

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

**YEREL, AZERBAYCAN ORİJİNLİ VE BAZI YABANI
BUĞDAY ÇEŞİTLERİ ARASINDAKİ GENETİK
İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Merve NAZLI**

**Danışman
Doç. Dr. Mikail AKBULUT**

Yüksek Lisans Tezi

**Ocak 2017
KAYSERİ**

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

**YEREL, AZERBAJCAN ORİJİNLİ VE BAZI YABANI
BUĞDAY ÇEŞİTLERİ ARASINDAKİ GENETİK
İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Merve NAZLI**

**Danışman
Doç. Dr. Mikail AKBULUT**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FYL-2015-5956 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2017
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Merve NAZLI

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Yerel, Azerbaycan Orijinli ve Bazı Yabani Buğday Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkinin Moleküler Düzeyde Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan

Merve NAZLI



Danışman

Doç. Dr. Mikail AKBULUT



Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Doç. Dr. Mikail AKBULUT danışmanlığında **Merve NAZLI** tarafından hazırlanan “**Yerel, Azerbaycan Orijinli Ve Bazı Yabani Buğday Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkinin Moleküler Düzeyde Belirlenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

18 /01 /2017

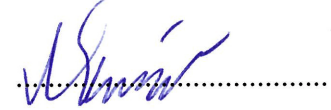
Danışman : Doç. Dr. Mikail AKBULUT



Üye : Doç. Dr. Fatma ÖZTÜRK KÜP



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK



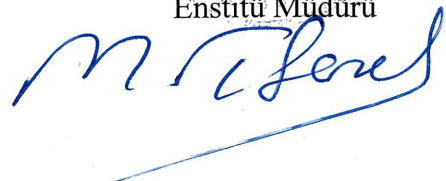
ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 07/02/2017 tarih ve 2017-06-67 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

07 / 02 / 2017

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca farklı bakıő ağısı ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yardım ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Mikail AKBULUT' a teőekkürü bir borç bilirim. Ayrıca ilgisinden ve desteğinden dolayı sayın hocam Yrd. Doç. Kahraman GÜRCAN' a teşekkür ederim.

Çalıőmalarımda gerek yardımlarıyla gerek destekleriyle yanımda olan tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan çalıőmalarım boyunca sabırlı bir şekilde her türlü desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Merve NAZLI

Kayseri, Ocak 2017

YEREL, AZERBAJCAN ORİJİNLİ VE BAZI YABANI BUĞDAY ÇEŞİTLERİ ARASINDAKİ GENETİK İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ

Merve NAZLI

Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2017
Danışman: Doç. Dr. Mikail AKBULUT

ÖZET

Yakın doğu ve Akdeniz temel tahıllardan buğday, arpa, çavdar ve yulafın çeşitlendiği ve dünyaya yayıldığı gen merkezleri olup, bu ürünler bu bölgede çeşitlenip dünyaya yayılmıştır. Türkiye bu iki merkezin kesişme bölgesinde yer almaktadır. İlk kültüre alınan buğday formları diploid (genom AA) (einkorn) ve tetraploid (genom AABB) (emmer) olup onlar arasındaki genetik ilişki ilk kültür buğdaylarının Türkiye'nin güneydoğusundan kökenlendiğini göstermektedir. Buğday, insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan ve ılıman bölgelerde yetiştirilen temel tahıllardan birisidir. Bu çalışmada 10 adet basit tekrarlı diziler arası polimorfizm (ISSR) primeri, diploid, tetraploid, hekzaploid yerel buğday genotiplerini ve bazı hekzaploid Azerbaycan buğday genotiplerini içeren 160 buğday örneğinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla kullanılmıştır. UPGMA metodu kullanılarak yapılan kümeleme analizinde buğday genotiplerinin temel olarak türler bazında kümelendiği, Azerbaycan hekzaploid buğday örneklerinin de birlikte gruplaştığı belirlenmiştir. Temel bileşenler analizi (PCA) ile UPGMA analizindeki sonuçlar örtüşmüştür. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) ile gruplar arasında % 25.37, grup içindeki popülasyonlar arasında % 13.96, popülasyonlar içinde % 60.67 varyasyon tespit edilmiştir. Popülasyonlar içi farklılık istatistik olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur. Çalışılan genotiplerde genetik çeşitlilik oranı oldukça yüksek bulunmuştur (91.68). Elde edilen polimorfizm oranı göz önüne alındığında buğday hatlarındaki genetik çeşitliliğin araştırılmasında ISSR markırları oldukça kullanışlı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Triticum aestivum*, buğday, genetik çeşitlilik, ISSR, UPGMA, PCA, AMOVA.

**DETERMINATION OF GENETIC RELATIONSHIP IN
MOLECULAR LEVEL IN LOCAL, AZERBAIJAN ORIGINATED
AND SOME WILD WHEAT GENOTYPES**

Merve NAZLI

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, January 2017

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mikail AKBULUT

ABSTRACT

Near East and Mediterranean are known as the gene centers for main cereals such as wheat, barley, rye and oat, where they diversified and spread throughout the world. Turkey is located right at the intersection of two of these centers. Earliest cultivated forms of wheat were diploid (genome AA) (einkorn) and tetraploid (genome AABB) (emmer) wheats and their genetic relationships indicate that they originated from the south-eastern part of Turkey. Wheat is one of the major cereal crop in temperate countries being used for human food and livestock feed. In this study, 10 Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) primers were used to determine the diversity in 160 wheat samples containing wild diploid, tetraploid, hexaploid local and some hexaploid wheat genotypes from Azerbaijan. As a result of the clustering analysis using UPGMA method, it was determined that wheat genotypes are mainly grouped on species basis and Azerbaijan hexaploid wheat samples were also grouped separately. Similar results were obtained with the principal component analysis (PCA). With the Molecular Variance Analysis (AMOVA), 25.37%, 13.96% and 60.67% variation rates were detected between groups, among the populations within the group and within populations, respectively. The intra-population diversity was statistically significant ($p < 0.001$). Considering all the wheat sample studied, the level of genetic diversity was found to be considerably high (91.6 %). Given the rate of polymorphism obtained, the ISSR markers were found to be useful in investigating the genetic diversity of wheat genotypes.

Keywords: *Triticum aestivum*, wheat, Genetic diversity, ISSR, UPGMA, PCA, AMOVA

İÇİNDEKİLER

YEREL, AZERBAJYCAN ORİJİNLİ VE BAZI YABANI BUĞDAY ÇEŞİTLERİ ARASINDAKİ GENETİK İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMA SİMGELER	x
TABLOLAR LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Buğday.....	3
1.1.1. Buğday Hakkında Genel Bilgi.....	3
1.1.2. Buğdayın Orijini ve Tarihçesi	3
1.1.3. Buğday taksonomisi	7
1.1.4. Buğdayın Dünya ve Türkiye'deki Önemi ve Üretimi.....	7
1.2. Moleküler Sistematik.....	9
1.2.1. Moleküler Sistematikte Kullanılan Markırlar	10
1.2.1.1. Morfolojik Markırlar	10
1.2.1.2. Biyokimyasal Markırlar	10

1.2.1.3. Moleküler Markırlar	11
1.2.1.3.1. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)	11
1.2.1.3.2. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA).....	12
1.2.1.3.3. AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm)	12
1.2.1.3.4. Minisatellit	13
1.2.1.3.5. Mikrosatellit.....	13
1.2.1.3.6. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm).....	14
1.2.1.3.7. SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi).....	14
1.2.1.3.8 Organel Mikrosatellitleri.....	14
1.2.1.3.9. CAPS (Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler)	15
1.2.1.3.10. SRAP (Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm)	15
1.2.1.3.11. EST (İfade Edilmiş Dizi Etiketleri)	16
1.2.1.3.12. TRAP (Hedef Bölge Çoğaltım Polimorfizmi)	16

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal.....	17
2.1.1. Bitki Materyali.....	17
2.1.1.1. Yerel Çeşitler	17
2.1.1.2. Çeşitli ülkelerden kültür ve yabancı buğday örnekleri.....	20
2.1.2. Primerler	22
2.2. Metotlar.....	22
2.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	22
2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu	23
2.2.2.1. Yapraktan DNA İzolasyonu.....	23
2.2.2.2. Tohumdan DNA İzolasyonu	24
2.2.3. DNA Miktarının Belirlenmesi	25
2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	25

2.2.4.1. ISSR Markırları İçin PZR Reaksiyonu	25
2.2.4.2. ISSR Markırları İçin Uygulanan PZR Döngüsü	25
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi	26
2.2.6. Polimorfizmin Hesaplanması	26

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Buğday Genotiplerinin ISSR Markırı Analizi ile Karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi.....	27
3.2. Benzerlik indeksleri ve Dendogramların Oluşturulması.....	52
3.2.1 ISSR Analizleri Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksinin Değerlendirilmesi.....	52
3.2.2. ISSR Analizleri Sonucu Elde Edilen UPGMA Dendogramının Değerlendirilmesi.....	53
3.2.3. ISSR Verileriyle Yapılan Temel Bileşenler Analizinin (Principal Component Analysis = PCA) Değerlendirilmesi	56
3.2.4. ISSR Verileri İle Elde Edilen Korelasyona ve Dice indeksine Dayalı Markır Dendogramının Değerlendirilmesi	58
3.2.5. ISSR verileri ile farklılık (dissimilarite) matrisine göre yapılan Neighbour-joining dendogramının değerlendirilmesi	62
3.3. ISSR Verileri İle Yapılan AMOVA (Moleküler Varyans Analizi) Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi	64

4. BÖLÜM

TARTIŞMA SONUÇ ve ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	74
EKLER.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	83

KISALTIMA SİMGELER

µl	: Mikrolitre
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
CTAB	: Setil tri-metil amonyum bromür
dH₂O	: Distile su
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetikasit
EST	: Expressed Sequence Tag
gDNA	: Genomik DNA
g	: Gram
HCl	: Hidrojen klorür
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats
M	: Molar
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
NTSYS	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SRAP	: Sequence-Related Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeats
TBE	: Tris-borik asit- EDTA
TE	: Tris- EDTA
TRAP	: Target Region Amplification Polymorphism
UPGMA	: Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averaging
V	: Volt

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Dünya tahıl üretim miktarları (bin ton).....	8
Tablo 1.2. Tahılların 2015 Türkiye Üretim Miktarları	9
Tablo 2.1. Yerel ekmeçlik buğday çeşitleri (<i>Triticum aestivum</i>)	17
Tablo 2.2. Çeşitli ülkelerden buğday örnekleri	21
Tablo 2.3. Analizlerde kullanılan ISSR primerleri	22
Tablo 2.4. Hoagland solüsyonu (1X).	23
Tablo 2.5. PZR karışımı	25
Tablo 2.6. ISSR primerleri İçin PZR Döngüsü	26
Tablo 3.1. ISSR primerleri kullanılarak elde edilen bant profilleri	28
Tablo 3.2. Eigen Değerleri	57
Tablo 3.3. AMOVA analiz sonuçları	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Buğdayın kültüre alınması sonucu tane boyutu, şekli ve fenotipik değişimi .4	4
Şekil 1.2. Verimli hilal ve temel arkeolojik bölgeler.....5	5
Şekil 1.3. Tane ve başak örnekleriyle gösterilen diploid tetraploid ve hekzaploid buğdaylar arasındaki evrimsel ve genom ilişkisi.6	6
Şekil 1.4. Türkiye tahıl alanları (%)9	9
Şekil 2.1. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)29	29
Şekil 2.2. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)29	29
Şekil 2.3. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51-75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)29	29
Şekil 2.4. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip76-100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)30	30
Şekil 2.5. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)30	30
Şekil 2.6. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)30	30
Şekil 2.7. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151-162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)31	31
Şekil 2.8. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)31	31
Şekil 2.9. UBC-815 primerikullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)31	31
Şekil 2.10. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)32	32
Şekil 2.11. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)32	32

Şekil 2.12. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	32
Şekil 2.13. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	33
Şekil 2.14. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	33
Şekil 2.15. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	34
Şekil 2.16. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	34
Şekil 2.17. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75M: 100-3000 bç. DNA standardı)	34
Şekil 2.18. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	35
Şekil 2.19. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	35
Şekil 2.20. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	35
Şekil 2.21. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 65, 66, 70, 151-162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	36
Şekil 2.22. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	36
Şekil 2.23. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	36
Şekil 2.24. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	37
Şekil 2.25. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	37
Şekil 2.26. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	37

Şekil 2.27. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	37
Şekil 2.28. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	38
Şekil 2.29. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	38
Şekil 2.30. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	38
Şekil 2.31. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	39
Şekil 2.32. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	39
Şekil 2.33. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	39
Şekil 2.34. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 155, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	39
Şekil 2.35. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 156- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	40
Şekil 2.36. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1-25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	40
Şekil 2.37. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	40
Şekil 2.38. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	41
Şekil 2.39. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	41
Şekil 2.40. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	41
Şekil 2.41. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	42

Şekil 2.42. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	42
Şekil 2.43. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	42
Şekil 2.44. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	43
Şekil 2.45. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	43
Şekil 2.46. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	43
Şekil 2.47. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	43
Şekil 2.48. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 155, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	44
Şekil 2.49. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 156- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	44
Şekil 2.50. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	44
Şekil 2.51. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	45
Şekil 2.52. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	45
Şekil 2.53. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	45
Şekil 2.54. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	46
Şekil 2.55. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	46
Şekil 2.56. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	46

Şekil 2.57. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	47
Şekil 2.58. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	47
Şekil 2.59. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	47
Şekil 2.60. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	48
Şekil 2.61. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	48
Şekil 2.62. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	48
Şekil 2.63. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	49
Şekil 2.64. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	49
Şekil 2.65. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	50
Şekil 2.66. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	50
Şekil 2.67. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	50
Şekil 2.68. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	51
Şekil 2.69. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA sandardı)	51
Şekil 2.70. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)	51
Şekil 2.71. ISSR analizi sonucu elde edilen UPGMA dendogramı	55

Şekil 2.72. ISSR verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu elde edilen iki boyutlu grafik	58
Şekil 2.73. Korelasyon benzerlik indeksine göre markır dendogramı	60
Şekil 2.74. Dice benzerlik indeksine göre markır dendogramı	61
Şekil 2.75. ISSR verileri ile farklılık matrisine göre yapılan Neighbour-joining dendogramı	63
Şekil 2.76. Şekil 2.76. Structure testine göre oluşturulan grafik	65

GİRİŞ

Buğday, insan ve hayvan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan en önemli tahıllardan biri olarak dünyada ve ülkemizde tarımı yapılan bitkiler arasında ilk sıralarda yer almakta ve bununla birlikte yenilenebilir temel bir besin ve endüstriyel ham madde kaynağını oluşturmaktadır [1,2,3,4]. Dünya nüfusunun % 40' ının besin ürünü olan buğday tükettiğimiz kalorisinin % 20' sini oluştururken diğer tahıllardan çok daha fazla alanda yetiştirilebilir [5]. Besin açısından önemli bir yere sahip olan ve stratejik bir ürün olan buğdayın gelecek yıllarda da önemini sürdüreceği görülmektedir [6,7]. Buğday çok farklı şekillerde tüketilmektedir [8]. Buğday; ekmek, bulgur, makarna, irmik, bisküvi, nişasta ve diğer buğdaya dayalı unlu mamüller olarak tüketilmektedir. Buğday tüketimimiz 18-18,5 milyon ton seviyelerindedir [9].

Buğday Poaceae familyasından *Triticum* cinsine ait tek yıllık bir bitkidir. Poaceae familyasının çoğu yenilebilir olup, insan besin kalorisinin yaklaşık yarısını ve ihtiyacımız olan besleyici maddelerin büyük bir kısmını bizlere sağlar. Buğday kromozom sayısına göre diploid ($2n=14$), tetraploid ($2n= 28$) ve hekzaploid ($2n= 42$) olmak üzere üç gruba ayrılır. Tetraploid olan makarnalık buğday (*Triticum durum L.*) ve hekzaploid olan ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) özel kültürel ve ekonomik bir öneme sahiptir [10,11,12]. Buğday tarımı yapılan ilk tahıllardandır, yaklaşık 10000 yıldan daha fazla zamandır tarımı yapılmaktadır [13,14].

İnsan beslenmesinde bu denli önemli olan, uzun yıllardır tarımı yapılan ve farklı ploidi seviyeleriyle dikkat çeken buğday birçok araştırmaya konu olmuştur. Buğday örneklerinin genetik ilişkisinin belirlenmesi, ıslah programlarında çaprazlamaların yönlendirilmesi elde bulunan germplazmin ölçülüp değerlendirilmesi uygun aralıkta genetik çeşitliliğin sürdürülmesi için yararlıdır. Son yıllarda moleküler çalışmalar daha da önem kazanmış ve bitki araştırmacıları moleküler belirteçleri sıklıkla ve etkin olarak

kullanmaya başlamışlardır. Çeşitlilik araştırmaları ve çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla daha güvenilir sonuçlar veren moleküler markırlar geliştirilmiştir.

Moleküler belirteçler ıslah süresini kısaltarak maliyeti düşürmekte, gen klonlanması ve etiketlenmesi, genetik harita hazırlanması ve genetik parmak izi analizlerinde kullanılmaktadır. Moleküler belirteçlerden DNA markırları ise genomun her yerini temsil edebilmesi ve çok sayıda üretilebilmesi gibi avantajlardan dolayı tercih edilmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, basit tekrarlı diziler arası polimorfizm (ISSR) markırı, Türkiye'den bazı yerel buğday çeşitleri (*Triticum aestivum*), Azerbaycan orijinli bazı buğday örnekleri ve bazı yabancı buğday türleri arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesi amacıyla uygulanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Buğday

1.1.1. Buğday Hakkında Genel Bilgi

Buğday tahıl üretiminde, mısırdan sonra gelmekte ve insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Tükettiğimiz kalorinin % 20'lik kısmını oluşturan buğday dünya nüfusunun % 40'ının temel besin maddesini oluşturmaktadır. Aynı zamanda diğer pek çok bitkiden daha fazla alanda ve geniş bir çiftçi kitlesi tarafından yetiştirilmektedir [5,6,9].

Kromozom sayısına göre buğdaylar diploid ($2n=14$), tetraploid ($2n=28$) ve hekzaploid ($2n=42$) olmak üzere üç gruba ayrılır. Hekzaploid buğdaylardan *Triticum aestivum* ekmek yapımında ve tetraploid buğdaylardan da *Triticum durum* makarna yapımında kullanılmaktadır. Buğday besin olarak önemli bir yer tutmakla birlikte büyük bir endüstriyel ham madde kaynağını da oluşturmaktadır. İnsan beslenmesi için gerekli olan kalori ve proteinin kayda değer bir kısmını karşılayan buğday, dünya nüfusunun % 35'ini oluşturan yaklaşık 40 ülkenin temel gıda maddesidir. Değişen tüketim alışkanlıkları ve ilerleyen teknoloji ile birlikte, buğday ürünleri çeşitlenmiş ve tüketici istekleri de değişmiştir. Buğday ekmek, bulgur, makarna, bisküvi, irmik ve diğer buğdaya dayalı mamüller olarak tüketilmektedir [4,9,11,15]

1.1.2. Buğdayın Orijini ve Tarihçesi

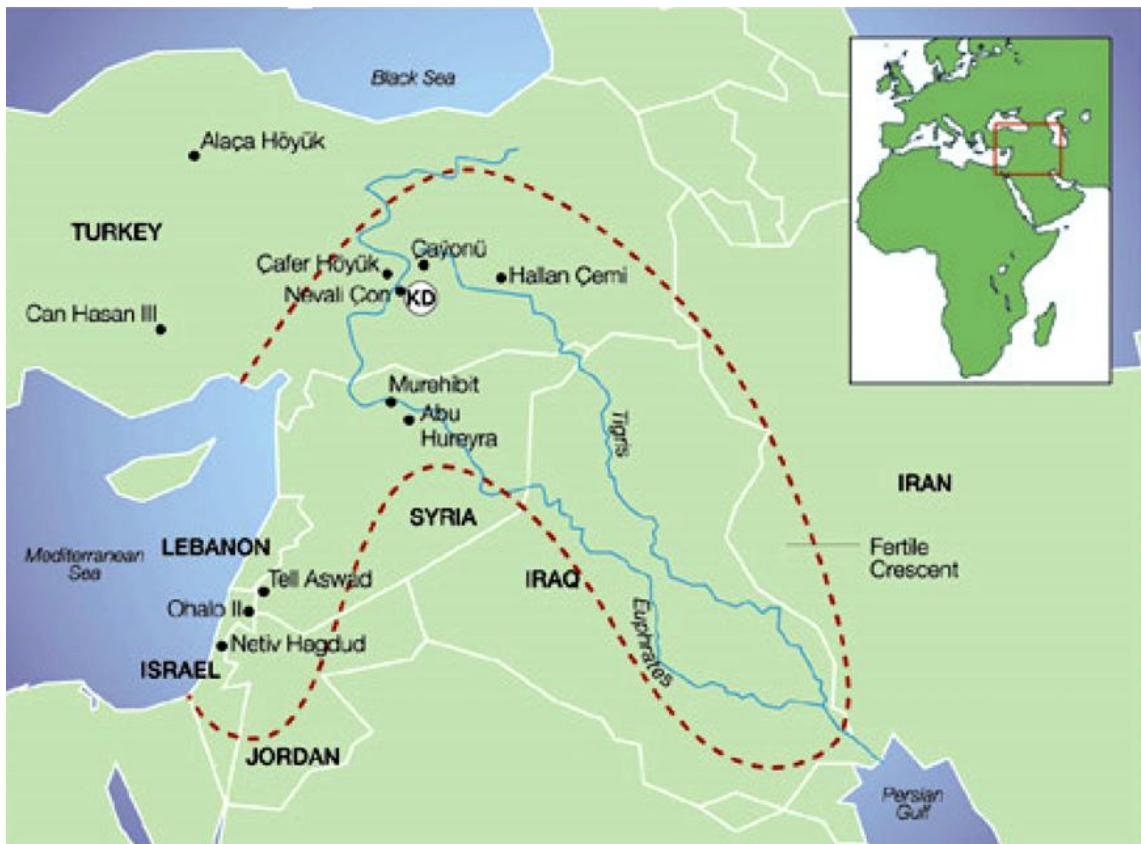
Buğdayın kültüre alınması yaklaşık 10000 yıl önceye dayanmaktadır. Neolitik çağda avcı-toplayıcı ve göçebe bir hayattan buğdayın kültüre alınmasıyla yerleşik tarım hayatına geçiş insan medeniyetini değiştirmiş ve geliştirmiştir [14,15,16]. 10000 yıl önce insan eliyle olan bu kültüre alma buğdayın türleşme sürecinde, doğal seleksiyonunda ve adaptasyonundaki değişimin en önemli göstergelerinden biridir (Şekil 1.1.). Arkeolojik ve botanik kanıtlardan einkorn (*Triticum monococcum*) ve

emmer buğdayının (*Triticum dicoccum*) kültüre alınmasının yakın doğuda Verimli Hilal bölgesinde (Şekil 1.2.) olduğu anlaşılmaktadır. Kültüre almanın en eski işaretleri yaklaşık 10000-12000 yıl önce bağımsız bir şekilde farklı bitkilerde yakın doğunun verimli hilal bölgesinde, Orta Amerika'da ve Güney Çin'de görülmüştür. Son genetik kanıtlar tarım tahılının beşiği olarak Kuzey Suriye'yi ve Dicle-Fırat nehirlerinin ulaştığı bugünkü Türkiye'nin güneydoğusunu kapsayan verimli hilal bölgesini küçük bir çekirdek alan olarak göstermiştir. Modern uygarlığın kökenlenmesinde itici bir güç olarak tarımın ve buğdayın kültüre alınmasının nerede ve ne zaman olduğunun açıklığa kavuşması için daha fazla kanıtı ihtiyaç vardır[17,18].



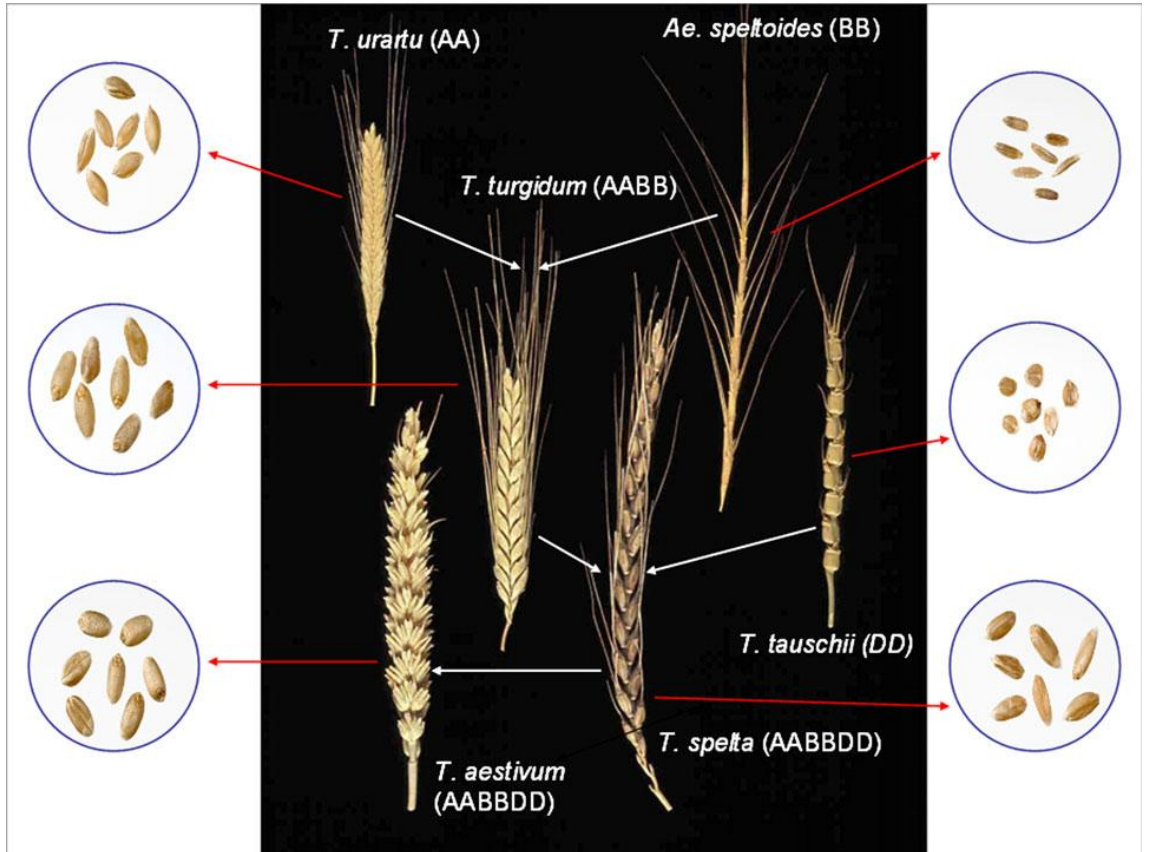
Şekil 1.1. Buğdayın kültüre alınması sonucu tane boyutu, şekli ve fenotipik değişimi (Üstteki örnekler modern, alttaki örnekler ise atasal buğdayları temsil etmektedir) [15]

Yapılan çalışmalarda emmer buğdaylarının kültüre alınması ya Türkiye'nin güneydoğusundaki Diyarbakır'ın Karacadağ bölgesinde ya da İran'ın Süleymaniye bölgesinde olduğu düşünülmüş olsa da sonradan aslında Süleymaniye'nin muhtemel bir aday olmadığı ve tam olarak Karacadağ bölgesi olduğu gösterilmiştir. Luo ve diğerleri (2006) Güney Levant'daki (Lübnan, güneybatı Suriye ve İsrail) yabancı emmer buğdaylarından kültüre alınan buğdayların (*T. turgidum ssp. dicoccon*) gen havuzuna gen akışıyla gen havuzunun zenginleştirildiğini belirtmiştir. Ayrıca Türkiye'den yayılan kültüre alınmış emmer buğdaylarının gen havuzuna bu gen havuzunun katılmasıyla ya da Güney Levant'daki yabancı emmer buğdayları ile kültüre alınanlar arasındaki kontrolsüz melezme ile gen havuzu zenginleştirilmiştir. Kültüre alınmış emmer buğdaylarının güney ve kuzey olarak iki temel popülasyona ayrılmasındaki olası temel faktör Güney Levant'daki yabancı emmer buğdaylarından kültür emmer buğdaylarına gen akışıdır. [19].



Şekil 1.2. Verimli hilal ve temel arkeolojik bölgeler (KD: Türkiye'deki Karacadağ Dağları) [4]

Kültüre alma ve modern bitki ıslahı ekmeklik buğdayın genetik temelini muhtemelen daraltmıştır. Ekmeklik buğday için iki hibridizasyon olmuştur. A genomu vericisi yabani tür olan *Triticum urartu*, B genomunun vericisi *Aegilops speltoides*' in birleşerek oluşturduğu tetraploid *Triticum turgidum subsp. dicoccoides* birinci hibridizasyondur. İkinci hibridizasyon tetraploid buğday ile D genomu vericisi yabani diploid tür olan *T. tauschii* arasındadır. Son hibridizasyon ekmeklik heksaploid buğdayı *Triticum aestivum* oluşturmuştur [20,21,22,23,24,25,26] (Şekil 1.3.). Diploid buğdaylar yedi kromozom çifti içeren sembolü AA olan bir genom ($2n=14$), tetraploid buğdaylar yedi kromozom çifti içeren AA ve BB ile gösterilen iki genom ($2n=4X=28$) ve heksaploid buğdaylar yedi kromozom çifti içeren AA, BB ve DD ile gösterilen üç genom ($2n=6X=42$) taşırlar. Buğdayın genom büyüklüğü 16,974 Mb/1C olmakla birlikte % 80 'inden daha fazlası tekrar eden DNA'lardan oluşmuştur [5].



Şekil 1.3. Tane ve başak örnekleriyle gösterilen diploid tetraploid ve heksaploid buğdaylar arasındaki evrimsel ve genom ilişkisi [16].

1.1.3. Buğdayın Taksonomisi

Üst Alem: Eukaryota

Alem: Plantae (Bitkiler)

Üst Şube: Angiosperms (Kapalı Tohumlular)

Şube: Monokots (Monokotiller)

Sınıf: Commelinids

Takım: Poales

Familya: Poaceae

Alt Familya: Pooideae

Cins: *Triticum* L.

Tür: *Triticum durum* Desf.

Triticum turgidum L.

Triticum aestivum L.

Triticum spelta L.

Triticum baеoticum Boiss.

Triticum monococcum L. [14, 23]

1.1.4. Buğdayın Dünya ve Türkiye'deki Önemi ve Üretimi

Dünya nüfusunun % 40' inin besin ürünü olan buğday tükettiğimiz kalorinin % 20' sini oluşturur ve diğer tahıllardan çok daha fazla alanda yetiştirilebilir [5]. Dünyanın ve Türkiye'nin neredeyse her bölümünde üretimi yapılabilen buğdayın, ilgilendirdiği üretici ve tüketici kitlesinin genişliğinden dolayı oldukça önemli bir konumu vardır [14] Dünya ve Türkiye'deki tahıl üretim miktarları Tablo 1.1. ve Tablo 1.2.' de gösterilmiştir.

Bitkisel gen kaynakları yönünden ülkemizin dünya üzerinde ayrı bir yeri vardır. Türkiye'nin jeomorfolojik yapısı ve çok değişik ekolojik koşullara sahip oluşu ülkemize

bitkisel gen kaynakları yönünden büyük bir zenginlik sağlamıştır. Çünkü Türkiye; Avrupa-Akdeniz-İran fitojeografik bölgelerin birleştiği yerdedir, Güneybatı Asya ile Avrupa arasındaki yol üzerinde bulunmakta, çok sayıda cins ve tür için gen merkezi veya genetik farklılaşma alanıdır, endemik türler yönünden oldukça zengindir, birçok kültür bitkisinin (buğday, çavdar, korunga, yonca nohut gibi) anavatanıdır [27].

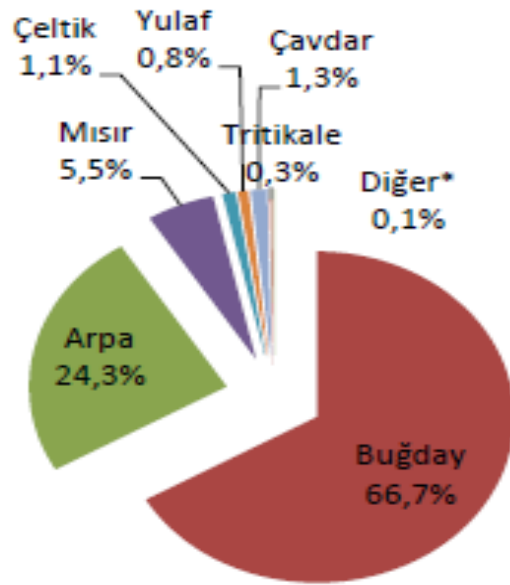
Tablo 1.1.Dünya tahıl üretim miktarları (bin ton) (USDA PSD TABLOLARI, 2013)

ÜRÜN	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Buğday	683.659	686.743	652.285	697.155	655.270	705.378
Arpa	155.073	150.852	122.607	134.290	129.320	140.096
Mısır	800.640	824.168	831.679	883.281	858.778	957.146
Yulaf	25.666	23.419	19.750	22.480	21.010	22.493
Çavdar	17.298	17.523	11.410	12.185	14.164	15.637
Diğer¹	562.411	540.253	562.808	568.129	574.153	588.180
Dünya toplam	2.244.747	2.242.958	2.200.539	2.317.520	2.252.695	2.428.930

¹ Diğer; Darı, Karma Hububat, Değirmenlenmiş Pirinç, Sorgum [28].

Dünyada 2013-2014 yılları arasında 219,3 milyon hektar alana buğday ekimi yapılmış ve Türkiye’de ise % 4’lük bir payla 7,7 milyon hektar alana buğday ekimi yapılmıştır. Dünyada 709 milyon ton buğday üretimi olurken Türkiye % 3’lük payla 22,1 milyon ton buğday üretimi yapmıştır [9].

Ülkemizde 11,3 milyon ha’lık alanda tahıl üretimi gerçekleştirilmektedir. Bu alanın % 67’sinde buğday üretimi gerçekleştirilirken, % 24’ünde arpa, % 6’sında mısır üretimi yapılmaktadır. Bu ürünleri sırasıyla çavdar (% 1,3), çeltik (% 1,1), yulaf (% 0,8) ve tritikale (% 0,3) üretimi takip etmektedir (Şekil 1.4.) [28].



*Diğer; Kaplıca, Kuşyemi, Darı, Sorgum, Mahlut.

Şekil 1.4. Türkiye tahıl alanları (%), 2013 [28]

Tablo 1.2. Tahılların 2015 Türkiye Üretim Miktarları (TÜİK, Bitkisel Üretim Veri Tabanı, 2015) [29]

Ürün Adı	Türkiye Üretim Miktarı (ton)
Buğday	22.600.000
Arpa	8.000.000
Mısır	6.400.000
Çeltik	920.000
Çavdar	330.000
Yulaf	250.000

1.2. Moleküler Sistemik

Uzun yıllar boyunca araştırmacılar dünyadaki biyolojik çeşitliliği anlamak ve değerlendirmek için büyük bir çaba göstermişlerdir. Linneaus ile birlikte hiyerarşik tabanlı sistemik kullanılırken sonraları araştırmacılar filogenetik akrabalıkların önemini ön plana çıkarmış ve DNA'nın keşfiyle birlikte moleküler sistemik yöntemi kullanılmaya başlanmıştır [14].

1.2.1. Moleküler Sistematikte Kullanılan Markırlar

1.2.1.1. Morfolojik Markırlar

Bitki popülasyonu içinde, bir bitki ya da bir grubu diğerlerinden ayıran seçici özellik, o genotipi ayıran bir markır olarak değerlendirilir. Meyve kabuğu, yaprağın şekli, çiçeğin rengi, vs. bu grup markırları oluşturur. Bu tip markırlar, genetik olarak uzak akraba olarak kabul edilen bitki toplulukları arasında etkili olarak kullanılabilmesine karşın, yakın akraba olan bitki toplulukları için etkili bir markır değildir. Bununla birlikte, farklı ekolojilerde markırların üretilebilirliği en önemli koşuldur. Ancak, bu her zaman mümkün olmamaktadır. Örneğin hıyarda, (*Cucumis sativus* L.) bazı karakterlerin oluşumu çevreye bağlı olarak değişmektedir. Bitkilerin gelişme safhası da bu tip markırların tekrarlanabilirliğini etkileyebilmektedir. Bu dezavantajlar nedeniyle fenotipe dayalı olarak oluşturulan taksonomiler yanlış sınıflandırmaya neden olabilir. Yine de önemli tarımsal karakterlere bağlı morfolojik markırlar ıslah çalışmalarında kullanım alanı bulmuştur [30].

1.2.1.2. Biyokimyasal Markırlar

Tohum kabuğu proteinleri, yapraklarda bulunan kimyasallar, sekonder metabolitler, izoenzimler, vs. bu gruba girerler. Ancak en yaygın kullanılan bileşenler izoenzimler ve tohum proteinleridir. Bu markırların maliyeti, moleküler markırlara oranla daha düşüktür ve daha az iş gücüyle elde edilirler. Fakat bitki türlerinde bugüne kadar yeterince biyokimyasal markır üretilmemiştir. Bu markırlardaki varyasyonlar, kodlayıcı DNA bölgelerindeki benzer olmayan değişikliklerden ya da translasyon sonrası (post-translational) protein modifikasyonlarından kaynaklanmaktadır. Ancak bu markırların kullanılabilirliği, çalışılan popülasyonların yapısına bağlıdır. Örneğin izoenzimler, türler arası veya nispeten uzak bitkiler arasındaki varyasyonları çalışmada oldukça yararlı olmasına rağmen, yakın akrabalar arasındaki ilişkileri tespit için uygun değildir. Bu markırların bir diğer dezavantajı, sayısal olarak çalışılacak izoenzimlerin veya proteinlerin azlığıdır. Test edilen izoenzimlerin bitkilerde, bolca ve sürekli biçimde sentezlenmesi de gerekmektedir. İzoenzimler, bir tek enzimin alternatif formlarıdır ve elektrik ortamında farklı hız ve yönlerde hareket ederler. Kaba enzim ekstraktları jel ortamında nişastadan yapılan jeller üzerinde ayrıldıktan sonra biyokimyasal olarak

tespit edilir. Tohum proteinleri, oldukça polimorfik ve tekrarlanabilir markırlar oluşturmaktadır. Protein polimorfizmi DNA düzeyindeki baz değişiklikleri, kromozomlardan bir bölümünün kaybı veya yer değiştirmesinden kaynaklanabilir. Bu tip markırların en önemli dezavantajı, çalışılabilecek lokus sayısının azlığıdır. Bir diğer dezavantajı ise, enzimlerdeki translasyon sonrası görülen yapısal değişikliklerdir [30].

1.2.1.3. Moleküler Markırlar

Son yıllarda sistematik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan moleküler markırlar çeşitli avantajlara sahiptir; çevre faktörlerinden etkilenmezler, çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışılabilir. Genetik değişiklikleri daha fazla yansıttıkları için daha az pleiotrofikdir (bir genin birden fazla karakteri kontrol etmesi). Her bir ebeveynden gelen farklı karakterler tespit edilebildiği için bitkilerin genetik orijini tespit edilebilir. Sonsuz sayıda moleküler markır elde edilebilir. DNA markırlarında amaç, bireyler (çeşit, hat, tür vb.) arasındaki DNA seviyesindeki farklılığın ortaya çıkarılmasıdır [30]. Moleküler markır, genom içinde bir DNA parçasının farklılıklarını temsil eder ve bu farklılıklar eklenmeler, silinmeler, yer değiştirmeler, duplikasyonlar gibi olaylardan meydana gelebilir. DNA temelli moleküler markırlar taksonomi, fizyoloji, embriyoloji, genetik mühendisliği vb. alanlarda kullanılan çok yönlü araçlardır [31]. Moleküler markırlar tahıl ıslahında, filogenetik çalışmalarda, karşılaştırmalı genomikte, gen haritalanmasında ve kantitatif özellik lokusu (QTLs) çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [32]. Bununla birlikte genetik çeşitliliğin tahmininde kullanılan faydalı bir araçtır ve önceki soyağacı bilgilerine ihtiyacı yoktur [33]. Her moleküler markır yöntemi avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Markır seçimi bütün bu kriterler göz önünde bulundurularak amaca uygun olarak yapılır [30].

1.2.1.3.1. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) hibridizasyon temelli kullanılan en yaygın moleküler markır tekniğidir [32]. Moleküler markırlar arasında ilk geliştirilen RFLP'dir [34]. DNA polimorfizminin tespitinde, restriksiyon (endonükleaz) enzimleriyle kesilen DNA parçaları jel elektoroforezinde yürütüldükten sonra nitroselüloz membran üzerine transfer edilir, kimyasal etiketli problarla hibridize edilir

ve farklı DNA parçaları ortaya çıkarılmış olur. Bu farklı DNA profilleri eklenme, silinme, nükleotid değişimi veya tek nükleotid polimorfizmi (SNP) gibi nedenlerden oluşabilmektedir. RFLP markırları yüksek polimorfizme sahip, kodominant ve tekrarlanabilirliği yüksektir. DNA blotları farklı problemlerle tekrar analiz edilebilme imkânına sahiptir ve problemler genelde türe özeldir. RFLP analizlerinde sınırlayıcı faktörler, fazla miktarda ve kaliteli DNA ihtiyacı, problemlerin pahalı ve toksik olması, fazla zaman ihtiyacı ve yoğun iş gücü gerektirmesidir. RFLP, popülasyon ve tür içi genetik çeşitlilik ve filogenetik çalışmalarında, gen haritalamalarda, yakın akraba taksonlarının ilişkilerinin incelenmesi ve gen akışı tespitlerinde kullanılmaktadır [31].

1.2.1.3.2. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), PZR tekniği kullanarak sentetik primerlerin yardımıyla (genelde 10 baz uzunluğunda) yapılan tesadüfi DNA parçası çoğaltımına dayanan bir metottur. Kullanılan primerler hem ön hem de ters primer görevi görür ve çoğaltılan parçacıkların büyüklüğü genelde 0.5–5 kilobaz arasında değişmektedir. Polimorfizm, primerlerin bağlanma bölgelerinin çeşitliliği ve buna bağlı olarak oluşan farklı uzunluktaki DNA parçacıklarından kaynaklanmaktadır. RAPD markır sisteminin avantajları arasında düşük miktarda DNA ihtiyacı, zaman tüketiminin az olması, primer tasarımının kolay olması, RAPD markırlarının genomik dağılımının bol ve bütün genoma dağılmış olması sayılabilir. Buna karşın RAPD markır sisteminin dezavantajı ise tekrarlanabilirliğinin az olması ve bilgilendirme gücünün düşük olmasıdır [31].

1.2.1.3.3. AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm)

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RFLP tekniğinin etkinliği ile PZR temelli teknikleri birleştiren bir yöntemdir ve restriksiyon enzimleriyle parçalanmış ve 80–500 baz çifti büyüklüğünde elde edilen DNA parçacıkları adaptörlerle ligasyona maruz bırakılıp en son basamakta PZR ile seçici çoğaltım uygulanır. İlk olarak restriksiyon enzimleriyle kesilen DNA'ların uçlarına adaptör denilen sentetik DNA dizileri bağlanır. Ligasyon ürünleri seçici nükleotid eklenmiş primerler kullanılarak çoğaltılır ve seçici nükleotid sayısı bir-üç arasında değişmektedir. İlk seçici çoğaltım, adaptöre komplementer bir seçici nükleotid ekli primerler, son seçici çoğaltımda ise üç

seçici nükleotit ekli primerler kullanılarak çoğaltım gerçekleştirilir ve oluşan AFLP parçacıkları poliakrilamid jelde gözlenir. Yöntemde tek reaksiyonla 50–100 parçacık oluşur ve dolayısıyla polimorfizm oranı oldukça yüksektir. Yüksek orandaki tekrarlanabilir özelliği ve polimorfik bant sayısı, DNA kaynağından bağımsız olarak genomun tamamındaki polimorfizmlerin belirlenmesinde hızlı bir yöntem olması, ön dizi bilgisi gerektirmemesi, tür içi ve türler arası akrabalıkların belirlenmesinde kültürvarlar arası varyasyon veya akrabalık derecelerinin değerlendirilmesinde etkindir [31]. Bununla birlikte AFLP markırlarının tekrarlanabilir sonuçlar üretebilmesi DNA'nın saflığına ve kalitesine bağlıdır [35].

1.2.1.3.4. Minisatellit

VNTR (Variable Number Tandem Repeats - Değişken Sayılı Ardışık Tekrarlar) markırları, farklı uzunlukta tekrar dizilerini içeren mikrosatellit ve minisatellit markırları içermektedir. Minisatellitler genomda 4–20 kb. büyüklüğü arasında değişen ve çoklu lokus problemleriyle hibridize olan markırlardır. Tekrar ünitelerinin sayılarındaki varyasyon nedenleri arasında eşit olmayan crossing-over veya gen dönüşleri (gene conversion) görünmektedir. Minisatellit bölgelerindeki yüksek mutasyon oranları polimorfizm oranlarını artırmakta ve popülasyonlardaki bireylerin çoklu lokus profillerini farklılaştırmaktadır. Minisatellitlerin temel avantajları yüksek polimorfizm ve tekrarlanabilirliktir. Benzer büyüklükte elde edilen DNA parçacıkları homolog olmama ihtimali ve band profillerinin lokuslar veya alleller açısından yorumlanamaması dezavantajları arasında sayılabilir [31].

1.2.1.3.5. Mikrosatellit

Basit dizi tekrarları (SSR-Simple Sequence Repeats) olarak da bilinen mikrosatellitler, DNA dizilerinde tekrar edilen en küçük birimleridir. Mikrosatellitleri çevreleyen bölgelerin dizileri (flanking region) biliniyorsa o bölgelere uygun primerler tasarlanarak (genelde 20–25 bç. uzunluğunda) PZR ile çoğaltımı yapılabilmektedir. Primer olarak kullanılan mikrosatellit tekrarları di-nükleotid, tri-nükleotid, tetra-nükleotid veya penta-nükleotid olabilmektedir [36]. Mikrosatellit markırlar, az DNA gerektirmesi, kodominant ve kararlı markır sistem olması, genomda bol ve dağınık bulunması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, yüksek polimorfizm barındırması,

bilgilendirici bir markır sistemi oluşundan dolayı popülasyon genetiği ve gen haritalama çalışmalarında etkin olarak kullanılabilir. Bu markır sisteminin dezavantajı ise mikrosatellit bölgelerinin mutasyon oranlarının yüksek olması primer bağlanma bölgelerinde değişmeye neden olmakta ve böylece anlamsız allellerin oluşmasına imkân sağlamaktadır [31].

1.2.1.3.6. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

DNA tabanlı markırlardan biri olan ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) tekniğinde, ikili, üçlü, dördü ve beşli tekrarlanan nükleotitlere sahip primerler kullanılmakta, bu primerlerle iki mikrosatellit arası bölge çoğaltılabilmekte ve elde edilen PZR ürünleri agaroz jelde yürütülerek etidyum bromür ile boyandıktan sonra belirlenebilmektedir. Çoğaltılmış ürünler genelde 200–2000 bp. arası uzunluktadır. ISSR, dominant markırdır ve dizi bilgisi gerekmeden primer dizaynı yapılabilmesi avantajlarından biridir. Yüksek polimorfizm ve üretkenlik göstermesi ISSR analizlerini genetik benzerlik, gen haritalama, gen etiketleme, filogeni ve taksonomi çalışmalarında uygulanabilir kılmaktadır [31,37,38,39].

1.2.1.3.7. SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi)

Popülasyonlardaki bireylerin genom dizilerinde meydana gelen tek nükleotid değişimleri olarak bilinen SNP (Single Nucleotide Polymorphism), bitkilerinde dahil olduğu pek çok canlı türünde ortaya çıkan bir varyasyondur. SNP oluşmasında eklenme ve silinme (InDel) nükleotid dizisi değişimine neden olan temel nedenlerdendir; gen haritalamada, markırlar yardımıyla ıslah ve harita temelli klonlama çalışmalarında etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca filogenetik analizlerde ve genotip-fenotip ilişkisi çalışmalarında da kullanılmaktadır [31,39].

1.2.1.3.8 Organel Mikrosatellitleri

Bitki organel genomları (kloroplast DNA-mitokondriyal DNA) popülasyon genetiği çalışmaları ve filogenetik akrabalık ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Organel genom kalıtımı pek çok bitkide anneye bağlı olarak gerçekleşmekte, kloroplast ve mitokondri allelleri çekirdek allellerine göre farklı bir genetik yapı sergilemektedir. Çekirdek mikrosatellitleri yanında, bitki popülasyon

genetiği, filogenetik ve evrimsel genetik çalışmalarında kullanılmak amacıyla kloroplast mikrosatellit (cpSSR) ve mitokondri mikrosatellit (mtSSR) temelli markırlar geliştirilmiştir. Kloroplast mikrosatellitler, üreme sistemleri çalışmaları, polen ve tohum yoluyla gen akış oranlarının tespiti ve türler arası hibridizasyon çalışmalarında, genetik çeşitlilik çalışmalarında, filocoğrafik çalışmalarda etkili olarak kullanılmaktadırlar. Bitkilerdeki mtDNA hayvan hücrelerindeki mtDNA'ya göre daha karmaşık ve büyüktür. Bunun yanında, dairesel kromozom şeklindeki mtDNA moleküler bir heterojenlik göstermekte ve yüksek orandaki reorganizasyon yeteneğinden dolayı bitki filogenetik çalışmalarında çok tercih edilmemektedir. Özellikle açık tohumlu bitkilerde popülasyon farklılaşmalarının araştırılmasında heterojen özelliklerinden dolayı sıkça kullanılmaktadır [31].

1.2.1.3.9. CAPS (Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler)

PZR-RFLP olarak da bilinen CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), uygun primerler kullanılarak PZR ile çoğaltılmış DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleriyle (endonükleaz) parçalanmasına dayanan ve sonucunda DNA parçacık uzunluk polimorfizminin elde edildiği bir tekniktir. DNA üzerinde meydana gelen SNP gibi tek nükleotid değişimleri ve eklenme-silinmeler (InDel) endonükleazların tanıma bölgelerini değiştirerek farklı uzunlukta DNA parçalarının oluşmasına neden olmaktadır. CAPS markırları kodominant, lokus spesifiktir ve homozigot-heterozigot allel ayrımını rahatlıkla yapabilmektedir. CAPS metodunun avantajları arasında çok düşük miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması, kodominant allel ayrımını yapabilmesi, basit ve ucuz olması sayılabilir. Mutasyonlara bağlı olarak meydana gelen DNA dizi değişimleri endonükleazların tanıma bölgelerini etkileyerek sınırlayıcı etki oluşturabilmekte ve bundan dolayı SSR ve AFLP gibi yüksek polimorfizm elde edilmesini engellemektedir [31].

1.2.1.3.10. SRAP (Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm)

SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism), açık okuma bölgelerini (ORF) hedef alan PZR temelli bir markır sistemidir ve ön primerler 17 nükleotitten, ters primerler 18 nükleotitten meydana gelmiştir. Bu primer çeşitlerinde 5' ucunda 14 nükleotitten meydana gelen çekirdek dizinin (core sequence) spesifik olmayan 10–11

bazlık kısmına doldurma diziler (filler sequence), bu diziyi takiben ön primerler için CCGG dizisi, ters primerler için AATT dizisi gelmektedir. Çekirdek diziyi takiben çeşitlenmeyi sağlayan 3' ucunda üç seçici nükleotidden meydana gelen dizilerin bulunduğu primerler tasarlanmıştır. Ön ve ters primerlerin doldurma dizilerinde en azından 10–11 nükleotid çeşidi birbirinden farklıdır. CCGG açısından zengin olan ön primerler genelde ekzonları, AATT bakımından zengin olan ters primerler genelde intron ve promotorları hedef almaktadır. SRAP tekniği, basit, ucuz, polimorfizm oranı yüksek, gen etiketleme ve cDNA parmak izi çalışmalarına uygun, seçilen bantların dizilenmesi açısından kolaylıklar barındırmaktadır [31].

1.2.1.3.11. EST (İfade Edilmiş Dizi Etiketleri)

Kodlama yapan genom bölgeleri mesajcı RNA'ya transkripte olarak protein sentezi için kalıplık görevi görmektedir ve günümüzde ters transkriptaz enzimi kullanarak RNA'dan komplementer DNA (cDNA) elde edilmektedir. cDNA RNA'dan üretilen kararlı bir yapı olup, yapısındaki intronlar kırılarak (splicing) ekzonlardan oluşmuş, anlatımı yapılan bir genin dizilenmesi ile 5' EST veya 3' EST (Expressed Sequence Tag) olarak ifade edilirler. EST dizileri, gen transkriptlerinin belirlenmesi, gen keşifleri, gen anlatımı ve düzenlenmesiyle ilgili bilgi edinilmesinde, dizi belirlenmesinde ve EST temelli RFLP, SSR, SNP, CAPS gibi önemli moleküler markır sistemlerinin geliştirilmesinde bir araç olarak kullanılmaktadır [31].

1.2.1.3.12. TRAP (Hedef Bölge Çoğaltım Polimorfizmi)

TRAP (Target Region Amplification Polymorphism) tekniği, PZR temelli hedefteki aday gen bölgeleri için polimorfik markır üretmek amacıyla biyoinformatik araçların ve EST veri bankalarının kullanılarak gerçekleştirilen hızlı ve etkili bir yöntemdir. Markır üretmek için iki çeşit 18 nükleotid uzunluğunda primerler kullanılır. Primerlerden biri, veri bankasındaki EST dizilerine göre tasarlanmış sabit primerdir, diğer primer ise AT veya GC bakımından zengin çekirdek bölge taşıyan ekzon veya intronları hedef alan primerdir. TRAP tekniği, spesifik gen dizilerine yönelik genetik markır üretiminde, germplazm genotip karakterizasyonlarında ve markır yardımıyla ıslah çalışmalarında agronomik açıdan önemli karakterlerle ilgili genetik markırların üretilmesinde kullanılmaktadır [31].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada T.C. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen yerel buğday çeşitleri ve Azerbaycan Ulusal Genetik Enstitüsü'nden temin edilen buğday genotipleri kullanılmıştır (Tablo 2.1. , Tablo 2.2. ve Tablo 2.3.).

2.1.1.1. Yerel Çeşitler

Tablo 2.1. Yerel ekmeçlik buğday çeşitleri (*Triticum aestivum*)

Buğday no	Gen bankası numarası	Toplandığı yer
1	TR 55316	Adana
2	TR 45080	Adapazarı
3	TR 46822	Adıyaman
4	TR 50464	Adıyaman
5	TR 50465	Adıyaman
6	TR 49012	Adıyaman
7	TR 49029	Adıyaman
8	TR 49034	Adıyaman
9	TR 49040	Adıyaman
10	TR 38888	Adıyaman
11	TR 56099	Afyon
12	TR 32743	Ağrı
13	TR 45094	Ankara
14	TR 55110	Antalya
15	TR 63329	Ardahan
16	TR 45105	Artvin
17	TR 52753	Aydın

Tablo 2.1. Devam

Buğday no	Gen bankası numarası	Toplandığı yer
18	TR 52645	Balıkesir
19	TR 26746	Bilecik
20	TR 52824	Burdur
21	TR 52669	Bursa
22	TR 63281	Çanakkale
23	TR 47944	Çankırı
24	TR 37383	Çorum
25	TR 52859	Denizli
26	TR 52860	Denizli
27	TR 52865	Denizli
28	TR 50443	Diyarbakır
29	TR 51937	Edirne
30	TR 33264	Edirne
31	TR 48050	Erzincan
32	TR 32640	Erzurum
33	TR 32650	Erzurum
34	TR 32668	Erzurum
35	TR 32670	Erzurum
36	TR 32846	Erzurum
37	TR 45370	Erzurum
38	TR 32798	Erzurum
39	TR 55150	Eskişehir
40	TR 55156	Eskişehir
41	TR 55164	Eskişehir
42	TR 55180	Eskişehir
43	TR 57999	Eskişehir
44	TR 50423	Gaziantep
45	TR 14857	Gümüşhane
46	TR 44487	Gümüşhane
47	TR 14861	Gümüşhane
48	TR 46873	Gümüşhane
49	TR 45422	Hakkâri
50	TR 47980	Hakkâri
51	TR 47981	Hakkâri
52	TR 47982	Hakkâri
53	TR 47983	Hakkâri
54	TR 47988	Hakkâri
55	TR 32231	Hakkâri
56	TR 46846	Hakkâri
57	TR 46804	Hatay
58	TR 62808	Isparta
59	TR 26233	İçel

Tablo 2.1. Devam

Buğday no	Gen bankası numarası	Toplandığı yer
60	TR 38913	İstanbul
61	TR 63371	İzmir
62	TR 37492	K.maraş
63	TR 32009	K.maraş
64	393	K.maraş
65	397	K.maraş
66	394	K.maraş
67	398	K.maraş
68	399	K.maraş
69	TR 63538	Karaman
70	TR 32761	Kars
71	TR 32881	Kars
72	TR 39667	Kars
73	TR 46784	Kars
74	TR 46850	Kars
75	TR 46851	Kars
76	TR 48025	Kars
77	TR 37234	Kastamonu
78	TR 32125	Kastamonu
79	TR 32034	Kayseri
80	TR 33500	Kırklareli
81	TR 38316	Kırklareli
82	TR 51937	Kocaeli
83	TR 35409	Konya
84	TR 52021	Konya
85	TR 35408	Konya
86	TR 63316	Konya
87	TR 55211	Kütahya
88	TR 55127	Kütahya
89	TR 55128	Kütahya
90	TR 55129	Kütahya
91	TR 55138	Kütahya
92	TR 55143	Kütahya
93	TR 55144	Kütahya
94	TR 55167	Kütahya
95	TR 31894	Malatya
96	TR 32014	Malatya
97	TR 52873	Manisa
98	TR 31678	Mardin
99	TR 52784	Muğla
100	TR 47961	Muş
101	TR 63536	Nevşehir

Tablo 2.1. Devam

Buğday no	Gen bankası numarası	Toplandığı yer
102	TR 63731	Niğde
103	TR 45104	Rize
104	TR 44365	Sakarya
105	TR 32218	Siirt
106	TR 48058	Sivas
107	TR 53288	Sivas
108	TR 53304	Sivas
109	TR 53312	Sivas
110	TR 53313	Sivas
111	TR 53327	Sivas
112	TR 53355	Sivas
113	TR 46889	Sivas
114	TR 50452	Şanlıurfa
115	TR 32218	Şırnak
116	TR 48373	Tokat
117	TR 54989	Tokat
118	TR 44433	Tokat
119	TR 44388	Tokat
120	TR 54988	Tokat
121	TR 63322	Tunceli
122	TR 3664	Uşak
123	TR 48313	Van
124	TR 48314	Van
125	TR 48318	Van
126	TR 46776	Van
127	TR 32695	Van
128	TR 32273	Van
129	TR 39676	Van
130	TR 45306	Yozgat
131	TR 45308	Yozgat
132	TR 53862	Yozgat
133	TR 45303	Yozgat

2.1.1.2. Çeşitli ülkelerden kültür ve yabancı buğday örnekleri

Tablo 2.2. Çeşitli ülkelerden buğday örnekleri

No	Aksesyon no	Koleksiyon no	Toplandığı yer	Tür ismi
134		TRI-37	Suudi Arabistan	<i>Triticum dicoccoides</i>
135		Aze TRI-38	İran	<i>Triticum araraticum</i>
136	Agh	AzeTRI-39	Azerbaycan	<i>Triticum boeoticum</i>
137	Gara	AzeTRI-39a	Azerbaycan	<i>Triticum boeoticum</i>
138	AG-662	NA-22	Birleşik Arap Emirliği	<i>Triticum dicoccoides aaronsohnii</i>
139	AG-665	NA-42	Azerbaycan	<i>Triticum dicoccum dicoccum</i>
140	AG-666	NA-44	Ermenistan	<i>Triticum dicoccum rufum</i>
141	AG-667	NA-45	Rusya	<i>Triticum dicoccum rufum</i>
142	AG-668	NA-46	Amerika	<i>Triticum dicoccum atratum</i>
143	AG-671	NA-51	Portekiz	<i>Triticum turgidum megalopolitanum</i>
144	AG-672	NA-53	Özbekistan	<i>Triticum turanicum insigne</i>
145	AG-673	NA-57	Türkiye	<i>Triticum turanicum insigne</i>
146	AG-674	NA-60	Gürcistan	<i>Triticum persicum rubiginosum</i>
147	AG-675	NA-61	Gürcistan	<i>Triticum persicum stramineum</i>
148	AG-680	NA-67	Gürcistan	<i>Triticum spelta arduini</i>
149	AG-681	NA-68	Gürcistan	<i>Triticum spelta alefeldii</i>
150	AG-1229	BBRFS09K-1	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. leucurum</i>
151	AG-1230	BBRFS09K-2	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. leucurum</i>
152	AG-1232	BBRFS09K-25	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. apulicum</i>
153	AG-1233	BBRFS09K-26	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. apulicum</i>
154	AG-1234	BBRFS09K-27	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. apulicum</i>
155	AG-1235	BBRFS09K-28	Azerbaycan	<i>Triticum durum var. apulicum</i>
156	AG-1271	YBRFS09K-5	Azerbaycan	<i>Triticum aestivum var. graecum</i>
157	AG-1272	YBRFS09K-7	Azerbaycan	<i>Triticum aestivum var. graecum</i>
158	AG-1275	YBRFS09K-46	Azerbaycan	<i>Triticum aestivum var. erythrospermum</i>
159	AG-1276	YBRFS09K-47	Azerbaycan	<i>Triticum aestivum var. erythrospermum</i>
160	AG-1289	YBRFS09K-84	Azerbaycan	<i>Triticum aestivum var. ferrugineum</i>

161 ve 162 örnekler sırasıyla dış grup olarak çavdar ve arpadan oluşmaktadır.

2.1.2. Primerler

Bu çalışma da 10 farklı ISSR primeri kullanılmıştır (Tablo 2.4).

Tablo 2.3. Analizlerde kullanılan ISSR primerleri

Primer Adı	Primer sekansı	Tm sıcaklığı (°C)
UBC-811	(GA) ₈ C	54
UBC-815	(CT) ₈ G	53
UBC-818	(CA) ₈ G	54
UBC-823	(TC) ₈ C	52
UBC-835	(AG) ₈ YC	54
UBC-843	(CT) ₈ RA	53
UBC-845	(CT) ₈ RG	55
UBC-852	(CT) ₈ RA	54
ISSR-16	(TCC) ₅ RY	57
ISSR-28	A(GAAA) ₄ G	50

2.2. Metotlar

2.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Buğdaydan DNA izolasyonunda 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde buğday tohumları Hoagland çözeltisi (Tablo 2.4.) içeren kültür kaplarında iklimlendirme çemberinde % 60 nem, 25°C sıcaklık, 16 saat ışık 8 saat karanlıktan oluşan fotoperyotta, çimlendirilmiştir. Her bir buğday çeşidinden 6 birey kültür kaplarında 10 gün büyütüldükten sonra yaprakları hasat edilmiştir. İkinci yöntemde ise DNA izolasyonu için bazı çeşitlerde çimlenme olmadığından doğrudan tohumlar kullanılmıştır.

Tablo 2.4. Hoagland solüsyonu (1X).

Kimyasallar	Stok solüsyonu	Kullanılan Miktar (µl/L)
MgSO ₄ .7H ₂ O	24.6g/100 ml	1.0 ml
KH ₂ PO ₄	13.6g/100 ml	0.5 ml
KNO ₃	10.1g/100 ml	2.5 ml
Ca(NO ₃) ₂ .H ₂ O	23.6g/100 ml	2.3 ml
Solüsyon A	Mikronütrient solüsyonu	0.5 ml
Solüsyon B	Fe-EDTA solüsyonu	2 ml
Solüsyon A (1X Stok)		
Kimyasallar	Stok Solüsyonu	
H ₃ BO ₃	2.86 g/l	
MnCl ₂ .4H ₂ O	182 g/l	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22 g/l	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.09 g/l	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.09 g/l	
Solüsyon B (1X Stok)		
Kimyasallar	Stok Solüsyonu	
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.121 g/250ml	
EDTA	0.375 g/250ml	

*1000 ml çözelti için

2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu

2.2.2.1. Yapraktan DNA İzolasyonu

On gün süre ile büyütülmüş olan buğday fidelerinin genç yapraklarından Doyle ve Doyle'nin (1987) bildirmiş olduğu CTAB (Setil tri-metil amonyum bromür) metoduna göre DNA izolasyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon çözeltisi, %2 (W/v) CTAB, 100mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.4 M NaCl, 20 mM Na EDTA (pH 8.0) içermektedir. Ekstraksiyon çözeltisine tüm hacminin % 2 oranında 20 mM β-merkaptetanol izolasyondan hemen önce ilave edilmiştir. Bitki dokusundan 300 mg alınarak, sıvı azot yardımıyla havanda öğütüldükten sonra ependorf tüplere alınmıştır. Ependorf tüplerdeki dokuya DNA

ekstraksiyon çözeltisi eklenmiş, 62°C de 30-60 dakika boyunca inkübasyon yapılarak, ara sıra ters-düz edilmiştir. Kloroform: izoamilalkol (24:1) çözeltisinden 700 µl ilave edilmiş yavaşça 100 defa ters-düz yapılarak karıştırılmıştır. Ardından 16000 rpm' de 10 dk. santrifüj edilerek süpernatant kısmı pipetle çekilip temiz 1.5 ml.'lik bir tüpe aktarılmıştır. Üzerine toplam hacmin 2/3 ü kadar (550 µl) soğuk izopropanol ilave edilmiştir (beyaz çökelek halinde DNA+diğer organik bileşikler gözle görülebilir). Bir gün boyunca -20 °C 'de bekletilip 14000 rpm' de 10 dk. santrifüj yapılmış ve süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Pelletin üzerine 500 µl yıkama tamponu (% 76 EtOH, 10 M amonyum asetat) eklenip 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. 14000 rpm' de 10 dk. santrifüj edilip sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Pellet kurutulup üzerine 200 µl TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilip çökelti tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında bekletilmiş ve pellet çözdürülmüştür.

2.2.2.2. Tohumdan DNA İzolasyonu

Her örnekten 4-5 adet tohum havanda ezilerek un haline getirilmiştir. Elde edilen un (yaklaşık 50 mg) steril ependorf tüplere alınarak üzerlerine 500 µl ekstraksiyon tamponu (25 mM Tris-HCl pH: 8.0 ,50 mM EDTA ,% 0.5 SDS ve tampon eklenmeden hemen önce son konsantrasyonun % 2 si kadar 20mM β- merkaptotanol) eklenerek yavaşça ters-düz edilerek karıştırılmıştır. Tüpler 60 °C de 15 dk. inkübe edildikten sonra vortekslenmiştir. Tüplere oda sıcaklığına gelince 500 µl fenol:kloroform (1:1) karışımı eklenmiş yavaşça karıştırılmış ve 7000 g.' de 10 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. Süpernatanta 500 µl kloroform:izoamilalkol (24:1) eklenmiş 7000 g.' de 10 dk. santrifüj edilerek 400 µl süpernatant alınmıştır. Süpernatanta 100 µl 3 M sodyum asetat (NaOAc) ve 250 µl soğuk isopropanolden eklenmiş, karıştırılıp bir gün - 20 °C' de bekletilmiştir. Tüpler 10000 g.' de 10 dk. santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellete 500 µl % 75' lik etanolden eklenerek 10000 g.' de 2 dk. santrifüj edilmiş ve alkol dökülerek uzaklaştırılmış ve bu işlem tekrarlanarak pellet yıkanmıştır. Pellet kuruduktan sonra 200 µl TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilip çökelti tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.

2.2.3. DNA Miktarının Belirlenmesi

Örneklerin DNA miktarlarını belirlemek amacıyla nanodrop cihazı ile 260/280 (nm) ve 260/230 (nm) dalga boylarında absorbanları ölçülmüştür. DNA yoğunluğu her örnek için 5-10 ng/μl olacak şekilde ayarlanmış ve stok DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C de saklanmıştır.

2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

2.2.4.1. ISSR Markırları İçin PZR Reaksiyonu

Uygun reaksiyon koşullarının saptanması amacıyla MgCl₂ konsantrasyonu ve yapışma sıcaklıkları optimize edilmiştir. Reaksiyonlar DNA'ları çoğaltmak için ısı döngüsü sağlayan cihazda (thermal cycler) gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 20 μl olacak şekilde belirlenmiş ve karışım içindeki oranları Tablo 2.5.' da gösterilmiştir.

Tablo 2.5. PZR karışımı

PZR Bileşenleri	Kullanılan Miktar (μl)	Son Konsantrasyon
Primer (100 nmol)	0.5	30 pmol
Buffer (10X)	2	1X
MgCl ₂ (25mM)	1.2-1.6	1.5-2 mM
dNTP (2mM)	2	0,2 mM
Taq polimeraz (5 u/μl)	0.3	1 u
gDNA	2	5-10 ng
Toplam reaksiyon hacmi dH ₂ O ile 20 μl' ye tamamlanmıştır.		

2.2.4.2. ISSR Markırları İçin Uygulanan PZR Döngüsü

Tüm PZR reaksiyonları beş aşamada gerçekleşmiş olup yapışma sıcaklıkları optimize edilmiştir. Aşamalar Tablo 2.6.'da gösterilmiştir.

Tablo 2.6. ISSR primerleri için PZR Döngüsü

Aşamalar	Sıcaklık/süre	Döngü
Ön denatürasyon	94 ⁰ C / 5 dk.	1
Denatürasyon	94 ⁰ C/ 1 dk.	40
Yapışma(Annealing)	50-57 ⁰ C/ 1 dk.	
Uzama(Extension)	72 ⁰ C/ 2 dk.	
Son Uzama	72 ⁰ C/ 7 dk.	1
Bekleme	+4 ⁰ C / ∞	

2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Etidyum bromid içeren 1X TBE tampon içerisinde % 2' lik agaroz jel üzerinde PZR ürünleri 120 volt elektrik akımında 2 saat süreyle büyüklüklerine göre ayrılmış ve ardından UV ışın altında jel görüntüleme sistemi ile fotoğrafları çekilmiştir.

2.2.6. Polimorfizmin Hesaplanması

PZR analizleri sonucunda DNA bantlarının varlığı 1 yokluğu 0 ve değerlendirilemeyen bantlar ise 9 kabul edilerek skorlama yapılmıştır. Elde edilen veriler NTSYS-pc (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) versiyon 2.11 paket programı (Exeter Software, Setauket, New York, USA) kullanılarak analiz edilmiştir [40].

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Buğday Genotiplerinin ISSR Markırı Analizi ile Karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi

Çalışmada bulunan 162 genotip arasındaki genetik çeşitlilik ISSR markırı ile araştırılmıştır. Çalışmada 10 farklı ISSR primeri kullanılmıştır. Jel görüntüleme işlemi sonrasında görüntülere bakılarak skorlanmış bantların varlığı durumunda(1), yokluğunda (0) ve amplifikasyonun olmadığı durumlarda kayıp veri (9) değerleri girilmiştir. Skorlama sonucunda her bir primer için bant büyüklük aralıkları (bp), elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) ve polimorfizm oranı (%) Tablo 3.1.' de sunulmuştur. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin polimorfizm oranları aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmıştır.

Polimorfizm Oranı (%) = (Polimorfik bant sayısı / Toplam bant sayısı) x 100

10 ISSR primeri kullanılarak 240-3000 bç. aralığında toplam 163 allel elde edilmiştir. Polimorfik allel sayısı 149' dur. Primer başına düşen toplam allel sayısı 10-21 arasında (ortalama 16.3) değişmiştir. Primer başına düşen polimorfik allel sayısı ise 10-19 arasında (ortalama 14.9) değişmiştir. Bu allellerin genel polimorfizm oranı % 91.68 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen allel sayısı bakımından ISSR-16 lokusu en fazla alleli (21 adet) üretirken, en az sayıda alleli UBC-845 lokusu (10 adet) üretmiştir.162 genotip üzerinde denenen 10 ISSR primerinde Tablo 3.1.' de görüldüğü gibi genel olarak primerlerin % 30'unda % 100 polimorfizm olduğu gözlenmiştir.

Buğday genotipleri arasındaki polimorfizm oranı oldukça yüksek bulunmuştur (%91.68). Elde edilen polimorfizm oranı (%91.68) göz önüne alındığında bu çalışmada

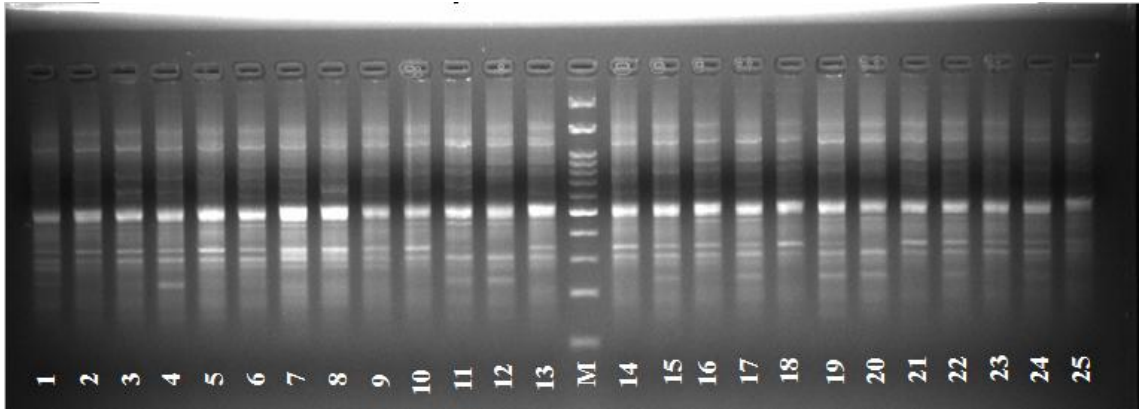
kullanılan buğday genotiplerindeki genetik çeşitliliğin ortaya konması için kullanılan ISSR primerlerinin uygun olduğu görülmektedir.

Tablo 3.1. ISSR primerleri kullanılarak elde edilen bant profilleri

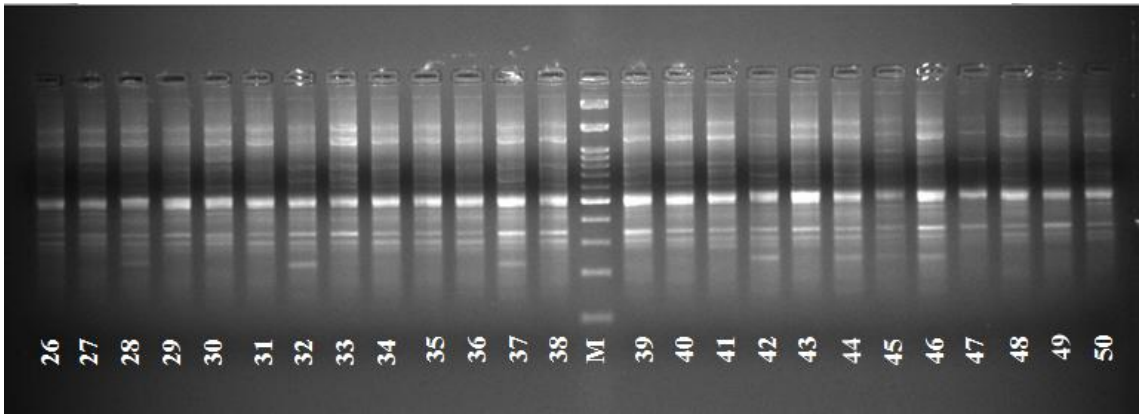
No	Primer adı	Toplam Allel Sayısı (adet)	Polimorfik Allel Sayısı (adet)	Allel büyüklükleri (bp)	Polimorfizm Oranı (%)
1	UBC-811	15	13	240-1500	86.6
2	UBC-815	15	13	250-1300	86.6
3	UBC-818	14	12	350-3000	85.7
4	UBC-823	16	16	400-1600	100
5	UBC-835	17	15	250-1600	88.2
6	UBC-843	19	19	400-1600	100
7	UBC-845	10	10	280-2000	100
8	UBC-852	17	16	400-3000	94.1
9	ISSR-16	21	17	320-2200	80.9
10	ISSR-28	19	18	410-2000	94.7
	Toplam	163	149		916.8
	Ortalama	16.3	14.9		91.68

UBC-811 primeri:

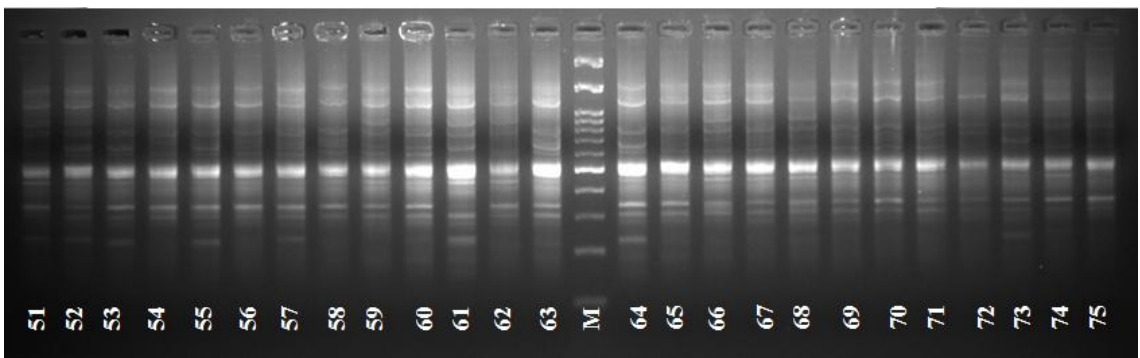
UBC-811 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 240-1500 bç. aralığında toplam 15 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 86.6 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



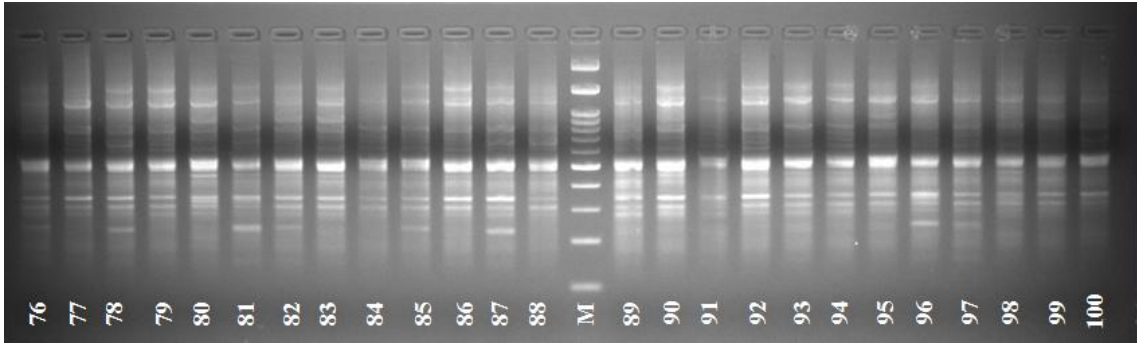
Şekil 2.1. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı).



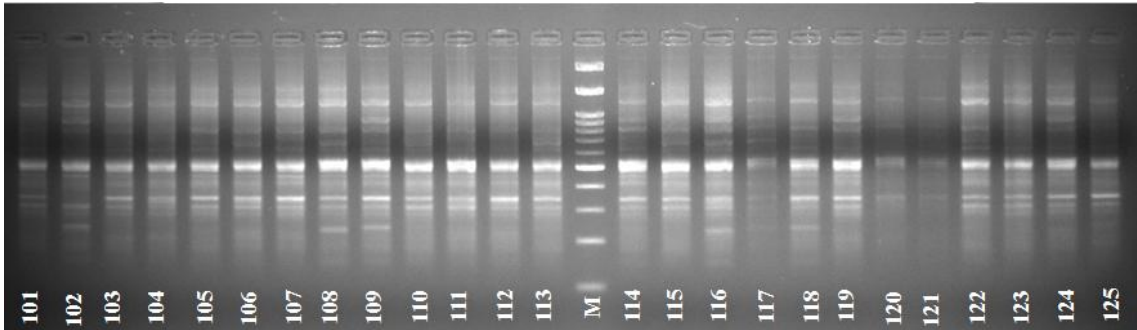
Şekil 2.2. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



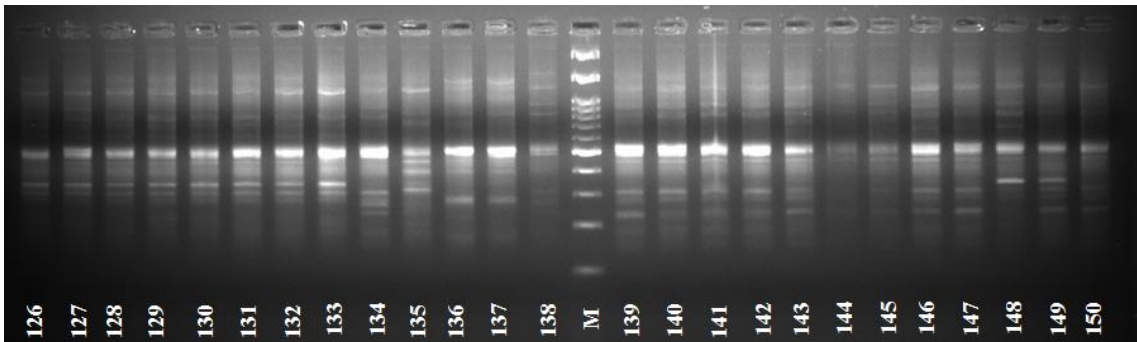
Şekil 2.3. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51-75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



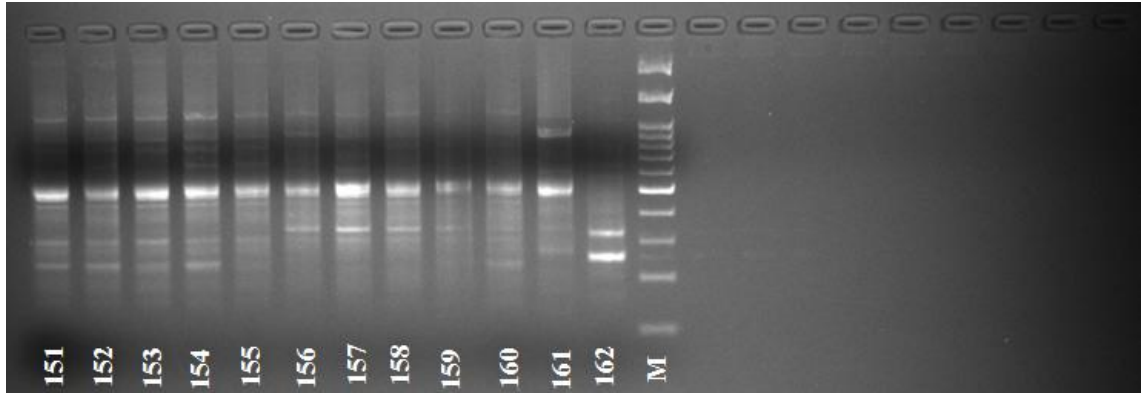
Şekil 2.4. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip76-100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.5. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



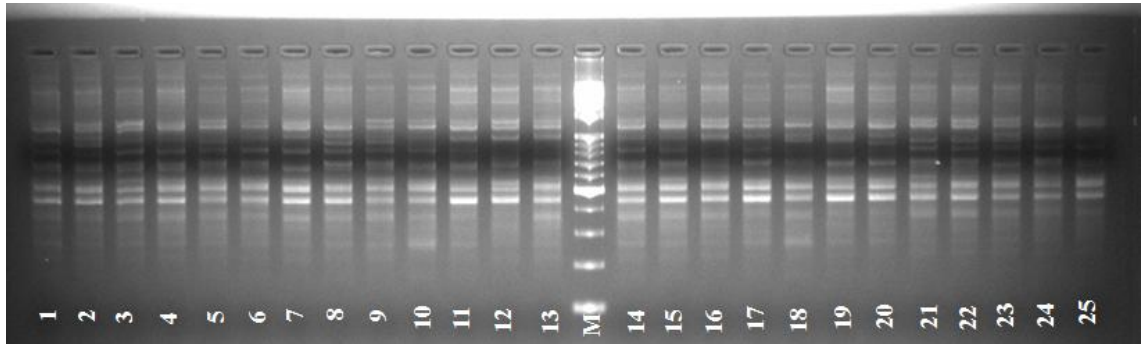
Şekil 2.6. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



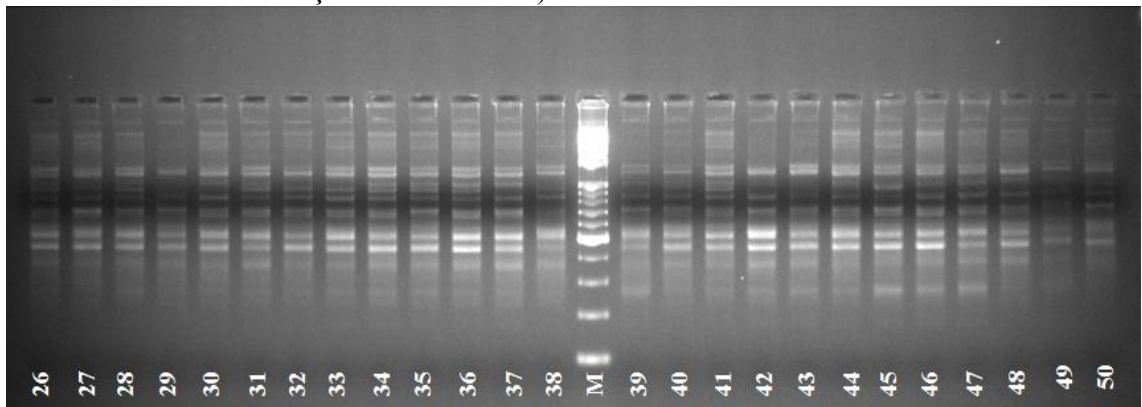
Şekil 2.7. UBC-811 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151-162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-815 Primeri:

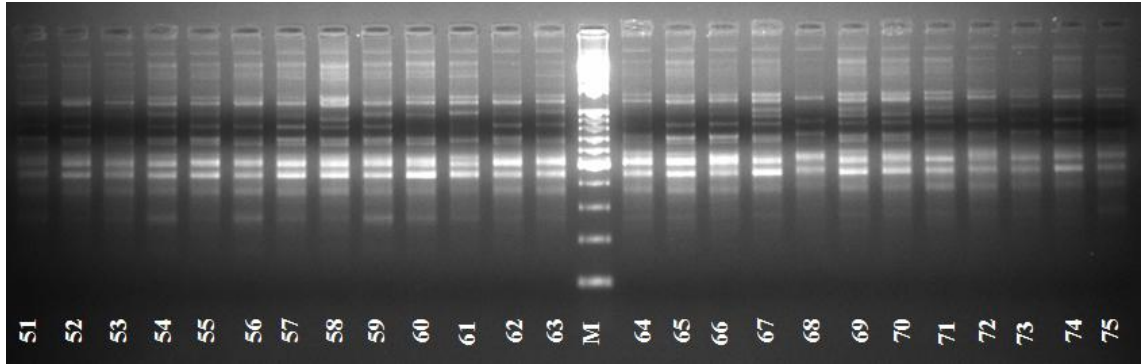
UBC-815 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 250-1300 bç. aralığında toplam 15 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 86.6 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Sonuç vermeyen örnekler için pozitif sonuç elde edilinceye kadar PZR tekrarlanmış ve Ek 1’de verilmiştir.



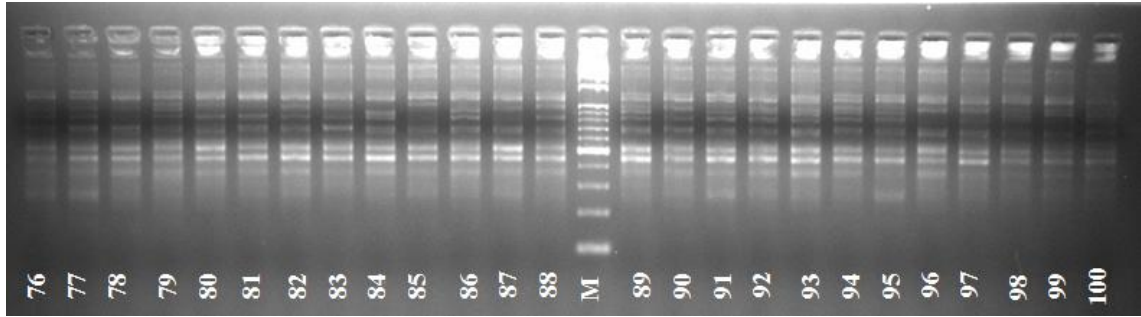
Şekil 2.8. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



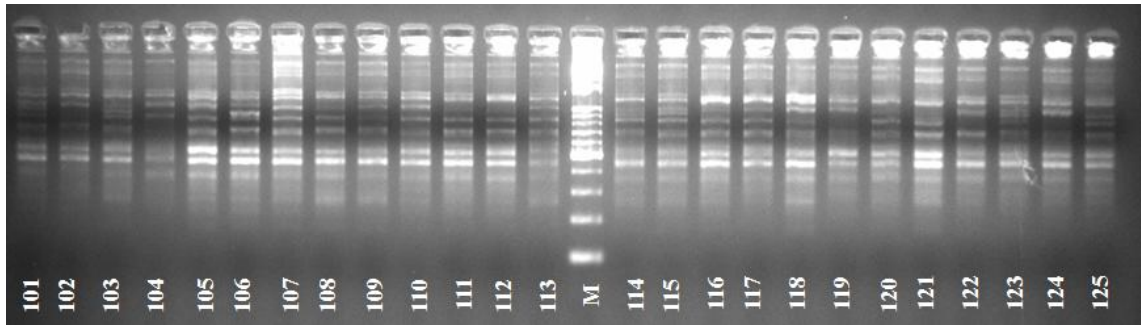
Şekil 2.9. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



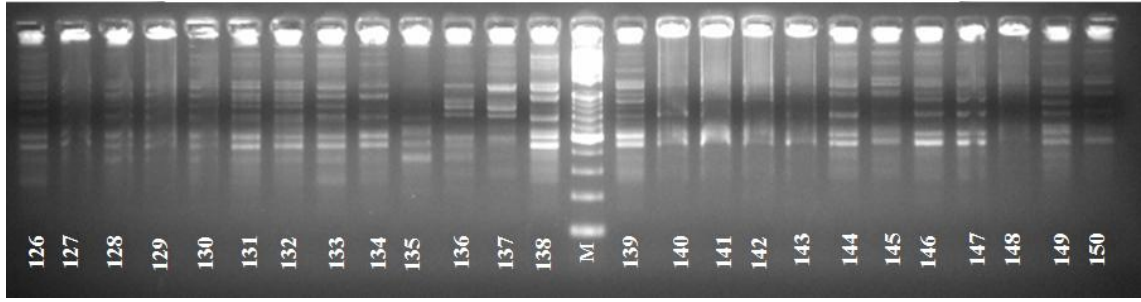
Şekil 2.10. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



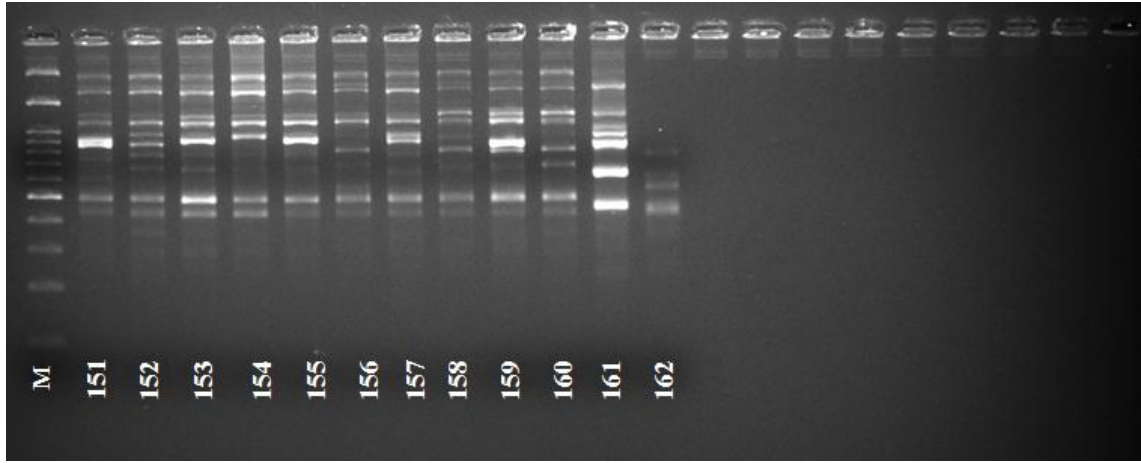
Şekil 2.11. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.12. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



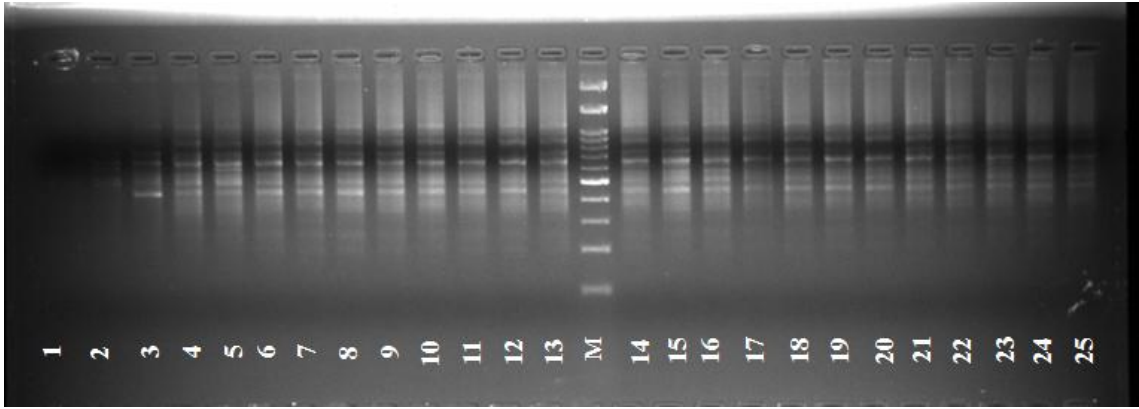
Şekil 2.13. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



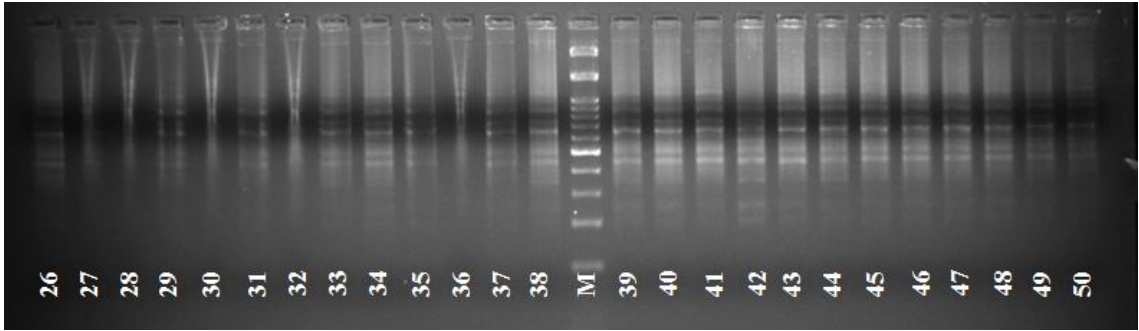
Şekil 2.14. UBC-815 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-818 Primeri:

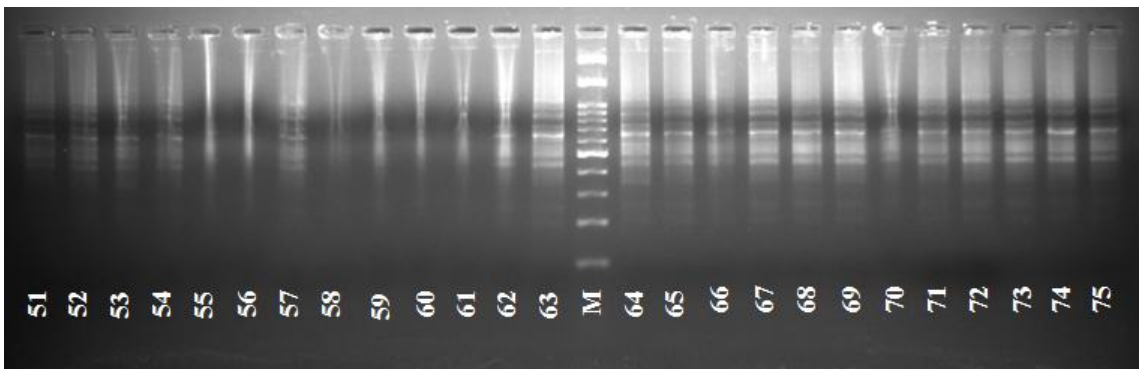
UBC-818 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 350-3000 bç. aralığında toplam 14 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 85.7 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Sonuç vermeyen örnekler için pozitif sonuç elde edilinceye kadar PZR tekrarlanmış ve sonuçlar Ek 2’de verilmiştir.



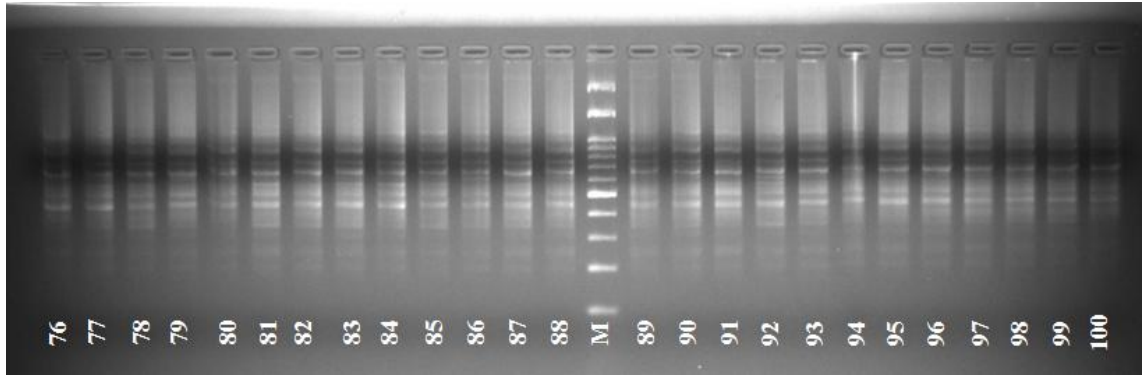
Şekil 2.15. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



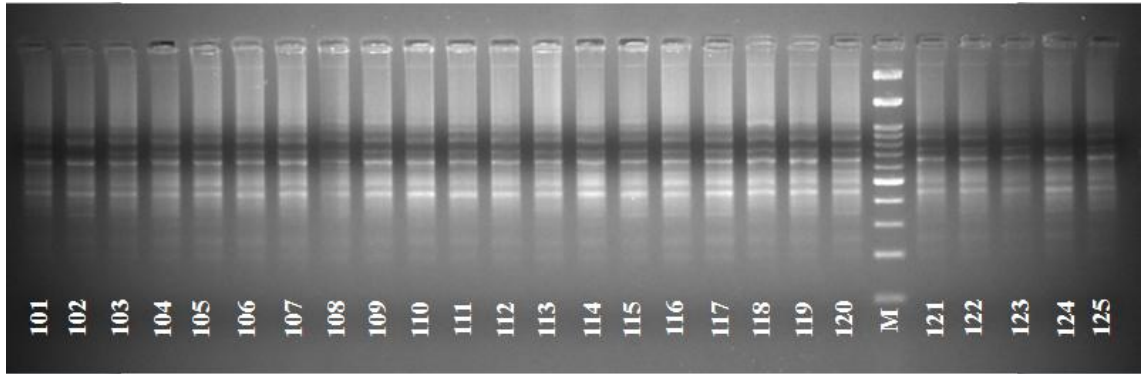
Şekil 2.16. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



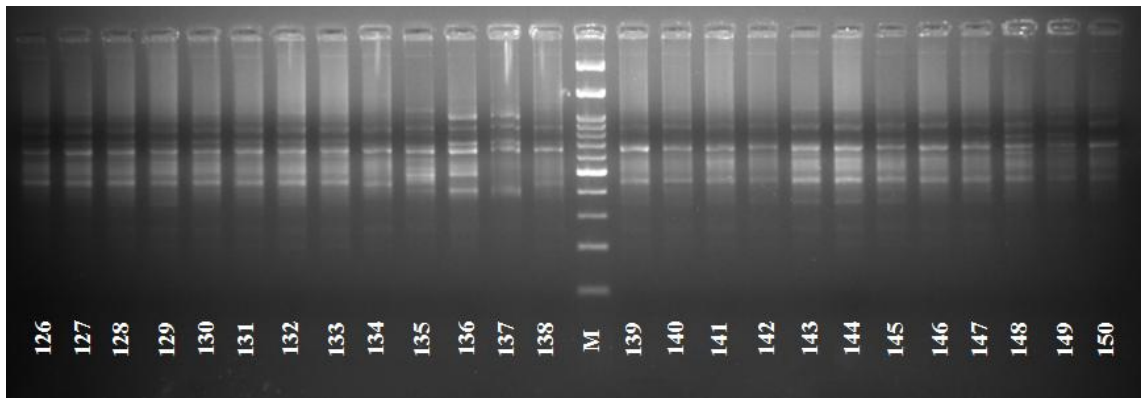
Şekil 2.17. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75M: 100-3000 bç. DNA standardı)



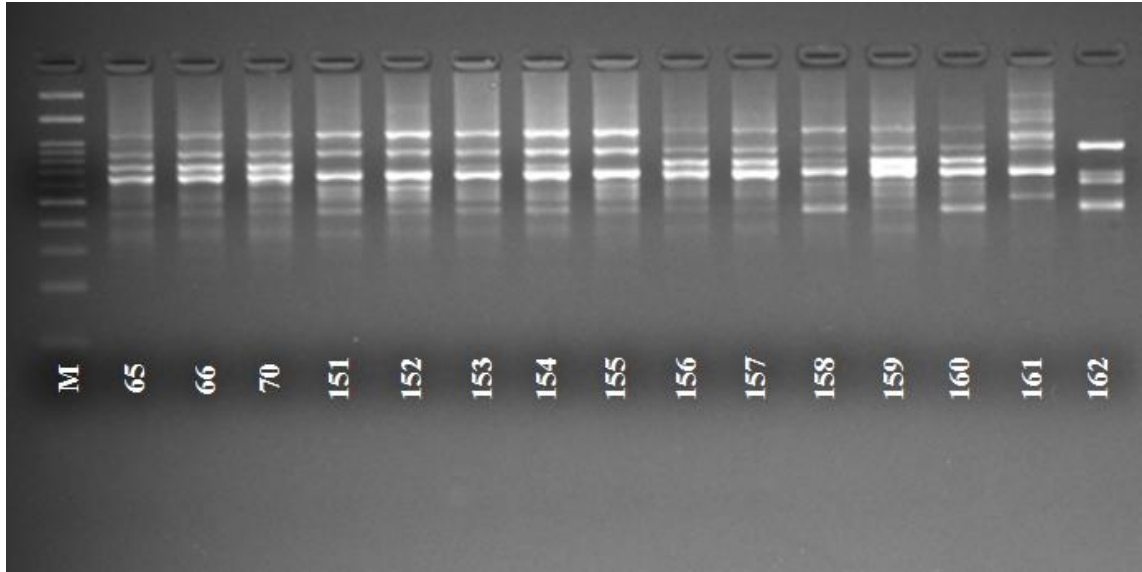
Şekil 2.18. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.19. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



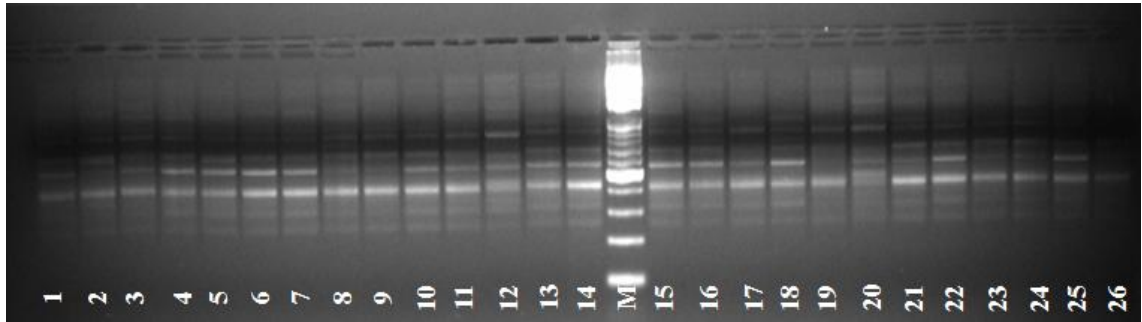
Şekil 2.20. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



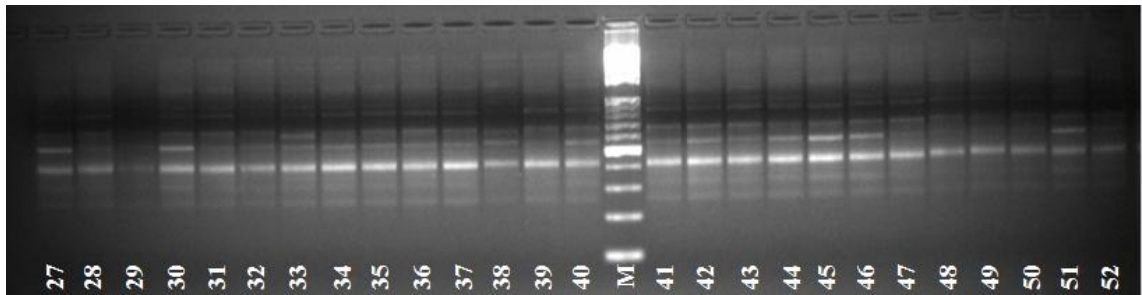
Şekil 2.21. UBC-818 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 65, 66, 70, 151-162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-823 Primeri:

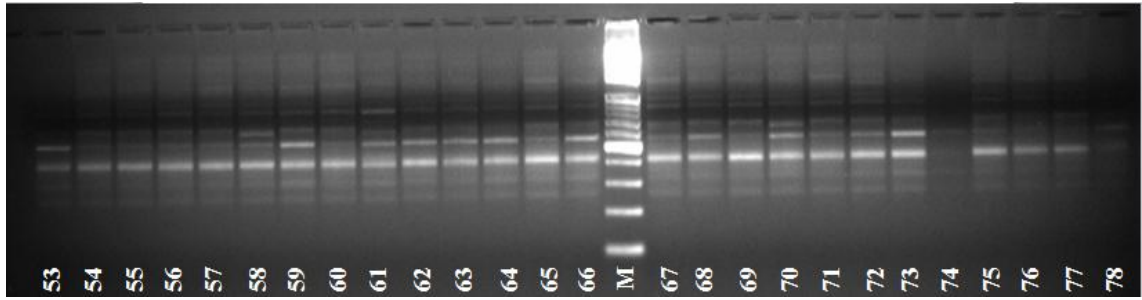
UBC-823 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 400-1600 bç. aralığında toplam 16 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 100 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



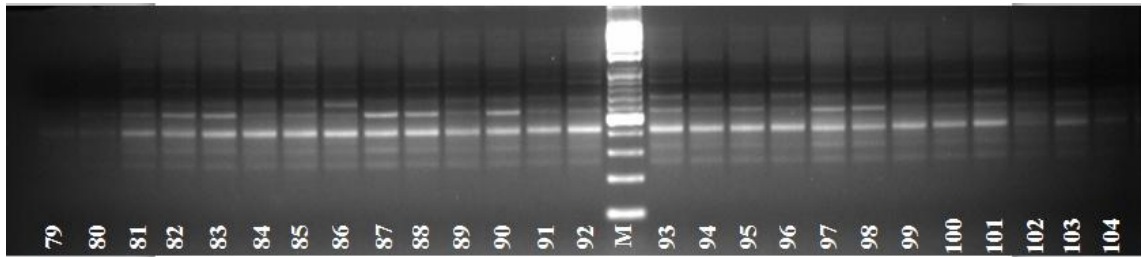
Şekil 2.22. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



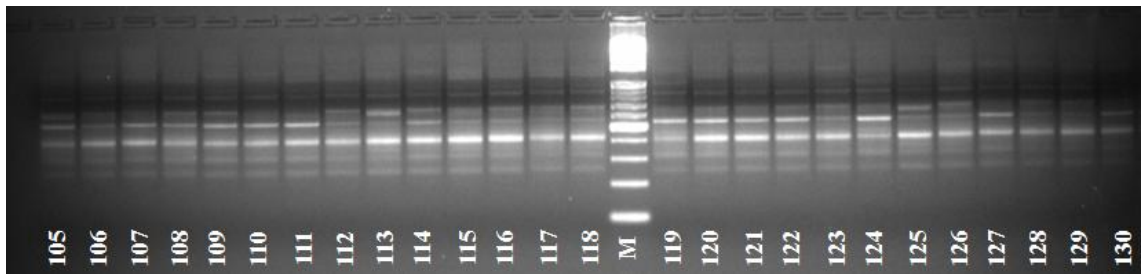
Şekil 2.23. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



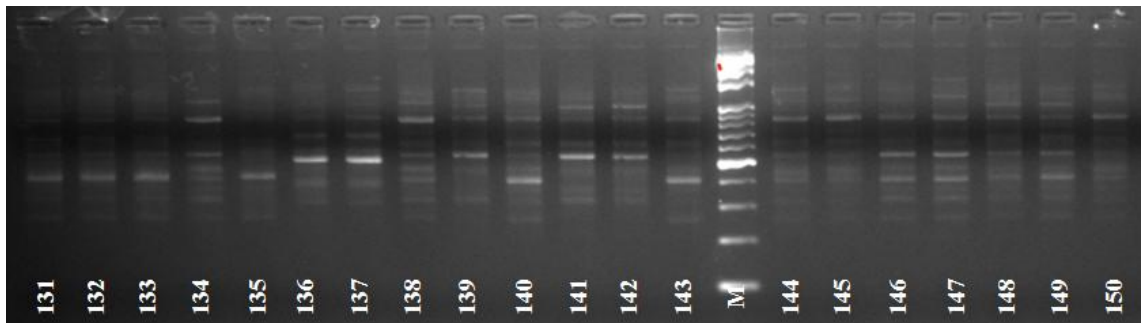
Şekil 2.24. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



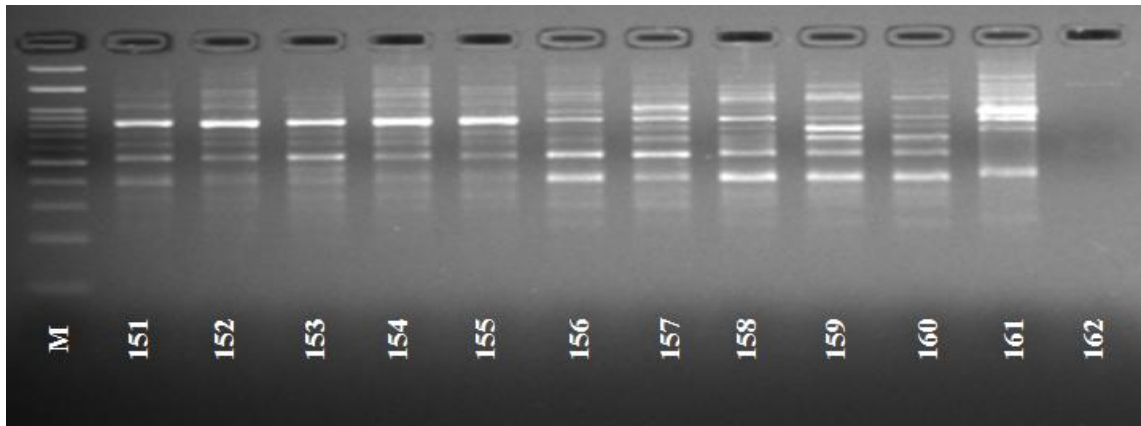
Şekil 2.25. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.26. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



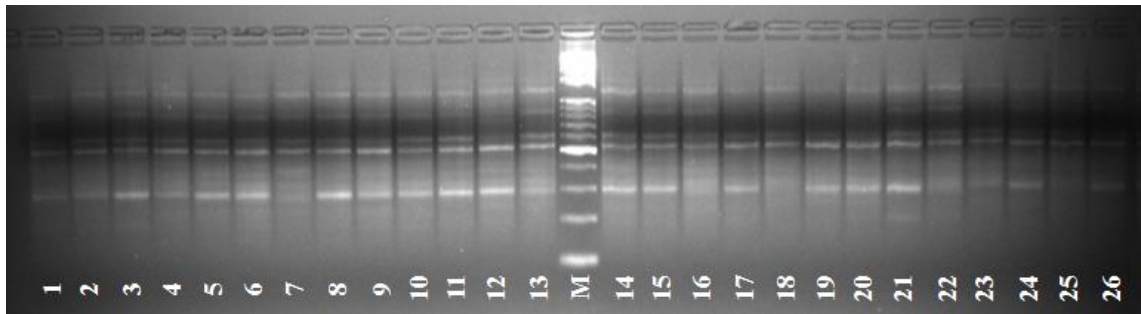
Şekil 2.27. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



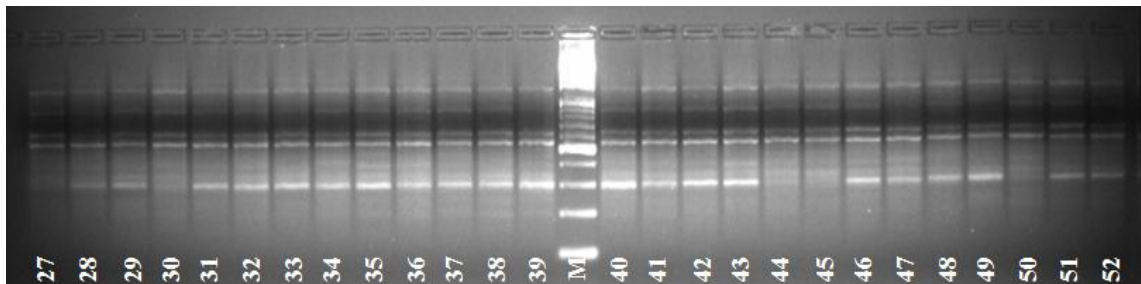
Şekil 2.28. UBC-823 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-835 primeri:

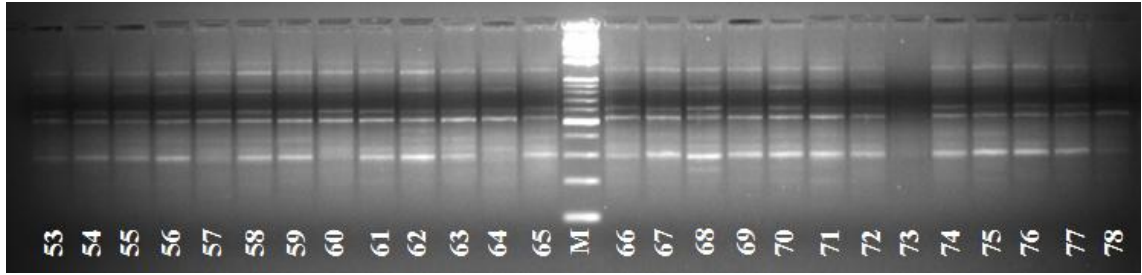
UBC-835 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 250-1600 bç. aralığında toplam 17 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 88.2 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



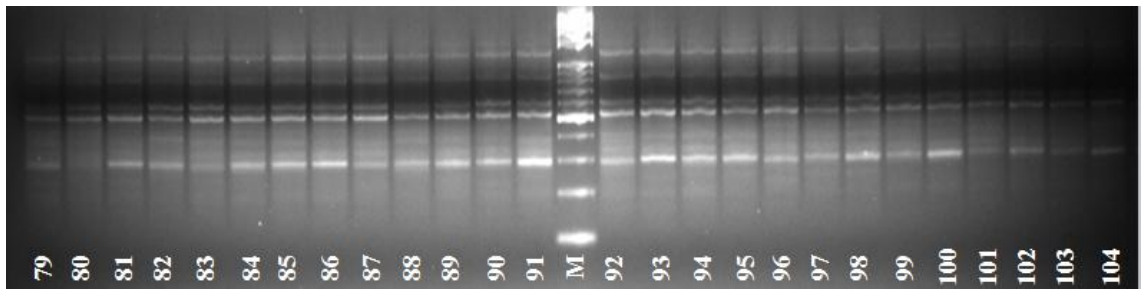
Şekil 2.29. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



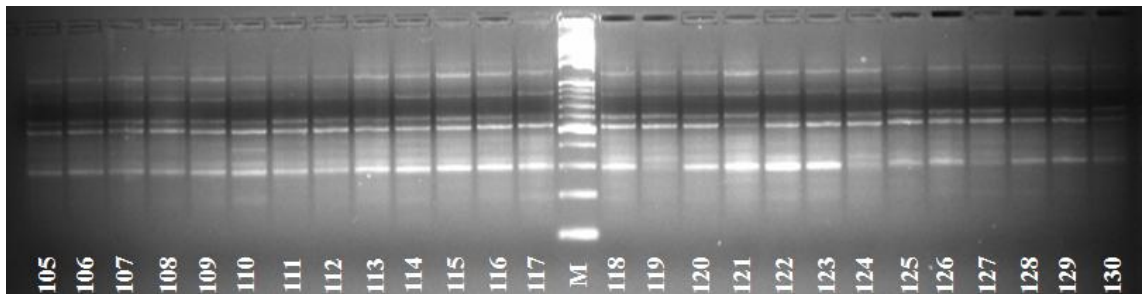
Şekil 2.30. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



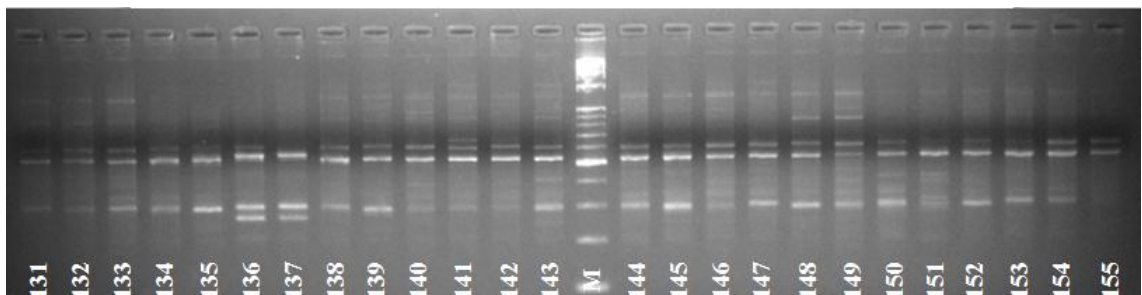
Şekil 2.31. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



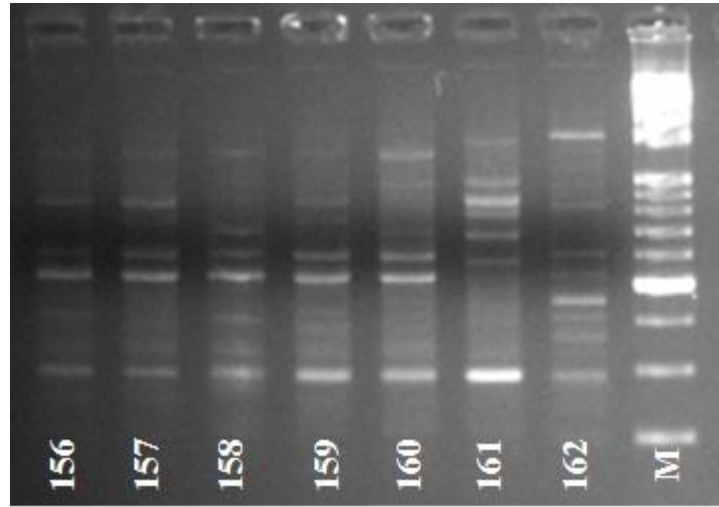
Şekil 2.32. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.33. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



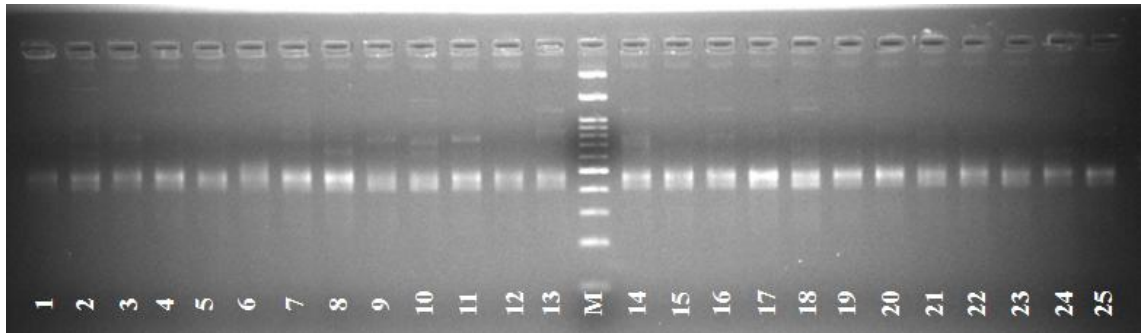
Şekil 2.34. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 155, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



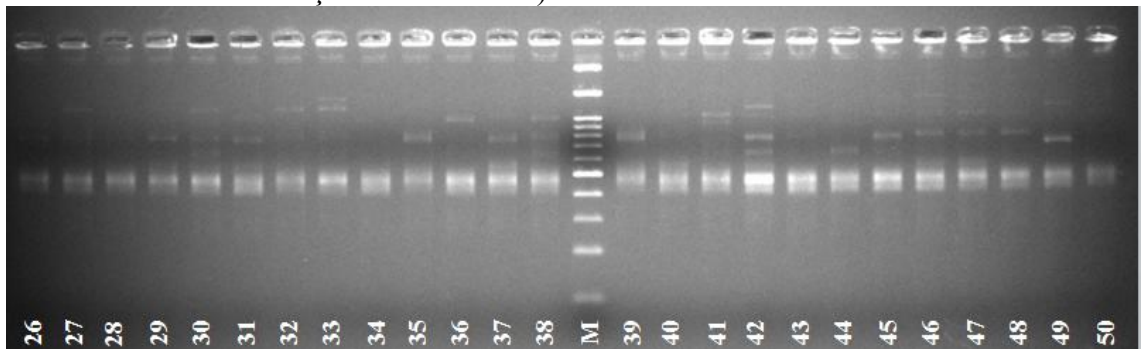
Şekil 2.35. UBC-835 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 156- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-843 Primeri:

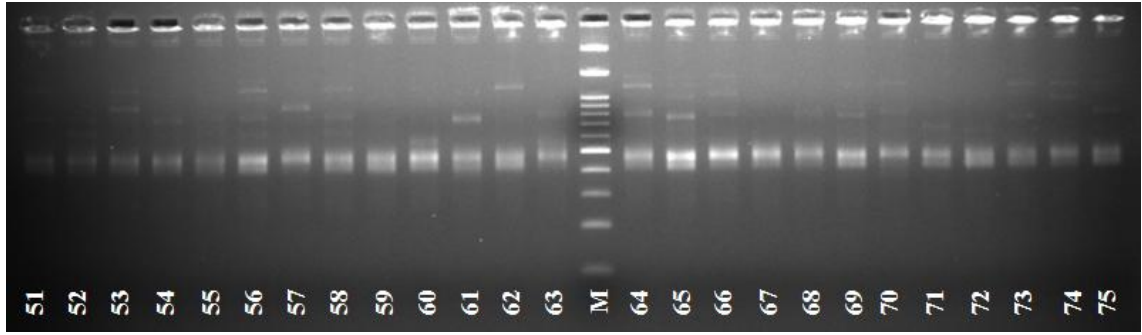
UBC-843 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 400-1600 bç. aralığında toplam 19 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 100 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



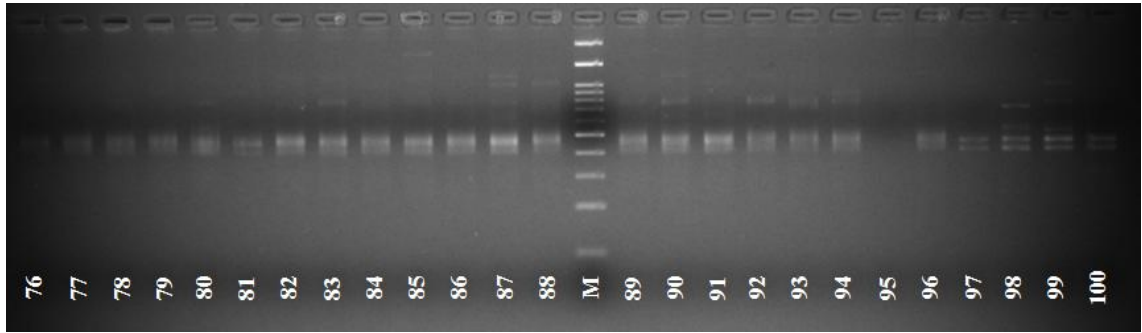
Şekil 2.36. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1-25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



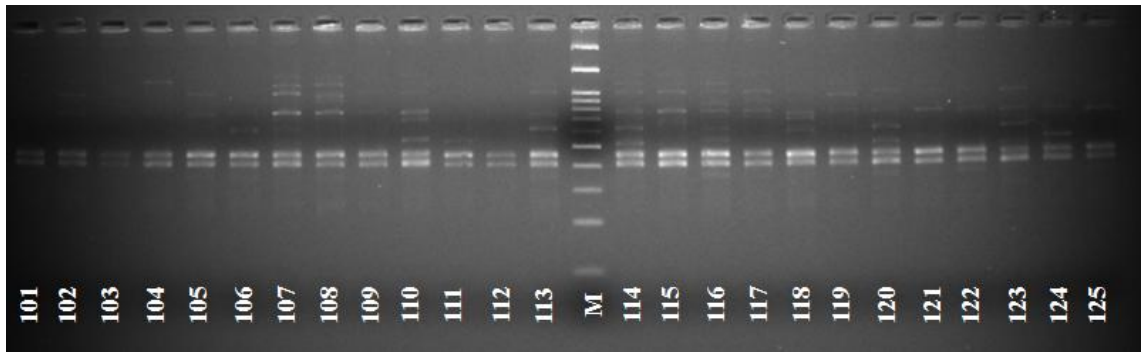
Şekil 2.37. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



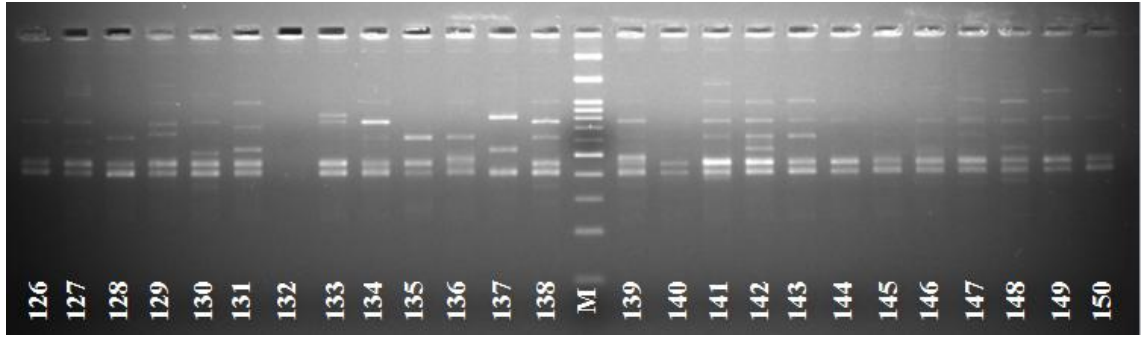
Şekil 2.38. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



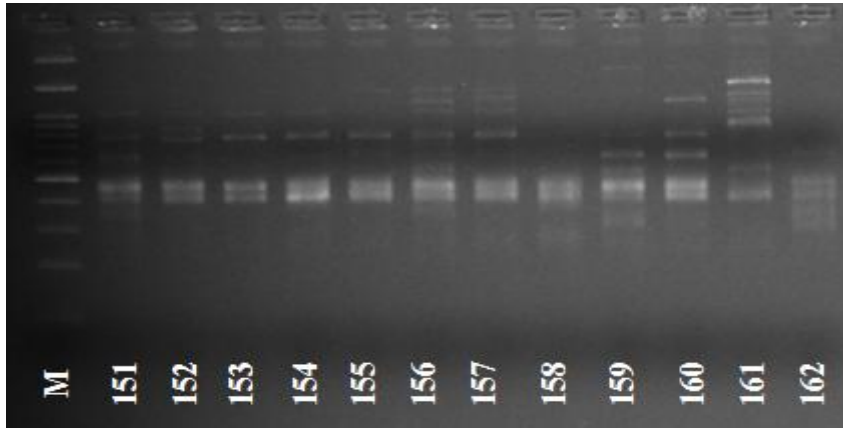
Şekil 2.39. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.40. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



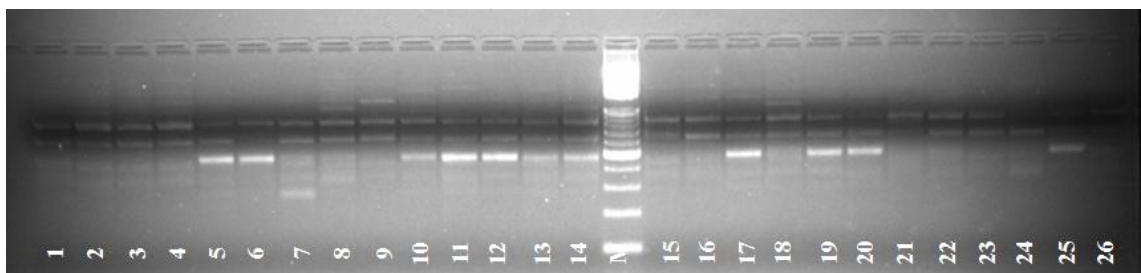
Şekil 2.41. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



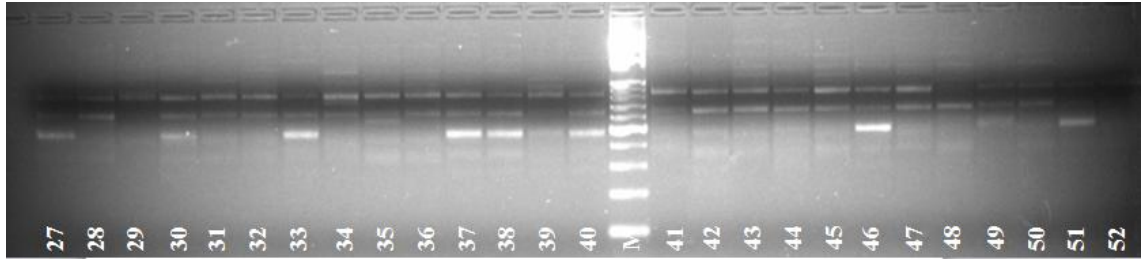
Şekil 2.42. UBC-843 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-845 Primeri:

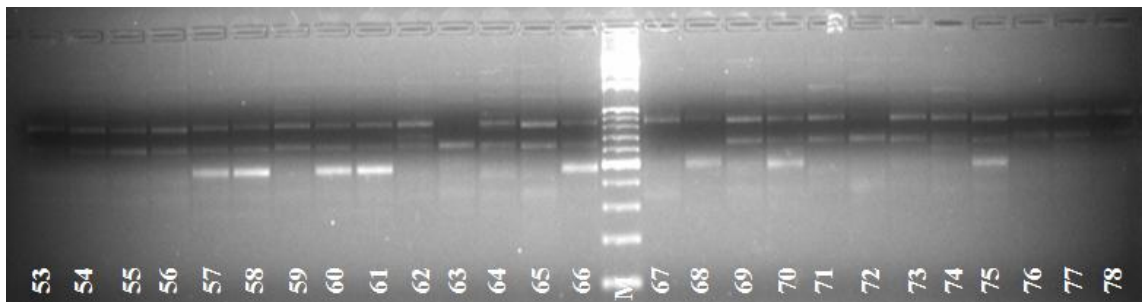
UBC-845 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 280-2000 bç. aralığında toplam 10 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 100 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



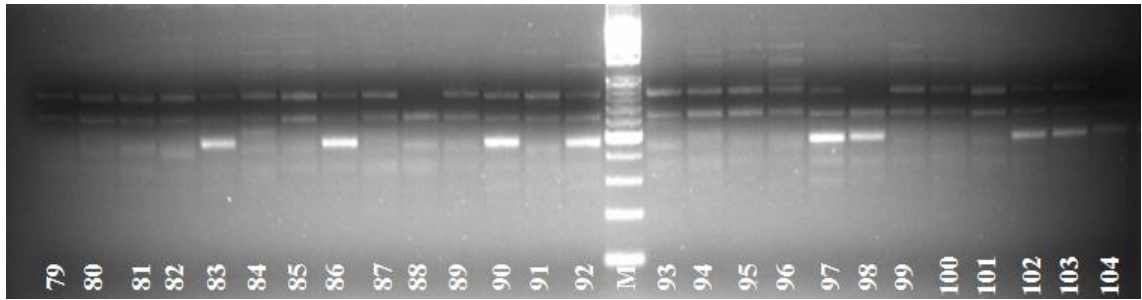
Şekil 2.43. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 26, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



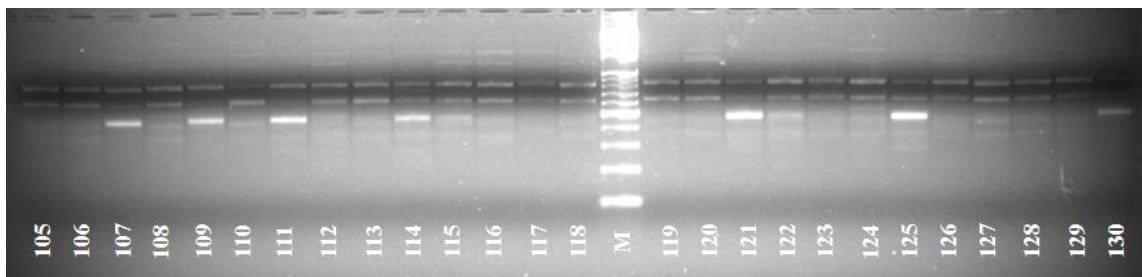
Şekil 2.44. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 27- 52, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



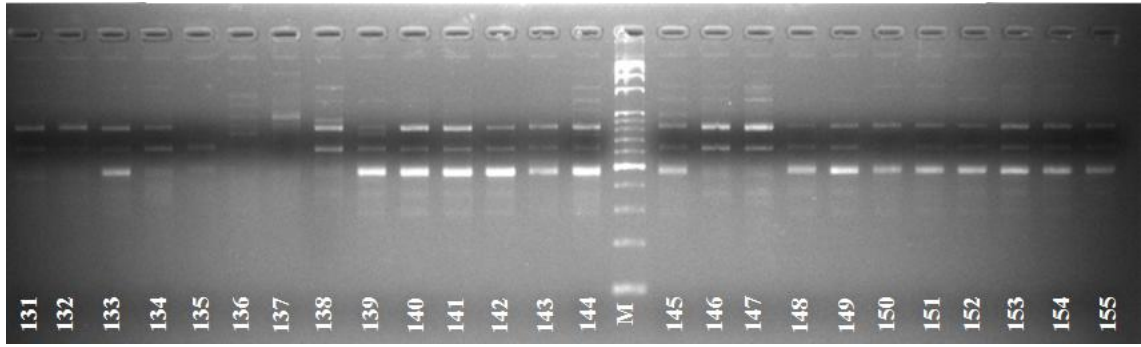
Şekil 2.45. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 53- 78, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



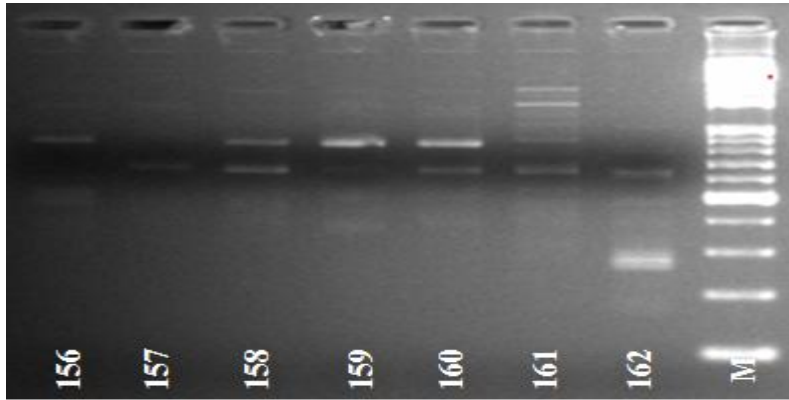
Şekil 2.46. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 79- 104, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.47. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 105- 130, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



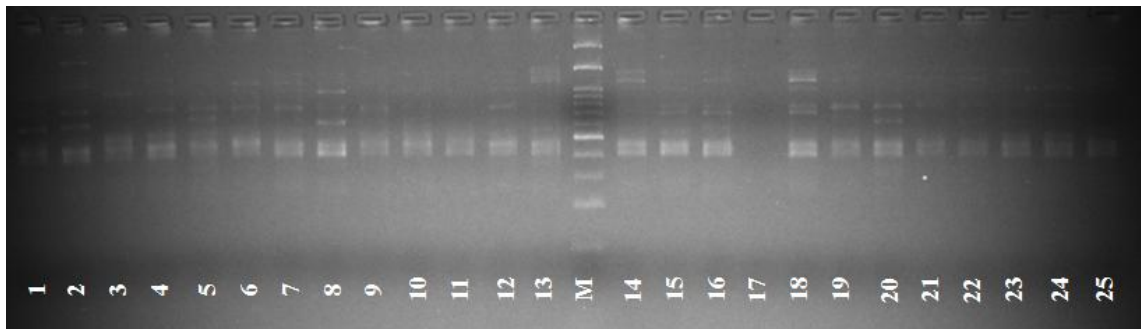
Şekil 2.48. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 131- 155, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



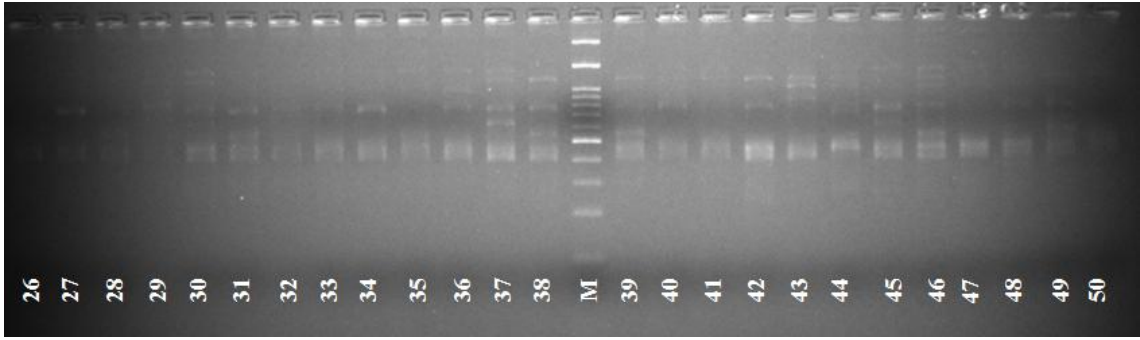
Şekil 2.49. UBC-845 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 156- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

UBC-852 primeri:

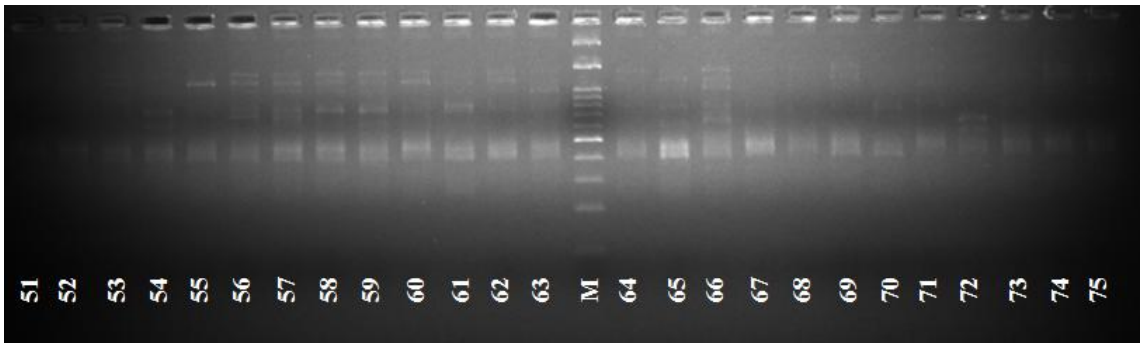
UBC-852 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 400-3000 bç. aralığında toplam 17 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 94.1 oranında polimorfizm elde edilmiştir.



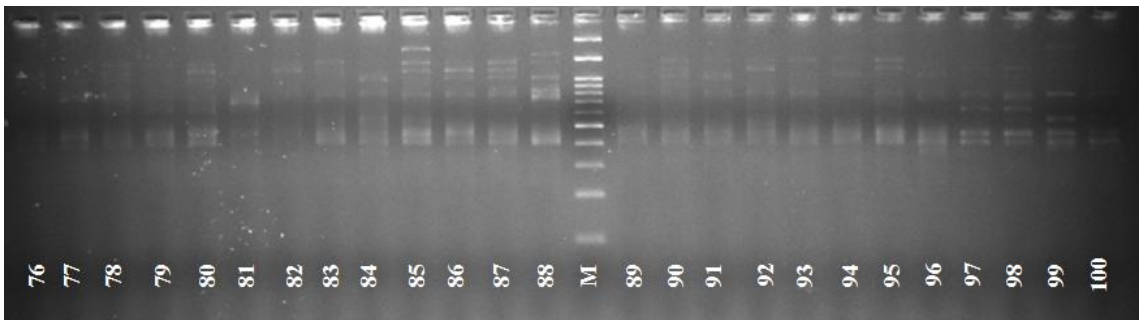
Şekil 2.50. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



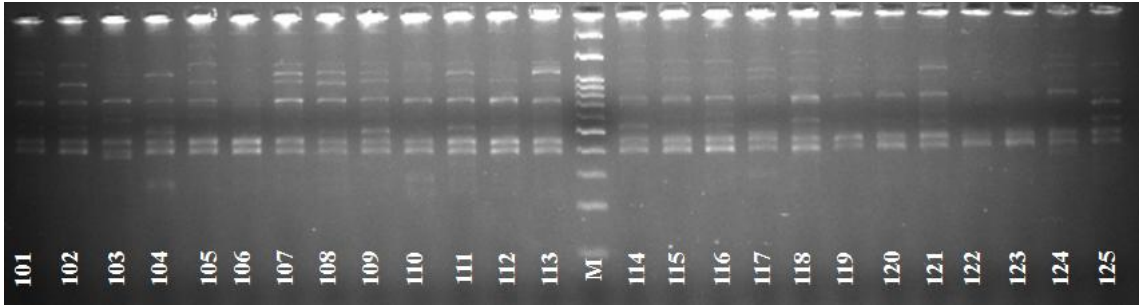
Şekil 2.51. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



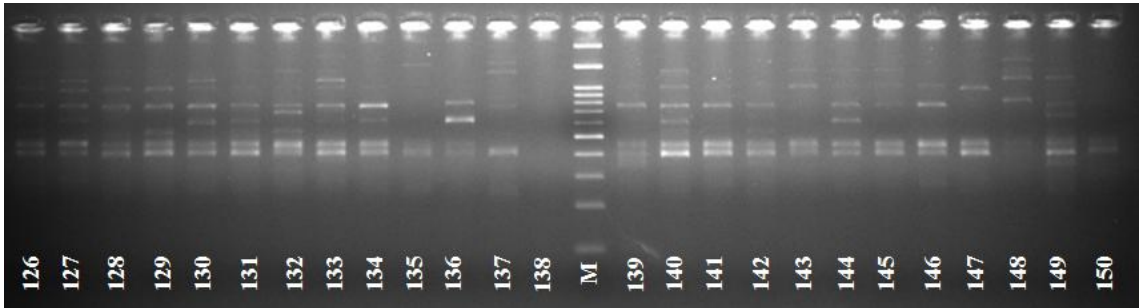
Şekil 2.52. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



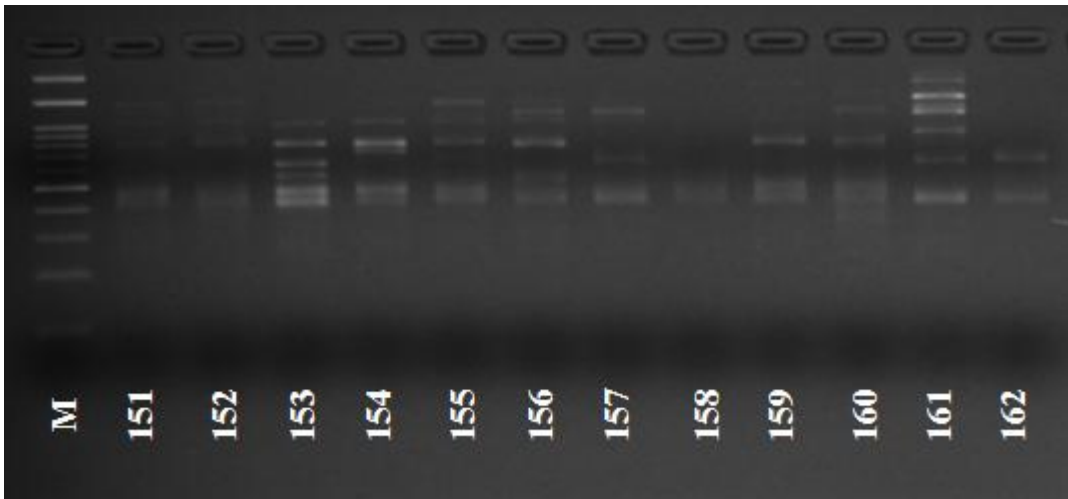
Şekil 2.53. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.54. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



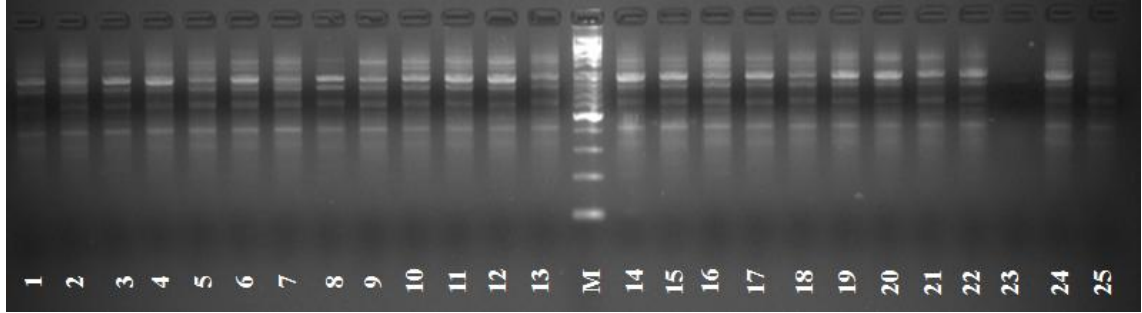
Şekil 2.55. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



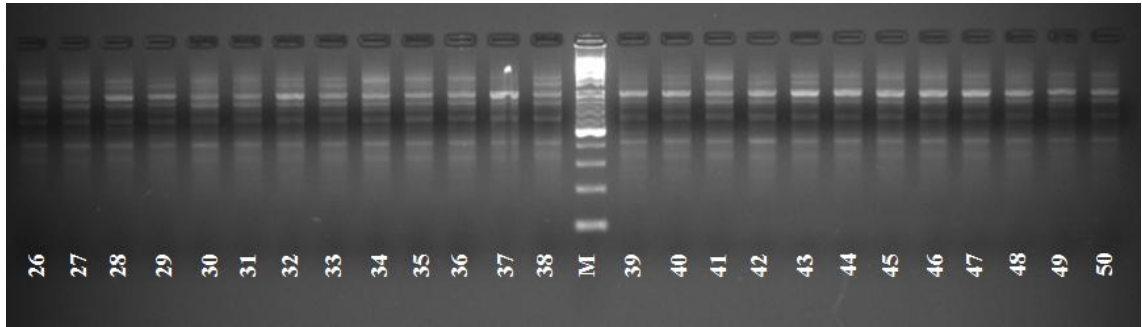
Şekil 2.56. UBC-852 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

ISSR-16 Primeri:

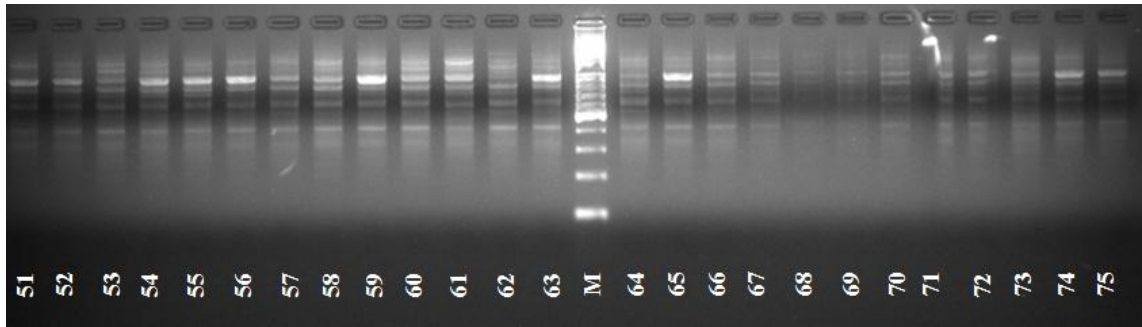
ISSR-16 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 350-2200 bç. aralığında toplam 21 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 80.9 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Sonuç vermeyen örnekler için pozitif sonuç elde edilinceye kadar PZR tekrarlanmış ve Ek 3’de verilmiştir.



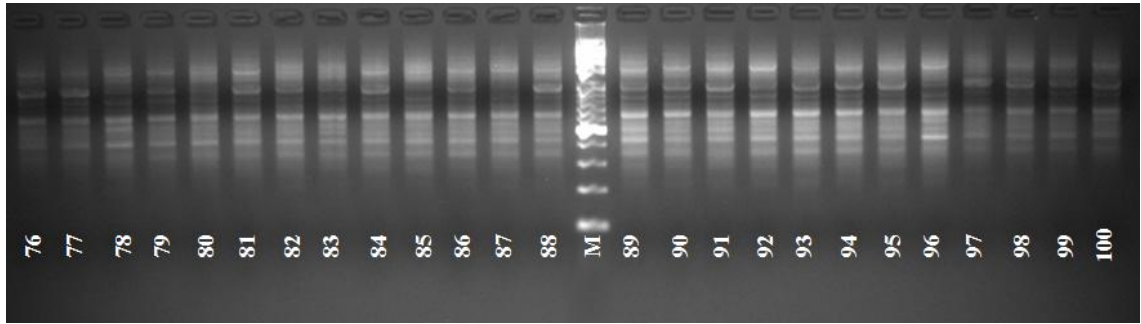
Şekil 2.57. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



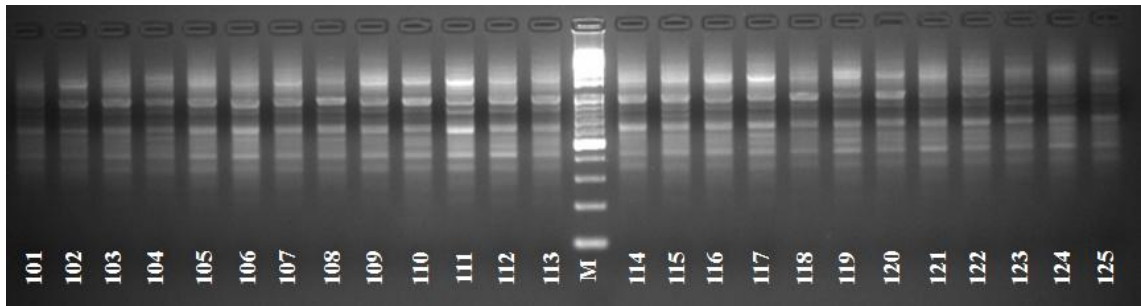
Şekil 2.58. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



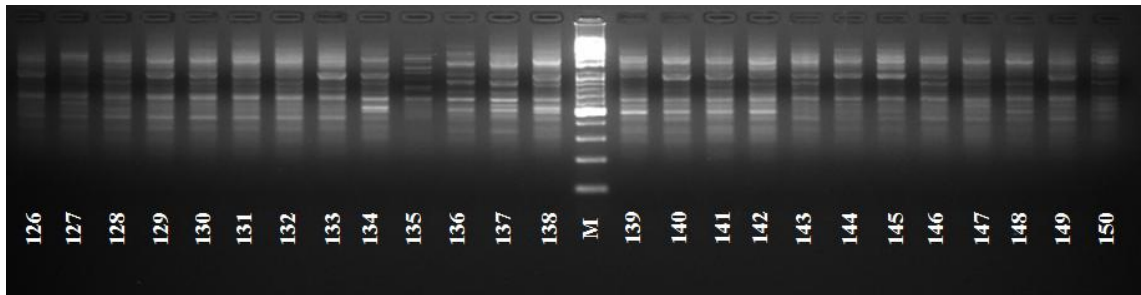
Şekil 2.59. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



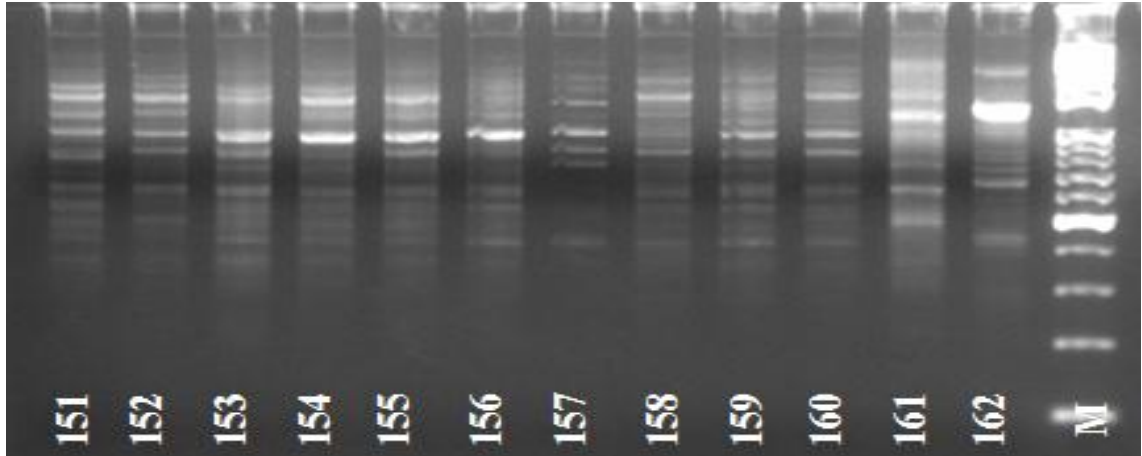
Şekil 2.60. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.61. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



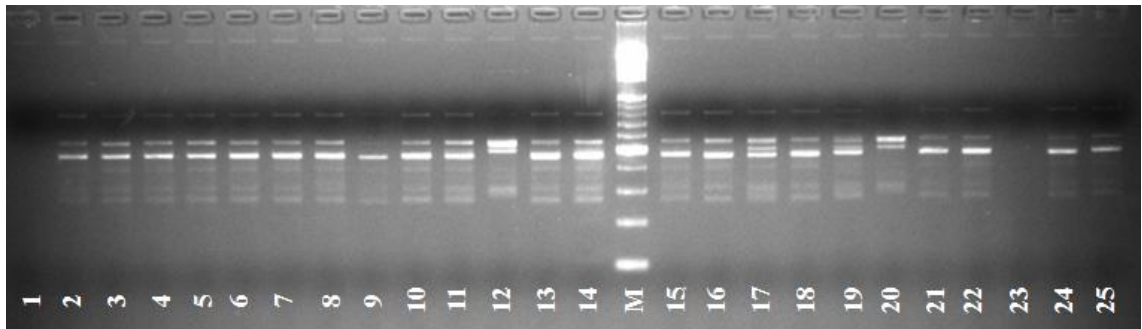
Şekil 2.62. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



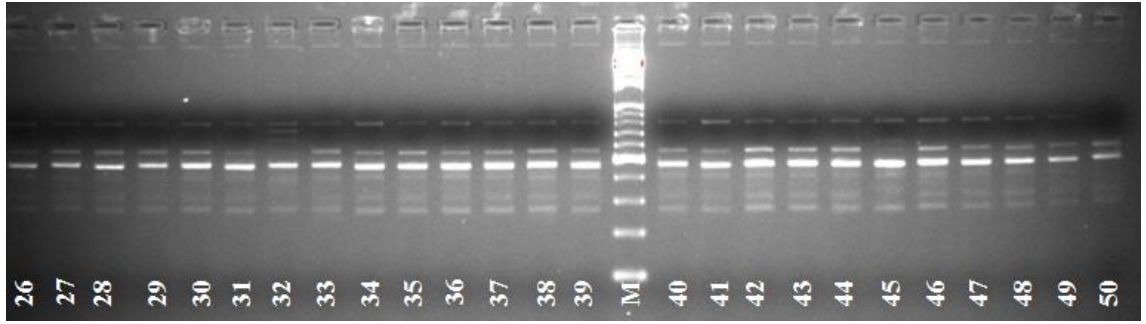
Şekil 2.63. ISSR-16 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

ISSR-28 Primeri:

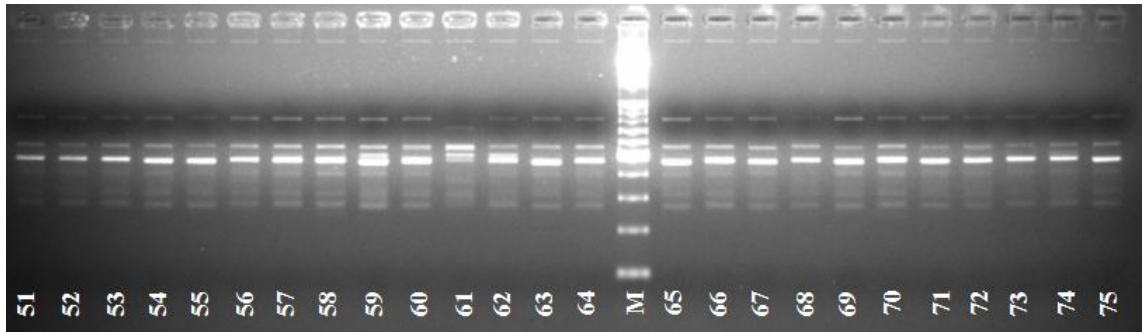
ISSR-28 primeri ile yapılan çalışma sonucunda 410-2000 bç. aralığında toplam 19 bant elde edilmiştir. Bu primerle % 94.7 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Sonuç vermeyen örnekler için pozitif sonuç elde edilinceye kadar PZR tekrarlanmış ve Ek 4'de verilmiştir.



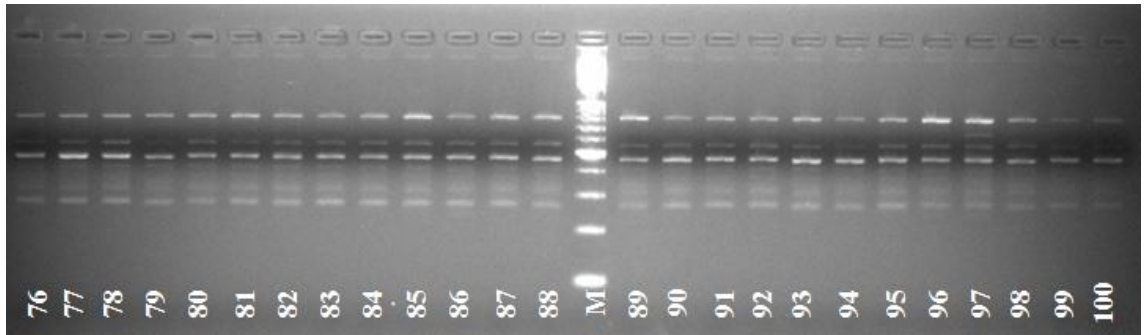
Şekil 2.64. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 1- 25, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



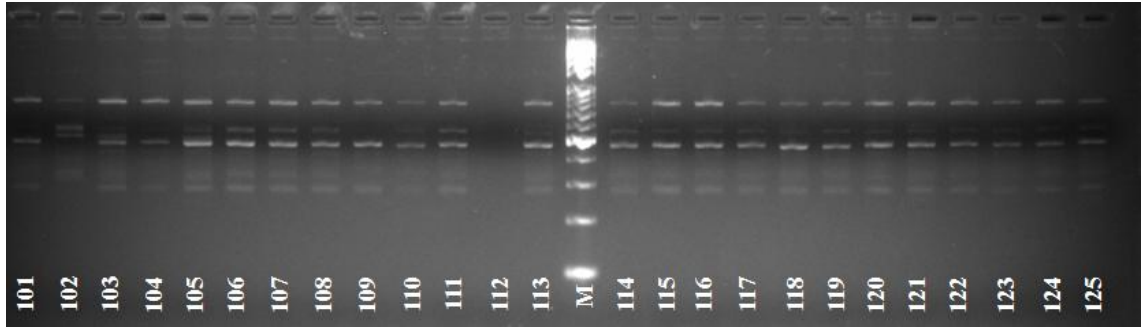
Şekil 2.65. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 26- 50, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



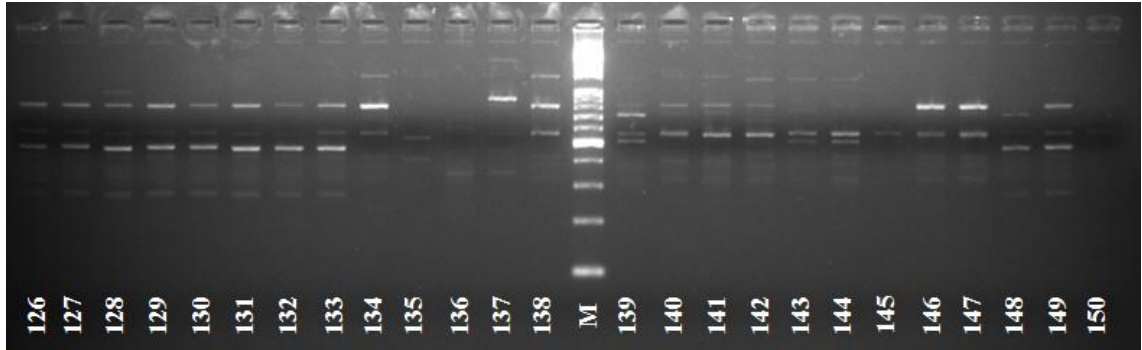
Şekil 2.66. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 51- 75, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



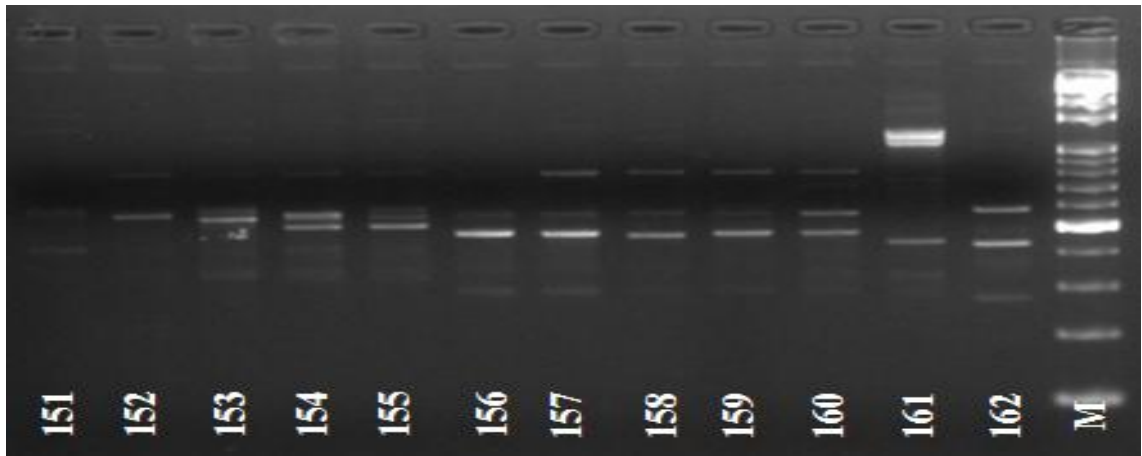
Şekil 2.67. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 76- 100, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.68. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 101- 125, M: 100-3000 bç. DNA standardı)



Şekil 2.69. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 126- 150, M: 100-3000 bç. DNA sandardı)



Şekil 2.70. ISSR-28 primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (Genotip 151- 162, M: 100-3000 bç. DNA standardı)

3.2. Benzerlik indeksleri ve Dendogramların Oluşturulması

Kaydedilen skorlama sonuçları kullanılarak 162 genotipte 10 ISSR primeri açısından veri dosyası hazırlanmıştır. PCR başarısızlığı veya herhangi bir deneme hatası nedeniyle olmadığı düşünülen bantlar ise kayıp veri (9) olarak değerlendirilmiştir. Bantlardan sadece güvenilir olanları değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler Rohlf (2000) tarafından belirtilen NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.11, Exeter Software, Setauket, N.Y. USA) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir [40]. Öncelikle genotipler arasındaki Dice benzerlik hesaplanmıştır. Genetik benzerlikleri gösteren 162 x 162' lik bir matriks oluşturulmuştur (Ek 5). Bu genetik benzerlik matriksi daha sonra UPGMA yöntemiyle kümeleme amacıyla kullanılmıştır.

Dendogramların benzerlik matriksini ne ölçüde temsil ettiği Mantel Matriks Uyum Testi (Mantel's matrix correspondence test) ile belirlenmiştir. Bu test sonucunda kofenetik korelasyon katsayısı (cophenetic correlation coefficient), "r" değeri elde edilmiştir [41]. Temel bileşen analizleri (Principle Component Analysis=PCA) de aynı benzerlik matriksi kullanılarak NTSYS programında yapılmıştır.

3.2.1 ISSR Analizleri Sonucu Elde Edilen Benzerlik İndeksinin Değerlendirilmesi

Öncelikle genotipler arasındaki benzerlik indeksi NTSYS paket programında Dice metodu kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen benzerlik indeks değerleri Ek 5' de sunulmuştur. Toplam 162 genotip arasındaki benzerlik indeks değeri 0.24 ile 0.98 arasında değişmiştir.

Benzerlik indeksi açısından birbirine en yakın genotipler 0.98 benzerlik indeksi değerinde 78 ile 81 numaralı genotiplerdir.

0.95 benzerlik indeksi değerinde yakın olanlar 6 ile 7, 4 ile 15, 34 ile 40, 56 ile 58, 34 ile 71, 69 ile 71, 81 ile 82, 67 ile 106 numaralı genotiplerdir.

0.94 benzerlik indeksi değerinde yakın olanlar 4 ile 40; 21 ile 22; 34 ile 36; 34 ile 77; 81 ile 22; 28 ve 53; 55 ile 56; 30 ile 83; 78 ile 85; 71 ile 92 ve 93; 94 ile 34 ve 69; 109 ile 46; 89 ile 122; 122 ile 123; 131 ile 132; 21 ile 22 ve 67; 67 ile 34; 69 ile 55 numaralı genotiplerdir.

Genetik olarak birbirine en uzak genotipler ise 0.24 benzerlik indeksi değerinde 161 numaralı genotip olan çavdar ve 162 numaralı genotip olan arpadır. Ayrıca 0.32 benzerlik indeksi değerinde çavdar örneği ile yerel çeşitlerden 24 numaralı genotip genetik olarak birbirine uzak çıkan diğer genotipler olmuştur.

Çalışmanın büyük çoğunluğunu oluşturan yerel çeşitler arasındaki benzerlik indeksi değerleri 0.70 ile 0.98 arasında değişmiştir. Çalışılan yerel çeşitler arasındaki benzerlik değerleri çeşitler arasındaki genetik çeşitliliğin çokta düşük olmadığını göstermektedir.

3.2.2. ISSR Analizleri Sonucu Elde Edilen UPGMA Dendogramının Değerlendirilmesi

Dice benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendogram (Şekil 2.71.) elde edilmiştir. ISSR analizleri sonucunda benzerlik indeksleri ile dendogram arasındaki kofenetik korelasyon katsayısı 0.96 olarak tespit edilmiştir. Mohammadi ve Prasanna (2003), bu katsayının 0.9 değerine eşit ve büyük olması halinde elde edilen dendogramın benzerlik indeksini çok iyi temsil ettiğini bildirmiştir [42].

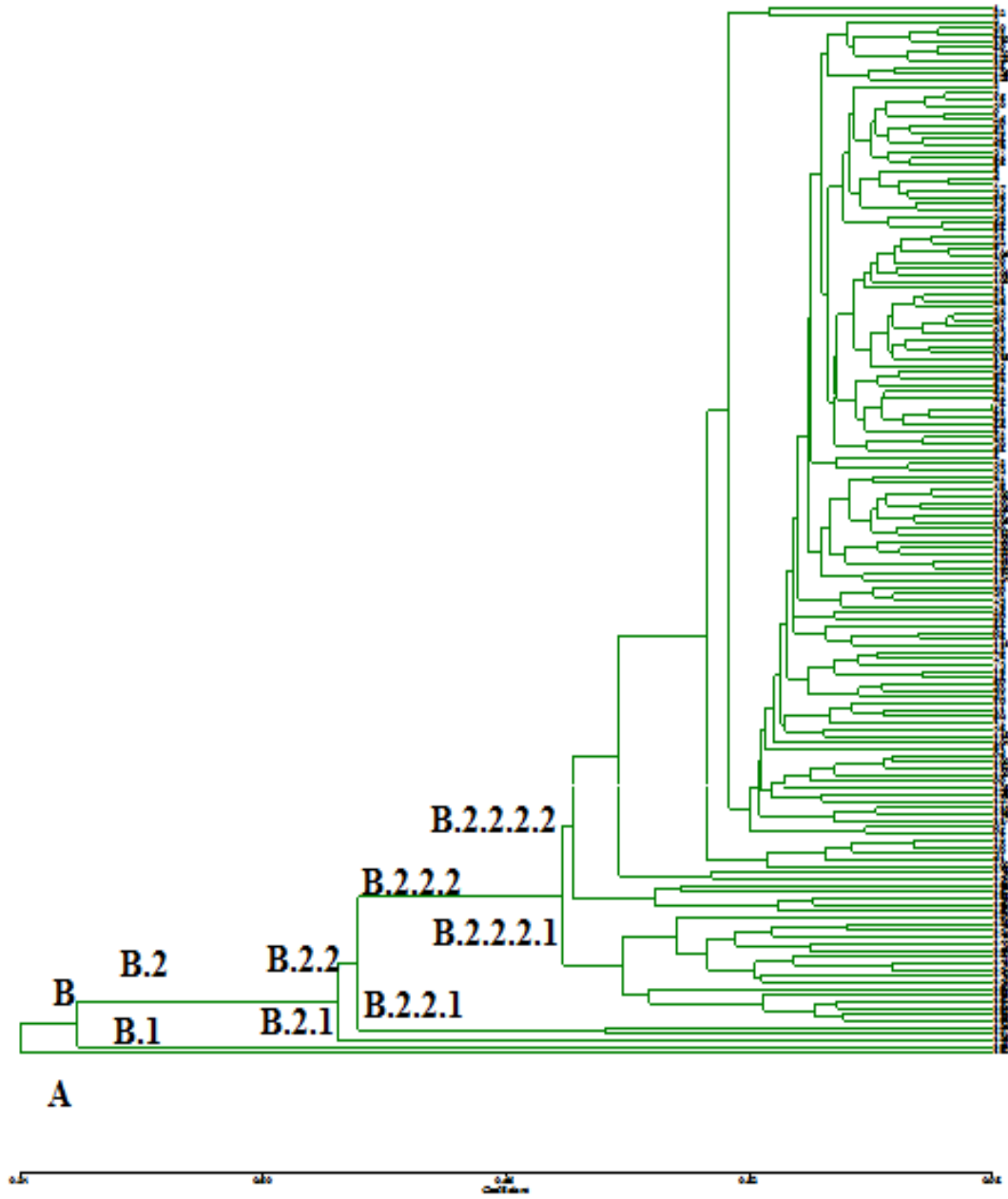
UPGMA dendogramı incelendiğinde, 162 adet genotipin genetik benzerlik düzeyinin 0.66 ortalama ile 0.34 -0.98 arasında değiştiği ve temelde iki grup olduğu (A ve B) görülmüştür. Birinci grupta (A) yer alan arpa aynı zamanda dış grup olarak 0.34 benzerlik düzeyinde ikinci grup (B)'den ayrılmıştır.

İkinci grup (B), 161 adet genotip içermekle birlikte 0.38 benzerlik düzeyinde iki alt gruba (B.1 ve B.2) ayrılmıştır. B.1 grubundan 161 numaralı genotip olan çavdar bulunurken B.2 grubunda diğer 160 adet buğday genotipi bulunmaktadır. B.2 grubunda ise 0.56 düzeyinde iki alt gruba (B.2.1 ve B.2.2) ayrılmıştır. B.2.1 alt grubunda 135 numaralı tetraploid genotip olan *Triticum araraticum* yer almıştır.

B.2.2 alt grubu 0.58 benzerlik seviyesinde iki alt gruba (B.2.2.1 ve B.2.2.2) ayrılmıştır. B.2.2.1 alt grubu 0.74 benzerlik düzeyinde diploid *Triticum boeoticum* türüne ait 136 ve 137 numaralı genotipleri kapsamıştır. B.2.2.2 alt grubu ise 157 genotipi içermekle birlikte 0.70 benzerlik düzeyinde iki gruba (B.2.2.2.1 ve B.2.2.2.2) daha ayrılmıştır. B.2.2.2.1 alt grubu 0.74 benzerlik düzeyinde tamamı farklı buğday türü veya farklı

coğrafyadan buğday örneklerinin bulunduğu tetraploid 17 genotipi içermektedir. B.2.2.2.2 alt grubu ise 0.72 benzerlik seviyesinde iki gruba daha ayrılmış bir grubun tamamı hekzaploid Azeri orijinli *T. aestivum* buğday örneklerinden oluşan 5 genotipi içerirken diğer grup hekzaploid Gürcistan orijinli *T. spelta* buğday örnekleriyle birlikte bütün yerel çeşitleri de kapsamıştır. Hekzaploid *T. spelta* buğday türleri de 0.78 benzerlik seviyesinde diğer yerel çeşitlerden ayrılmıştır.

Dendogramdan elde edilen veriler göz önüne alındığında buğday genotiplerinin türler bazında gruplandığı ve yerel çeşitlerden olan aynı şehir örneklerinin aynı gruplanmaması Türkiye içinde coğrafi orijinlerin grupların oluşmasında etkili olmadığı belirlenmiştir. Öte yandan Azeri *T. aestivum* örnekleri Türkiye *T. aestivum* örneklerinden farklı olarak bir arada kümeleştikleri görülmüştür. Bu da kümeleşmede coğrafi etkeninde önemli olduğunu göstermektedir. Azeri *T. aestivum* örneklerinin Türk yerel çeşitlerine daha yakın olmaları beklenirken *T. spelta* örneklerinin yerel çeşitlere daha yakın olduğu görülmüştür. *T. spelta* örnekleri Azeri *T. aestivum* örnekleri ile yerel çeşitler arasında yer almıştır.



Şekil 2.71. ISSR analizi sonucu elde edilen UPGMA dendrogramı

3.2.3. ISSR Verileriyle Yapılan Temel Bileşenler Analizinin (Principal Component Analysis = PCA) Değerlendirilmesi

Buğday genotiplerinin uzaysal dağılımını belirlemek için temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır. Temel bileşenler analizinde kümeleme (Cluster) analizlerinde kullanılan benzerlik matrisinden yararlanılmış ayrıca iki boyutlu dağılım grafiği NTSYS programında oluşturulmuştur (Şekil 2.72.). Sonuçlara göre genotipler arasında 3 ayrı küme (A,B ve C) tespit edilmiştir.

A kümesinde bütün yerli buğday ve bir tane Gürcistan örneği olan *Triticum spelta alefeldii*'den oluşan 134 genotip (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 149) bulunmaktadır.

Bu genotiplerin aynı küme içerisinde yer almaları ve çok yakın gruplanmaları aralarındaki genetik varyasyonun düşük olmasından kaynaklanmaktadır. İkinci küme B ise *Triticum dicoccoides*, *Triticum dicoccoides aaronsohnii*, *Triticum dicoccum dicoccum*, *Triticum dicoccum rufum*, *Triticum dicoccum atratum*, *Triticum turgidum megalopolitanum*, *Triticum turanicum insigne*, *Triticum persicum rubiginosum*, *Triticum persicum stramineum*, *Triticum spelta arduini*, *Triticum spelta alefeldii*, *Triticum durum var. leucurum*, *Triticum durum var. apulicum*, *Triticum aestivum var. graecum*, *Triticum aestivum var. erythrospermum*, *Triticum aestivum var. ferrugineum* (134, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160) içeren tetraploid ve hekzaploid 23 genotipten oluşmuştur. Üçüncü küme C ise tetraploid *Triticum araraticum*, diploid *Triticum boeoticum*, çavdar ve arpadan (135, 136, 137, 161, 162) 5 genotipten oluşmuştur.

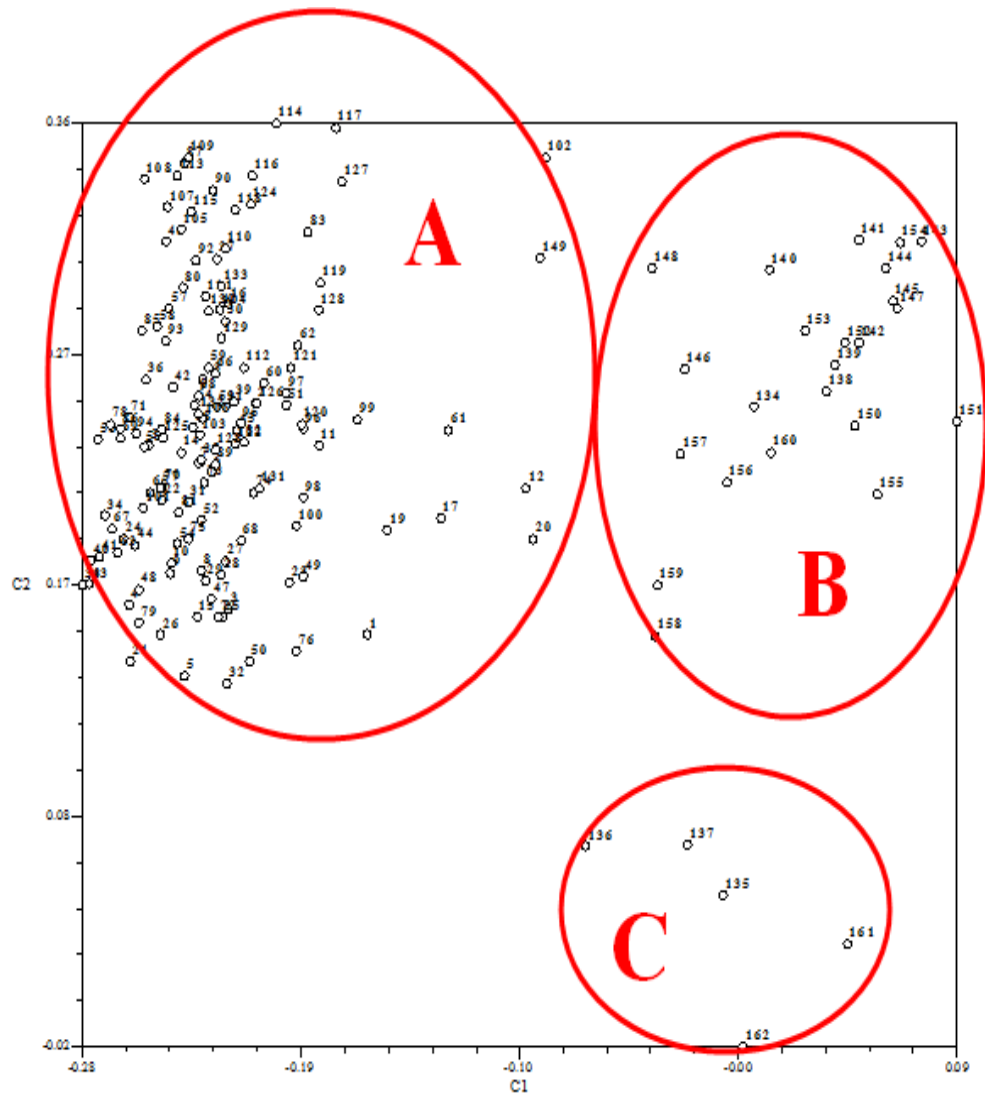
PCA analizinde toplam varyasyonun % 25 ve daha fazlası, ilk 2 ve 3 eksen tarafından açıklanabilirse yapılan küme analizi daha güvenilir olmaktadır [42].

Temel bileşenler analizinde iki boyutlu ve üç boyutlu grafikler için kümülatif olarak ilk üç eigen değerinin toplamı 25.7 tespit edilmiştir ve bu değer toplam varyasyonun % 25.7'sini açıklamıştır ki bu da kümeleme analizinin güvenilirliğini göstermektedir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Eigen Değerleri

	Eigen Değeri	Yüzde	Kümülatif
1	1.63538972	14.5408	14.5408
2	0.67892979	6.0366	20.5774
3	0.57664549	5.1271	25.7045

Temel bileşenler sonucu elde edilen bilgiler genotiplerin Türkiye içinde coğrafi orijinlerinin gruplama için kaynak teşkil etmediğini, fakat Azeri örneklerin ayrışmasının ise coğrafik orijinin kümelenme de önemli olduğunu göstermektedir. Çalışmada yer alan genotiplerin dağılımında türlerin etkili olduğunu ve *Triticum aestivum* türüne ait olan yerel çeşitlerin birlikte gruplandıkları net olarak görülmektedir.



Şekil 2.72. ISSR verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu elde edilen iki boyutlu grafik

3.2.4. ISSR Verileri İle Elde Edilen Korelasyona ve Dice indeksine Dayalı Markır Dendogramının Değerlendirilmesi

Korelasyona ve Dice benzerlik katsayılarına dayalı her iki markır dendogramında da markırlar benzer bir dallanma göstermektedir (Şekil 2.73. ve Şekil 2.74.). Her iki dendogramda da ayrılmayan markır grupları şunlardır;

1. grup: UBC815.650, UBC815.1100, UBC818.1100, ISSR28.1100, UBC818.1500, UBC818.3000, UBC835.350, ISSR28.1700, UBC835.590, UBC835.800, UBC843.1600, ISSR16.2200

2.grup: UBC818.400, UBC823.590

3.grup: UBC815.620, UBC835.460, UBC835.1600, ISSR16.680, ISSR16.720, ISSR16.1400, ISSR28.430

4.grup: UBC811.500, UBC811.1250, ISSR16.1600

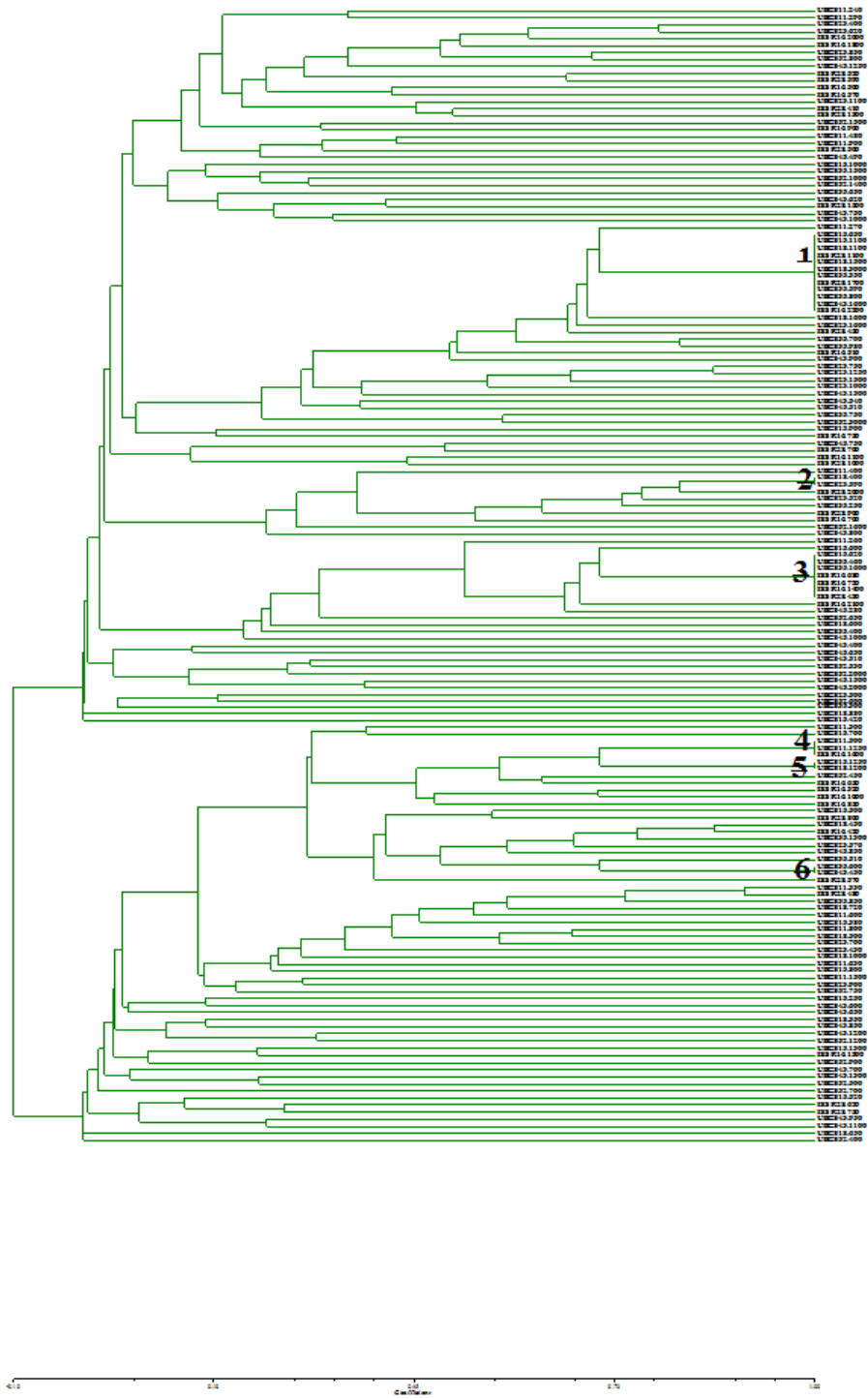
5. grup: UBC815.1250, UBC818.1200

6.grup: UBC835.600, UBC843.450

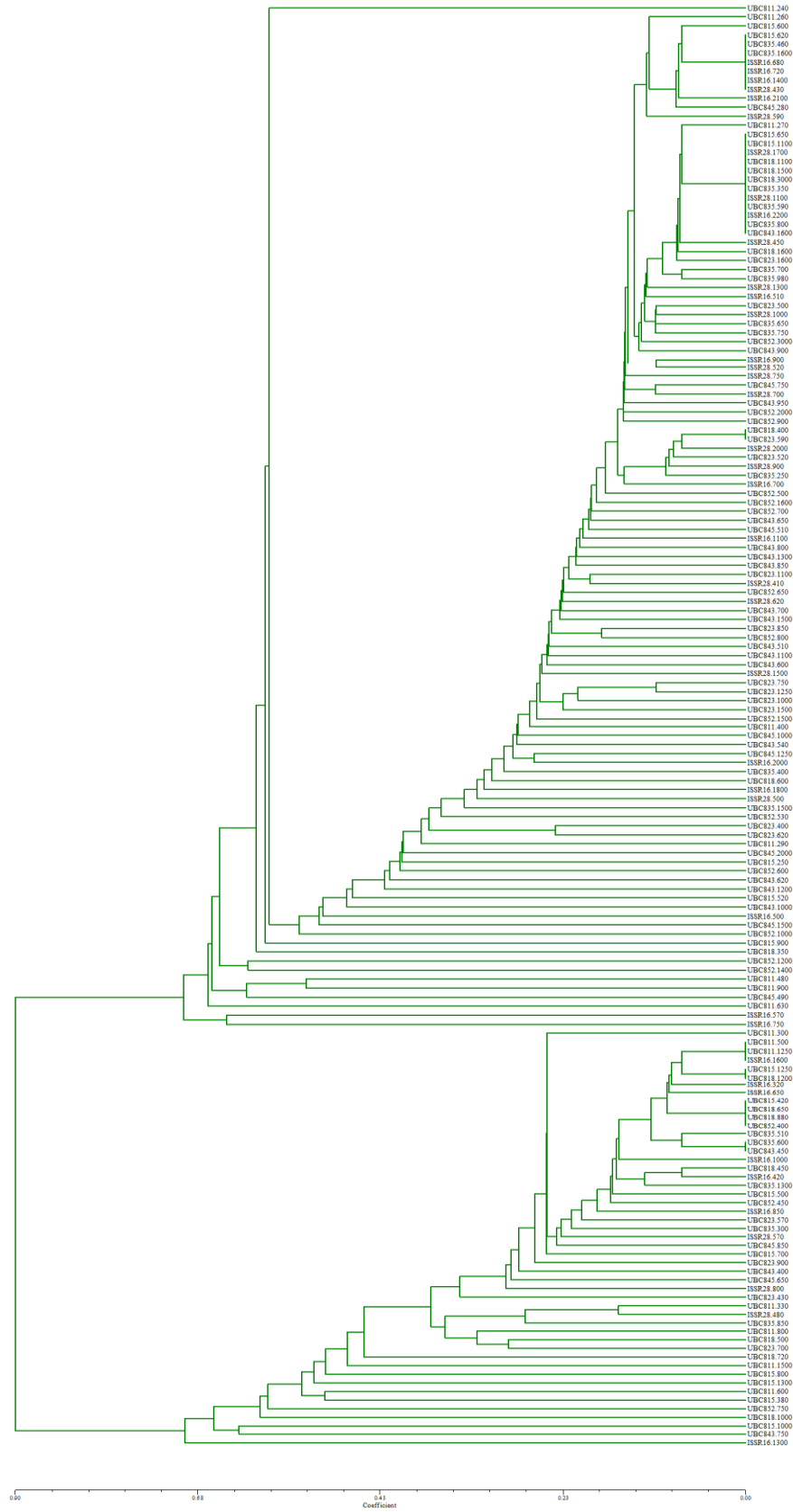
Bu 6 grupta grup içinde markırlar arasında yüksek korelasyon (1.00) gözlenmiştir. Her iki dendogram için aynı grupta birbirinden ayrılmayan bu markırlar muhtemelen kromozomun aynı bölgesinden gelmektedir ve birbiriyle bağlantı halindedirler, dolayısıyla dendogramın geneline bakıldığında toplam 28 adet bağlantı halinde birbirinden ayrılmamış markır gözlenmektedir.

Ayrılmayan bu gruplardan temsil etmesi için birer markır seçilecek olursa markır sayısı 163'ten 141' e düşmektedir ve bu 141 markır kullanılsa dahi aynı sonuçlar elde edilebilecektir. Korelasyona dayalı markır dendogramında (Şekil 2.74.) indeks değeri -0.10 ile 1.00 arasında (ortalama 0.45) değişmektedir. Temelde markır korelasyonu açısından 2 ana grup oluştuğu görülmektedir. 1. ana grupta 103, 2. ana grupta 60 markır yer almıştır.

ISSR markırları arasındaki bağlantı eşitsizliğinin (linkage disequilibrium) bir göstergesi olarak korelasyon tahmini -0.10 ile 1.00 arasında (ortalama 0.45) değişmektedir. Dice indeksine dayalı olarak oluşturulan markır dendogramı incelendiğinde (Şekil 2.75.) 163 adet markırın benzerlik seviyesinin 0.00 ile 0.90 arasında ortalama(0.45) değişmiştir ve temelde iki grup oluşturmuştur. Bir grupta 110 markır bulunurken diğer grupta 53 markır gruplanmıştır.



Şekil 2.73. Korelasyon benzerlik indeksine göre markır dendogramı

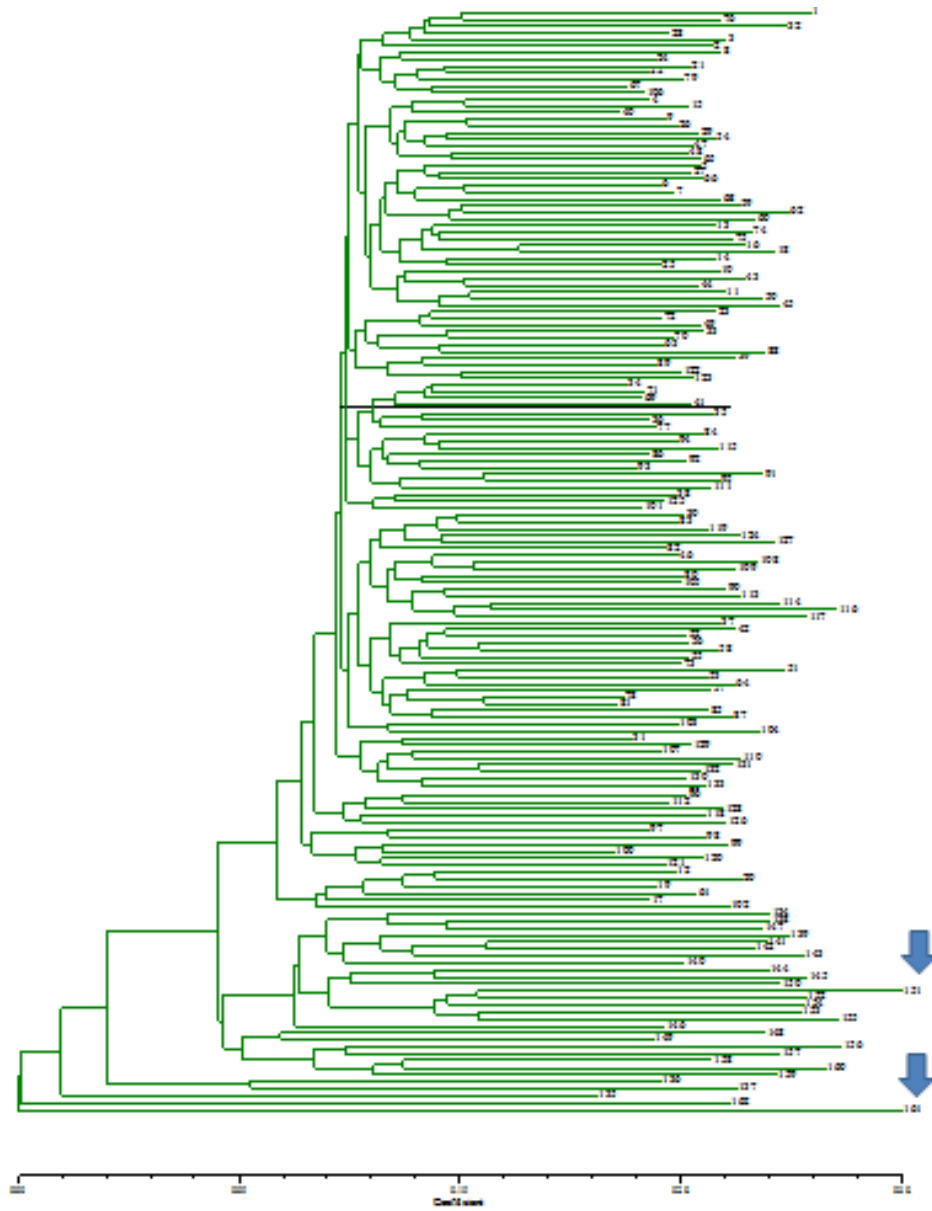


Şekil 2.74. Dice benzerlik indeksine göre markır dendogramı

3.2.5. ISSR verileri ile farklılık (dissimilarite) matrisine göre yapılan Neighbour-joining dendogramının değerlendirilmesi

Genotipler arasındaki uzaklığı, benzememezlik durumunu ortaya çıkarmak için farklılık matrisi kullanılarak NTSYS programı ile Neighbour-joining dendogramı elde edilmiştir (Şekil 2.75.).

Dendogramın farklılık matris değeri 0.00 ile 0.38 arasında değişmiştir. Dendogram incelendiğinde türler arası genetik uzaklığı belirgin bir şekilde yansıtmakta olup 0.00 indeksi değerinde iki ana gruba ayrılmaktadır. Birinci ana grupta 161 numaralı genotip olan çavdar varken, ikinci ana grupta ise diğer 161 adet genotip bulunmaktadır. Dendogram 0.001 indeksinde yeniden iki gruba ayrılmış ve bir grupta 162 numaralı arpa varken diğer grupta diğer 160 adet genotip bulunmaktadır. 0.01 indeksinde dendogram yine iki gruba ayrılmış bir grupta 135 numaralı İran orjinli tetraploid *Triticum araraticum* varken diğer grupta 159 genotip bulunmaktadır. 0.38 indeksinde 151 numaralı tetraploid *Triticum durum var. leucurum* ile 161 numaralı çavdar birbirine en uzak genotipler olmuştur.

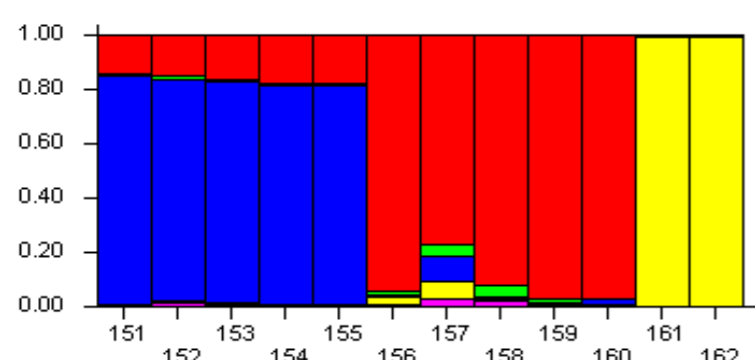
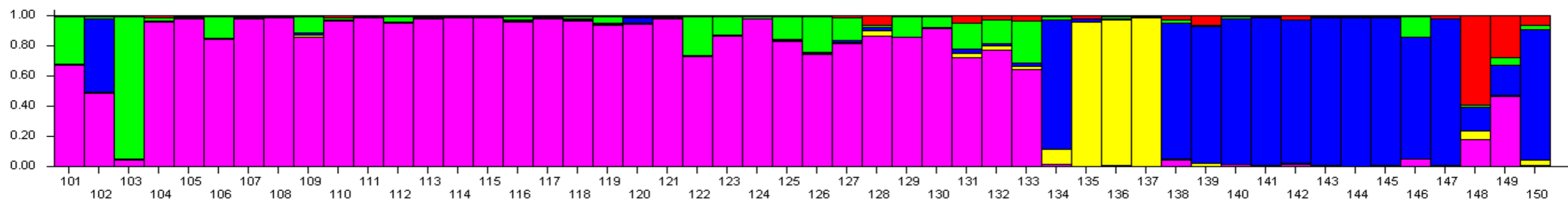
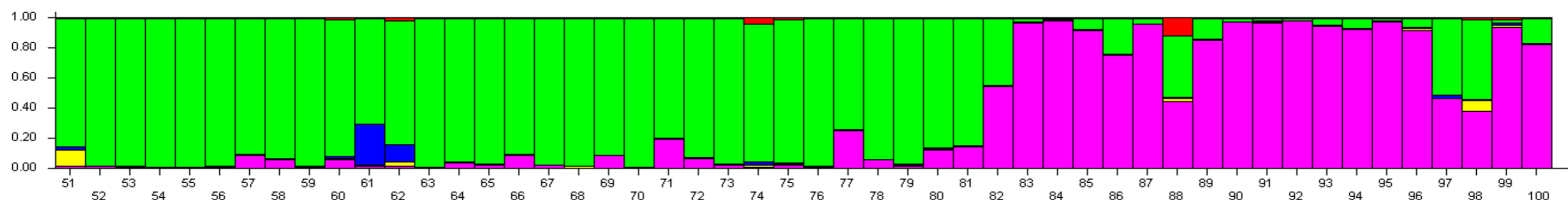
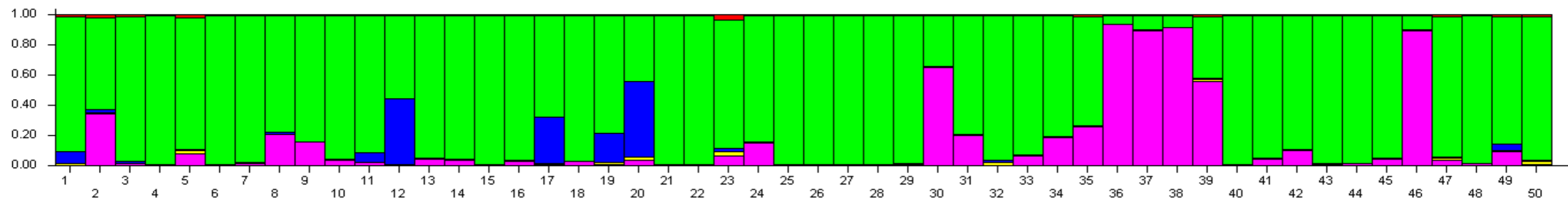


Şekil 2.75. ISSR verileri ile farklılık matrisine göre yapılan Neighbour-joining dendrogramı

3.3. ISSR Verileri İle Yapılan AMOVA (Moleküler Varyans Analizi) Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Genetik çeşitliliği farklı hiyerarşik düzeylerde (gruplar arası, popülasyonlar arası, popülasyon içi) incelemek amacıyla AMOVA analizleri yapılmıştır. AMOVA moleküler verileri kullanarak popülasyonlar arasındaki farklılaşmayı tahmin etmektedir.

Analizler Arlequin 3.5 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta moleküler varyans analizi için popülasyona ait bireylerin gruplanması amacıyla Structure testinden elde edilen verilere göre genotipler arasında 1-Popülasyon 1, 2-Popülasyon2, 3-Popülasyon3, 4-Popülasyon4 ve 5-Popülasyon5 olmak üzere 5 adet popülasyon tanımlanmış ve bu 5 popülasyon daha sonra yerel ve yabancı genotipleri temsil etmek üzere 2 grup halinde sınıflandırılmıştır (2.76.)



Grup 1 yerel çeşitlerden (Popülasyon1 ve Popülasyon2) Grup 2 ise (Popülasyon3, Popülasyon4 ve Popülasyon5) diğer çeşitlerden oluşturulmuştur. Standart AMOVA testi için 163 lokustan kullanılabilir toplam 159 lokus bulunmuştur. Anlamlılık testlerinde tüm analizler için permütasyon sayısı 10000 olarak belirlenmiştir. Standart AMOVA ile gruplar arasında % 25.37, gruplar içinde popülasyonlar arasında % 13.96, popülasyonlar içinde % 60.67 varyasyon oranı tespit edilmiştir.

Tablo 3.3. AMOVA analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi(d.f.)	Kareler Toplamı	Varyans Bileşenleri	Varyasyon Oranı
Gruplar arasında	1	229.493	3.65896 Va	25.37
Gruplar içinde popülasyonlar arasında	3	188.473	2.01354 Vb	13.96
Popülasyonlar içinde	157	1373.707	8.74973 Vc	60.67
Toplam	161	1791.673	14.42222	

Arlequin tarafından hesaplanan Fiksasyon endeksi (FST) popülasyon farklılaşmasının bir ölçüsüdür. Popülasyon içi ikili farklılıkları tahmin etmek için kullanılır.

Fiksasyon Endeksleri:

FSC: gruplar içindeki popülasyonlar arası (P= 0.00000) FSC: 0.18708

FST: popülasyon içi (P= 0.00000) FST: 0.39332

FCT: gruplar arası (P= 0.09871) FCT: 0.25370

FST (popülasyon içi) $P=0.00000\pm 0.00000$ olarak hesaplanmıştır.($p<0.001$ için anlamlıdır). Popülasyonlar içi farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA SONUÇ ve ÖNERİLER

Bitki ıslahçılarının en büyük çabalarından birisi bitkilerin ürün potansiyellerini iyileştirmek için en uygun genotipleri belirlemektir. Buğday kültürvarlarının genetik çeşitliliğinin yüksek olması ürün potansiyeli yüksek biyotik ve abiyotik faktörlere dirençli yeni çeşitlerin geliştirilmesi için çok önemlidir. Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde yerel çeşitler ve buğdayın yabani ataları potansiyel olarak aranan gen kaynaklarını bulundurma potansiyeline sahiptirler. Bu yüzden ülkemizde bulunan yerel çeşitlerin genetik çeşitliliğinin moleküler seviyede belirlenmesi yeni kültürvarların ıslah edilmesinde büyük öneme sahiptir.

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde birçok çalışmada PZR temelli çok sayıda moleküler markır kullanılmıştır. Bunlar arasında SNP, SSR, ISSR, AFLP, RAPD sayılabilir [31,35,36,39]. Bu markırların kullanımlarını sınırlayan temel nedenler arasında RAPD için tekrarlanabilirliğin zayıf oluşu, AFLP ve SNP' in yüksek maliyetleri, SSR için dizi bilgisine ihtiyaç duyulması sayılabilir. ISSR markırları bu sınırlamaların çoğunu taşımamaktadır. Kolay uygulanabilirliği, güvenilir olması ve yüksek bilgi içeriği bu markırın bitkilerde genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanışlı olduğunu göstermektedir. ISSR genetik çeşitlilik, filogenetik analiz, gen etiketleme, gen haritalama çalışmalarında kullanılabilir. Yüksek yapışma sıcaklıklarının ve RAPD primerlerine göre daha uzun primerlerin kullanılması ISSR primerlerini daha tekrarlanabilir ve güvenilir yapmıştır.

Bu bağlamda, bu tez kapsamında Türkiye'deki farklı bölgeleri temsil eden yerel heksaploid buğday genotiplerinden 133 adet, bazı Azeri orijinli heksaploid buğday örnekleri ve farklı ploidi seviyelerinden az sayıda yabani buğday türlerini temsil eden örnekler arasındaki genetik ilişki basit tekrarlar arası dizileri çoğaltmak için dizayn

edilen ISSR markırları kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmada genotipler arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan 10 adet ISSR primerininin polimorfizm belirleme seviyelerinin oldukça yüksek (%91.68) olduğu belirlenmiştir. Sofalian ve arkadaşları (2009) 33'ü yerel ve 6'sı kuzeybatı İran'dan ıslah edilmiş olmak üzere toplam 39 buğdayda genetik çeşitliliği belirlemek için 15 ISSR primeri kullandıkları çalışmada 129 bant skorlamış ve bu bantların 106'sının (%82.2) polimorfik olduğunu göstermişlerdir. Diğer markırların aksine, ISSR markırları ile yerel çeşitlerde daha yüksek polimorfizm tespit edilmiştir [43]. Bu çalışmada ise daha az sayıda primer kullanılarak daha yüksek polimorfizm oranı (% 91.68) tespit edilmiştir. Çalışmanın büyük çoğunluğunu oluşturan yerel çeşitler arasındaki benzerlik indeksi değerleri 0.70 ile 0.98 arasında değişmiş olup yerel çeşitler arasındaki genetik çeşitliliğin küçümsenemeyecek düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

Khan ve arkadaşları (2015) Hindistan ve Türkiye orijinli buğdaylarda ISSR ve RAPD markırı kullanarak yaptıkları bir genetik çeşitlilik ve popülasyon analizi çalışmasında 95 hekzaploid ve tetraploid buğday genotipi kullanmışlardır. Onların çalışmalarında da hekzaploid ve tetraploid genotipler belirgin bir şekilde ayrılmıştır. Ayrıca grupların ayrışmasında coğrafyada önemli olmuş, Hindistan ve Türk buğdayları ayrı ayrı kümelenmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Azeri ve Türk buğdayları ayrı ayrı kümelenmiştir [44].

Sing ve Jaiswal (2016) yine 10 ISSR primeri kullanarak 50 hekzaploid buğday aksesyonunda yaptıkları bir genetik çeşitlilik çalışmasında 0.41 il2 0.89 oranında değişen oranlarda genetik çeşitlilik tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar da ISSR markırınının buğdayda tür içi ve türler arası genetik çeşitliliği tespit etmede çok etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bizim bu çalışmamızda da aynı doğrultuda sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte onların çalışmalarında lokus başına 3 allel tespit edilmişken bizim çalışmamızda yaklaşık 5 katı allel tespit edilmiş bulunmaktadır [45].

Chaudhary ve arkadaşları (2016) yaptıkları bir çalışmada 10 buğday varyetesinde 10 ISSR primeri kullanarak genotipler arasında 0.63 ile 0.86 arasında değişen oranlarda benzerlik elde etmişlerdir. Ayrıca 10 ISSR primeri % 93 oranında polimorfik bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla büyük oranda korelasyon göstermektedir [46].

El-Assal ve arkadaşları (2012), Saudi ve Mısır buğdaylarının karşılaştırdıkları bir çalışmada genetik çeşitliliği tespit etmek için 10 RAPD, 10 ISSR ve 4 SSR primeri kullanmışlardır. Bunlar arasından 6 RAPD, 8 ISSR ve 2 SSR skorlanabilir bant üretmiştir. Primer başına düşen allel sayısı ortalama 14 olup 8 ile 21 arasında değişmiştir. ISSR primerleri ise ortalama 8.8 allel üretmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarla tam bir paralellik göstermektedir [47].

Najaphy ve arkadaşları (2017) 30 buğday aksesyonunda genetik çeşitliliği ortaya koydukları çalışmalarında 10 ISSR primeri kullanmışlar ürettikleri bantlar %80 oranında polimorfik bulunmuştur. Genetik benzerlik oranları 0.48 ile 0.98 arasında değişmiştir. Genetik benzerlik oranları bizim elde ettiğimiz sonuçlarla büyük oranda uyum göstermektedir [48].

Azerbaycan buğdaylarındaki genetik çeşitliliği ortaya çıkarmak için Trainejad (2013) 6 farklı buğday popülasyonunda 10 ISSR primeri kullanarak bir çalışma yürütmüştür. On banttan yedisinde amplifikasyon görülmüş olup primer başına ortalama 8 bant elde etmiştir. Moleküler varyans analizi, popülasyonlar arasında % 7 popülasyon içinde % 93 polimorfizm olduğunu göstermiştir. Bu değerler bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan daha yüksektir [49].

ISSR'ın aynı zamanda kültüvar belirlenmesinde de kullanılabileceği Son ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları bir çalışmada gösterilmiştir. Kültüvara özgü ISSR geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada 54 ISSR primeri kullanmışlardır. Bu 54 ISSR primerinden 9 tanesiyle 32 kültüvarla yapılan çalışmada kültüvara özgü 16 fragment elde edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca kültüvara özgü 6 tane yeni fragment belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ıslaha temel teşkil edecek genetik çeşitlilik çalışmalarında ISSR'ın güçlü ve güvenilir bir markır sistemi olduğunu teyit etmiştir [50].

Motawei ve arkadaşları (2007) 12 buğday hattı ve 2 buğday kültüvarı (Yecora Rojo ve West Bread) arasındaki ısıya toleransı farklı olan buğdaylarda genetik çeşitliliği belirlemek için RAPD ve ISSR markırını kullanmışlardır. RAPD analizinde 42 bandın 31' i (%71) polimorfikken ISSR analizinde 28 bandın 19' unu (% 67.8) polimorfik bulmuşlardır. Yaptıkları UPGMA dendrogramlarında RAPD ve ISSR'ın bulunduğu kombine dendrogramların, yalnız RAPD ve ISSR kullanılarak oluşturulan

dendrogramlardan daha iyi ayırt ettiğini görmüşlerdir. Temelde 2 gruba ayrılan dendrogramda bir grup ısıya toleranslı hatları içerirken diğer grup ısıya duyarlı hatları içermiştir. Böylece RAPD ve ISSR markırlarının buğdaydaki çeşitli uygulamalarda oldukça kullanışlı olduğunu ispatlamışlardır [51].

Temel bileşenler analizi sonucu elde edilen iki boyutlu grafik, çalışmada yer alan genotiplerin dağılımında genel olarak türlerin etkili olduğu, sonuç olarak ISSR analizleri verileriyle elde edilen iki boyutlu grafik tüm *Triticum aestivum* türüne ait buğdayların yabancı buğday genotiplerinden ve çavdar ile arpadan genetik olarak farklı olduğunu ortaya koymuştur.

Genetik çeşitliliği farklı hiyerarşik düzeylerde (gruplar arası, popülasyonlar arası, popülasyon içi) incelemek amacıyla tanımlanan 5 popülasyonda yapılan AMOVA (moleküler varyans analizi) analizleri sonucu, gruplar arasında % 25.37, grup içinde popülasyonlar arasında % 13.96, popülasyonlar içinde % 60.67 varyasyon oranı tespit edilmiştir (Tablo 3.3.). Gruplar arasında bulunan varyasyon önemli derecede yüksektir.

Pasqualone ve arkadaşları (2000), 30 İtalyan makarnalık buğday kültürü ve 22 ıslah hattından oluşan bir seti ayırmak için ISSR primerinin etkinliğini test ettikleri çalışmada, 9 ISSR primeri kullanmışlardır. Primerlerden dördünde amplifiye olmuş bant yokken 5 primerde amplifikasyon olmuştur. Bu 5 primerdeki polimorfik bant oranları % 12.5 - 37.8 arasında değişmiştir. 2 primerin etkinliğini çok yüksek bulmuşlar ve bu primerlerin 52 buğdayı ayırt etmede yeterli olduğunu bildirmişlerdir [52].

Sofalian ve arkadaşları (2013) bazı arpa kültürleri arasındaki genetik çeşitliliği incelemişler, ISSR markırı ve donmaya karşı dirençle ilişkili fizyolojik özellikleriyle bu markır lokusunun ilişkisi kullanarak yaptıkları çalışmada arazi ve sera şartlarında 20 arpa genotipi belirlemişlerdir. Kullanılan 10 ISSR primerinden 9'unu polimorfik bulmuşlardır. Bu dokuz primerden her bir primer için ortalama 6.78 bant ile toplam 61 bant tespit etmişlerdir. 61 bantın 50'sini polimorfik 11'ini monomorfik bulmuşlardır. Polimorfizm oranı ortalama % 82.29 olmak üzere % 62.5 - 100 arasında değişmiştir. FSI (Field Survival Index)' ya göre ISSR markırıyla % 94 varyasyon belirlemişlerdir. Böylece ISSR markırlarının donmaya karşı toleransı tespit etmek amacıyla kullanılabilir bir markır olduğu sonucuna varmışlardır [53].

Deshmukh ve arkadaşları (2012) 14 RAPD ve 90 ISSR markırını kullanarak yaptıkları çalışmada kuraklığa tolerans özelliği ile ilgili sulanan ve yağmurlu alanlardaki buğday kültürvarları arasındaki mevcut genetik çeşitliliği analiz etmeyi amaçlamışlardır. 5 kuraklığa hassas ve 7 kuraklığa toleranslı kültürvarı moleküler analiz için seçmişlerdir. RAPD markırlarından 1 tanesi % 18.6 polimorfizm oranı ile kuraklığa toleranslı ve hassas olan genotipleri ayırmıştır. Kullanılan 90 ISSR markırınının 3 tanesi % 21.38 polimorfizm oranı ile kuraklığa tolerans ile ilişkili bulunmuştur [54].

Qian ve arkadaşları (2001) Çin’ de Yunnan ve Hainan olarak iki gruba ayrılan ve 20 *Oryza granulata* örneğinden oluşan beş popülasyonla yaptıkları çalışmada RAPD ve ISSR primerlerini kullanmışlardır. Kullanılan 20 RAPD primerinde 199 bantın 61’ inde (% 30.65) polimorfik bant ve 12 ISSR primerinde 113 bandın 52’ sini (46.02) polimorfik bulmuşlardır. ISSR primerinin beş popülasyondaki polimorfizm oranı RAPD’ den daha yüksek olmasına rağmen her iki primerin de genetik çeşitliliği belirlemede düşük seviyede olduğunu ortaya çıkarmışlardır [55].

Ammiraju ve arkadaşları (2001) heksaploid buğdaydaki tohum ağırlığının ISSR markırı ile ilişkisini belirlemede ağır tohumlu çavdar ve hafif tohumlu Chinese Spring arasındaki çaprazlamadan oluşan tek tohumu köken alan metodla geliştirilen 113 rekombinant kendilenmiş hat (RILs) kullanılarak test ettikleri çalışmada 10 ISSR primeri kullanmışlardır. Markırlardan 3 tanesinin gen etkisi ile hafif tohum boyutu arasındaki ilişki % 14,8 , % 9.5 ve % 6 olurken 4 markırın % 8 , % 4.6 , % 2.92 ve % 2.61 oranla ağır tohum boyutuyla bağlantılı olduğunu ve birlikte tohum boyutunda fenotipik varyasyona % 31’ lik katkı sağladığını bulmuşlardır. Nulli- tetrasomik ve ditelosomik analizde üç kromozomda sırasıyla 6 BL, 2 DL ve 1 DS QTL (Quantitative trait loci) bağlantılı hafif tohum boyutuyla ilişkili üç markırın varlığını ortaya çıkarmışlardır. Çalışmalarında ISSR markırınının tarımsal olarak önemli özellikleri kontrol eden major ve minor genlerle ilişkisini açıkça göstermişlerdir [56].

Ben El Maati ve arkadaşları (2004) basit ve radyoaktif olmayan bir metod geliştirmek ve bilinen 28 buğday çeşidi arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için ISSR primerlerini kullanmışlardır. Dinükleotid sekansa sahip 6 ISSR primeri polimorfizmi ortaya çıkarmıştır. Analiz edilen 28 örnekten 27’ sini farklı genotip ve birini de Jauda ve Sais (sinonim) in kültürvarı olarak tanımlamışlardır. UPGMA dendrogramı oluşturmuşlar ve coğrafik kökenle ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır [57].

Blair ve arkadaşları (1999) pirinç kültürvarları arasındaki genetik çeşitliliği değerlendirmek ve pirinç genomundaki mikrosatellit motif sıklığını analiz etmek için ISSR primerlerini kullandıkları çalışmada, farklı SSR motifleri içeren toplam 32 primerle, kültüre alınan 59 pirinci amplifikasyon için test etmişlerdir. ISSR analizi ile pirinçte farklı SSR'ların polimorfizm organizasyonu, sıklığı ve seviyesi hakkında bilgiler edinmişlerdir. ISSR analizi için yaygın olan dinükleotid motifleri, seyrek olan diğer motiflerden daha uygun bulmuşlardır. ISSR amplifikasyon örneklerini kümeleme analiziyle pirinç genotiplerini gruplandırmada kullanmışlardır. Bu sonuçları da AFLP, RFLP ve izoenzim markırlar için aynı çeşitlerin incelenmesinde kullanmışlardır. ISSR parmak izinin kültüre alınmış pirinçlerin alttürlerinin (Japonica ya da Indica'ya ait) genotiplerini ayırt etmek için ve her alttürün çeşitliliğini hassas bir seviyede incelemek için kullanmışlardır. ISSR tekniği AFLP ve benzer PZR tabanlı tekniklerden daha yüksek polimorfizm yüzdesi sağlamıştır. Böylece ISSR'ın pirinç çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek ve kültürvarları hızlı bir şekilde tanımlamak için değerli bir yöntem olduğunu kanıtlamışlardır. Bu etkili genetik parmak izi tekniğinin, ulusal ve uluslararası germplazm merkezlerinde tutulan çok sayıda pirinci karakterize etmek için kullanışlı olabileceğini göstermişlerdir [58].

Farklı ülkelerden elde edilen buğday genotiplerinin ilişkilerinin karşılaştırılması genotiplerdeki değişimlerin anlaşılmasında önemli olurken, ıslah çalışmalarında kullanılacak değerli veriler de üretmektedir.

Buğdaylar üzerinde yapılan polimorfizm belirleme çalışmaları ile kıyaslandığında, basit tekrarlı diziler arası polimorfizmi (ISSR) markırlarının buğdaylarda polimorfizm belirlemede diğer markır sistemlerine göre daha kullanışlı olduğunu göstermektedir. Alınan sonuçlar ISSR markır sisteminin buğday çeşitlerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesinde etkin bir yöntem olduğunu göstermiştir. Elde edilen veriler, buğdaylarda genetik çeşitlilik konusunda yapılacak çalışmalarda yol gösterici olacaktır. Çalışmada kullanılan çeşitlerin genetik olarak farklılığını daha etkin tespit edebilecek nitelikte moleküler markırların geliştirilmesi, gelecekte planlanan ıslah çalışmalarında daha fazla yarar sağlayacaktır.

Sonuç olarak genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi ve uygun genotiplerin belirlenmesi bitkilerin gen havuzlarının zenginleştirilmesi ve ıslah programlarına önemli katkıda bulunmaktadır. Bu çalışma Azeri ve Türk buğdayları arasındaki genetik ilişkinin

anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Öte yandan farklı ploidi seviyelerine sahip buğdayların, kültür buğdayları ile onların progenitorları olan yabani buğdaylar arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılmasına da katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Demirbař, H., Dursun, İ., 2007. Buğday tanelerinin bazı fiziksel özelliklerinin görüntü işleme tekniğiyle belirlenmesi. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 13 (3): 176-185.
2. El-Assal, S., Gaber, A., 2012. Discrimination capacity of rapd, ıssr and sssr markers and of their effectiveness in establishing genetic relationship and diversity among egyptian and saudi wheat cultivars. **American Journal of Applied Sciences**, 9 (5): 724-735.
3. Bagge, M., Xia, X., Lübberstedt, T.,2007. Functional markers in wheat. **Current Opinion in Plant Biology**, 10: 211–216
4. Charmet, G., 2011. Wheat domestication: lessonsforthefuture. **Comptes Rendus Biologies**, 9.
5. Janda, J., Bartoš, J., Šafář, J., Kubaláková, M., 2004. Construction of a subgenomic BAC library specific for chromosomes 1D, 4D and 6D of hexaploid wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, 109: 1337–1345.
6. Özçelik, A., Özer, O., 2006. Koyck modeliyle türkiye’de buğday üretimi ve fiyatı ilişkisinin analizi. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 12 (4): 333-339.
7. Aydoęan, S., Akçacık, A., Şahin, M., Kaya, Y. Ekmeklik buğday (T. aestivum) genotiplerinde verim ve bazı kalite özellikleri arasındaki ilişkiler. **Bahri Daędař Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü**.
8. Liu, S., Chao, S., Anderson, J.,2008. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, 118:177–183.
9. 2013 Yılı Hububat Sektör Raporu, 2014. **Toprak mahsülleri ofisi genel müdürlüğü**.
10. Haider, N.,2012. Evidence for the origin of the B genome of bread wheat based on chloroplast DNA. **Turk Journal Agriculture For** 36: 13-25

11. Aktaş, H., 2007. Türkiye Orjinli Yabani Diploid Buğday (*T.monococcum* spp. *boeoticum*) Populasyonlarının Morfolojik Ve Moleküler Karakterizasyonu. **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 67 s.
12. Ijaz, S., Khan, I., 2009. Molecular characterization of wheat germplasm using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, 8 (3): 809-815.
13. Achta, S., Moualla, M., Kalhout, A., Röder, S., MirAli, N., 2010. Assessment of Genetic Diversity among Syrian durum (*Triticum* ssp. *durum*) and Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using SSR Markers. **Russian Journal of Genetics**, 46 (11): 1320–1326.
14. Ceylan, H., 2010. Türkiye Orijinli Bazı Buğday Çeşitlerinde Peroksidaz Gen Polimorfizminin Belirlenmesi. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 87 s.
15. Eckardt, N., 2010. Evolution of domesticated bread wheat. *The Plant Cell*, 22: 993.
16. Shewry, P., 2009. Wheat. **Journal of Experimental Botany**, 60 (6): 1537–1553.
17. Carver, B.F. 2009. Wheat evolution, domestication, and improvement. pp 5-30. *In: Wheat Science and Trade*. (Eds: Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X., Nevo, E.). Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
18. Nesbitt, M., 2001. Wheat evolution: integrating archaeological and biological evidence. Institute of Archaeology, 2001, University College London, 37-59.
19. Dvorak, J., Akhunov, E., Akhunov, A., Deal, K., 2006. Molecular characterization of a diagnostic dna marker for domesticated tetraploid wheat provides evidence for gene flow from wild tetraploid wheat to hexaploid wheat. **Molecular Biology and Evolution**, 23(7):1386–1396.
20. Reif, J., Zhang, P., Dreisigacker, S., Warburton, M., 2005. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, 110: 859–864.

21. Yildirim, F., Akkaya, M., 2006. DNA fingerprinting and genetic characterization of Anatolian Triticum spp. using AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 53: 1033–1042.
22. Wicker, T., Krattinger, S., Lagudah, E., Komatsuda, T., 2009. Analysis of intraspecies diversity in wheat and barley genomes identifies breakpoints of ancient haplotypes and provides insight into the structure of diploid and hexaploid triticeae gene pools. **Plant Physiology**, 149: 258–270.
23. <https://species.wikimedia.org/wiki/Poales>, (Eriřim tarihi Aralık 2016).
24. Akhunov, E., Goodyear, A., Geng, S., Qi, L., The Organization and rate of evolution of wheat genomes are correlated with recombination rates along chromosome arms. (<http://www.genome.org>), (Eriřim tarihi Nisan 2003).
25. Schubert, I., Shi, F., Fuchs, J., Endo, T., 1998. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat. **The Plant Journal**, 14(4): 489-495.
26. Yang, W., Liu, D., Li, J., Zhang, L., 2009. Synthetic hexaploid wheat and its utilization for wheat genetic improvement in China. **Journal of Genetics and Genomics**, 36:539-546.
27. Alp, A., Akıncı, C., 2005. Diyarbakır ili ve çevresinden toplanan buğdaygil genetik kaynaklarının karakterizasyonu, 675-678. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül Antalya, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü,4.
28. TC. gıda tarım ve hayvancılık bakanlığı gap uluslararası tarımsal araştırma ve eğitim merkezi tarımsal ekonomi ve politika araştırmaları bölüm başkanlığı gaputaem güncel tahıl raporu/ nüsha 1,2013.
29. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Eriřim tarihi Aralık 2016)
30. Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. **Alatarım**, 4 (2): 27-37.
31. Filiz, E., Koç, İ., 2011. Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. **Ziraat Fakültesi Dergisi**, 28(2): 207-214.

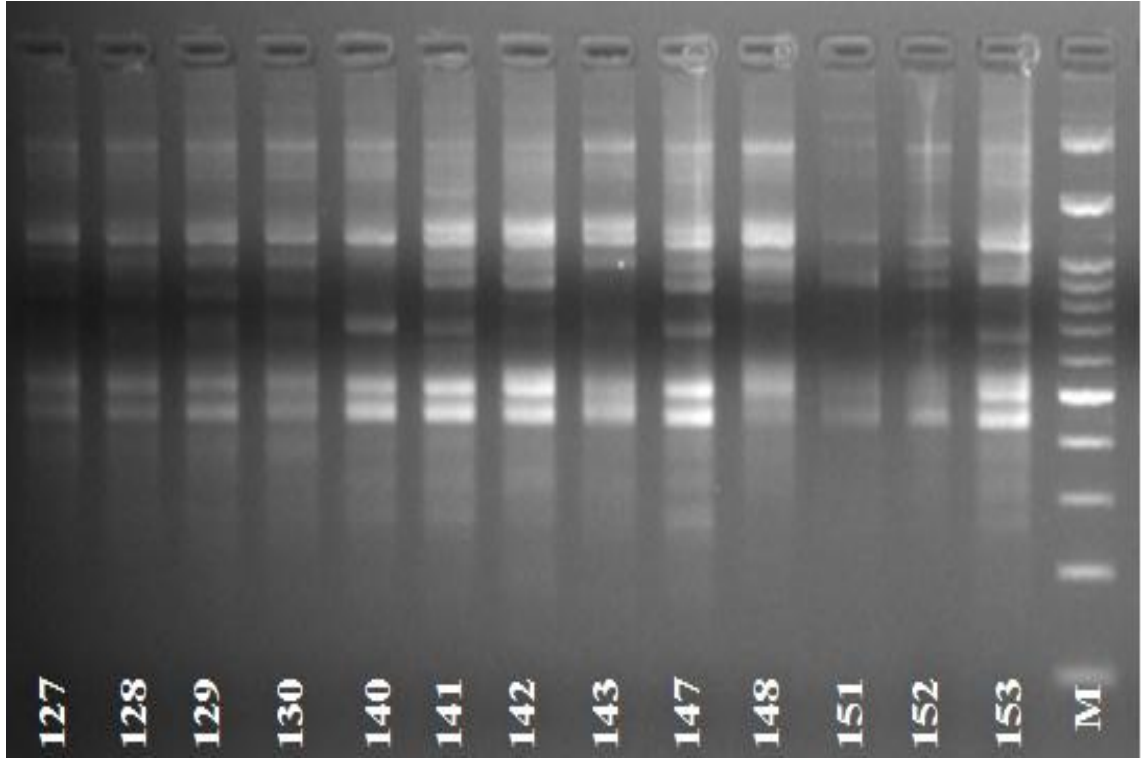
32. Hayden, M., Nguyen, T., Waterman, A., McMichael, G., 2008. Application of multiplex-ready PCR for fluorescence-based SSR genotyping in barley and wheat. **Molecular Breeding**, 21:271–281.
33. Ahmed, M., Iqbal, M., Masood, M., Rabbani, M., 2010. Assessment of genetic diversity among Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) advanced breeding lines using RAPD and SDS-PAGE. **Electronic Journal of Biotechnology**, 13(3): 1-10.
34. Gupta, P., Varshney, R., Sharma, P., Ramesh, B., 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. **Plant Breeding**, 118: 369-390.
35. İncirli, A., Bilgiç, H., Akkaya, M., 2001. Assessment of polymorphic AFLP markers in *Triticum durum* and *Aegilops* sp.. **Turk Journal Biology**, 25:291-299.
36. Reddy, M., Sarla, N., Siddiq, E., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica** 128: 9–17.
37. Abou-Deif, M., Rashed, M., Sallam, M., Mostafa, E., 2013. Characterization of twenty wheat varieties by ISSR markers. **Middle-East Journal of Scientific Research**, 15 (2): 168-175.
38. Sofalian, O., Chaparzadeh, N., Dolati, M., 2009. Genetic diversity in spring wheat landraces from northwest of Iran assessed by ISSR markers. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, 37 (2): 252-256.
39. Bérard, A., Paslier, M., Dardevet, M., Exbrayat-Vinson, F., 2009. High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping in wheat (*Triticum* spp.) **Plant Biotechnology Journal**, 7:364-374.
40. Rohlf, J., 2000. NTSYS-PC Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.11. Exeter Software, Setauket, New York.
41. Mantel, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. **Cancer Research**, 27: 175-178.

42. Mohammadi, S. A., Prasanna, B. M., 2003. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants-Salient Statistical Tools and Considerations. **Crop Science**, 43: 1235-1248.
43. Sofalian, O., Chaparzadeh, N., Javanmard, A., Hejazi, M., 2008. Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of iran based on ISSR molecular markers. **International journal of agriculture & biology**, 10(4): 466–468.
44. Khan, M., Pandey, A., Thomas, G., Akkaya M., 2015. Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey. **AoB Plants**, 7(83): 1-13.
45. Singh, P., Jaiswal, J., 2016. Assessing genetic diversity in bread wheat using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Asian Journal Of Bio Science**, 11(1): 141-145.
46. Chaudhary, N., Kajla, S., Poonia, A., Panwar, S., 2016. Assessment of Molecular Diversity Using ISSR Markers for Characterization of Wheat Varieties. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, 5(6): 10935-10941.
47. El-Assal, S., Gaber, A., 2012. Discrimination Capacity of RAPD, ISSR and SSR Markers and of their Effectiveness in Establishing Genetic Relationship and Diversity among Egyptian and Saudi Wheat Cultivars. **American Journal of Applied Sciences**, 9 (5): 724-735.
48. Najaphy, A., Parchin, R., Farshadfar, E., 2011. Evaluation of Genetic Diversity in Wheat Cultivars and Breeding Lines using Inter Simple Sequence Repeat Markers. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, 25(4): 2634-2638.
49. Tarinejad, A., 2013. Studies on genetic diversity between and within six wheat populations using ISSR markers. **Research on Crops**, 14 (1): 37-41.
50. Son, J., Kim, K., Shin, S., Kim, H., 2013. ISSR-derived Molecular Markers for Korean Wheat Cultivar Identification. **Plant Breeding and Biotechnology**, 1(3): 262-269.

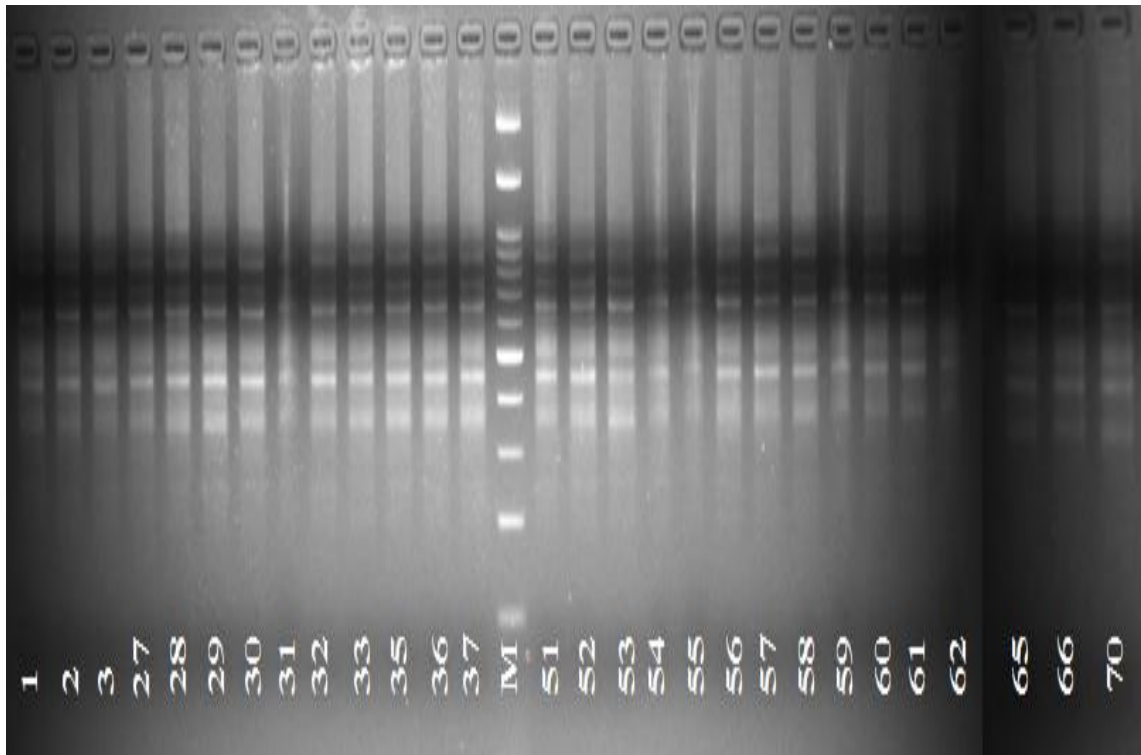
51. Motawei, M., Al-Doss, A., Moustafa, K., 2007. Genetic diversity among selected wheat lines differing in heat tolerance using molecular markers. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 5(1): 180-183.
52. Pasqualone, A., Lotti, C., Bruno, A., De Vita, P., 2000. Use of ISSR markers for cultivar identification in durum wheat. **Ciheam**, 157-161.
53. Sofalian, O., Behi, M., 2013. Assessment of winter survival in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using molecular markers and some physiological traits. **Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University**, 30 (2): 45-54.
54. Deshmukh, R., Tomar, N., Tripathi, N., Tiwari, S., 2012. Identification of RAPD and ISSR markers for drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Physiol Molecular Biology Plants**, 18(1):101–104.
55. Qian, W., Ge, S., Hong, D., 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 102:440–449.
56. Ammiraju, J., Dholakia, B., Santra, D., Singh, H., 2001. Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, 102:726–732.
57. Ben El Maati, F., Jlibéne, M., Moumni, M., 2004. Study of the polymorphism of common wheat using ISSR markers. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 2 (3&4): 121-125.
58. Blair, M., Panaud, O., McCouch, S., 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, 98: 780-792.

EKLER

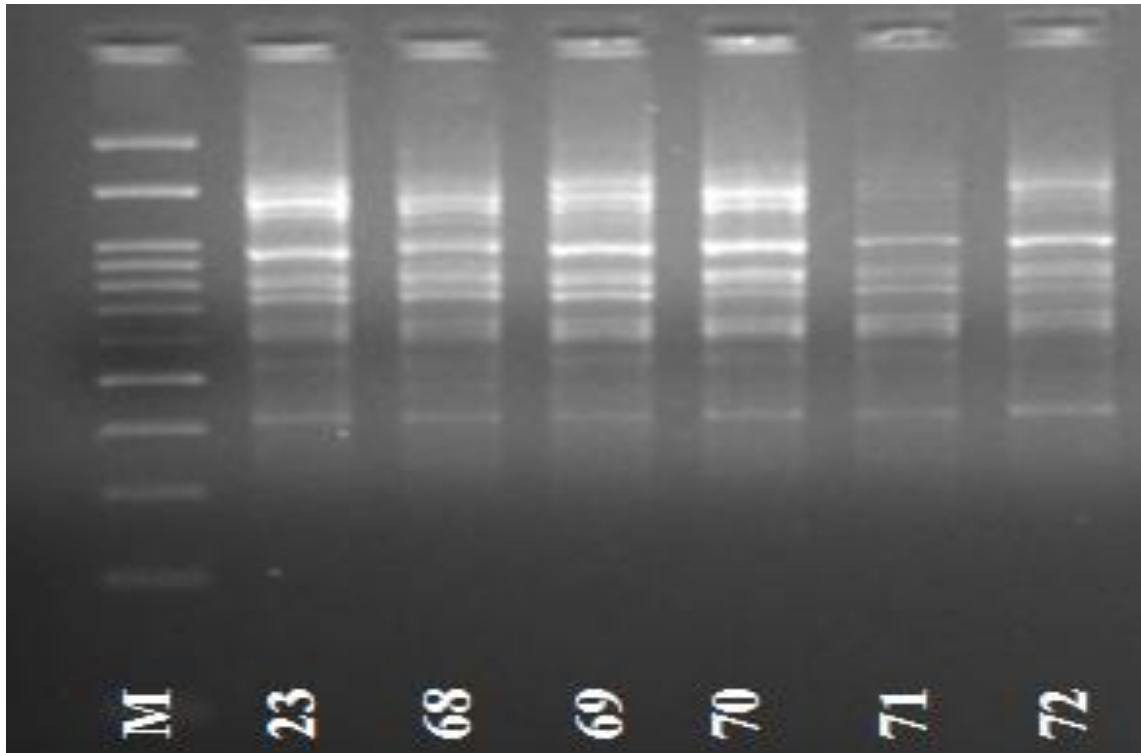
EK 1- UBC-815 Primerinden skorlanamayan genotiplerin tekrarı



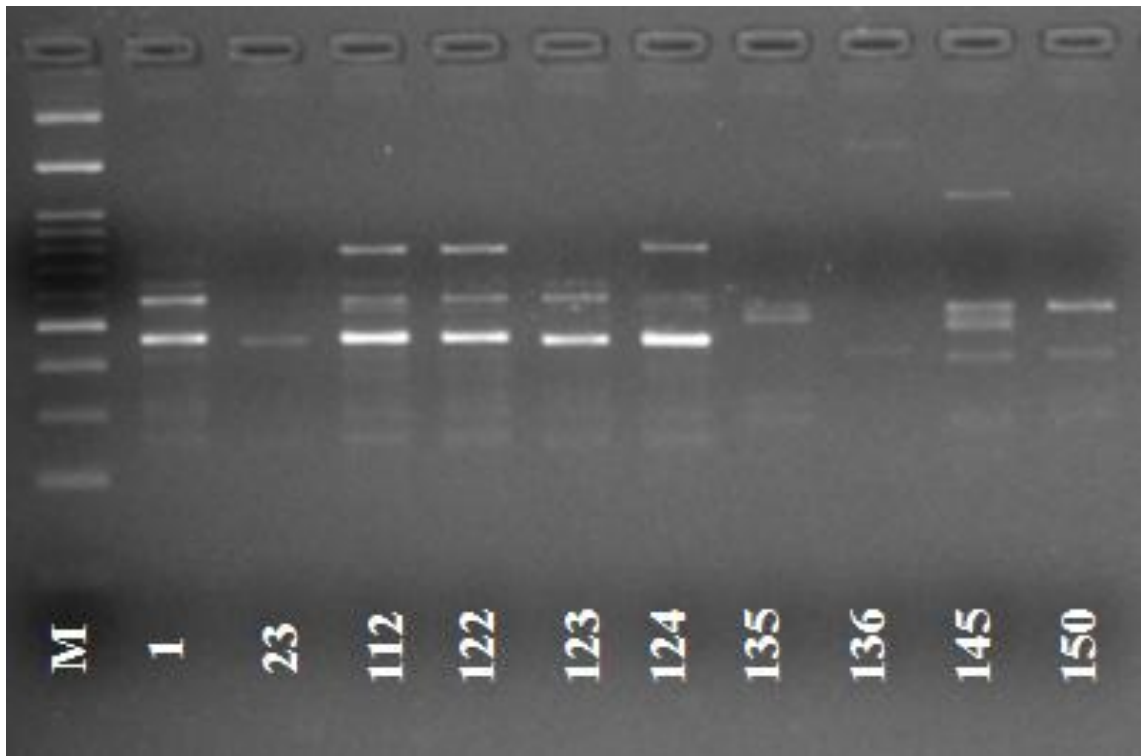
EK 2- UBC-818 Primerinden skorlanamayan genotiplerin tekrarı

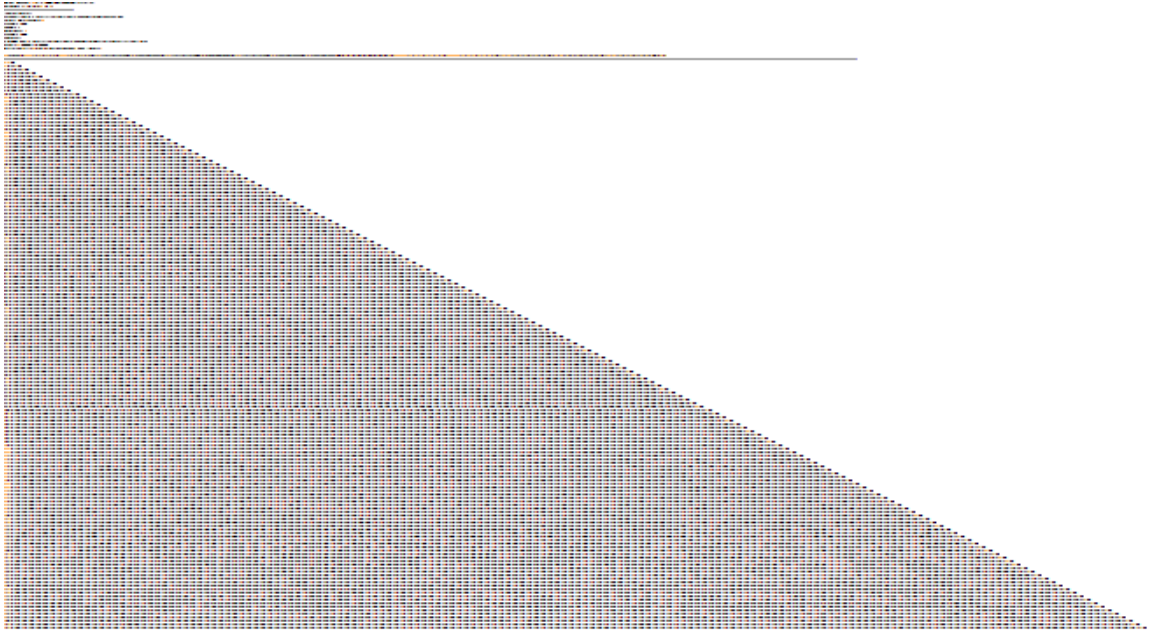


EK 3- ISSR-16 Primerinden skorlanamayan genotiplerin tekrarı



EK 4- ISSR-28 Primerinden skorlanamayan genotiplerin tekrarı



EK 5- Genetik benzerlikleri gösteren 162 x 162' lik bir matriks

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Merve NAZLI

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 27 Mart 1991, Kayseri

Medeni Durumu: Bekâr

email: mervenaz333@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2017
Lisans	EÜ FEF Biyoloji Bölümü	2013
Lise	İstikbal Lisesi, Kayseri	2009

YABANCI DİL

İngilizce