelerini belirtir. Bu amaç ile Nei'nin genetik mesafesi ve aritmetik ortalamaları ile tartılı olmayan çift grup metot analizi (UPGMA) yöntemi kullanılarak yabani buğdaylar arasında kümeleme analiz sonuçları belirlenmiştir.

Bu analiz sonuçları ile birlikte üç büyük küme (A, B ve C) ortaya çıktığı belirlenmiştir.

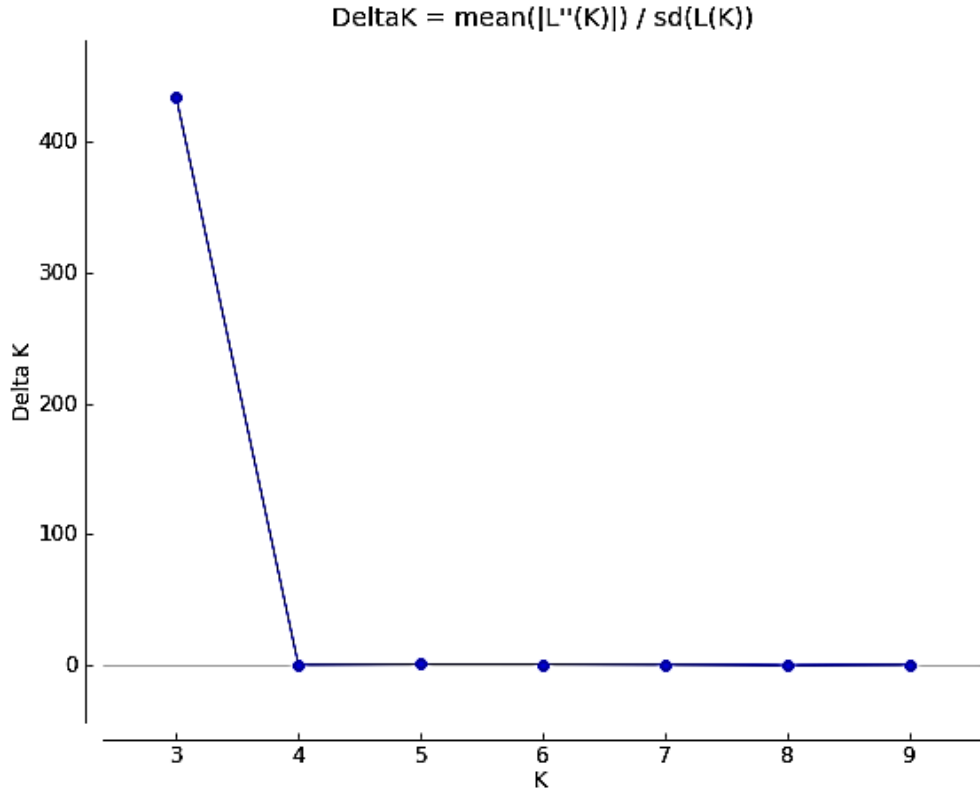
A kümesi içerisinde YB1, YB22 ve YB2 genotipleri yer aldığı görülmüştür.

B kümesi içerisinde YB3, YB23, YB24, YB6, YB12, YB8, YB14, YB10, YB11, YB4, YB5, YB7, YB9, YB17, YB13, YB16, YB15, YB19, YB20, YB18, YB25, YB31, YB34, YB32, YB35, YB28, YB26, YB27, YB29, YB33, YB30, YB36, YB39, YB40, YB38, YB47, YB48, YB42, YB43, YB45, YB41, YB46, YB37, YB44, YB21 ve YB55 genotiplerinin yer aldığı görülmüştür.

YB50, YB51, YB54, YB56, YB58, YB53, YB49, YB52, YB60, YB62, YB63, YB64, YB65, YB66, YB67, YB70, YB68, YB61, YB57 ve YB59 genotiplerinin C kümesinde yer aldığı görülmüştür.

4.5. Structure Analizi ve ΔK Değeri

Yabani buğday türlerine ait, Delta K değerleri Şekil 4.6 ve Structure analiz sonuçları Şekil 4.7 üzerinde belirtilmiştir



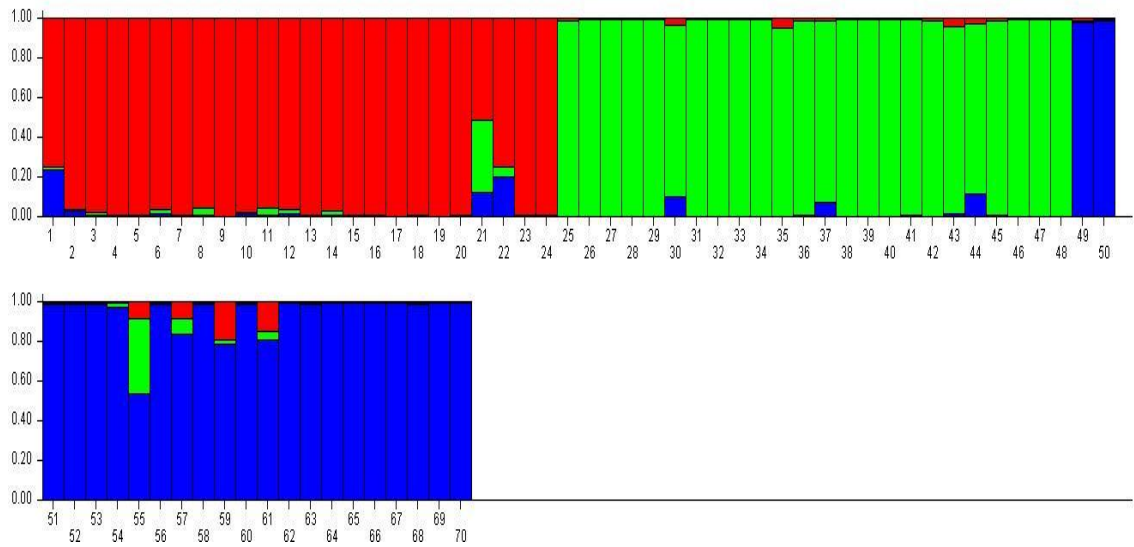
Şekil 4.6: K değerleri ve Delta K

Popülasyon yapısı belirlenebilmesi için structure (Pritchard ve ark., 2000) programı kullanılmış 7 yabancı buğday genotipinde iPBS primerleri ile elde edilmiş bant görüntüleri verilmiştir. Bütün K değerleri için en çok ihtimal göstermiş olan değer ΔK değeri olarak kabul edilmekle birlikte bu değer 3 olarak bulunduğu belirtilmiştir (Şekil 4.6).

Bu araştırmada, 70 yabancı buğday genotipinde katılımların popülasyon yapısı STRUCTURE programı ile iPBS verilerine göre sınıflandırılmaya dahil edilmiştir. Şekil 4.7’de gösterildiği gibi genotipler içerisindeki az karışım ile üç alt popülasyon elde edildiği belirlenmiştir. Örneklerin toplandığı alanlardaki noktaların birbirlerine bağlı olduğu göz önüne alındığında bu üç popülasyona ait karışma sebebi olarak sayılabilir.

Genetik yapı analizi sonuçları ile birlikte yabancı buğday genotipleri üç alt-popülasyona ayrıldığı belirlenmiştir ($K=3$). Araştırmamız popülasyon sayısı (K değeri) düşüklüğünün sebebi ise materyallerin toplanmış olduğu alanlar arası gen

akış oranındaki yüksek değerlerden kaynaklandığı söylenebilmektedir. Aydın (2016) yapmış olduğu çalışmada 96 fasulye genotipinde 10 adet iPBS markerı kullanmıştır. Çeşitliliği değerlendirirken yapılan analiz ile K=2 alt grup bulmuşlardır. Yine diğer bir çalışmada Sadık (2016) 24 iPBS makerı kullanarak 7 farklı daucus türüne ait 17 ait genotipte STRUCTURE analizi yapmışlardır. Bu analiz ile birlikte K=2 alt grup bulduklarını belirtmişlerdir. Arystanbek Kyzy (2019) 29 yabancı gernik (*Triticum dicoccoides*), 4 adet emmer (*Triticum dicoccum*) ve Suriye orijinli 4 adet kültür makarnalık ve 1 adet Türkiye orijinli kültür makarnalık buğday (*Triticum durum*) genotiplerini kullanarak 9 adet iPBS markerı kullanarak genetik çeşitlilik üzerine yapmış oldukları bu çalışmada K=2 alt gruba ayrıldığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.7: iPBS verilerine dayalı popülasyon yapısının grafiksel gösterimi

STRUCTURE programından elde edilmiş verilere göre yabancı buğday genotiplerinin aralarında var olan benzerliklere göre dağılım (Her grup farklı renk ile boyanmıştır; kırmızı, yeşil ve mavi) (K=3)

Tablo 4.2: iPBS primerlerinden elde edilmiş verilere göre Allel frekansı

	1	2	3
1	-	0.1307	0.1952
2	0.1307	-	0.1830
3	0.1952	0.1830	-

Tablo 4.3: 3 Yabani buğday alt-popülasyonlarında beklenen heterozigotluk oranı ve FST (F-istatistik)

Alt-Popülasyon (K)	Beklenen heterozigotluk oranı	Fiksasyon indeksleri
1	0.2666	0.3930
2	0.2504	0.3716
3	0.2330	0.4804

Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış, yabani buğday genotiplerine ait popülasyonların beklenen heterizigotluk oranları ve FST değerleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

Şekil 4.7'de gösterilen STRUCTURE programından elde edilen verilere göre yabani buğday genotipleri arasında 3 farklı popülasyon yapısı belirlenmiştir. Bu popülasyonlar içerisinde beklenen heterozigotluk oranı 0.2330 ile 0.2666 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. STRUCTURE programından elde edilen renk skalaları ile beklenen heterozigotluk oranlarında popülasyonların birbirlerine yakın olması tür içerisindeki gen akışının çok az olduğunu göstermektedir. Ayrıca popülasyonlara ait en yüksek FST değeri popülasyon 3 (0.4804) ve en düşük FST değeri popülasyon 2 (0.3716)' de belirlenmiştir.

4.6. Genotiplere Ait Gözlenen Allel Sayısı (N_a), Etkili Allel Sayısı ($*N_e$), Nei'nin Gen Çeşitliliği ($*H$), Shannon's Bilgi İçeriği ($*I$)

Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanmış, yabani buğday genotiplerine ait Etkili allel sayısı ($*N_e$) Kimura ve Crow (1964), Nei's (1973) gen çeşitliliği ($*H$), Shannon's bilgi içeriği ($*I$) Lewontin (1972) Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4: Genotiplere ait etkili allel sayısı ($*N_e$), Nei nin gen çeşitliliği ($*H$), Shannon's bilgi içeriği ($*I$)

Lokus	Örnek büyüklüğü	$*N_e$	$*H$	$*I$
YB1	59	1.7362	0.4240	0.6151
YB2	55	1.5649	0.3610	0.5469
YB3	59	1.8467	0.4585	0.6510
YB4	42	1.9820	0.4955	0.6886
YB5	43	1.9733	0.4932	0.6864
YB6	55	1.9478	0.4866	0.6797
YB7	59	1.9948	0.4987	0.6919
YB8	59	1.9857	0.4964	0.6896

Tablo 4.4. (Devam) Genotiplere ait etkili allel sayısı (*Ne), Nei nin gen çeşitliliği (*H), Shannon's bilgi içeriği (*I)

YB9	59	1.9328	0.4826	0.6757
YB10	59	1.9074	0.4757	0.6687
YB11	55	1.9681	0.4919	0.6850
YB12	59	1.9328	0.4826	0.6757
YB13	55	1.9836	0.4959	0.6890
YB14	59	1.8786	0.4677	0.6605
YB15	59	1.9545	0.4884	0.6815
YB16	55	1.9993	0.4998	0.6930
YB17	55	1.8942	0.4721	0.6649
YB18	55	1.9478	0.4866	0.6797
YB19	55	1.9681	0.4919	0.6850
YB20	55	1.9478	0.4866	0.6797
YB21	55	1.9231	0.4800	0.6730
YB22	55	1.7868	0.4403	0.6322
YB23	55	1.8615	0.4628	0.6555
YB24	55	1.8615	0.4628	0.6555
YB25	50	2.0000	0.5000	0.6931
YB26	56	1.9898	0.4974	0.6906
YB27	56	1.9975	0.4994	0.6925
YB28	56	1.9600	0.4898	0.6829
YB29	56	1.9898	0.4974	0.6906
YB30	52	1.9882	0.4970	0.6902
YB31	52	1.9737	0.4933	0.6865
YB32	54	1.9891	0.4973	0.6904
YB33	56	1.9773	0.4943	0.6874
YB34	56	1.9898	0.4974	0.6906
YB35	56	1.9898	0.4974	0.6906
YB36	59	1.9857	0.4964	0.6896
YB37	59	1.9948	0.4987	0.6919
YB38	59	1.9994	0.4999	0.6930
YB39	59	1.9994	0.4999	0.6930
YB40	59	1.9328	0.4826	0.6757
YB41	56	2.0000	0.5000	0.6931
YB42	55	1.9836	0.4959	0.6890
YB43	55	1.9231	0.4800	0.6730
YB44	55	1.9478	0.4866	0.6797
YB45	55	1.9941	0.4985	0.6917
YB46	55	1.9681	0.4919	0.6850
YB47	55	1.9941	0.4985	0.6917
YB48	55	1.9941	0.4985	0.6917
YB49	50	1.9501	0.4872	0.6803
YB50	50	1.9873	0.4968	0.6899
YB51	54	1.9756	0.4938	0.6870
YB52	50	1.9231	0.4800	0.6730

Tablo 4.4. (Devam) Genotiplere ait etkili allel sayısı (*Ne), Nei nin gen çeşitliliği (*H), Shannon's bilgi içeriği (*I)

YB53	54	1.9973	0.4993	0.6925
YB54	54	1.9891	0.4973	0.6904
YB55	54	1.9891	0.4973	0.6904
YB56	54	1.9059	0.4753	0.6682
YB57	54	1.9973	0.4993	0.6925
YB58	54	1.9756	0.4938	0.6870
YB59	54	1.9891	0.4973	0.6904
YB60	50	1.9501	0.4872	0.6803
YB61	54	1.9337	0.4829	0.6759
YB62	54	1.9570	0.4890	0.6821
YB63	54	1.9059	0.4753	0.6682
YB64	52	1.9538	0.4882	0.6813
YB65	52	1.9287	0.4815	0.6745
YB66	55	1.9836	0.4959	0.6890
YB67	55	1.9681	0.4919	0.6850
YB68	55	1.9478	0.4866	0.6797
YB69	54	1.9570	0.4890	0.6821
YB70	54	1.9059	0.4753	0.6682
Ortalama	55	1.9488	0.4861	0.6791
St. Dev		0.0684	0.0206	0.0214

Ortalama etkili allel sayısı 1.9488 olarak belirlenmiştir. Etkili allel sayısının en yüksek YB25 (2.000) ve YB41 (2.000) genotiplerinde en düşük ise YB2 (1.5649) genotipinde olduğu görülmüştür.

Nei'nin gen çeşitliliği değeri en yüksek YB25 (0.5000) ve YB41 (0.5000), en düşük ise YB2 (0.3610) genotiplerinde belirlenmiştir. Ortalama gen çeşitliliği değeri ise (0.4861) olarak ölçülmüştür. Arystanbek Kyzy, (2019) 9 marker kullanmış olduğu bu çalışmada Nei'nin gen çeşitliliği değerini en düşük 0.486 olduğunu en yüksek ise 0.495 değerini (ortalama 0.489) bildirmiştir. Bir diğer çalışmada 96 fasulye genotipinde 10 adet marker kullanılmış gen çeşitliliği değerlerinin 0.07-0.28 arasında değişkenlik gösterdiği ve ortalama değerin 0.14 olduğunu belirtmişlerdir (Aydın, 2016).

Shannon bilgi içeriği açısından en yüksek değer YB25 (0.6931) ve YB41 (0.6931) örneklerinde, en düşük değer ise YB2 (0.5469) genotipinde belirlenmiştir. Ortalama Shannon bilgi içeriği ise 0.6791 olarak belirlenmiştir. Arystanbek Kyzy, (2019) shannon bilgi içeriği kapsamında en düşük 0.679 en yüksek ise 0.688 olarak

belirlemiş olup ortalama değeri 0.682 olarak bildirmişlerdir. Diğer bir çalışma 96 fasulye genotipi ve 10 adet markır kullanılarak, Shannon bilgi içeriği değerleri en düşük 0.10 en yüksek 0.42 ve ortalama değeri 0.25 olarak bildirmişlerdir (Aydın, 2016).



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinden (Şırnak, Hakkâri, Van, Bitlis) toplanan bazı yabani buğday türlerinin (*Ae. cylindrica*, *Ae. geniculata*, *Ae. triuncialis*, *T. dicocoides*, *Ae. columnaris*) genetik karakterizasyonu belirlemek, mevcut genetik çeşitliliği çoğaltmak amacı ile iPBS-retrotranspozon marker yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

iPBS-retrotranspozon moleküler marker yöntemi son zamanların popülasyonlar arası genetik yakınlık ve mesafe belirlemeleri araştırmalarında kullanılan etkili bir yöntem olmaya başlamıştır. Bu amaçla kullandığımız 35 iPBS retrotraspozon primerinden 11 tanesinde, PCR ürünleri yürütülen jelde bant görüntüleri vermiştir.

iPBS DNA analizi, 70 yabani buğday genotipinde 11 iPBS primeri kullanılmış, lokus başına allel sayısının 5.5 olduğu gözlemlenmiştir. Allel sayısının 2 ile 9 arasında değiştiği bulunmuştur. iPBS verilerine göre tüm primerlerde polimorfizm oranı % 100 olmuştur. Jaccard katsayısı kullanılarak hesaplanan genetik mesafeler incelendiğinde birbirine en uzak genotipler % 19 YB70 ve YB2 genotipleri olurken; en yakın genotipler % 98 ile YB66 ve YB67 genotipleri olduğu belirlenmiştir. Kümeleme ve dendrogram analiz sonuçlarına göre genotiplerin 3 ana gruba ayrıldığı belirlenmiş, popülasyon yapısı belirlenebilmesi için structure (Pritchard ve ark., 2000) programı kullanılmış Delta-K değeri 3 olarak belirlenmiştir.

Araştırmamızda PIC değerleri 0.22-0.47 arasında değişkenlik göstermiştir. En yüksek PIC değeri 2394 nolu primerde 0.47 olarak belirlenmiştir. Kullanılan 11 primer ortalama polimorfizm oranı % 100 olarak kaydedilmiştir.

Popülasyonlar arası beklenen heterozigotluk oranları 0.2330 ile 0.2666 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan genotiplere ait ortalama etkili allel sayısı (*Ne) 1.9488, Nei'nin gen çeşitliliği (*H) 0.4861 ve Shannon bilgi içeriği (*I) ise 0.6791 olmuştur.

Geleneksel ıslah çalışmalarının bitki popülasyonlarında belirlenmiş olan mevcut genetik çeşitliliğin yeterli standartta bilinmesi, bitki gen kaynaklarının doğru bir biçimde korunması ve verimli bir şekilde uygulanması için çok önem arz

etmektedir. Buğday ıslah programları genetik zenginliği fazla ve verimli çeşitlerin geliştirilmesi kapsamında yabani akrabalarının genetik karakterizasyonlarının tanımlanması öncelikli olarak yapılmalıdır. Bunun için, popülasyonların kendi içlerinde ve aralarındaki genetik çeşitliliğin tanımlanmasında, moleküler marker teknikleri amacına uygun olarak çalışılmalıdır.

Bu araştırmanın sonuçları, iPBS analizinin, yabani buğday genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin tahmini için başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ve çeşitli bölgelerdeki yabani buğday genotiplerinin, diğer bitki çeşitlerinin daha büyük bir koleksiyonundaki çeşitliliğin inceleneceği ileride yapılacak çalışmalara potansiyel olarak dâhil edilebileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Alkan, M., Göre, M. E., Bayraktar, H. & Özer, G. (2019). “Kışlık buğdaylarda kök ve kök boğazı çürüklüğüne sebep olan fusarium spp. izolatları arasındaki genetik varyasyonun retrotranspozon temelli iPBS markörleri ile incelenmesi”. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*. Cilt. 5. Sayı. 2, 250-259.
- Anderson, J.A., Churchill G. A., Autrique J. E., Tanksley S. D. and Sorrells M. E., (1993). “Optimizing parental selection for genetic linkage maps”. *Genome*. Cilt. 36. Sayı. 1, 181– 186.
- Arystanbek Kyzy, M. (2019). *Türkiye orijinli bazı yabancı gernik buğday genotiplerinin (Triticum turgidum subsp. dicoccoides) IPBS-retrotranspozon marker yöntemiyle genetik karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Aydın, M. F. (2016). *Bazı yerel ve yabancı fasulye genotiplerinin IPBS Retrotranspozonlar kullanılarak genetik çeşitlerinin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Barut, M., Nadeem, M. A., Karaköy T. & Baloch F. S. (2020). “DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of world quinoa germplasm using iPBS-retrotransposon marker system”. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Cilt. 44. Sayı. 5, 479-491.
- Botstein, D., White R.L., Skolnick M., and Davis R.W., (1980). “Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms”. *Am JHum Genet*. Cilt. 32. Sayı. 3, 14-331.
- Ceylan, H. (2010). *Türkiye orijinli bazı buğday çeşitlerinde peroksidaz gen polimorfizminin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Çay, F. (2020). *Sentetik hekzaploid buğday hatları ve ekmeklik buğday genotiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Demirel, F. (2018). *Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanmış yerel buğday genotiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır.
- Divitlioğlu, A. C. (2020). *Bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin fonksiyonel DNA markörleri ile karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Hosseini-pour, A., Haliloğlu, K., Özkan, G. & Tan, M. (2019a). "Genetic diversity and population structure of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) using iPBS-retrotransposons markers". *Applied Ecology and Environmental Research*. Cilt. 17. 1899-1911.
- Hosseini-pour, A., Özkan, G., Balpınar Nalcı, Ö., & Haliloğlu, K. (2019b). "Estimation of genomic instability and dNA Methylation due to Aluminum (Al) Stress in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using IPBS and CRED-iPBS Analyses". *Turkish Journal of Botany*. Cilt. 43. Sayı. 1, 27-37.
- Jaccard, P., (1908). "Nouvelles recherches sur la distribution florale". *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* Cilt. 44. 223-270.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. & Schulman, A. H. (2010). "IPBS: A universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation". *Theor. Appl. Genet.* Cilt. 121. Sayı. 8, 419-430.
- Karagöz, A., Pılanalı, N. & Polat, T. (2006). "Agro-Morphological characterization of some wild wheat (*Aegilops* L. and *Triticum* L.) species". *Turk. J. Agric. For.* Cilt. 30. Sayı 6, 387-398.
- Karaozan, A. (2019). *Mardin İli buğday üretim alanlarındaki arpa sarı cücelik virüs (Barley Yellow Dwarf Viruses; bydvs) 'lerinin multipleks RT-PCR yöntemi ile araştırılması ve bazı virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonları*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kimura, M. and Crow J.F., (1964). "The number of alleles that can be maintained in a finite population". *Genetics*, Cilt. 49. Sayı. 4, 725-738.
- Koçak, M., Karataş. M. D., Alp, Ş., Baloch, F. S. & Yıldız, M. (2020). "Van Gölü Havzasından toplanan ters lale (*Fritillaria imperialis* L.) genotiplerinde genetik farklılığın iPBS Retrotranspozon Markırları ile belirlenmesi". *YYU Journal of Agricultural Science*. Cilt. 30. Sayı. 2, 398-406.
- Kumlay, A. M., Demirel, S., Demirel, F. & Yıldırım, B. (2021a). "Molecular characterization of some soybean (*Glycine max* L.) varieties". *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*. Cilt. 31. Sayı 1, 11-18.
- Kumlay, A. M., Eren, B., Demirel, S., Demirel, F. & Yıldırım, B. (2021b). "Reveal of genetic variation by iPBS analysis in some cotton varieties". *European Journal of Science and Technology*. Sayı. 21, 67-73.
- Lewontin, R. C., (1972). "The apportionment of human diversity". *In Evolutionary Biology*. 381-398.

- Nazlı, M. (2017). *Yerel, Azerbaycan orijinli ve bazı yabani buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkinin moleküler düzeyde belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Nei, M., (1973). "Analysis of gene diversity in subdivided populations". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Cilt. 70. Sayı. 12, 3321-3323.
- Nei, M., Tajima, F. and Tateno, Y., (1983). "Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data". *Journal of Molecular Evolution*. Cilt. 19. Sayı. 2, 153-170.
- Özkan, G. (2018). *İspir Fasulyesi (Phaseolus vulgaris L.) genotiplerinde SSR moleküler belirteçler ile genetik çeşitliliğin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Öztürk, H. İ., Dursun, A., Hossein-pour, A. & Haliloğlu, K. (2020). "Genetic diversity of pinto and fresh bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm collected from erzincan province of turkey by inter-primer binding site (iPBS) retrotransposon markers". *Turk. J. Agric. For.* Cilt. 44. Sayı. 4, 417-427.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Rosenberg, N. A., and Donnelly, P. (2000). "Association mapping in structured populations". *The American Journal of Human Genetics*. Cilt. 67. Sayı 1, 170-181.
- Rohlf, F. J. (1972). "An empirical comparison of three ordination techniques in numerical taxonomy". *Systematic Zoology*. Cilt. 21. Sayı. 3, 271-280.
- Saadi, O. S. S. (2017). *Molecular characterization by SSR molecular markers on mostly cultivated bread wheat varieties (Triticum aestivum L.) in Duhok-Iraq*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Doğa ve Uygulamalı Bilimler Enstitüsü, Van.
- Sadık, G. (2017). *Farklı daucus türlerinde genetik farklılığın belirlenmesinde iPBS retrotranspozon markırlarının etkinliğinin belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Uğurbaşıçık, G. (2018). *Buğdayda (Triticum aestivum L.) Rht5 cücelik geninin koleoptil uzunluğu üzerine etkilerinin agronomik ve moleküler düzeyde incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Uyğan, S. (2014). *Yabani buğdayda (Triticum boeoticum L) farklı bor uygulamaları ile meydana gelen tepkilerin fizyolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- Uysal, A. (2019). *Yurtdışı ve türkiye kaynaklı yerel ekmeklik ve makarnalık buğday genotiplerinin fonksiyonel markörler ile karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Yaldız, G., Çamlıca, M., Nadeem, M. A., Nawaz, M. A. & , F. S. (2018). “Genetic diversity assessment in *nicotiana tabacum* l. with IPBS-retrotransposons”. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Cilt. 42. Sayı. 3, 154-164.
- Yeh, F., Yang, R., Boyle, T., Ye, Z. and Mao, J. (1997). POPGEN Ver. 1.32. “The userfriendly software for population genetic analysis”. *Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Alberta, Canada*. Cilt. 10. 295-301.
- Yıldız, M., Koçak, M., Nadeem, M. A., Cavagnaro, P., Barboza, K., Baloch F. S., Argün, D. & Keleş, D. (2019). “Genetic diversity analysis in the turkish pepper germplasm using iPBS (Inter-primer binding site) Retrotransposon-based markers”. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Cilt. 44. Sayı. 1, 1-14.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. & Erkoyuncu, T. M. (2015). “Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı”. *Journal of Bahri Dagdas Crop Research*. Cilt. 4. Sayı. 2, 1-12.
- Yürük, B. (2020). *Bazı yerli ve yabancı ekmeklik buğday genotiplerinin genetik yapısının moleküler belirteçler ile belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

EKLER

EK-1. 70 yabancı buğday türüne ait genetik benzerlik tablosu.

[illegible]

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Bora BAYHAN

Uyruğu : T.C.

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	: -	
Yüksek Lisans	: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2020
Lisans	: Dicle Üniversitesi Ziraat Fak.	2019
Lise	: Yeni Diyarbakır Anadolu Lisesi	2014

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2019	Diyarbakır ÖSYM il koordinatörlüğü	Koordinatörlük Görevlisi

YABANCI DİLİ

Orta