

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ORJİNLİ YABANI BUĞDAYLARIN RAPD-PCR YÖNTEMİYLE GENETİK AKRABALIKLARININ BELİRLENMESİ

Nuri KESEN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Yrd.Doç.Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

2007, 66 sayfa

Jüri : Yrd.Doç.Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

Prof.Dr. Ali TOPAL

Yrd.Doç.Dr. Mustafa YORGANCILAR

Bu tez çalışmasında, gen merkezi Anadolu olan buğdayın, kültür formları sınırlı bir genetik varyasyona sahip olduğu için, Anadolu'nun zengin yabancı buğday biyoçeşitliliğinden yararlanılabilmesi maksadı ile bu türlerin genetik çeşitlilik ve benzerliklerinin RAPD-PCR tekniği kullanılarak belirlenmesi hedeflenmiştir.

RAPD markör tekniği, *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinslerine ait türler ve bu türlere ait ırklara ve kültür buğdayı olan *Triticum aestivum*'a ait genotiplerine uygulanmıştır. Kullanılan RAPD primerlerinden 16 tanesi yeterli polimorfik band üretilmesine neden olmuştur. Toplamda 282 bant skorlanmıştır. NTSYS-pc, 2.0 programı kullanılarak elde edilen dendogramlar neticesinde *Triticum* L. ve *Aegilops* L.'i. 3 ana kola ayrıldığı görülmektedir. İlk kümede A genomuna sahip *T.monococcum*, *T. boeoticum*, *T. urartu*'nun yakın çıktığı görülmüştür. İkinci grupta ise AB genomuna sahip *T. turgidum* ssp. *dicoccum* ve bunların yabancı atası olan *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* yer almıştır. Üçüncü grupta ise *Aegilops* L. ve *T.aestivum* yer almıştır. Bu kollara uzak olan dış grupta ise Urfa'da yetişen bir tür olan *T.monococcum* var. *monococcum* urfa bulunmaktadır. D genomuna sahip *Ae. cylindrica* (CD), *Ae tauschii* (D), *Ae crassa* (DM) ve *Ae vavilovii* (DMS)'nin *Aegilops* L. grubu içinde bir grup oluşturduğu görülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: *Triticum*, *Aegilops*, RAPD, polimorfizm, genetik akrabalık

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF GENETIC RELATIONSHIPS OF ANATOLIAN WILD WHEAT SPECIES VIA RAPD-PCR METHOD

Nuri KESEN

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Field Crops

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

2007, 66 pages

Jury: Asist. Prof. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

Prof. Dr. Ali TOPAL

Asist. Prof. Dr. Mustafa YORGANCILAR

This thesis study was conducted to reveal the wide genetic diversity of the Anatolian originated wild wheat species, in order to be used in the improvement programs of the narrow genetic pool of the wheat cultivars, by RAPD-PCR technique.

RAPDs was the molecular marker technique employed to the *Triticum* L. and *Aegilops* L. species, including the cultivar *Triticum aestivum*. Selected 16 RAPD primers were employed, and 282 fragments were scored. NTSYS-pc version 2.0 was used to generate the dendograms that clearly classified the Anatolian *Triticum* and *Aegilops* species into three major groups. The first group was occupied by *T. monococcum*, *T. boeoticum*, *T. urartu* which own A genome. In the second group *T. turgidum* ssp. dicoccum and its pregenitor *T. turgidum* ssp. dicoccoides that have AB genome was observed. Third group was included *Aegilops* L. and cultivated wheat *T. aestivum*. *T. monococcum* var. *monococcum* urfa which collected from Urfa was out group. *Ae. cylindrica* (CD), *Ae. tauschii* i(D), *Ae. crassa* (DM) ve *Ae. vavilovii* (DMS) that have D genome species had a subgroup in *Aegilops* L. cluster.

KEY WORDS: *Triticum*, *Aegilops*, RAPD, polymorphism, genetic relationships

1. GİRİŞ

Kültürü yapılan Gramineae familyasına ait buğday, arpa, çeltik ve mısır gibi tahıllar insan ve hayvan beslenmesinde dünyadaki ihtiyacın neredeyse yarısını karşılamaktadır. Gramineae ailesi 10000'in üzerinde tür içermektedir. Önemli tahıllardan çeltik, buğday, mısır, arpa, sorgum ve darı bu ailenin birer üyesidir. Bunlardan buğday, gerek dünyada gerekse ülkemizde ekimi en çok yapılan üründür. Dünyadaki yıllık üretimi yaklaşık 600 milyon ton civarındadır(Anonim, 2005). Günümüze dek üretilen buğday miktarı insan nüfusuna yeterli gelmekteydi. Fakat hızla artan insan nüfusu ve özellikle küresel ısınma gibi yeni problemler üretilen buğdayın insan nüfusuna oranla artmadığını göstermiştir. Diğer yandan Çin gibi yüksek nüfuslu ülkelerin de gelir artışına paralel buğday tüketimine yönelmeleri dünyada buğday üretimini stratejik hale getirmektedir.

Türkiye buğday üretiminde dünyadaki büyük üreticiler arasında yer almaktadır. Sıralamada, dünyadaki en büyük üretici Çin olurken, sırasıyla onu Hindistan, ABD, Rusya, Fransa, Almanya ve Türkiye izlemektedir. Türkiye'deki yıllık buğday üretimi iklimsel ve coğrafik koşullara bağlı olarak 16 ile 21 milyon ton arasında değişmektedir. Bunun yaklaşık 4 ile 6 milyon ton arası makarnalık, kalanı ise ekmeklik buğdaydır. Ülkemizde, 2005 verilerine göre 9 250 000 hektar alanda buğday ekimi yapılmış ve 21 500 000 ton ürün elde edilmiştir. Bu durumda dekara verim 232,4 kg (Anonim, 2005) olmuştur. Bununla birlikte dünya tahıl stoklarında son yıllarda önemli oranda düşüşler gözlenmektedir.

Türkiye'de 2007 yılı verilerinin beklenenin altında olacağı tahmin edilmektedir. Süregelen olumsuz iklim koşulları ve sera gazları etkisinin Türkiye'deki buğday rekoltesini %10 civarında düşüreceği tahmin edilmektedir. Bu sorun da, buğday ıslahında katedilecek yolda hızlanmanın ve izlenen programlarda moleküler ıslah gibi alternatif bakışların yer almasını gündeme getirmektedir.

Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak, bu bitkinin üretiminin de artırılması bir zorunluluktur. Klasik bitki ıslahı programları ile geliştirilen verimli ve kaliteli

çeşitlerle insanların beslenme gereksinimleri bugüne kadar karşılanmış olup çalışmalar günümüzde de hızla sürmektedir. Buna karşın dünya tarımı değişen biyotik ve abiyotik çevresel baskılar nedeniyle ciddi sorunlarla karşı karşıyadır. Gelecekte ortaya çıkabilecek olan yeni hastalık ve zararlılar ile toprak ve atmosferde oluşan değişikliklerin bitkilere olan etkileri önceden bilinemez. Dolayısı ile, bu yeni koşullara uyum sağlayacak çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılacak olan genlerin de neler olacağını tahmin etmek olanaksızdır. Kültür çeşitleri, gen yapıları bakımından homojen hale gelmiş olup, ilkel formlara ve yabani akrabalarına oranla çok daha az genetik çeşitlilik içermektedir. Yabani türler ise, geniş bir genetik tabanı olan ve kültür bitkilerinin ileride çıkabilecek sorunlarının giderilmesinde ya da bitkilere yeni özelliklerin kazandırılmasında önemli birer kaynak oluşturan gen depolarıdır (Özgen ve ark., 1995). Bu nedenle, geleceğin gen kaynaklarını oluşturacak olan tüm bitkisel materyali koruma altına alma çalışmalarına, bugünün insanların en önemli görevi olarak bakılmaktadır.

Kültür bitkilerinde genetik çeşitlilik başarılı bir ıslah ve yeni kültür varyetelerinin ortaya konulmasında temel teşkil etmektedir. Franco ve ark. (2001)'na göre genotiplerin fenotipik ve genetik çeşitliliğinin tanımlanması muhafaza, değerlendirme ve gen kaynağı olarak kullanılması yanında ön ıslah ve ıslah programlarında önemli yer tutmaktadır. Buğdayın genetik çeşitliliğinin bilinmesi, atalarının tanımlanmasında ve genetik zenginliği yüksek varyetelerin geliştirilmesi için gereklidir. Buğday üretiminin arttırılmasına yönelik yapılacak ıslah programlarında buğdayın genetik çeşitliliğinin tanımlanması öncelikli konular arasında yer almaktadır. Melezlemeye dayalı buğday ıslahında genotiplerin çeşitliliği dikkate alınarak nihayetinde saf bir hat ve melez varyete eldesi amaçlanmaktadır. Bu açıdan, genotiplerin ebeveynleriyle genetik benzerliği, genetik mesafeleri ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Başarılı bir ıslahta moleküler markörlere dayalı bir çalışmayı göz ardı etmemek gereklidir. Günümüzde DNA temelli olarak kullanılan kimi markör teknikleri olumlu sonuçlar vermektedir.

Önceleri genetik markörlerden morfolojik ve biyokimyasal markörler kullanılarak (Miller ve ark., 1989) canlıların biyoçeşitliliği tanımlanmaya

çalışılmıştır. Fakat bu markörlerin çevre faktörlerinden etkilenmesi ve az sayıda lokusu analiz şansını tanımaları, kullanımlarının azalmasına sebep olmuştur (Tanskley, 1983; Tanskley ve ark., 1989).

DNA markörleri bitkilerin, hayvanların ve prokaryotik canlıların genomları ile ilgili genetik çalışmalarda büyük kolaylık sağlamıştır. DNA temelli birçok teknikten biri olan RAPD tekniği (Welsh ve McClelland, 1990; Williams ve ark., 1990) kolaylığı, kullanışlılığı ve sekans bilgisi gerektirmemesi gibi özelliklerinden dolayı öne çıkarak önemli bir araç haline gelmiştir (Gepts 1993; Karp ve ark., 1997).

RAPD, sınırsız sayıda belirleyicinin kullanılarak bitkiler ve populasyonlar arasındaki farklılığı kıyaslama olanağı sağlamaktadır. Bu yeni araç ile, genetik çeşitlilik tespit edilebilmektedir (Demeke ve ark., 1996). RAPD tekniği daha önce de *Triticum* türlerinde (Cao ve ark., 1998; Sun ve ark., 1998; Bedo ve ark., 2000; Czaplicki ve ark., 2000; Gupta ve ark., 2000) genetik temelin genişliği hakkında bilgi edinmek için kullanılmıştır. Ayrıca kültür buğdayının genetik tanımlanmasında (Quiros ve ark., 1992; Malik ve ark., 1996), genomun parmakizi analizinde (Nybom ve ark., 1989; Welsh ve McClelland, 1990) ve gen *tagging* (Kelly ve ark., 1993) uygulamalarında başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında, hem ülkemiz hem de dünya için stratejik öneme sahip olan buğdayın değişen çevre ve iklim şartlarında artan oranda ihtiyacı karşılayabilmesi için bu bitkinin gen kaynaklarından etkin yararlanmanın yakın gelecekte kaçınılmaz olduğu gerçeğinden hareketle bu bitkinin Anadolu merkezli gen kaynaklarının karakterizasyonuna moleküler genetik yöntemlerini kullanarak katkı sağlanması ve sıklıkla kullanılan moleküler genetik yöntemlerinden RAPD-PCR yönteminin yabancı buğday türlerinin geniş kapsamlı karakterizasyonunda kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2. 1. Buğdayın Sistematiği

Buğdaygiller (Gramineae=Poaceae) familyasının Triticeae takımı, buğday (*Triticum*, *Aegilops*), arpa (*Hordeum*), çavdar (*Secale*), yulaf (*Avena*), brom (*Bromus*), ayırık (*Agropyron*) gibi cinsleri kapsar.

Triticum ve *Aegilops* cinslerinin, birçok özellik bakımından birbirlerine olan benzerlikleri oldukça fazladır. Özellikle morfolojileri ve adaptasyon yetenekleri açısından birçok benzer yönleri vardır. Bu yakınlığın hassas bir şekilde belirlenmesi; özellikle cinslerin taksonomisi, filogenetiği, coğrafi dağılımları ve buğday ıslahına yönelik faydalarının araştırılmasında belirleyici bir güç olmuştur.

Triticum ve *Aegilops*'larla ilgili ilk sınıflandırma Linnaeus (1753) tarafından yapılmıştır. Linnaeus her iki cinsi Triticeae takımına dahil etmiş, *Triticum* cinsinin buğdayın kültür formlarını, *Aegilops* cinsinin ise buğdayın yabani atalarını kapsadığını ifade etmiştir. Linnaeus çalışmalarında ilk kez 5 *Aegilops* türünü tanımlamış, morfolojik ve fizyolojik farklılıklara göre ilk sınıflandırmayı yapmıştır.

Balkanlar'dan İran'ın ortalarına, Mısır'dan Kafkaslar'a kadar uzanan, Anadolu ve yakın çevresini tümüyle içine alan bölgede saptanan *Aegilops* tür ve varyetelerinin morfoloji ve ekolojileri ise Boissier (1884) tarafından tanımlanmıştır.

Başka bir sınıflandırmada (Schulz, 1913) buğdaylar, kaplıca grubu (einkorn=monococca= tek taneli), gernik grubu (emmer= iki taneli= dicoccoidea) ve dinkel grubu (ekmeklik buğday= hexaploidae) olmak üzere üç ana gruba; her grup da kendi içinde "çıplak taneli kültür formları", "kavuzlu kültür formları" ve "yabani formlar" olmak üzere tekrar üç gruba ayrılmıştır (Çizelge 2.1).

Sakamura (1918), yapmış olduğu sitogenetik çalışmalar sonucu buğdaylar arasında kromozom sayıları bakımından farklılıkların olduğunu belirlemiş olup, temel kromozom sayısı 7 olarak tespit edilmiştir. Buna göre einkorn serisi 14 kromozoma ($2n=14$) sahip olup, diploid grubu, emmer serisi 28 kromozoma sahip olup, tetraploid grubu ($2n=4x=28$), ve dinkel serisi 42 kromozoma sahip olup, ($2n=6x=42$) hekzaploid grubu içine almaktadır.

Çizelge 2.1. Triticum türlerinin sistematik ilişkileri ve sınıflandırılması (Schulz, 1913).

	Kültüre alınmış buğday		
	Yabani ata	Kavuzlu buğday	Kavuzsuz buğday
Einkorn serisi	<i>T. aegilopoides</i>	<i>T. monococcum</i>	-----
Emmer serisi	<i>T. dicoccoides</i>	<i>T. dicoccon</i>	<i>T. durum</i>
			<i>T. turgidum</i>
			<i>T. polonicum</i>
Dinkel serisi	Bilinmiyor	<i>T. spelta</i>	<i>T. compactum</i>
			<i>T. vulgare</i>

Zhukovsky (1928) yaptığı çalışmalar sonucunda *Aegilops* cinsine ait toplam 20 tür tespit etmiştir. Bunlardan 11'inin diploid, 9'nun poliploid olduğunu ifade etmiştir. Türlerin morfolojik özelliklerine ve coğrafi dağılımlarına ilişkin ayrıntılı bilgi vermiştir. Aynı çalışmada Anadolu'nun yerel çeşidi olarak tanımlanan iki yeni türe (*Ae. columnaris* ve *Ae. umbellulata*) ait bilgiler yer almıştır.

Eig (1929), *Aegilops* ve *Triticum* sistematigi üzerinde durarak, genel hatlarıyla kültürü yapılamayan cins için *Aegilops* sıfatının kullanılmasını önermiştir. Eig çalışmalarında daha çok türlerin morfolojik özellikleri üzerinde durmuştur. Bölüm, tür ve varyetelerin belirlenmesinde yararlanılan morfolojik karakterlere ilişkin ayrıntılı bilgiler vermiştir. Bu araştırmacı, *Aegilops*'ları 2 alt cins, 6 bölüm, 11'i diploid, 11'i poliploid olan 22 tür ve çok sayıda varyeteye ayırmıştır. Ayrıca, Asya kıtasındaki 21 türden 13'ünün Anadolu' da bulunduğunu belirtmiştir.

Kihara (1940; 1954), *Aegilops* türleri arasındaki ilişkileri genom analizlerine bağlı kalarak ele almış; bölüm ve türlerin karyotip özelliklerini ve coğrafi dağılımlarını değerlendirmiştir. Çalışılan 22 *Aegilops* türünden 9'unun diploid, 9'unun tetraploid, 3'ünün hekzaploid olduğunu ve poliploid türlerin diploid türler arasındaki doğal melezlemelerle ortaya çıkan amfidiploidler olduğunu açıklamıştır. Araştırmacı, diploid genoma sahip 9 türün bir yandan *Aegilops*'ların, diğer yandan poliploid buğdayların evrimine genom ya da genomlar vererek katkıda bulunduğunu ifade etmiştir.

Bu araştırmacı genom yakınlıklarına göre diploid türleri aşağıdaki 3 grupta toplamıştır:

- 1) C- grubu türler: *Ae. caudata* (C) ve *Ae. umbellulata* (Cu),
- 2) M- grubu türler: *Ae. comoso* (M), *Ae. uniaristata* (Mu), *Ae. mutice* (Mu), *Ae. squarrosa* (MD),
- 3) S-grubu türler: *Ae. speltoides* (S), *Ae. bicornis* (Sb), *Ae. longissima* (SI)

Stebbins (1956) ve Bowden (1959) tarafından yapılan sınıflandırmalarda da, *Triticum* ve *Aegilops*'un *Triticum* cinsi altında sınıflandırılması gerektiği vurgulanmıştır.

Zohary ve Feldman (1962) buğday grubunun *Triticum* ve *Aegilops* cinslerini kapsadığını ve poliploidlerdeki evrimin amfidiploidi yoluyla oluştuğunu, bugünkü poliploidlerin çevre koşullarına en iyi uyum sağlayan formlar olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmada, Türkiye'de farklı poliploid türlerin ve ara formların birarada bulunduğu, ülkemizin *Aegilops* formlarının oluşum ve evrim alanı olduğu vurgulanmıştır.

Hekzaploid buğdaydaki üç genomdan ikisinin *Aegilops* türlerine ait olması nedeniyle Morris ve Sears (1967), buğday ve onunla yakınlığı olan cinslere ilişkin sınıflandırmanın gözden geçirilmesi gerektiğini vurgulamış, *Aegilops* cinsine ait

türleri *Triticum* cinsinin türleri arasına dahil etmek gerektiğini ve bunun sitogenetik bulgulara da uygun düştüğünü belirtmişlerdir.

Zohary (1970), yabancı buğdayların bitkisel gen kaynakları olarak önemini açıklamış ve buğday grubunun *Triticum* ve 22 yabancı türü kapsayan *Aegilops* cinslerini içerdiğini öne sürmüştür. Araştırmacı, genomları kültür buğdaylarıyla homolog olan yabancı dört gen kaynağından üçünün diploid (*T. monococcum*: A, *Ae. speltoides*: B, *Ae. squarrosa*: D), birinin tetraploid (*T. dicoccoides*: AB ve *T. timopheevi*: AG) olduğunu açıklamıştır. Löve (1982), tarafından yapılan sınıflandırmada da bu cinslerin genetik içeriklerinin benzerliği nedeniyle tek cins içinde bulunmalarının gerekliliği vurgulanmıştır. Karşıt görüşte olan araştırmacılar Gupta ve Baum (1986) ile Hammer (1980) ise *Triticum* ve *Aegilops*' un iki ayrı cins şeklinde sınıflandırılması tezini desteklemişlerdir.

Van Slageren (1994), *Aegilops* ve *Triticum*'u iki ayrı cins olarak ele almış ve araştırmasında toplam 22 *Aegilops* ve 4 *Triticum* türünün coğrafi dağılım alanları ile tür ve cinslerin tanımlanmasında kullanılan morfolojik karakterler üzerine açıklamalarda bulunmuştur.

Triticum ve *Aegilops*'a ait türler ister iki isterse tek cins altında toplanmış olsunlar, kültür buğdayları ile ataları olan yabancı buğdaylar arasında morfolojik, genomik ve coğrafi ilişkilerin bulunduğu unutulmamalıdır. *Triticum* ve *Aegilops* cinsleriyle yakından bağlantılı olan yabancı ve kültür türlerinin sınıflandırılması Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Kültüre alınmış buğdaylar ve yabani akrabalarının sınıflandırılması (Feldman ve ark.,1995).

Türler	Genomlar	Kavuzlu	Kavuzlu	Kavuzsuz
Diploid				
<i>Ae. speltoides</i>	S (=G)	tamamı	-----	-----
<i>Ae. bicornis</i>	S ^b	tamamı	-----	-----
<i>Ae. longissima</i>	S ^l	tamamı	-----	-----
<i>Ae. searsii</i>	S ^s	tamamı	-----	-----
<i>Ae. spuarrosa</i>	D	tamamı	-----	-----
<i>T. urartu</i>	A	tamamı		
<i>T. monococcum</i>	A	var. boeoticum	var. monococcum	var. sinskajae
	(yabani einkorn)	(kültüre alınmış einkorn)	(kültüre alınmış einkorn)	
Tetraploid (2n=28)				
<i>T. timopheevii</i>	AG	var. araraticum	var. timopheevi	var. militane
<i>T. turgidum</i>	AB	var. dicoccoides (yabani emmer)	var. dicoccum (kültüre alınmış emmer)	var. durum var. turgidum var. polonicum
				var. carthlicum
				var. turanicum
Hekzaploid (2n=42)				
<i>T. zhukovskyi</i>	AAG	-----	var. zhukovskyi	-----
<i>T. aestivum</i>	ABD	-----	var. spelta	var. aestivum
			var. macha	var. compactum
			var. vavilovii	var. sphaerococcum

2. 2. Buğdayda Sitogenetik Temel ve Genom Kaynağı

Triticeae takımı içindeki melezleme olayları genetik materyalin değişimine izin verdiği gibi, amfiploidi ile poliploidlerin oluşmasını da sağlar. Poliploidler *Triticum* türleri ile *Aegilops* cinsine ait diploid türler arasında meydana gelen amfiploidi olayı ile oluşmuşlardır (Kihara, 1954; Miller, 1987; Kimber ve Feldman, 1987; Dvorak ve ark., 1993; Caligari ve Brandham, 2001). Poliploid buğdayların oluşmasına katkı sağlayan diploid yabancı türler köken olarak monofiletik olup, zamanla birbirlerinden farklılaşmışlardır. Bu farklılaşma türün morfolojisinde, özel ekolojik gereksiniminde ve coğrafi dağılımında belirgin bir şekilde kendini gösterir. Her diploid türün farklı bir genoma sahip olduğu sitogenetik verilerle de desteklenmektedir. Farklı genomlarda taşınan akraba kromozomlar birbirlerine çok az ilgi duyarlar ve tür arası hibritlerde düzenli bir eşleşme meydana getirmezler. Böylece diploid türler arasında tam bir kısırılık ve üreme izolasyonu gerçekleşir.

Diploid, tetraploid ve hekzaploid formlardan meydana gelen *Triticum* cinsinde diploid düzeyde bulunan iki einkorn buğday türü vardır: Bunlar *T. monococcum* L. ve *T. urartu* Thum. türleridir. Bir tohuma sahip olan *T. monococcum* buğdayı 1834 ve 1884 yılları arasında Anadolu ve Yunanistan'da rapor edilmiştir (Gill ve ark., 2004). *T. monococcum* kültüre alınmış *T. monococcum monococcum* (*T. monococcum* L.) alttürü ile *T. monococcum aegilopoides* (Link.) Thell. yabancı alttürünü kapsamaktadır. İkinci diploid einkorn buğdayı olan *T. urartu* ise sadece yabancı formda bulunur ve bu tür 1938 yılında Ermeni botanikçi Thumanian tarafından isimlendirilmiştir.

Tetraploid düzeyde iki tür mevcuttur :

1. *T. turgidum* L. Bu grup değişik sayıda kültüre alınmış alttürü ve yabancı alttür *T. turgidum dicoccoides* (Korn.) Thell'i içermektedir.

2. *T. timopheevii* (Zhuk.). Bu grup ise yabancı alttür olan *T. timopheevii araraticum* (Jakubz.) Mac Key ve kültüre alınmış alttür *T. timopheevi timopheevii*'yi kapsamaktadır.

Emmer buğdayının yabani atası olan ve iki tohum taşıyan *T. turgidum* dicoccoides, ilk kez Kornicke tarafından 1873 yılında arpa ile birlikte güney Suriye’de keşfedilmiştir. Daha sonraları 1910 yılında Aaronsohn tarafından Lübnan, Suriye, Ürdün ve İsrail’ de yeniden keşfedilmiştir. Yapılan bu buluşlar; 1886 yılında Candolle tarafından önerilen “Yabani buğdaylar Fırat Nehri havzasında yetiştiği için, buğday kültürasyonu bu bölgeden başlamış olmalıdır” şeklindeki tezinin kabulünü sağlamıştır (Gill ve ark., 2004).

Hekzaploid grup buğdaylarını ise *T. zhukovskiyi* Menabde& Ericz. (AAAAGG genomu) ve *T. aestivum* (AABBDD genomu) oluşturur.

Akdeniz çevresinin iklim şartlarına uyum sağlamış *T. turgidum* conv. durum Desf. MacKey’den (sinonim *T. durum* Desf) en az 2.000 yıl sonra kültüre alınmış soğuk iklime uyumlu *T. aestivum*, *T. turgidum* (AABB genomu) ile D genomu vericisi *T. tauschii* (Coss.) Schmahl (= *Ae. squarrosa*) arasındaki hibridizasyon sonucu oluşmuş ve günümüzden 7000 -8000 yıl önce (Huang ve ark., 2002), Verimli Hilal’in dışında bir alanda, muhtemelen Hazar Denizi bölgesinde ortaya çıkmıştır (Van Zeist ve Bakker-Heeres, 1985).

T. zhukovskiyi ise bir A genomu vericisi einkorn buğdayı (*T. monococcum*) ile *T. timopheevi*’nin (AAGG genomu) hibridizasyonu sonucu oluşmuştur (Upadhyaya ve Swaminathan, 1963; Miller, 1987; Kerby ve ark., 1990).

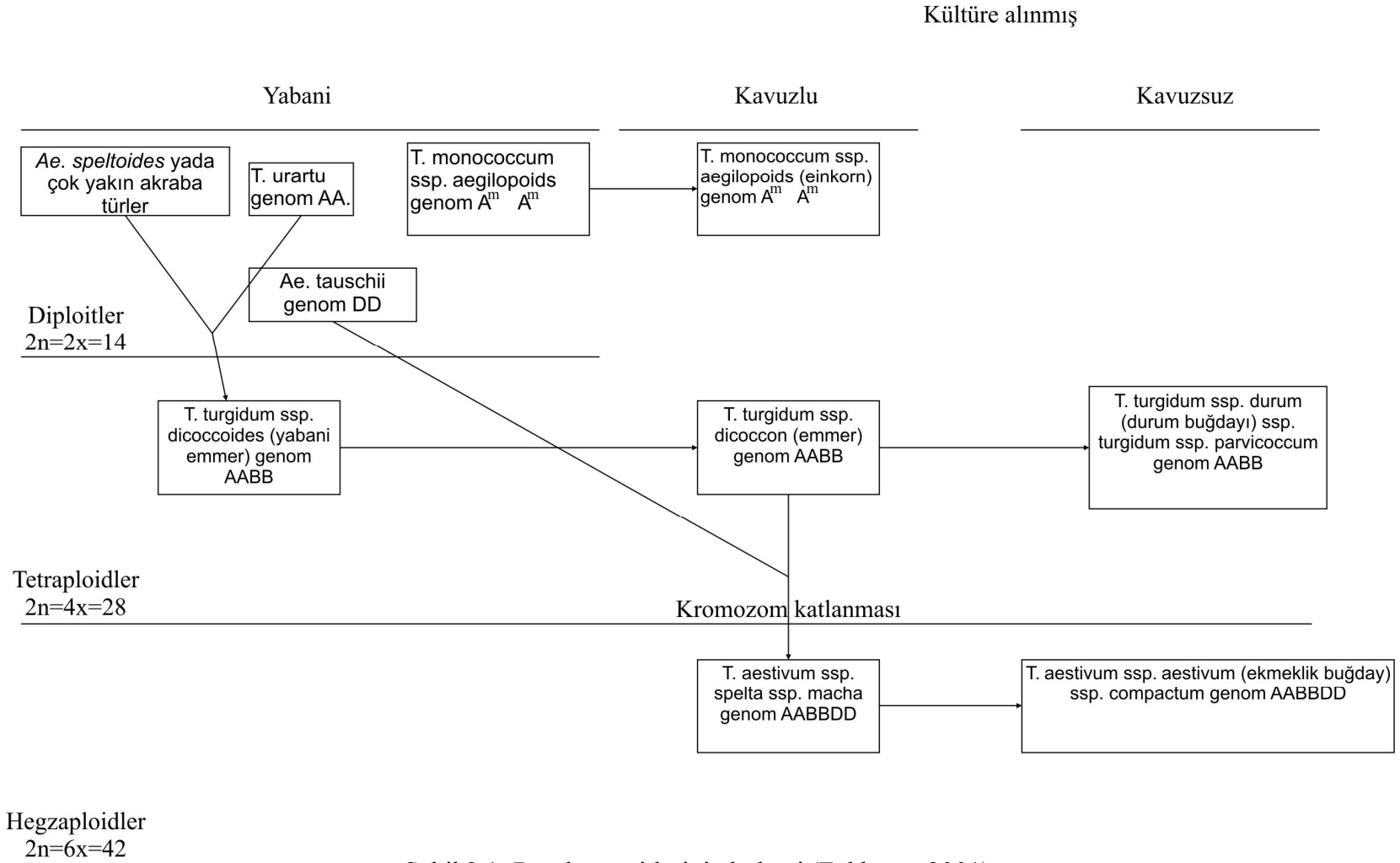
İlk sitogenetik çalışmalar *T. monococcum*’un tetraploid türlerdeki A genomunun kaynağı olduğuna işaret etmekteydi (Sax, 1922; Kihara, 1924; Lilienfeld ve Kihara, 1934; Zohary, 1970). Fakat, einkorn serisinde ikinci bir türün, yani *T. urartu* nun, bulunması poliploid buğdaylardaki A genomu kaynağı konusunda yeni çalışmaların yapılmasını zorunlu hale getirmiş ve A genomu kaynağının *T. urartu* olduğu Chapman ve ark., (1976) tarafından tespit edilmiştir. Tohum depo proteinlerinin immünolojik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada ise *T.*

turgidum'daki A genomunun *T. urartu*'dan, *T. timopheevi*'deki A genomunun ise *T. monococum*'dan köken aldığı sonucuna varılmışsa da (Konarev ve ark., 1979), Nishikawa (1984) esteraz varyasyonları ile yaptığı çalışmasında her iki tetraploid buğdaydaki A genomu kaynağının *T. urartu* olduğunu belirlemiştir. Bu fikir Dvorak ve ark., (1988 ve 1993) tarafından poliploid serideki buğdaylarda yapılan tekrarlanan nükleotit dizilerindeki varyasyonlarla ilgili bir çalışmayla desteklenmiş ve tetraploid buğdayların da içinde bulunduğu poliploid serideki A genomu kaynağının *T. monococum* değil *T. urartu* olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Tetraploid buğdayların ikinci genomları, *T. turgidum*'da B, *T. timopheevi*' de ise G genomlarıdır. Bazı tekrarlanan nükleotit varyasyonları, özellikle rRNA genlerinin yapıları ile ilgili çalışmalar (Dvorak ve ark., 1989) ve tetraploid buğdaylardaki cpDNA çalışmaları (Ogihara ve Tsunewaki, 1988) G genomu kaynağının *T. speltoides* (*Ae. speltoides*) olduğuna işaret etmektedir.

B genomu kaynağı konusunda ise uzun bir süredir görüş birliğine varılamamıştır. Nüklear DNA (Dvorak ve Zhang, 1990; Sasanuma ve ark., 1995), cpDNA ve mtDNA çalışmaları (Miyashita ve ark., 1994; Terachi ve ark., 1990) B genomu vericiliğine en yakın tür olarak *Ae. speltoides*'i işaret etmektedir. Bununla birlikte muhtemel B genomu kaynakları olarak Sitopsis seksiyonundan *Ae. longissima* ve *Ae. searsii*'yi öneren farklı çalışmalar da mevcuttur (Balyayev ve ark., 2000; Feldman, 2001). Şekil 2.1'de buğday çeşitlerinin kökeni şematize edilmiştir.

Triticum ve *Aegilops* türlerinde dış morfolojik özellikleri ve kromozom morfolojilerini kıyaslayarak *T. aestivum*'daki D genomu vericisininin *Ae. squarrosa* (*Triticum tauschii*) olduğu farklı çalışmalarla belirlenmiştir (Kihara, 1944; Jones ve ark., 1982).



2.3. Buğdayın Kültüre Alınması ve Genetik Daralma

Ondokuzuncu yüzyılın sonlarına kadar tüm buğdaylar aynı soya ait hatların ve melez türlerinin oluşturduğu yüksek heterojenite gösteren yerel çeşitlerden meydana gelmiş durumdaydı. Seleksiyonun ilk aşamaları her şeyden önce ürün miktarı, un kalitesini artırmak, daha büyük tohum elde etmek ve oldukça farklı iklim koşullarına uyumun sağlanabilmesi için gerçekleştirilmiştir (Feldman ve ark., 1995). Genetik çeşitliliği orta ya da yüksek düzeyde bulunan birçok yerel çeşit günümüzde de varlığını sürdürebilmektedir. Fakat özellikle son yıllarda modern ıslah programlarının uygulanması ile yerel çeşitlerin yerini genetik bakımdan daha saf ve homojen olan modern çeşitler almaya başlamıştır. Tarımda ilerleme sağlanmasına rağmen bu tip uygulamaların bir sonucu olarak, birçok buğday cinsinde genetik temel daraltılmış ve genetik homojenite yükseltilmiş ancak buğdayın sahip olduğu birçok genetik özelliğin yitirilmesiyle sonuçlanmıştır (Plucknett ve ark., 1983; Nevo, 2001). Genetik tabanın daralmasına paralel olarak buğday veriminde bir artış sağlanabilmiştir. Çok farklı çevresel ortamlara uyum için seçilmiş modern çeşitlerin özel bölgesel adaptasyonlar için gereksinimleri azaltılmıştır. Fakat kültür buğdaylarının genetik temelinin daraltılması ciddi risklerin ve kültür çeşitlerinin evrimi için tehlikeyi de beraberinde getirmiştir.

Son yıllarda genetik çeşitliliğin kaybı bazı bitki türlerinde hızlı bir artış göstermiş ve bu türlerin birçoğunda hastalıklara, pestisitlere ve çevresel etmenlere karşı dirençte zamanla önemli bir düzeyde azalmaya neden olmuştur. Bitki yetiştiricilerine yüksek verimi ve genetik kararlılığını devam ettirebilen daha dayanıklı genetik kaynaklar sağlamak için gen bankaları faaliyet göstermektedir.

Yabani akrabalar ve yerel çeşitler kültür bitkilerinde genetik çeşitliliğin devam ettirilmesinde ve iyileştirilmesinde yararlı gen kaynakları olarak görev yapabilecek potansiyele sahiptir. Bu bitkilerin sahip olduğu gen kaynaklarında etkin bir şekilde

faydalanma yollarından biri son dönemlerde bitki ıslahında büyük öneme sahip olan moleküler markörlerdir.

2.4. Moleküler Markörler

Protein ya da DNA'da bulunan polimorfizme dayanan "moleküler markörler'in geliştirilmesi; taksonomi, filogeni, ekoloji, genetik ve bitki ıslahında araştırmaları büyük oranda kolaylaştırmıştır.

Moleküler bir markörün seçilmesinde dikkat edilmesi gereken hususlar;

1. Yüksek derecede polimorfik davranış,
2. Dominant/kodominant kalıtım
3. Genomda sıkça bulunma,
4. Genomda düzgün dağılım,
5. Kolay ulaşım (satın alma veya hızlı işlemler sonucunda),
6. Kolay ve hızlı değerlendirme (otomasyona uygun işleme),
7. Yüksek tekrarlanabilirlik,
8. Laboratuvarlar arası kolay veri alışverişi.

Bu özelliklerin hepsi bir moleküler markörde bulunmamaktadır. Ancak çalışmanın amacına en uygun olanı seçerken yukarıdaki özelliklerden en azından birkaçının birarada bulunması istenir (Tanskley 1993; Weising ve ark., 1995).

En fazla istenen markör, dayanıklılık geni ile bağlantısı bulunan, çok değişik genotiplerde ifade edilen ve fonksiyonel olandır (Kelly 1995).

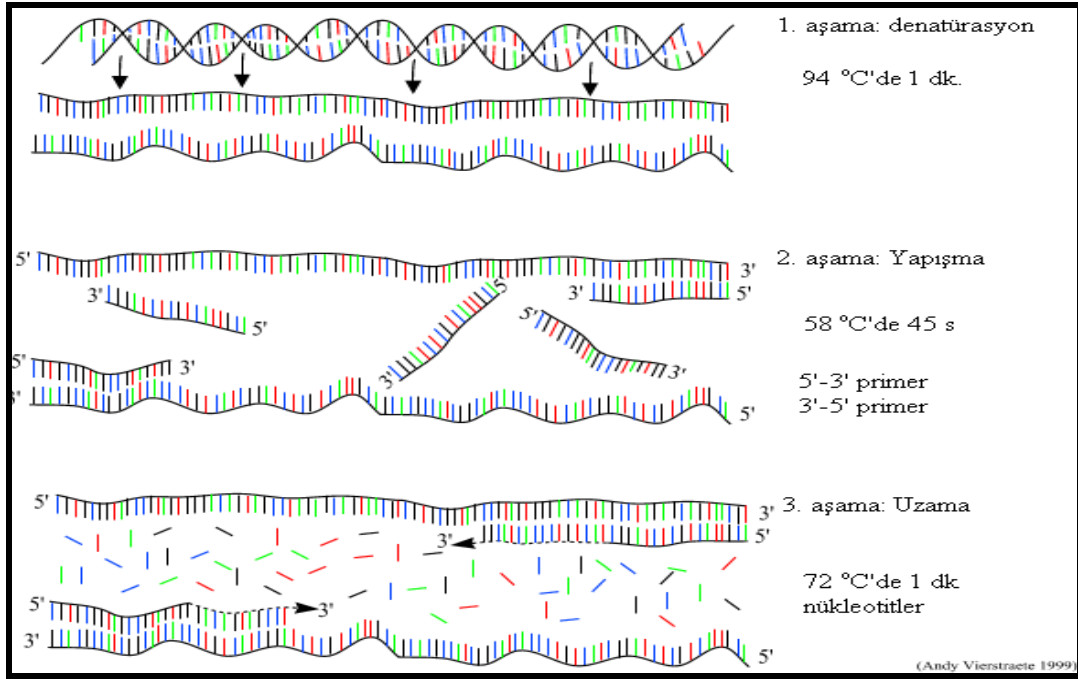
Moleküler markörler morfolojik ve DNA markörleri olmak üzere iki ana başlık halinde incelenmektedir. Morfolojik markörler; protein yada enzim markörleri olabilir.

Çalışmamızda da kullandığımız DNA markörleri hibridizasyona dayalı ve PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'a dayalı markörler olmak üzere iki alt grupta incelenirler. Aşağıda PCR ve DNA markörlerinden çalışmamızda kullandığımız PCR'a dayalı RAPD markörleriyle ilgili bilgiler verilmiştir.

2.4.1. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Tüm dünyada canlıları oluşturan genetik yapının çözülmesi, ortaya çıkarılan bu yapıdaki genlerin yerlerinin saptanması, işlevlerinin anlaşılması, ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir. Bu amaç doğrultusunda, belirlenen hedefe ulaşmayı kolaylaştıracak, hızlandıracak yöntemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir. Basit gibi görünmekle birlikte, geliştirilen bu yöntemlerin en önemlilerinden birisi Polimeraz Zincir Reaksiyonu ("Polymerase Chain Reaction", PCR)'dır.

1985 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Cetus şirketine bağlı olarak çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilen metod nükleik asitlerin canlı organizma içinde bulunmadan, uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu bir çeşit *in vitro* (canlı organizma dışındaki yapay ortam) klonlamadır. Her PCR, istenilen sayıda tekrarlanabilen döngülerden oluşur. Bir PCR döngüsü sırasıyla, deoksiribonükleik asidin (DNA) iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması ("Denaturation"); sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması ("Annealing") ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması ("Extension") aşamalarından meydana gelir (Şekil2.2). Bu aşamaların her biri farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilir (sırasıyla 94°C-98°C; 30°C-65°C; 72°C). PCR tekniği, tek ve çift sarmallı DNA, ya da RNA için kullanılabilir.



Şekil 2.2. PCR'in çalışma mekanizması

PCR ile bir hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. Reaksiyon başlatılmadan önce istenen sayıda döngünün tekrarlanması sağlanabilir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı olan, 18-20 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PCR'in en önemli özelliği çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamasıdır. Bir PCR döngüsü için gerekli olan beş ana madde vardır: DNA örneği, genelde genomik DNA; çoğaltılacak bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer; deoksi-nükleotit-trifosfatlar (dNTP); yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi; uygun pH ve iyon koşullarını (Mg^{2+}) sağlayan tampon karışımı, genelde $MgCl_2$ kullanılır.

PCR yöntemi kolay uygulanabilir olması ve hızlı sonuç vermesi gibi avantajları nedeniyle, birçok farklı alanda kullanılabilir. Bu alanlar şöyle özetlenebilir:

- 1) Kalıtsal hastalıklarda taşıyıcının ve hastanın tanısı,
- 2) Prenatal (doğum öncesi) tanıda,
- 3) Klinik örneklerde patojen (hastalık yapabilecek) organizmaların saptanması,
- 4) Adli tıpta,
- 5) Onkogenesisin (kansere yapan hücrelerin oluşum evresi) araştırılmasında,
- 6) "Probe"(sonda) oluşturulmasında; klonlamada; gen tanımlaması araştırmalarında,
- 7) DNA dizi analizinde; büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulmasında,
- 8) Bilinmeyen dizilerin tayininde,
- 9) Geçmiş DNA'nın incelenmesi ve evrimin aydınlatılmasında,
- 10) "Restriction Fragment Length Polymorphism" (RFLP) analizinde,
- 11) In vitro fertilization (canlı hücre dışında gerçekleşen sperm yumurta birleşmesi) yapılan tek hücrede, implantasyon (döl tutma) öncesi genetik testlerin yapılmasında ve implantasyonun gerçekleştirilmesi ile bebeğin normal doğumunun sağlanması sırasında,
- 12) DNA-Protein interaksiyonunun (etkileşiminin) araştırılmasında kullanılabilir

PCR'in kullanıma geçmesiyle laboratuvar tanısında çok büyük bir hız ve kesinlik kazanılması, birçok durumda radyoaktivite kullanımını gereksiz hale gelmiştir.

Günümüzde PCR'a dayalı olarak geliştirilen RAPD, SSR, AFLP, ISSR gibi belli başlı markör teknikleri kullanılmaktadır.

2.4.2. RAPD (Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA)

RAPD markörleri PCR'a dayalı bir teknik olup bireyler arasındaki genetik polimorfizmin tespit edilmesine olanak sağlayan bir araçtır(Williams ve ark.,1990).

Bu teknikte oligonükleotitlerden oluşan primerler kullanılır (genellikle 10 baz çifti) ve bu primerler kalıp DNA'nın spesifik olmayan bölgelerine yapışır. Amplifikasyondan sonra bireye ait karakteristik bantlar üretilir. Üretilen PCR ürünleri genellikle %1.5'lik agaroz jelle etidyum bromür ile işaretlenerek yüklenir.

RAPD tekniği türler arası ve populasyon içi polimorfizmin ayırt edilmesinde kolay bir teknik olduğu için kullanımı hızla artmaktadır. Genellikle alloenzimler genetik çeşitliliği analiz etmede kullanılırken, RAPD tekniği alloenzimden daha fazla avantaja sahiptir. RAPD genomdaki sınırsız sayıdaki markörün ortaya çıkmasını sağlar.

RAPD tekniğinin bir diğer avantajı ise ön bir sekans bilgisi gerektirmemesidir. Ayrıca küçük bir laboratuvarında makul bir ekipman ve az bir DNA miktarı (yaklaşık reaksiyon başına 25 nanogram) ve radyoaktif olmayan analiz şansı doğurmaktadır.

RAPD tekniği analizlerde uygulanırken yüksek derecede dikkat gerektirmektedir. RAPD parmakizi analizlerinde prensiplerden biri de reaksiyon koşullarına çok duyarlı olmasıdır. Sıcaklık, kullanılan polimeraz tipi, magnezyum konsantrasyonu, Taq *DNA polimeraz* ve DNA konsantrasyonundaki çok küçük değişiklikler amplifikasyon ürünlerinin tekrarlanabilme güvenilirliğini değiştirebilmektedir (Williams ve ark., 1990; Klein-Lankhorst ve ark., 1991).

RAPD, uygunsuz primerlerin kullanımından kaynaklı istenmeyen bir band yoğunluğuna neden olabilmektedir. Bu yüzden reaksiyon koşullarının standart hale getirilmesi, insan tarafından yapılabilecek hata ihtimalini düşürmesi açısından önemli hale gelmektedir.

RAPD tekniği Triticeae takımındaki türlere has moleküler markörler üretilmesinde de kullanılmaktadır. Böylelikle dünyadaki birçok laboratuvarında buğdayların genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Vierling ve ark. (1992), RAPD markörleri ve PCR tekniğini kullanarak diploid buğday türleri olan *T. monoccocum* ve *T. urartu* ($2n=2x=14$) arasındaki genetik çeşitliliği incelemişlerdir. *T. urartu*'da *T. monoccocum*'a göre amplifiye polimorfik band ürünü daha fazla gözlenmiştir. UPGMA analizleri *T. monoccocum* ve *T. urartu* türleri arasında yüksek oranda bir benzerlik olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu sonuçlarıyla RAPD markörlerinin genotipler arasındaki genetik akrabalığın tespitinde faydalı araçlar olduğunu belirtmişlerdir.

Castagna ve ark. (1997), 49 *T. urartu* aksasyonu arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacı ile RFLP ve RAPD markör tekniklerini kullanmışlar ve sonuçlarını kıyaslamışlardır. 28 RFLP ve 29 RAPD primeri kullanılarak 155 tanesi polimorfik olan 451 bant elde etmişlerdir. Ermenistan kökenli 3 aksasyon aynı grupta yer almış ve diğer tüm aksasyonlardan ayrılmıştır. Genetik benzerlik ve fenotipik kıyaslamalarda RAPD ve RFLP markörleri tür içinde benzerlik gösterirken türler arasında kıyaslamayı pek mümkün kılmamışlardır.

Fahima ve ark., (1999) RAPD yöntemini kullanılarak, Türkiye ve İsrail'den toplanan 11 popülasyondan buğdayın yabani atası olduğu düşünülen tetraploid 110 genotipteki genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Sonuçlar RAPD markörlerinde İsrail ve Türkiye kökenli popülasyonlar arasında yüksek bir genetik çeşitlilik olduğunu göstermektedir. On primer kullanılarak elde edilen 59 RAPD bantının 48'i polimorfik 11 adedi ise monomorfik özellik göstermiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonuçlarına göre RAPD markörlerinin yabani *Triticum dicoccoides* materyalinin genetik çeşitliliğinin tahmin edilmesinde ve zirai açıdan öneme sahip buğdayın geliştirilmesinde faydalı olduklarını bildirmişlerdir.

Mukhtar ve ark. (2002), Pakistan'ın farklı bölgelerinden toplanan 20 kültür genotipinin arasındaki genetik çeşitliliği RAPD markörleri kullanarak incelemişlerdir. Kullanılan 50 RAPD primerinin % 64.38'i polimorfik olan toplam 445 band elde etmişlerdir. Buğday genotipleri; büyük bir grup (A) ve iki küçük guruba (B ve C) ayrılmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmayla buğday ıslahında ve ülkenin buğday üretiminin artışında önemli katkılar sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Kudryavtsev ve ark. (2003), 64 makarnalık buğday arasındaki genetik akrabalığı RAPD markörleri kullanarak göstermeye çalışmışlardır. RAPD markörleri ve χ^2 (ki-kare) test sonuçları alınan gruplar arasında incelenmiştir. Araştırmacılar ortaya çıkan korelasyonda RAPD metodunun çalışılan materyalde genetik çeşitliliğin tespit edilmesinde tam belirleyici olmadığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada; Poaceae (buğdaygiller) familyasında yer alan *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinslerine ait türler ve bu türlere ait ırklardan oluşan; toplam 63 yabancı buğday genotipi ve dış grup olarak ta üç adet kültür buğdayı genotipi kullanılmıştır. Toplamda 66 buğday genotipi ile çalışma devam ettirilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan yabancı buğday örnekleri, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Uluslararası Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Afyon Üniversitesi Akademik personeli Sayın Muhsin Konuk ve ekibinden temin edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Triticum* , *Aegilops* cinsleri ve kültür buğdaylarına ait aksesyon numaraları ve kaynak bölge

Sıra no	Tür adı	Aksesyon no	Kaynak bölge
1	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00678	Adıyaman-Siverek yol ayrımı
2	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00678	Adıyaman-Siverek yol ayrımı
3	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00844	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
4	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00844	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
5	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR00854	Şanlıurfa, Hilvan'dan 2 km Kuzey
6	<i>T.monococcum var. boeiticum</i>	TUR00854	Şanlıurfa, Hilvan'dan 2 km Kuzey
7	<i>T.monococcum</i>	TUR 01753	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
8	<i>T.monococcum</i>	TUR 01753	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
9	<i>T.monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü

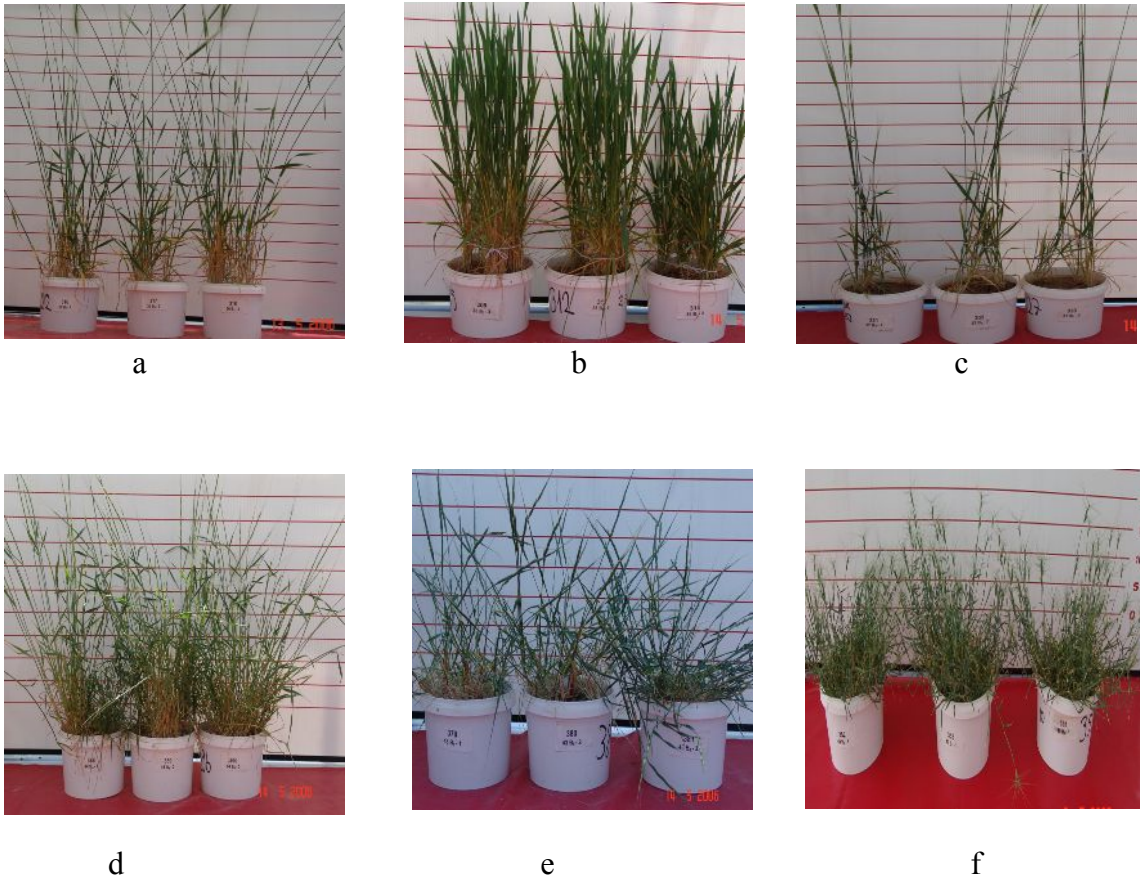
10	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
11	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
12	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
13	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
14	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
15	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	Kastamonu, Araç, Beyture
16	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	Kastamonu, Araç, Beyture
17	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	Kastamonu, Araç, Beyture
18	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03559	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
19	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03559	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
20	<i>T. monococcum var. monococum</i>		Sarnıçtepe karakolu 36. paralel Suriye sınırı URFA
21	<i>T. monococum var. monococum</i>		Sarnıçtepe karakolu 36. paralel Suriye sınırı URFA
22	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00853	Şanlıurfa, Hilvan'dan 2 km Kuzey
23	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00853	Şanlıurfa, Hilvan'dan 2 km Kuzey
24	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00705	Adıyaman, İkinci K'den 7 km Kuzey
25	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00705	Adıyaman, İkinci K'den 7 km Kuzey
26	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	Sinop, Durağan, Çandağı
27	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	Sinop, Durağan, Çandağı
28	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	Sinop, Durağan, Çandağı
29	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03560	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
30	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03560	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
31	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03562	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
32	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03565	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
33	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03565	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
34	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	Sinop, Durağan, Gölyeri
35	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	Sinop, Durağan, Gölyeri
36	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	Sinop, Durağan, Gölyeri
37	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03399	Diyarbakır, Karacadağ, Eğriçay
38	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03371	Diyarbakır, Karacadağ, Karacadağ ilç. 1 km Güney
39	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03371	Diyarbakır, Karacadağ, Karacadağ ilç. 1 km Güney
40	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03369	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
41	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03369	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
42	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03388	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü

43	<i>T. urartu</i>	TUR 01505	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
44	<i>Ae. ovata</i>		Gümüşsu mevkii- URFA
45	<i>Ae. ovata</i>		Gümüşsu mevkii- URFA
46	<i>Ae. umbellulata</i>	TUR 01036	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
47	<i>Ae. umbellulata</i>	TUR 01036	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
48	<i>Ae. cylindrica</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.
49	<i>Ae. cylindrica</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.
50	<i>Ae. cylindrica</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.
51	<i>Ae. tauschii</i>	TUR 02554	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
52	<i>Ae. tauschii</i>	TUR 02554	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
53	<i>Ae. biuncialis</i>	TUR 00385	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
54	<i>Ae. biuncialis</i>	TUR 00385	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
55	<i>Ae. triuncialis</i>	TUR 01098	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
56	<i>Ae. crassa</i>		Sarıçtepe karakolu Gümüşsu Mevkii-URFA
57	<i>Ae. crassa</i>		Sarıçtepe karakolu Gümüşsu Mevkii-URFA
58	<i>Ae. quetz</i>		Afyon Kocatepe Üni. Akademik Personeli Muhsin Konuk
59	<i>Ae. quetz</i>		Afyon Kocatepe Üni. Akademik Personeli Muhsin Konuk
60	<i>Ae. vavilovii</i>	TUR 01248	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
61	<i>Ae. speltoides ligustica</i>	TUR 03354	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
62	<i>Ae. columnaris</i>	TUR 00227	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
63	<i>Ae. columnaris</i>	TUR 00227	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
64	<i>T. aestivum(Bezostaja)</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.
65	<i>T. aestivum(Gerek79)</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.
66	<i>T. aestivum(Gerek79)</i>		Ulusl. Bahri Dağdaş Tarımsal Araş. Ens.

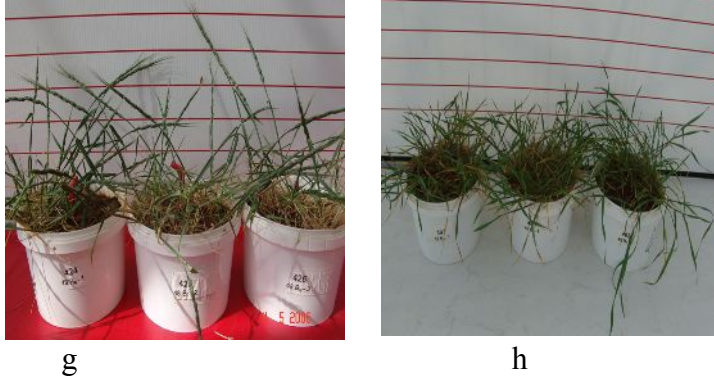
3.2. Metot

3.2.1. Materyalin Elde Edilmesi

Yabani ve kültür buğday tohumları Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne ait tam kontrollü serada saksılarda çimlendirilmiş, bitkilerin boyları 30-40 cm'e ulaştıklarında (Şekil 3.1) DNA izolasyonu için örnekler alınmıştır. Bitkilerin genç yapraklarından alınan örnekler öncelikle sıvı azot içinde dondurulup, ileri aşamalarda DNA izolasyonu için -80°C 'de derin dondurucuda depolanmıştır.



Şekil 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan bazı buğday genotiplerine ait örnekler. *T. monococcum* var. *boeoticum* (a), *T. monococcum* var. *monococcum* (b), *T. monococcum* (c), *Ae. speltoides* (d), *Ae. vavilovii* (e), *Ae. buincialis* (f).



Şekil 3.1'in devamı. *Ae. crassa*, (g), *Ae. tauschii* (h).

3.2.2. DNA İzolasyonu ve Saflaştırılması

DNA izolasyonu için yapılan ön denemelerde en uygun yöntemin 2XCTAB (cetil three metil amonyum bromid) yöntemi olduğu belirlenmiştir. 2XCTAB metodunda kullanılan ekstraksiyon çözeltisi aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

Çizelge 3.2. 2XCTAB çözeltisinin bileşenleri

2X CTAB Çözeltisinin Hazırlanması (125 ml)

NaCl	10.23 g
Tris 1M (pH=8)	12.5g
CTAB (cetil three metil amonyum bromid)	2.5g
EDTA (0.5 M)	5.0 ml
Sodyum bisülfid	0.63 g

Solüsyonun son hacmi deiyonize su ile 125 ml'ye tamamlanmıştır. 2XCTAB solüsyonu hazırlandıktan sonra izolasyonda kullanılmadan hemen önce %1 hacim/hacim olacak şekilde β -mercaptoethanol ile karıştırılmıştır (Örneğin: 25 ml CTAB ile 250 μ l mercaptoethanol). Daha sonra DNA izolasyonu prosedürüne devam edilerek izolasyona başlanmıştır.

İzolasyon aşamaları aşağıda verilmiştir;

- 1-)Bitkideki DNA içeriğinin zarar görmemesi için -80 °C'de saklanan örnekler ayrı ayrı içi azot dolu havanlara konulur.
- 2-)Havana konulan örnekler steril topuzlar aracılığı ile toz haline gelinceye kadar ezilir.
- 3-)Toz haline getirilen örnekler 2 ml steril eppendorf tüplere alınır.
- 4-)Eppendorf tüplerdeki örnekler üzerine 750 μ l 2XCTAB β -mercaptoethanol çözeltisinden ilave edildi.
- 5-)Örnekler ağızları parafilmle kapatılarak 65 derecelik blok ısıtıcıda, her birkaç dakikada bir çevrilerek, 30 dk süreyle bekletildi.
- 6-)Blok ısıtıcıdan çıkarılan örneklerin üzerine 750 μ l kloroform:izoamiloalkol (24:1) ilave edildi.
- 7-)Örnekler santrifüj cihazına alınarak 25 °C'de, 7000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüje tabii tutuldu.
- 8-)Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüplerin üst kısmındaki sıvı faz 1.5 ml lik eppendorf tüplere alınır.
- 9-)Sıvı faz kısmı alınan tüplere 300 μ l kloroform:izoamiloalkol (24:1) ilave edilerek 15000 rpm'de 5 dk süreyle tekrar santrifüj edildi.
- 10-)Tüplerin üst kısmında oluşan faz alınarak daha önceden alınan sıvı faza eklenir ve üzerlerine toplam hacmin 3/5 kadar izoamilalkol ilave edildi.
- 11-)Oluşan yeni karışım tekrar 15000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. DNA pelleti oluşumu gözlendikten sonra pelleti düşürmeden tüplerdeki izoamilalkol dökülür.

- 12-)Diplerinde DNA peletleri bulunan tüplere 1 ml %70'lik etanol ilave edilmiştir. Örnekler 5 dk süreyle 15000 rpm'de santrifüj edildi.
- 13-)Tüplerdeki etilalkol de DNA peletine zarar vermeden tüplerden uzaklaştırılır.
- 14-)Kurumaya bırakılan peletlerin üzerine daha sonra 100 µl 1XTE (Tris- EDTA Buffer) ilave edilmiş ve DNA'nın çözünmesi sağlandı.
- 15-)Örnekler ağızları parafilmle sarılarak -20 derece derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.3. DNA Konsantrasyonunun Spektrofotometrik Ölçümü

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği gösterirler. Bu nedenle 260 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri (A_{260}) oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin mikrogram düzeyinde miktarlarının belirlenmesinde kullanılır. Protein miktarı ise 280 nm'de belirlenir. A_{260}/A_{280} değeri ise DNA'nın saflığını gösterir. Çift zincirli DNA molekülleri için, 1 optik dansitenin (OD) 50 µg/ml'ye karşılık geldiği bilinmektedir. Buna göre çift zincirli DNA için miktar belirlenmesinde aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki OD (Absorbans değeri)} \times \text{sulandırma oranı} \times 50$$

Çalışmada 100 µl steril 1XTE tampon çözeltisinde çözülen DNA'ların konsantrasyonları Eppendorf marka (Biophotometer) spektrofotometre (Şekil 3.2) ile 260 ve 280nm dalga boylarında (OD_{260}/OD_{280}) okunmuş ve konsantrasyonları steril saf su ile 20ng/µl olacak şekilde eşitlenmiştir. Bu örneklerden eşit miktarlarda % 1'lik agaroz jelinde (1XTE tamponunda) yürütülerek konsantrasyonlarının eşitliği gözle de gözlenmiş ve DNA'ların parçalanmamış oldukları belirlenmiştir.



Şekil 3.2. DNA konsantrasyonunu ölçmede kullanılan spektrofotometre

3.2.4. RAPD-PCR Standardizasyonu

RAPD-PCR koşulları standardizasyonu için genomik DNA, rastgele primer, $MgCl_2$, dNTP, *Taq* DNA polimeraz konsantrasyonları yapılan ön denemelerle optimize edilmiştir. RAPD-PCR analizinde toplam 16 adet uygun sonuç veren RAPD primeri kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. RAPD analizlerinde kullanılan primerler, baz dizilişleri, GC (%) oranları ve T_m ısıları ($^{\circ}\text{C}$)

	Primer ismi	Primer dizini (5'→3')	%GC oranları	T_m ($^{\circ}\text{C}$)
1	<i>RAPDB1</i>	5'-CCCGCCGTTG-3'	80	34
2	<i>RAPDB2</i>	5'-TGCGCCCTTC-3'	70	34
3	<i>RAPDB3</i>	5'-GATGACCGCC-3'	70	34
4	<i>RAPDB4</i>	5'-CTCACCGTCC-3'	70	34
5	<i>RAPDB5</i>	5'-GACGGATCAG-3'	60	32
6	<i>RAPDB6</i>	5'-CCGATATCCC-3'	60	32
7	<i>RAPDB8</i>	5'-ACGGTACCCC-3'	60	32
8	<i>RAPDB9</i>	5'-CCAGCGTATT-3'	50	30
9	<i>RAPDB10</i>	5'-CTACTGCGCT-3'	60	32
10	<i>RAPDB13</i>	5'-TTCAGGGTGG-3'	60	32
11	<i>RAPDB14</i>	5'-TCCTGGTCCC-3'	70	34
12	<i>RAPDB15</i>	5'-ACCGTTCCAG-3'	60	32
13	<i>RAPDB18</i>	5'-GAGTCAGCAG-3'	60	32
14	<i>CRAPD9</i>	5'-CCTGGGTTC-3'	70	34
15	<i>RAPDL4</i>	5'-AAGAGCCCGT-3'	60	32
16	<i>RAPDL6</i>	5'-CCCGTCAGCA-3'	70	34

3.2.5. RAPD-PCR Karışımı

Reaksiyonlar 2 μl DNA + 23 μl karışım (*reaction mix*) olacak şekilde 25 μl hacimde ince çeperli, 0.2 ml *RNase* ve *DNase-free* PCR tüplerinde gerçekleştirilmiştir. PCR'da kullanılan moleküler biyoloji hassasiyetindeki kimyasallar ve miktarları çizelge 3.4'de verilmiştir. PCR uygulamaları Techne Thermo Mastercycler Gradient Thermal Cycler (Şekil 3.3) cihazında gerçekleştirilmiştir. Cihazın kapak sıcaklığı 105 $^{\circ}\text{C}$ ve blok sıcaklığı 94 $^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu ayarlamamın amacı PCR sırasında reaksiyon karışımının tüplerden buharlaşmasını engellemektir. Her bir 0.2 ml'lik PCR tüplerine 2 μl DNA ilave edilerek üzerine hazırlanan karışımdan 23 μl konulmuştur. Böylelikle tüplerdeki toplam hacim 25 μl olmuştur.



Şekil 3.3. Techne Thermo Mastercycler Gradient Thermal Cycler PCR cihazı

Çizelge. 3.4. PCR reaksiyon karışımı bileşenleri ve miktarları

Reaksiyon karışımı	25 µl Reaksiyon Ortamında Bulunan Miktar
DNA miktarı (20 ng/µl)	2µl
10x <i>Taq</i> tampon çözeltisi (Bioron)	2.5 µl
25 mM MgCl ₂ (Bioron)	2.5 µl
Her birinden 25 mM olacak şekilde dNTPs (Lavron)	0.4 µl
Primer (50 pmol/µl)	0.5 µl
5 ünite/µl <i>Taq</i> DNA polimeraz (Bioron)	0.3 µl
ddH ₂ O (PCR hassasiyetinde su)	16.8 µl

3.2.6. RAPD-PCR Koşulları

PCR reaksiyonunda çift zincirli DNA 90-95 °C arasındaki sıcaklıkta denatüre olmaktadır. Bu nedenle, çalışmada 94 °C'de 60 saniye denatürasyon süresi iyi sonuç vermiştir. İkinci aşamada, zincirleri ayrılan DNA' lara primerin komplementeri (bileşeni) olan bölgeye bağlanma sıcaklığı olan 30-60 °C'ye düşürülmesi gerekmektedir. Çalışmada primerlerin T_m ısılarına göre değişen sıcaklıklarda bağlanma sıcaklığı uygulanmıştır (28-64°C). Genelde primerlerin T_m ısılarının 1-2 °C altındaki sıcaklıklar amplifikasyon yönünden olumlu sonuçlar vermiştir. Bu sıcaklığı takiben bağlanan primerlerin *Taq DNA* polimeraz ile çoğaltılması için 70-75 °C arasında bekletilmesi gerekmektedir. 72 °C' de 2 dakika extnsion (uzama) sıcaklık ve süresi verilmiştir. Bu döngüler 46 kez tekrarlanış ve en son 72 °C' de 10 dakika son uzama süresi verilmiştir. PCR ürünleri gerektiğinde -20°C'de buzdolabında saklanmış ve daha sonra agaroz jel elektroforezde yürütülmüştür..

Örnek olarak:

- 94 °C ----60 saniye
 - 32 °C ----60 saniye
 - 72 °C -----2 dk
 - 72 °C ----10 dk
 - 4 °C ----bekleme sıcaklığı
- x 46 döngü

3.2.7. Agaroz Jel Elektroforezi ve Dokümantasyon

PCR cihazından çıkarılan ürünler bant görüntülerinin elde edilebilmesi için elektroforez işlemine tabii tutulmuşlardır. Elektroforez işlemi elektroforez tankı içinde gerçekleştirilmiştir. Tank içine elektrolit çözelti konulmuştur. Daha sonra hazırlanan agaroz jeldeki yuvalara, önceden *loading-dye* boyaları konulmuş PCR ürünleri, yüklenecek elektrik akımına (60 V) maruz bırakılmışlardır. Nihayetinde oluşan bantlar UV ışığı altında görüntülenerek fotoğrafları alınmış ve skorlamalarının yapılabilmesi için elektronik ortama aktarılmışlardır.

3.2.8. %2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması ve Dökülmesi

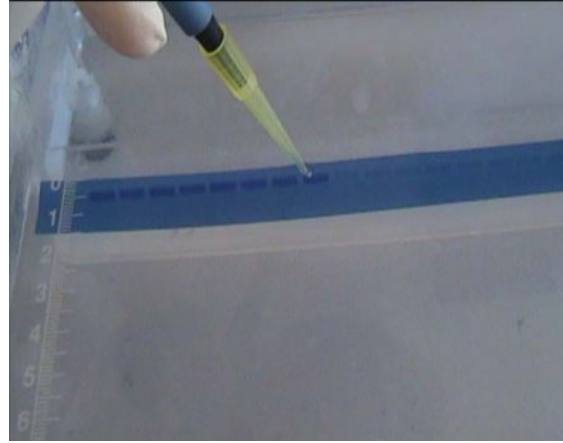
PCR işlemi tamamlandıktan sonra RAPD yöntemiyle çoğaltılan DNA örneklerinin elektroforetik ayırımı için agaroz jel (Serva Inc.) kullanılmıştır. PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür

Jel hazırlanırken agaroz, erlenmayerde 1X yoğunluktaki TBE tampon çözeltisi içinde yüksek sıcaklıkta 350–500 °C'de bir mikrodalga fırın içinde 2–3 dk kaynatılarak eritilmiştir. Agarozun tam anlamıyla eriyebilmesi için belli aralıklarla çözeltiyi hafifçe sallamak suretiyle şeffaf bir görüntü elde edinceye kadar işlem bu şekilde devam ettirilmiştir. Soğumaya bırakılan jel beklenirken, jelin döküleceği tepsiye DNA örneklerinin yükleneceği yuvaların oluşması için çok dişli (40 dişli) bir tarak yerleştirilmiştir. Daha sonra soğumakta olan jelin içine oluşan bantların görüntüleme cihazında UV ışığında görüntülenebilmeleri için DNA'ya bağlanma özelliğine sahip olan etidyum bromürden yaklaşık 10 µg/mL olacak şekilde jele ilave edilmiştir. Soğutulan eriyik jel, kalıbında ve tarakların bulunduğu bölgelerde hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek tepsiye dökülmüştür. Jelin donmasının ardından taraklar dikkatli bir şekilde çıkarıldıktan sonra jel kaseti, jel ile birlikte elektroforez tankının içine yerleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanan 1XTBE elektrolit çözeltisinden jelin üst kısmını kapatacak kadar elektroforez tankına dökülmüştür.

3.2.9. PCR Ürünlerinin Agaroz Jele Yüklenmesi

PCR sonucu elde edilen ürünlerin agaroz jelde yürütülebilmesi için öncelikle *Loading Dye* (Yükleme boyası) hazırlanmıştır. Yüklemeye çözeltisinin hazırlanmasında %25'lik Bromofenol mavisi, %25'lik Ksilen siyanol ve %30'luk gliserol kimyasalları kullanılmıştır. *Loading Dye* bu işlem sırasında kullanılmasının amacı PCR ürünlerinin 1X TBE çözeltisine karışmasını önlemek ve aynı zamanda elektroforez sırasında DNA fragmanlarının takibini sağlamayı amaçlamaktadır. Elektroforez uygulanacak olan içinde 25 µl amplifikasyon ürünü bulunan her bir PCR tüpüne 4µl 6X yüklemeye boyası

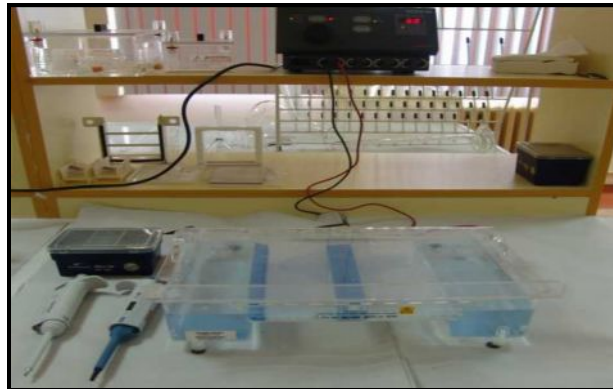
çözeltisi konularak homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra, mikropipetler aracılığı ile her bir tüpten 15 µl karışım alınarak agaroz jeldeki kuyucuklara sırasıyla yüklenmiştir.(Şekil.3.4)



Şekil 3.4. PCR ürünlerinin agaroz jele yüklenmesi

3.2.10. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

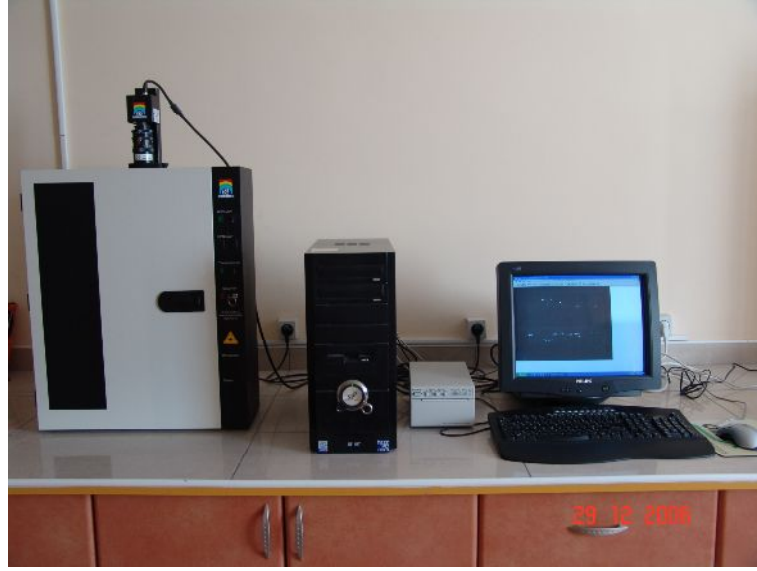
Jel kuyucuklarına yüklenen PCR ürünleri elektrik akımı olan ortamda birbirlerinden ayrılması için yatay elektroforez cihazında 60 voltta 3.5-4 saat ara sıra kontrol edilip görüntüleri alınarak yürütülmüştür (Şekil.3.5).



Şekil 3.5. PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi

3.2.11. Görüntüleme ve RAPD Bantlarının Elde Edilmesi

Jel çözelti içerisinde alınarak, RAPD bantlarına ilişkin fotoğraflar Vilbert-Lourmat marka jel dokümantasyon sisteminde (Şekil 3.6) transilüminatör yardımı ile 254 nm dalga boyundaki UV ışığı altında elde edilmiş ve veriler elektronik TIFF dosyası olarak skorlanmıştır.



Şekil 3.6. Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi

3.2.12. Veri Analizleri

Agaroz jel elektroforezi sonunda elde edilen bant desenleri, polaroid film üzerinde görüntülenerek kuvvetli, tekrarlanabilir ve polimorfik olan bantlar değerlendirilmeye alınmıştır. Çeşitlerin karşılaştırılmasında, bantlar var (1) veya yok (0) olarak değerlendirilmiştir. Genotipler arasındaki genetik uzaklıkları ifade eden dendrogram, NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 1.8) programı kullanılarak oluşturulmuştur.

3.2.12.1. İstatistiki Analiz Metotları

3.2.12.1.1. Kümeleme Analizi (Cluster Analysis-UPGMA)

Son dönemlerde biyologlar tarafından sıklıkla kullanılan kümeleme analizi bireyleri sahip oldukları bazı özelliklere göre aynı küme veya aynı grupta birleştiren bir metottur. (Pınarkara.,2007)

Dendogram oluşturulurken öncelikle bir bireyle başlanır daha sonra diğer bireyler sırayla eklenerek dendogram oluşturulmaya çalışılır. Dendogramın oluşturulmasına benzerlik yada farklılık matrisi ile başlanır ve aşağıdaki aşamalar gerçekleştirilir

1. Çiftler halinde, bütün bireyler arasındaki benzerlik/farklılıktan oluşan (r_{ij}) **R** benzerlik/farklılık matrisi hesaplanır.
2. Birbirine en çok benzeyen iki birey arasında ilk küme oluşturulur.
3. Bu küme ve arta kalan bireyler arasındaki benzerlik/farklılık tekrar hesaplanır.
4. Birbirine en çok benzeyen iki birey (yada birey-küme, küme-küme) arasında ikinci küme oluşturulur.
5. Bu işleme bütün bireyler dendograma dahil oluncaya kadar devam edilir.

Kümeleme işleminde birkaç metot vardır. Bunlardan group average(grup ortalaması) dominant markörlerin analizlerinde yaygın olarak kullanılır ve unweighted pair-groups method using arithmetic averages (UPGMA) olarak bilinir. Bu metotta iki küme arasındaki benzerlik/farklılık iki kümenin bütün bireylerinin ortalaması alınarak hesaplanır (Quinn ve Keough 2002).

3.2.12.1.2. Temel Koordinatlar Analizi (Principal Coordinate Analysis)

Bu yöntem bireyler arasındaki benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak kullanılan çok değişkenli bir istatistiksel analiz metodudur. Benzerlik ya da farklılık matrisleri kullanılarak analizler gerçekleştirilir.

PCoA'nin aşamaları aşağıda verilmiştir.

1. n özellik bakımından değerlendirilen m bireyden elde edilen veriler var (1) ya da yok (0) şeklinde kaydedilerek $n \times m$ boyutlu veri matrisi, $\mathbf{X}_{n \times m}$, elde edilir.
2. Veri matrisinden $n \times n$ boyutlu benzerlik/farklılık matrisi, $\mathbf{R}_{n \times n}$, elde edilir. Burada i . ve j . bireylerin benzerliklerinin (r_{ij}) hesaplanmasında değişik katsayı formülleri kullanılmaktadır. Bitkilerle yapılan çalışmalarda, Chatfield ve Collins (1980) eşitlik 1 de verilen Jaccard tarafından geliştirilen katsayının (J) kullanılmasını tavsiye etmişlerdir. Ancak, eşitlik 2'de verilen simple matching (SM) ve eşitlik 3'te verilen Dice (D) benzerlik katsayıları da yaygın olarak kullanılmaktadır.

$$r_{ij} = a/(a + b + c) \quad (1)$$

$$r_{ij} = (a + d)/(a + b + c + d) \quad (2)$$

$$r_{ij} = 2a/(2a + b + c) \quad (3)$$

Burada r_{ij} = benzerlik katsayısı, a = i . ve j . bireylerin her ikisinde de olan özelliklerin toplamı, b = i . bireyde olup j . bireyde olmayan özelliklerin toplamı, c = i . bireyde olmayan j . bireyde olan özelliklerin toplamı, d = i . ve j . bireyde olmayan özelliklerin toplamıdır

3. Benzerlik farklılık matrisi çifte merkezleme (double centering) yöntemiyle transformasyona tabi tutularak (her bir köşegen dışı elemandan satır ortalaması

ve sütun ortalaması çıkartılır sonra genel ortalama ilave edilir) $S_{n \times n}$ matrisi elde edilir.

4. **S** matrisi üzerinde Öz değer Öz vektör analizi yapılır. Elde edilen Öz vektörler (a_j) temel koordinatlar matrisini, $A_{n \times n}$, oluşturur (burada $a_{1j}^2 + a_{2j}^2 + a_{3j}^2 + \dots + a_{mj}^2 = 1$ şeklinde bir kısıtlama uygulanır).

Bu teknik moleküler markörlerden yararlanılarak deney ünitelerindeki kümelenmeleri açığa çıkarmak amacıyla da yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bireyler arasındaki benzerlik farklılık matrislerinin oluşturulmasında ve PCoA'de Rohlf (2002) tarafından geliştirilen NTSYS-pc ver. 2.10d (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* - Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi) paket programı kullanılmıştır. Genetik markörlerde kayıp veriler olması durumunda bu paket program ile kayıp veriler dikkate alınarak analiz gerçekleştirilebilmektedir.

3.2.12.1.3. Mantel Z Testi

Mantel testi (Mantel 1967) tarafından geliştirilen bir tekniktir. Bireyler arasındaki benzerlik ya da farklılık matrislerinin birlikteliklerinin istatistiki olarak test edilmesinde kullanılır. Herhangi bir dağılım gerektirmedikinden dolayı, parametrik olmayan bir testtir. Genel olarak benzerlik/farklılık matrislerinin aralarında fark olup olmadığını test etmek amacıyla kullanılır. Matrisler $n \times n$ boyutlu kare matrisleri olması gerekir. Matrisler simetrik olabileceği gibi, simetrik olmayan matrislerde de uygulanabilir. Testin uygulaması ile ilgili bir örnek, Schnell ve ark. (1985) tarafından verilmiştir. Mantel test ile beraber, iki matris elemanları arasındaki ilişkinin bir ölçüsü olarak (pearson) korelasyon katsayısı hesaplanır. Ancak buradaki korelasyon aşağıdaki gibi yorumlanır.

$r \geq 0.9$ kuvvetli uyum

$0.9 > r \geq 0.8$ iyi uyum

$0.8 > r \geq 0.7$ zayıf uyum

$r < 0.7$ çok zayıf uyum

Bu çalışmada buğday verilerinin PCoA esnasında elde edilen benzerlik/farklılık matrisleri SM ve J benzerlik katsayıları ile elde edilen matrislerin karşılaştırılmalarında NTSYS-pc paket programının MXCOMP (Matrix comparison plot) komutuyla Mantel testleri gerçekleştirilmiştir.

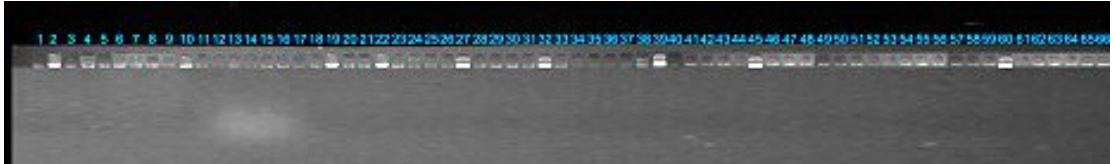
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Moleküler Çalışmalar

4.1.1. DNA İzolasyonu Sonuçları

Bitkinin genç yapraklarından alınan örneklerden 2XCTAB yöntemi ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada laboratuvarımızda rutin olarak kullanılan CTAB DNA izolasyonu metodu kullanılmıştır. Bu metodun uygulanışı Materyal ve Metot bölümünde ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Daha önce buğdaydan DNA izolasyonu için bu metodu kullanan Mukhtar ve ark., (2002), Prasad ve ark., (2000) da olumlu sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 16 yabancı ve 1 kültür buğdayından 66 farklı bireye ait DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen DNA'lar %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek DNA'nın hassas yöntemler olan RAPD için uygun olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.1'de çalışmamızda kullandığımız örneklerin DNA görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışmada kullandığımız bitkilerin DNA örnekleri

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda azami absorpsiyon özelliği göstermelerinden dolayı 260 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri (A_{260}) oldukça saf elde edilen nükleik asitlerin miktar tayininde kullanılmıştır.

A_{260} 'daki değerler DNA ve RNA'yı birbirinden ayırt etmeye yetmez. Ancak izolasyon aşamasında RNAaz uygulayarak toplam nükleik asitler içinde yer alan RNA'ların parçalanması sağlanmıştır. Örneklerle karışan protein miktarının ise belli sınırlarda tutulması örneklerin pürifikasyon ertesinde kullanılacakları hassas uygulamalarda (örneğin; restriksiyon enzim kesimlerinde) sorun yaşanmamasını

sağlamaktadır. Bu nedenle 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. A_{280} değeri ortamda bulunan protein moleküllerinin yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir. Saflaştırılmış DNA'da A_{260}/A_{280} oranı ideal olarak yaklaşık 1.75-1.8'in üzerinde olmalıdır. Bununla birlikte saflaştırılan DNA'nın A_{260}/A_{280} oranı 1.2 civarına düşene kadar çeşitli uygulamalarda sorunsuzca kullanılabilir.

Çalışmamızda Eppendorf marka biofotometre ile elde edilen A_{260} , A_{280} ve A_{260}/A_{280} ve DNA konsantrasyon değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Buna göre *Ae. cylindrica* aksesyonu 2,87 değeriyle en yüksek A_{260}/A_{280} oranına sahip olmuştur. TUR 03561 aksesyon numarasına sahip *T. monococcum* aksesyonu 0,43 A_{260}/A_{280} değeriyle en küçük orana sahip olmuştur. Elde edilen sonuçlar neticesinde tüm örneklerin kullanıldığı PCR uygulamalarında DNA saflığı veya konsantrasyonu ile ilgili herhangi bir sorunla karşılaşılmamıştır.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan bitkilerin türleri, aksesyon numaraları ve 66 birey ile birlikte DNA saflık değerleri ve konsantrasyon değerleri

Sıra no	Tür adı	Aksesyon no	A_{260}	A_{280}	$A_{260}/280$	DNAK ons.
1	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00678	0.098	0.060	1.63	245.6
2	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00678	0.018	0.013	1.40	45.9
3	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00844	0.008	0.167	1.86	416.6
4	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR 00844	0.023	0.236	1.74	590.7
5	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR00854	0.026	0.059	1.88	147.5
6	<i>T. monococcum var. boeiticum</i>	TUR00854	0.168	0.082	1.37	204.3
7	<i>T. monococcum</i>	TUR 01753	0.136	0.238	1.49	594.1
8	<i>T. monococcum</i>	TUR 01753	0.483	0.357	1.58	993
9	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	0.018	0.043	1.71	107.2
10	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	0.047	0.011	1.86	273.5
11	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03405	0.115	0.118	1.36	294.2
12	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	0.032	0.069	1.59	172.7
13	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	0.028	0.049	1.73	122.5
14	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03563	0.243	0.128	0,53	320.4
15	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	0.209	0.091	0.43	207.7
16	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	0.044	0.096	2.18	239.3
17	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03561	0.447	0.345	0.77	863.3
18	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03559	0.051	0.104	2.06	260.6
19	<i>T. monococcum var. monococcum</i>	TUR 03559	0,041	0,058	1,43	145.8
20	<i>T. monococcum var. monococcum</i>		0.039	0.088	2.24	219
21	<i>T. monococcum var. monococcum</i>		0.062	0.117	1.89	292.8
22	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00853	0.066	0.133	2.02	332.5
23	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00853	0.052	0.123	2.37	308.2
24	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00705	0.064	0.124	1.94	309.9

25	<i>T. monococcum var. urartu</i>	TUR 00705	0.054	0.111	2.07	278.3
26	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	0.078	0.165	2.12	412.2
27	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	0.065	0.155	2.01	355.5
28	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03588	0.299	0.249	0.83	622.6
29	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03560	0.136	0.146	1.08	365.8
30	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03560	0.244	0.389	1.6	973.5
31	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03562	0.026	0.037	1.43	91.7
32	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03565	0.127	0.231	182	578.
33	<i>T. dicoccum</i>	TUR 03565	0.010	0.027	2.63	67.7
34	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	0.030	0.074	2.52	186.2
35	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	0.472	0.373	0.79	931.6
36	<i>T. dicoccum</i>	TUR 02453	0.058	0.066	1.14	165.5
37	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03399	0.048	0.096	2.01	240.9
38	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03371	0.069	0.133	192	333.2
39	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03371	0.047	0.051	1.09	128.7
40	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03369	0.039	0.075	1.95	188.3
41	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03369	0.091	0.186	2.03	465
42	<i>T. dicoccoides</i>	TUR 03388	0.052	0.099	1.91	248.1
43	<i>T. urartu</i>	TUR 01505	0.039	0.073	1.89	182.5
44	<i>Ae. ovata</i>		0.029	0.054	186	134
45	<i>Ae. ovata</i>		0.058	0.109	1.87	271.9
46	<i>Ae. umbellulata</i>	TUR 01036	0.018	0.040	2.16	99.5
47	<i>Ae. umbellulata</i>	TUR 01036	0.056	0.117	2.1	293.2
48	<i>Ae. cylindrica</i>		0.067	0.119	1.78	296.9
49	<i>Ae. cylindrica</i>		0.019	0.056	2.87	139.9
50	<i>Ae. cylinirica</i>		0.027	0.022	0.82	54.5
51	<i>Ae. tauschii</i>	TUR 02554	0.077	0.163	2.1	406.9
52	<i>Ae. tauschii</i>	TUR 02554	0.065	0.154	1.9	385.2
53	<i>Ae. biuncialis</i>	TUR 00385	0.072	0.155	2.15	387.1
54	<i>Ae. biuncialis</i>	TUR 00385	0.043	0.098	2.27	266.2
55	<i>Ae. triuncialis</i>	TUR 01098	0.033	0.06	1.82	149.3
56	<i>Ae. crassa</i>		0.035	0.076	2.17	190.2
57	<i>Ae. crassa</i>		0.025	0.049	1.98	123.7
58	<i>Ae. quetz</i>		0.025	0.041	1.62	103.1
59	<i>Ae. quetz</i>		0.052	0.093	1.78	232.5
60	<i>Ae. vavilovii</i>	TUR 01248	0.043	0.057	1.32	141.4
61	<i>Ae. speltoides lingustica</i>	TUR 03354	0.055	0.068	1.21	135.5
62	<i>Ae. columnaris</i>	TUR 00227	0.47	0.399	0.85	998.4
63	<i>Ae. columnaris</i>	TUR 00227	0.117	0.097	0.83	242.4
64	<i>T. aestivum(Bezostaja)</i>		0.136	0.324	2.38	810
65	<i>T. aestivum(Gerek79)</i>		0.136	0.306	2.26	765.3
66	<i>T. aestivum(Gerek79)</i>		0.241	0.419	1.74	1047

4.1.2. RAPD-PCR Amplifikasyon Sonuçları

Çalışmada 40 RAPD primeri denenmiştir. Bu primerlerden 16 tanesinden iyi sonuç elde edilmiştir. Bu primerlerin amplifikasyonları sonucu çalışmada kullandığımız 66 aksesyondan 282 bant elde edilmiştir. Üretilen bantların 269

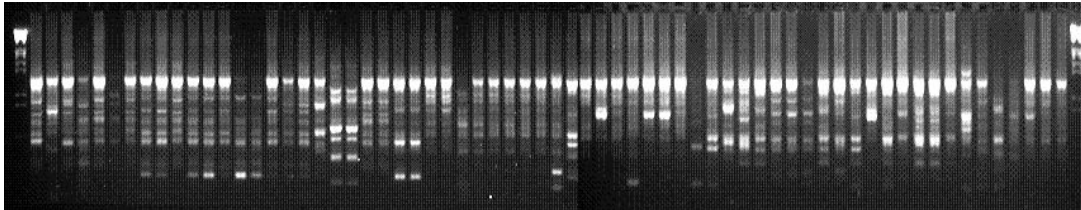
(%95.3) adedi polimorfik olurken kalan 13 tanesi ise monomorfik özelliğe sahip olmuştur.

RAPDB6 primerinin ürettiği 35 bandın hepsi polimorfik olurken *RAPDB8* primeri ürettiği 20 bandın 5 tanesinin monomorfik olması nedeniyle en düşük polimorfizmi sağlayan primer olmuştur (Çizelge 4.2).

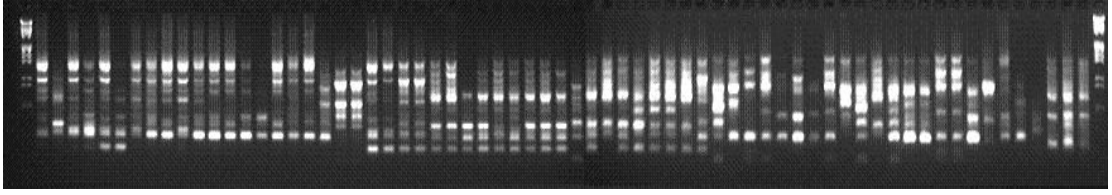
Çizelge 4.2. *RAPD* amplifikasyonları sonucu oluşan bantlar ve polimorfizm oranları

Primer adı	Toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı	Polimorfizm oranı (%)
<i>RAPDB1</i>	34	34	100
<i>RAPDB2</i>	24	24	100
<i>RAPDB3</i>	16	14	87.5
<i>RAPDB4</i>	10	10	100
<i>RAPDB5</i>	16	16	100
<i>RAPDB6</i>	35	35	100
<i>RAPDB8</i>	20	15	75
<i>RAPDB9</i>	11	11	100
<i>RAPDB10</i>	12	12	100
<i>RAPDB13</i>	19	19	100
<i>RAPDB14</i>	10	8	80
<i>RAPDB15</i>	10	8	80
<i>RAPDB18</i>	16	16	100
<i>RAPDL4</i>	17	17	100
<i>RAPDL6</i>	12	10	100
<i>CRAPD9</i>	10	10	100
Toplam	282	269	95.3

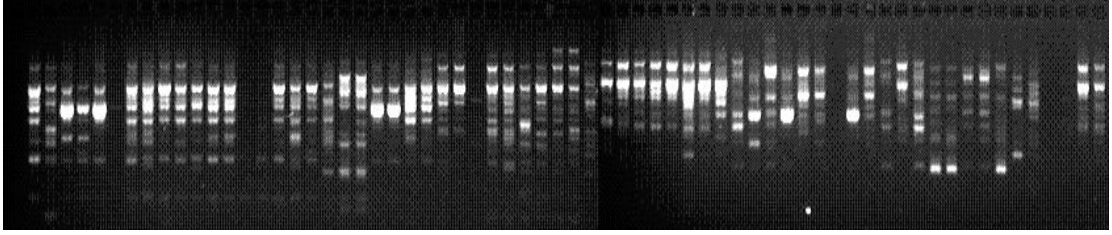
Aşağıda çalışmada kullanılan *RAPDB3*, *RAPDB5*, *RAPDB6*, *RAPDB10*, *RAPDB18* ve *RAPDL4* primerlerinin band görüntüleri verilmiştir.



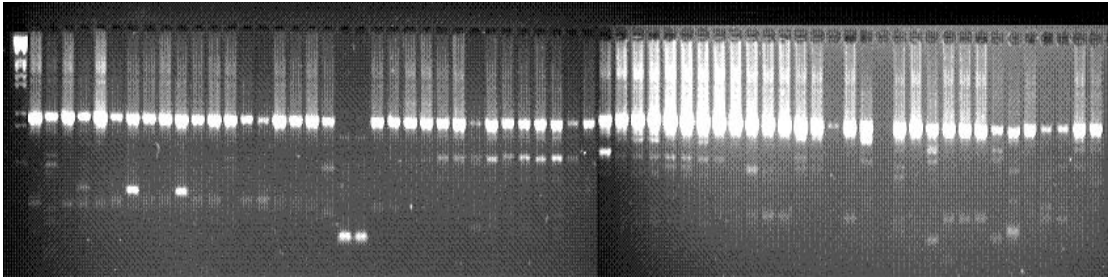
Şekil 4.2 *RAPDB3* primerinin agaroz jel band görüntüsü



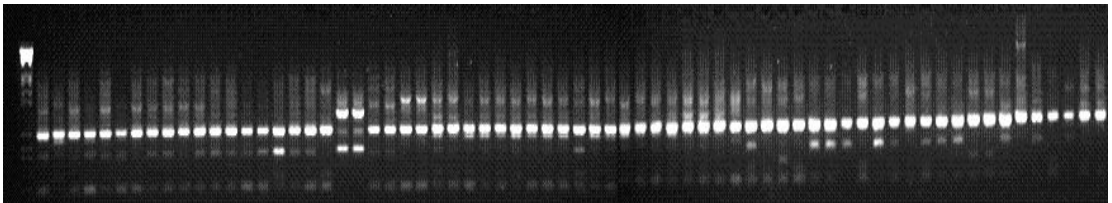
Şekil 4.3 *RAPDB5* primerinin agaroz jel band görüntüsü



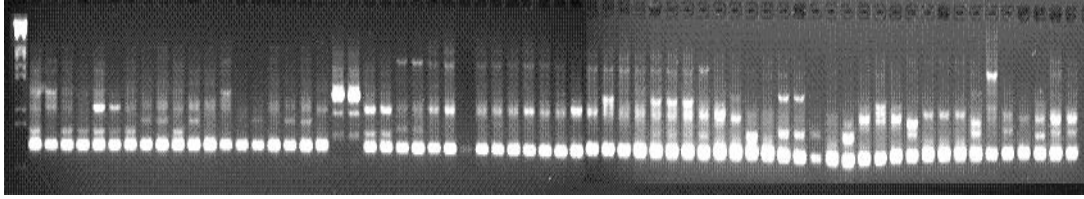
Şekil 4.4. *RAPDB6* primerinin agaroz jel band görüntüsü.



Şekil 4.5. *RAPDB10* primerinin agaroz jel band görüntüsü



Şekil 4.6. *RAPDB18* primerinin agaroz jel band görüntüsü



Şekil 4.7. *RAPDL4* primerinin agaroz jel band görüntüsü

4.2. Genetik Analizler

Çalışmamızda Anadolu orijinli *Triticum* ve *Aegilops* cinslerine ait 17 türe ait 66 aksesyonun arasındaki genetik mesafenin tespiti amaçlanarak RAPD-PCR yöntemine başvurulmuştur. RAPD primerleri kullanılarak elde edilen 282 band (Şekil. 4.2 -4.7) daha sonra NTYSC-pc 2.0 istatistik programı aracılığıyla genetik benzerlik ve mesafe esasına dayalı dendograma dönüştürülmüştür.

RAPD verilerinin UPGMA analizinde kültür formları ile yabani türler farklı gruplarda yer aldığı ve yabani formların kendi içinde *Triticum* ve *Aegilops*'lar olmak üzere iki grup oluşturduğu görülmektedir (Şekil 4.8). Analizler sonucunda ortaya çıkan genetik farklılık şunu gösteriyor ki, kültür formlarında yapay seleksiyon nedeniyle görülen genetik homojeniteye karşın yabani formlarda genetik çeşitlilik belli ölçüde korunmaktadır.

Dendogram bilgisine bakarak çalışmada kullandığımız bitkilerin sahip oldukları genomlarına bağlı olarak bir ayrışım gösterdiklerini söyleyebiliriz. A genomuna sahip *T. boeoticum*, *T. monococcum*, *T. urartu*'nun bir grup oluşturduğu. AB genomuna sahip *T. turgidum* subsp. *dicoccum* ve bunun yabani formu olan *T. turgidum* subsp. *dicoccoides*'in bir başka grup oluşturduğu, ABD genomuna sahip *T. aestivum*'un da bir grup oluşturduğu açık bir şekilde görülmektedir. Ayrıca çalışmada kullandığımız *Aegilops*'ların da bir diğer grubu oluşturduğu görülmektedir. RAPD verilerinin değerlendirilmesinde *T. monococcum* var. *monococcum* urfa'nın bir dış grup oluşturması, bu bitkinin mevcut gen bankası

aksesyonları dışında oldukça farklı bir genomik yapıya sahip olduğunu düşündürmektedir.

Ekmeklik buğday olan ve çalışmada dış grup olarak yer alan Bezostaja ile Gerek79 çeşitleri, beklendiği üzere, birbirine yakın bir akrabalık sergilemişlerdir. *Ae. biuncialis*' e ait TR00385 aksasyonu ekmeklik buğday türlerine en yakın yabancı tür formu olarak gözükmektedir. Okuna ve ark. (1998) Kafkasya ve Asya merkezinde topladıkları *Aeligops* türleri ve ekmeklik buğday ile yaptıkları çalışmada *Ae. tauschii* türünü kültür buğdayına en yakın *Aegilops* türü olarak belirtirken, *Ae. tauschii* türünün kültür buğdayının D genomu kaynağı olduğunu bildirmişleridir. Bizim çalışmamızda da kültür buğdayı varyeteleri *Aegilops* türleri ile aynı grupta yer almalarına rağmen Okuna ve ark., (1998)'nin çalışmasından farklı olarak *Ae. biuncialis*'e daha yakın akrabalık göstermişlerdir. Kullandığımız aksasyonların orijinleri ile adı geçen çalışmada kullanılan aksasyonların orijinlerinin farklılığı benzer olmayan bir sonucun ortaya çıkmasına neden olduğunu düşündürmektedir.

Golovnina ve ark. (2007), kloroplast DNA'sı sekans bilgisini kullanarak yaptıkları buğday filogenetik çalışmalarında *Ae. speltoides* türünün hem *Aegilops*, hem de *Triticum* türlerinin gen kaynağı bakımından atası olabileceği görüşünü dile getirmişlerdir. Çalışmamızda *Ae. biuncialis* aksasyonu ekmeklik buğdaylardan olan kültür buğday çeşitlerinden Gerek ve Bezotaja'ya en yakın tür olmuştur. Ayrıca *Ae. colimnaris*'in de bu gruba yakınlığı dikkat çekicidir.

Ae. speltoides kültür buğdayına B genom vericisi olması açısından önemli bir adaydır (Sarkar ve Stebbins, 1956; Duarok ve Zhang, 1990). Ayrıca bu türün birçok stres koşullarına toleransının yüksek olması dikkat çekicidir. (Sasanma et al,2002). Çalışmamızda *Ae. speltoides* kültür türleri ile aynı çekirdek grupta yer almamıştır. Daha önce de belirtildiği gibi *Ae. speltoides*'in hem *Aegilops* hem de *Triticum* türlerine gen kaynaklığı yapmış olması, çalışmamızda kullandığımız *Aegilops*

türlerinin genomlarını *Ae. speltoides* ile kültür çeşitleri arasında köprü oluşturduğu dile getirilebilir.

T. boeoticum ile *T. urartu* arasında genetik yakınlık olduğu daha önceki kimi çalışmalarda (Takumi ve ark, 1993; Ciaffi ve ark; 2000, Takasuma ve ark, 2002) dile getirilmiştir. Bizim çalışmamızda da kullandığımız *T. boeoticum* ve *T. urartu* aksesyonları aynı grupta yer almıştır.

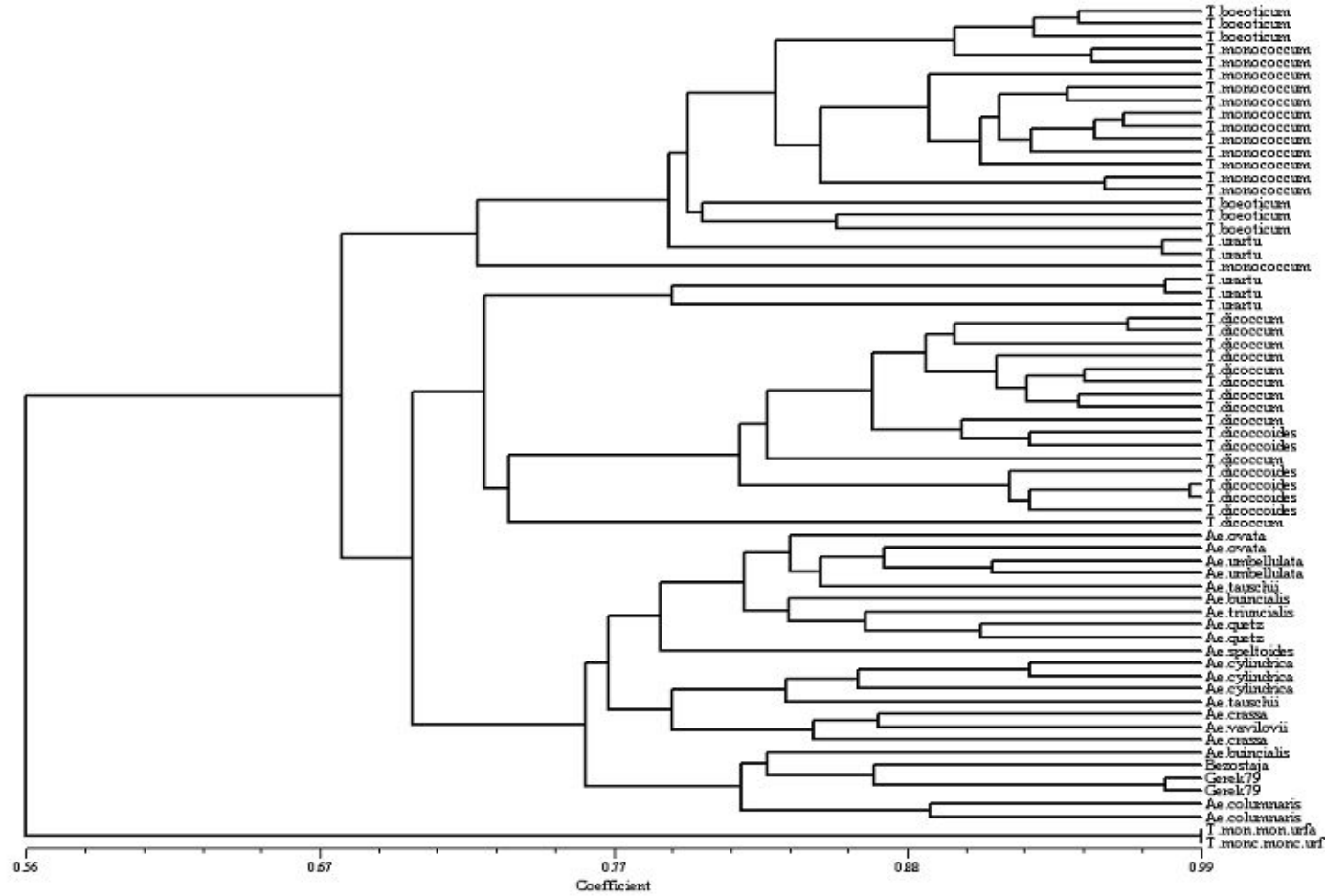
Aegilops ile *Triticum* cinsleri arasında yaşanan monofiletik olma olasılıkları daha önce Peterson ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışma ile ret edilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda *Aegilops* ve *Triticum* türleri birbirinden farklı gruplar oluşturarak ayrı cins oldukları savını güçlendirmişlerdir. Peterson ve ark. (2006) çalışmalarında *Ae. speltoides* türünün *Triticum* türleri arasında yer aldığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda böyle bir sonuç görülmeyp, *Ae. speltoides*, *Aegilops* türleri arasında yer almıştır. Çalışmamızdaki enteresan durum kültür buğday çeşitlerinin *Aegilops* türleri arasında yer almasıdır. Bu da kullandığımız moleküler markör primerlerinin çalışmadaki kültür çeşitleri ile onların gen kaynağı durumundaki *Aegilpos* türleri genomlarının benzer bölgelerini amplifiye ettiği savını akla getirmektedir.

Yıldırım ve Akkaya (2006), AFLP yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada *T. urartu* ve *T. monococcum* arasında yakın akrabalık olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz RAPD bandları dendogramı bu sonucu destekler niteliktedir. *T. urartu*'nun *T. dicoccum*'a yakınlığı Yıldırım ve Akkaya (2006)'nın çalışmalarında da desteklenmiştir ve bu da *T. urartu*'dan *T. dicoccum*'a gen akışının olduğu görüşünü desteklemektedir. Diploid olan *T. urartu*'nun diğer diploid türler olan *T. boeoticum* ve *T. monococcum*'dan tetraploid türlere daha yakın oluşu *T. urartu*'nun A genomu vericisi olduğunu desteklemektedir (Dvarok ve ark, 1992; Jaaska, 1993; Waires ve Barnhart, 1990).

Özkan ve ark (2005) yaptıkları çalışmada Türkiye'den toplanan tetraploid türlerin karakterizasyonuna yönelik çalışmalarında Diyarbakır, Karacadağ

yöresinden toplanan *T. dicoccoides* aksesyonlarının kültür buğdaylarına yakın akraba olduklarını ve gen havuzlarındaki benzerliğin yüksek düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. RAPD analiz dendogramımıza göre *T. dicoccoides* kültür formu olan tetraploid *T. dicoccum*'a yakın bir akrabalık sergilemiştir.

Çalışmamızda kullandığımız *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinsi türleri ile bu iki cins arasındaki genetik ilişkiyi görmeye çalışırken aynı zamanda kültür buğdayı olan *T. aestivum*'un muhtemel yabani atası durumundaki türlerini tespit etmeye çalıştık. Neticede kültür buğdayının muhtemel yabani atası olarak *T. urartu*, *Ae. speltoides* ve *Ae. tauschii* türlerinin olabileceği savı çalışmamızca da desteklenmiştir. Öte yandan çalışmada birçok türden birden fazla aksesyon kullanmamız aynı zamanda tür içindeki genetik varyasyonu gözleme şansını bize vermiştir. Bu da bize tür içinde görülecek olan muhtemel çeşitliliğin aksesyonlar arasında yapılması tasarlanan çaprazlama çalışmalarında ön bilgi oluşturmasında katkı sağlayacaktır. Çalışmamızda *T. monococcum* ve *T. dicoccum* türlerinden fazla aksesyon kullanmamız bu iki tür içindeki genetik zenginliğin görülmesi açısından faydalıdır. Çünkü bu iki tür buğday tarımının evrimsel gelişiminde ilk olma niteliğine sahiptirler. Bu iki türe ait aksesyonlarında biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık genlerinin taşınması bunların çaprazlama ve ıslah çalışmalarında kullanımını önemli hale getirmektedir. Ülkemizin var olan tür içi zenginliği çalışmamızda gözler önüne serilmiştir. Bu zenginliğin değerlendirilmesi ülkenin değişik bölgelerinden toplanan aksesyonların uygun çalışmalar neticesinde ıslah programlarında yerini almasında katkı sağlayacaktır.



Şekil 4.8. Altmışaltı aksesyonunun SM katsayısı kullanılarak elde edilmiş UPGMA dendrogram

4.2.1. PCoA Analiz Sonuçları

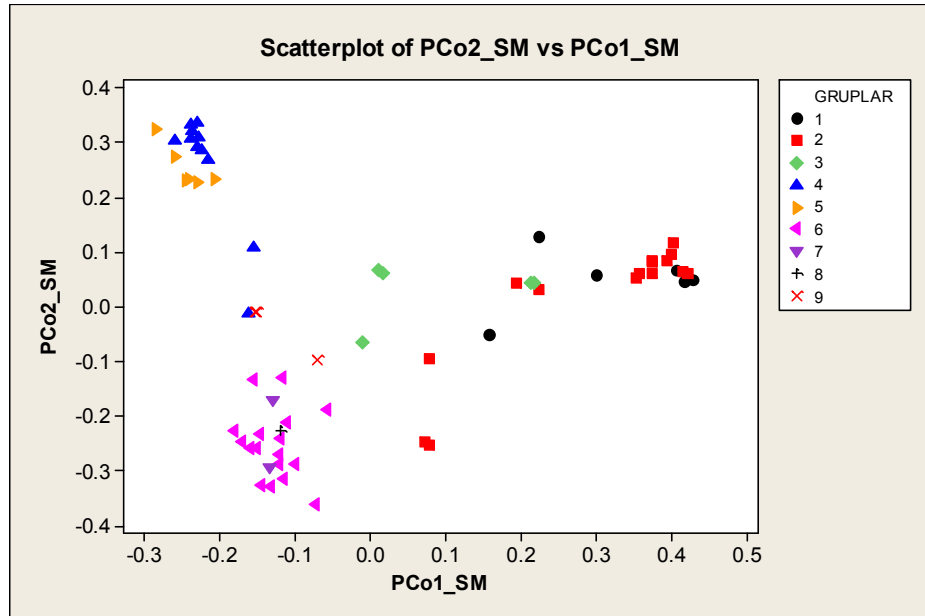
Yabani buğday ve kültür buğdaylarına ait rakamların SM benzerlik katsayısı kullanılarak PCoA sonucu elde edilen PCo1 ve PCo2 koordinat eksenleri üzerine, buğday bitkilerinin orijinlerine göre yerleştirilerek elde edilen grafik Şekil 4.9'de verilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi PCo1, elde edilen buğday bitkilerini temelde üç gruba ayırdığı görülmektedir. SM katsayısı kullanılarak elde edilmiş UPGMA dendogramında olduğu gibi PCoA sonucunda da A genomuna sahip *T. boeoticum*, *T. monococcum*, *T. urartu*'nun bir grup oluşturduğu. AB genomuna sahip *T. turgidum* subsp. *dicoccum* ve bunun yabani formu olan *T. turgidum* subsp. *dicoccoides*'in bir grup oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca çalışmada kullandığımız *Aegilops*'larında bir diğer grubu oluşturduğu görülmektedir. Kültür buğdayları PCo1'e göre *Aegilops*'lara yakınlık göstermektedir. PCo2'ye göre ise AB genomuna sahip *T. turgidum* subsp. *dicoccum* ve bunun yabani formu olan *T. turgidum* subsp. *dicoccoides* birbirine yakınlık göstermektedir.

PCo1'e göre *T. urartu*'nun ortada olması A genomunun progenitörü olduğunu göstermektedir.

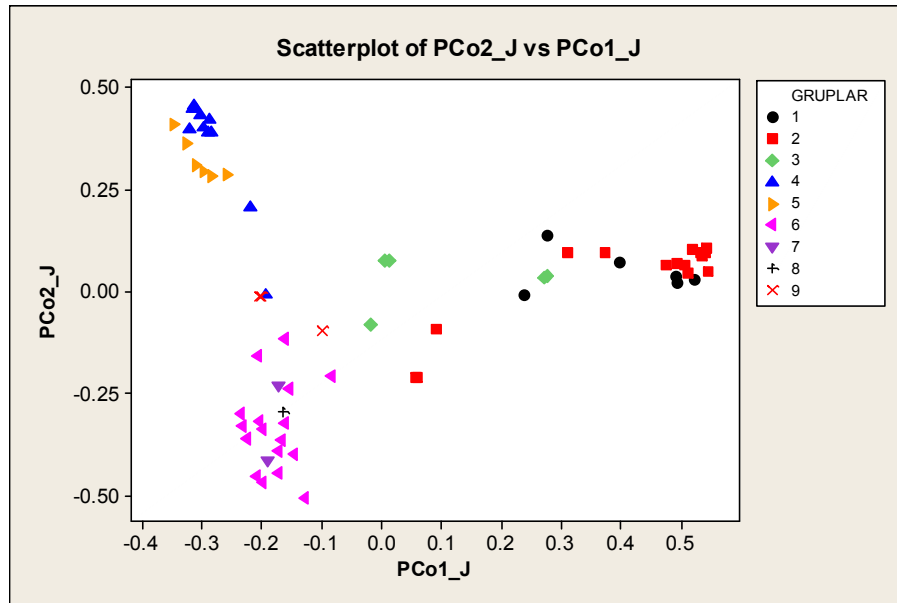
Çalışmamızda kullandığımız 66 buğday aksesyonunun SM ve J katsayısı kullanılarak elde edilmiş 1. ve 2. temel koordinat eksenleri üzerinde dağılımı şekil.4.9 ve şekil. 4.10'da verilmiştir. PCoA analizlerinde kullanılan buğday aksesyonları temelde 9 grupta ele alınmıştır. Gruplandırma aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge.4.3).

Çizelge 4.3. PCoA analizlerinde kullanılan buğday aksesyonlarının gruplandırılması

Grup no	Tür adı	Birey sayısı	Genomları
1	<i>Triticum boeoticum</i>	6	A
2	<i>Triticum monococcum</i>	15	A
3	<i>Triticum urartu</i>	5	A
4	<i>Triticum turgidum</i> subsp.dicoccum	11	AB
5	<i>Triticum turgidum</i> subsp.dicoccoides	6	AB
6	<i>Aegilops</i>	17	D,B,C,U,UM,CD,DM,DMS
7	<i>Aegilops tauchii</i>	2	D(U)
8	<i>Aegilops speltoides</i>	1	B
9	<i>Triticum aestivum</i>	3	ABD



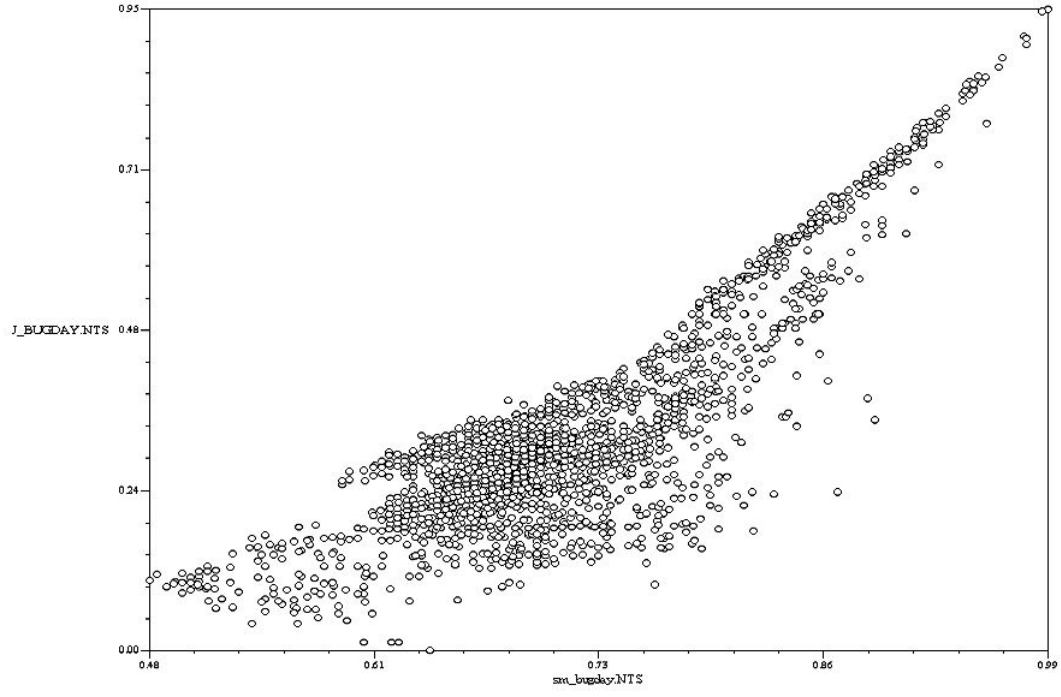
Şekil. 4.9. SM analizine göre oluşan PCo sonucu



Şekil. 4.10. Jaccard analizine göre oluşan PCo sonucu

4.2.2. Mantel Z testi sonuçları

RAPD-PCR verilerinden faydalanılarak hesaplanan SM ve J katsayıları ile belirlenen benzerlik/farklılık matrisleri arasındaki birlikteliği test etmek amacıyla yapılan Mantel testi sonucu elde edilen grafik Şekil 4.11’de verilmiştir. İki matris arasında istatistiki olarak önemli bir birliktelik tespit edilmiş ve iki matris arasında kuvvetli bir korelasyon ($r = 0.86$) bulunmuştur. Bu sonuç, RAPD-PCR verilerinin SM yada J katsayısı kullanılarak elde edilen benzerlik/farklılık matrislerinin PCoA ve kümeleme analizi sonuçlarında benzer sonuçlar vermesini kuvvetli bir şekilde desteklemektedir.



Şekil 4.11. SM ve J katsayısı kullanılarak elde edilen Mantel testi grafiği

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Buğday Eski Dünya Tarımının evrensel tahılıdır. Buğday arpa ile birlikte Neolitik tarımı ve bunun başarılı bir şekilde yayılmasından sorumlu temel unsurları kuran başlıca tahıl stokunu oluşturmuştur. Buğday Eski dünyaya ait besin/gıda üretimindeki önemli rolünü yitirmemiş aksine giderek arttırmıştır. Bugün dünyanın tahıl üretiminde ilk sıradadır. İnsanlar tarafından tüketilen besin kalorilerinin % 20'den fazlasını kapsamaktadır. Diğer tahıllara göre buğday besinsel değer açısından oldukça üstündür (örn; mısır, pirinç veya arpa). Sadece nişasta değil anlamlı miktarda protein de içerir. Bu da buğdayın insan yaşamı için önemini artırmaktadır.

Türkiye buğday üretiminde dünyada önemli bir konuma sahiptir. Sıralamada, dünyadaki en büyük üretici Çin olurken, sırasıyla onu Hindistan, ABD, Rusya, Fransa, Almanya ve Türkiye izlemektedir.

Çalışmamızın amacı özellikle Türkiye'de yetişen yabancı buğday türlerinin filogenetiğinde yaşanan çelişiklere cevap bulmak ve kültür buğdayı *T. aestivum*'un yabancı formlarıyla olan ilişkisini belirlemektir. Bu çalışmada *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinslerine ait *T. aestivum*'un da aralarında bulunduğu 17 türün filogenetik ilişkisini belirlemek amacıyla 16 RAPD primeri kullanıldı. Kullandığımız primerler yüksek oranda polimorfizm göstererek *Triticum* ve *Aegilops* türlerinin birbirinden ayrılmasını sağlamıştır. Analizler sonucu oluşturulan dendogram ve PCoA'dan buğday türlerinin birbirleriyle genetik tabanlı akrabalığı incelenmiştir.

RAPD, analizlerimiz sonucu oluşan yaklaşık 269 polimorfik band *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinslerinin genetik tabanlı akrabalığının netleşmesinde katkı sağlamıştır. Analiz sonuçlarına göre oluşturulan dendogram ve PCoA da, *T.monococcum*, *T. boeoticum*, *T. urartu*'nun bir grup, *T. turgidum*'un bir grup ve *Aegilops*'ların da bir üçüncü grubu oluşturduğu görülmektedir. D genomunun progenitörü olan *Ae. tauschii*; ABD genomuna sahip olan *T.aestivum*'a yakınlık göstermiştir. B genomunun progenitörü olan *Ae. speltoides* ise PCoA analizleri sonucu AB genomuna sahip *T. turgidum* ve ABD genomuna sahip olan *T. aestivum*

arasında yer almıştır. *Ae. biuncialis* ise kültür buğdaylarına en yakın akraba çıkan yabancı tür olarak göze çarpmaktadır.

Çalışmalarımız sonucunda elde edilen veriler ışığında *Triticum* ve *Aegilops*'un iki ayrı cins olarak ele alınması gerektiği ve A genomunun progenitörünün *T. urartu* olduğu, D genomunun progenitörünün *Ae. tauschii* olduğu, B genomunun progenitörünün *Ae. speltoides* olduğu görülmektedir. Bu görüşler son zamanlarda yapılan benzer çalışmalarla da paralellik göstermektedir.

Ülkemiz, yabancı buğday biyoçeşitliliği açısından oldukça zengin bir yapıya sahiptir. Buğdayın kültüre alınması esnasında, ilk çiftçilik faaliyetleri ile kültür buğdayının gen havuzu oldukça daraltılmıştır. Bu daralma kültür buğdayının genetik çeşitliliğini azaltarak adaptasyon yeteneğini zayıflatılmıştır. Bu olumsuzlukların ortadan kaldırılması, biyotik ve abiyotik çevre koşullarına karşı dirençli yabancı akraba formlarından faydalanmayı zorunlu kılmıştır. Gerek çaprazlama gerekse uzun vadede gen transferi çalışmalarıyla uygun genlerin kültür buğdayına aktarılması, insan beslenmesi açısından önemli bir yere sahip olan buğdayın, üretiminde ülkemizi diğer ülkelerle rekabet edebilecek düzeye getirecektir.

RAPD markörlerinin ıslah çalışmalarında uygun ataların seçiminde, genetik çeşitliliğin korunmasında önemli olduğu vurgulanabilir. Bu tür çalışmalar genetik havuzun daralmasının önüne geçilmesinde önemli bir araç olmakla birlikte daha bilinçli seçilimin temelini de oluşturmaktadır.

Bu çalışma RAPD markör sistemi ile yabancı buğday çeşitleri üzerine çok az sayıda yapılan araştırmalara bir örnektir. Japonya, ABD, İsrail gibi ülkeler başta olmak üzere, birçok ülkede yapılan araştırmalarda Türkiye'den toplanan yabancı türlerin kullanıldığı görülmektedir. Bu değerli ve önemli gen kaynaklarımızın kendi ülkemiz araştırmacıları tarafından değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu veriler bilinçli ıslah çalışmaları için iyi bir zemin oluşturabilir.

KAYNAKLAR

Anonim. 2005. www.fao.org/faostat.

Balyayev, A., Raskina, O., Korol, A. B., Nevo, E., 2000, Coevolution of A and B genomes in allotetraploid *Triticum dicoccoides*. *Genome*, 43, 1021-1026.

Bedo, Z., Szunics L., Lang L., Szunics L., Veisz O., Karsai I., Vida G., Szucs P., Juhasz A., Gal M., Bencze S., Megyeri M., Puskas K. & Horvath C, 2000. Genetic diversity in durum wheat. *Annl Wheat Newsl, Items from Hungary* 46.

Boisser, E., 1884, *Flora orientalis*. Vol. V. Apud H. George, Bibliopolam, Genevre et Basile, 673-679.

Bowden, W. M., 1959, The taxonomy and nomenclature of the wheats, barleys, and ryes and their wild relatives. *Can. J. Bot.*, 37, 130-136.

Caligari, P.D.S., Brandham, P.E., 2001, Wheat taxonomy: The legacy of John Percival. *The Linn. Soc. London*, özel baskı 3, p:190.

Cao, W.G., Hucl P.S.G & Chibbar R.N, 1998. Genetic diversity within spelta and macha wheats based on RAPD analysis. *Euphytica* 104: 181–189.

Castagna, R., Gnocchi, Perenzin, P., Heun, M., 1997, Genetic variability of the wild diploid wheat *Triticum Urartu* revealed by RFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet* 94:424-430.

Chapman, V., Miller, T. E., Riley, R., 1976, Equivalence of the genome of bread wheat and that of *Triticum Urartu*. *Genet. Res.*, 27, 69-76.

Chatfield, C. ve Collins, A. J. 1980. *Introduction to Multivariate Analysis*. Chapman and Hall. London.

- Ciaffi, M., L. Dominici, E. Umana, O.A. Tanzarella & E. Porceddu, 2000. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) for protein disulfide isomerase (PDI) gene sequences in *Triticum* and *Aegilops* species. *Theor Appl Genet* 101: 220–226
- Czaplicki, A., Borsuk P. & Moraczewski I, 2000. Molecular methods of identification of wheat varieties. *J Biomol Struc Dynamc* 17(6): 2.
- Demeke, T., Lynch, D.R., Kawchuk L.M., Kozub G.C. & Armstrong J.D, 1996. Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. *Plant Cell Rep* 15: 662–667.
- Dowling, T.E. et al. 1996. *In* *Molecular Systematics*, 2nd Edn. Sinauer, 150. p.249-321
- Dvorak, J., McGuire, P. E., Cassidy, B., 1988, Apparent sources of the A genomes of wheat inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeat nucleotide sequences. *Genome*, 30, 680-689.
- Dvorak, J., Zhang, H-B., Kota, R. S., Lassner, M., 1989, Organization and evolution of the 5S ribosomal RNA gene family in wheat and related species. *Genome*, 32, 1003-1016.
- Dvorak, J., Zhang, H-B., 1990, Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 9640-9644.
- Dvorak, J., di Terlizzi, P., Zhang, H.B., Resta, B., 1993, The evolution of polyploid wheat: identification of A genome donor species. *Genome*, 36, 21-31.

- Eig, A., 1929, Monograpisch-kritische übersicht der gattung Aegilops. Repertorium specierum novarum reigi vegetabilis, Berlin.
- Fahima, T., Sun, G. L., Beharav, A., Krugman, T., Beiles, A. & Nevo, E. (1999). RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theoretical and Applied Genetics* 98, 434-447.
- Feldman, M., 2001, The orgin of cultivated wheat. In: The Wheat Book, Bonjean, A., and Angus, W (eds) Paris-lavoisier.
- Feldman, M., Lipton, F. G. H., Miller, T. E., 1995, Wheats. *Triticum* ssp. (Gramineae-Triticineae). Smartt, J., Simmonds, N. W (eds). Evolution of crop plants. Longman Sci. and Tech. Pres, London, pp: 184-192.
- Franco, J., J. Crossa, J. M. Ribaut, J. Betran, M. L. Warburton, and M. Khairallah, 2001: A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 103, 944-952.
- Gepts, P., 1993. The use of molecular and biomolecular markers in crop-evaluation studies. In: M.K. Hecht (Ed.), *Evolutionary Biology*, Vol. 27, pp. 51–94. Plenum Press, New York.
- Gill, B.S., Apells, R., Botha-Oberholster, A.M., Buell, C.R., Bennetzen, J.L., Chaloub, B., Chumley, F., Dvorak, J., Iwanaga, M., Keller, B., Li, W., McCombie, W.R., Ogihara, Y., Qutier, F., Sasaki, T., 2004, A workshop reporting on wheat genome sequencing: international genome research on wheat consortum, *Genetics*, 168, 1087-1096.

- Golovnina K.A., Glushkow S.A., Blinov A.G., Mayarov V.I., Adkison L.R., Goncharov N.P., 2007. Molecular phylogeny of the genus *Triticum* L. *Pl. Syst. Evol.* 264: 195-216.
- Gupta, P.K., H.S. Balyan, M. Parsad, R.K. Varshney & J.K. Roy, 2000. Molecular markers for gene tagging and genetic diversity studies at Meerut. *Annl Wheat Newsl, Items from India* 46.
- Gupta, P.K., Baum, B.R.; 1986, Nomenclature and related taxonomic issues in wheats, Triticales and some other wild relatives. *Taxon*, 35, 144-149.
- Hammer, K., 1980, Vorarbeiten zur monographischen Darstellung von Wildpflanzensortimenten: *Aegilops* L., Kulturpflanze, 28, 33-180.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, B., Gornicki, P., 2002, Genes encoding acetyl-Co-A carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of *Triticum/Aegilops* complex and evolutionary history of wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 8133-8138.
- Jaaska V. 1993. Isoenzymes in the evaluation of germplasm diversity in wild diploid relatives of cultivated wheat. In: Damania A.B. (ed.), *Biodiversity and Wheat Improvement*. Wiley-Sayce, Chichester, U.K.
- Jones, B. L., Lookhart, G. L., Mak, A., Cooper, D. B., 1982, sequences of purothiononins and their inheritance in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. *J. Hered.*, 73, 143-144.
- Karp, A., S. Kresovich, Bhat K. V., Ayad W. G., & Hodgkin T, 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. In: *IPGRI Technical Bull, No. 2*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Kelly, J.D. 1995. Use of random amplified polymorphic DNA markers in breeding for amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Euphytica* 128: 417–425. and fungi. CRC Pres, Inc. 322 p.
- Kelly, J.D., R. Stavely, P. Millas, L. Afanador & L.D. Haley, 1993. Pyramiding rust resistance genes using RAPD markers. *Annu Rep Bean Improv Coop* 36: 166–167.
- Kerby, K., Kuspira, J., Jones, B. L., 1990, Biochemical data bearing on the origin of the B genome in the polyploid wheats. *Genome*, 33, 360-368.
- Kihara, H., 1924, Cytologische und Genetische Studien bei wichtigen Getreidearten mit Besonderer Rucksicht aus das Verhalten der Choromosomen und die Sterilitat in den Bastarden. *Mem Coll Sci Univ, Kyoto, SerB*, 1, 1-200.
- Kihara, H., 1940, Verwandtschaft der Aegilops Arten im Licht der Genomanalyse, ein Überblick. *Züchter*, 12, 49-62.
- Kihara, H., 1944, The discvry of the DD analizer, one of the ancestors of *Triticum vulgare*. *Hortic.*, 19, 889-890.
- Kihara, H., 1954, Considetations on the evolution and distribution of Aegilops species based on the analyzer methot. *Cytologia*, 19, 336-357.
- Kimber, G., Feldman, M., 1987, Wild wheat, an introduction. College of Agriculture Uniersity Missouri, Colombia
- Klein-Lankhorst, R.M., A. Vermunt, R. Wade, T. Liharska & P. Zebel, 1991. Isolation of molecular markers for tomato (*Lycopersicum esculantum*) using

random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor Appl Genet* 83: 108–114.

Konarev, C. G., Gavriluk, I. P., Gubareva, N. K., Peneva, T. I., 1979, about nature and origin of wheat genomes on the data of biochemistry and immunochemistry of grain proteins. *Cereal Chem*, 56, 272-278.

Kudryavtsev, A. M., Martynov, S. P., Broggio, M., Pukhalskiy, V. A., 2003, Relevance of RAPD Analysis for Revealing Phylogenetic Relationships between Cultivars of Durum Wheat *Triticum durum* Desf. *Russian Journal of Genetics*.39: 1043-1052.

Lilienfeld, F. A., Kihara, H., 1934, Genom analyse bei *Triticum* und *Aegilops* von H Kihara. V *Triticum timopheevii* Zhuk. *Cytologia* 6, 87-122.

Linnaeus, C., 1753, *Species plantarum*, Laurentii Salvi, Holmiae.

Liu B., Segal G., Rong J. K., Feldman M, 2003. A chromosome-specific sequence common to the B genome of polyploid wheat and *Aegilops searsii*. *Pl. Syst. Evol.* 241: 55–66.

Löve, A., 1982, Generic evolution in the wheatgrasses. *Biol. Zentralbl.*,101,199222. Major gene resistance to plant pathogens. *Hortscience*, 30(3); 461-465.

Malik, T.A., Price A., & Wright D, 1996. Identification of wheat genotypes by random amplified polymorphic DNA technique. In: *Agricultural Biotechnology, Proc 1st Biotech Symp*, pp. 81–87, Univ Agri, Faisalabad, Pakistan.

Miller, P.J., D.E. Parfitt & S.A. Weinbaum S.A, 1989. Outcrossing in peach. *Hort. Science* 24: 359–360.

- Miller, T. E., 1987, Systematics and evolution. Lupton, F. G. H (ed)Wheat breeding. Its scientific basis. Chapman and Hall, London, pp, 1-30.
- Miller, T.E., 1987, Systematic and evolution. Lupton, F.G.H (ed) Wheat breeding. Its scientific basis. Chapman and Hall, London, pp, 1-30.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Miyashita, N. T., Mori, N., Tsunewaki, K., 1994, Molecular variation in chloroplast DNA regions in ancestral species of wheat. *Genetics*, 137, 883-889.
- Morris, R., Sears,E.R., 1967, The cytogenetics of wheat and its relatives. Quisenberry,K.S., Reitz, L.P. (eds). *Wheat and wheat improvement*, American Society of Agronomy Monographs, Madison,Wisconsin, 19-87.
- Mukhtar M.S., Rahman M. and Zafar Y. 2002. Assessment of genetic diversity among wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from a range of locations across Pakistan using random
- Nevo, E., 2001, Genetic resources of wild emmer, *Triticum dicoccoides*, for wheat improvement in the third millennium. *Israel J. Plant Sci.*, 49(supplement), s77-s91.
- Nishikawa, K.,1984, Species relationship of wheat and its putative ancestors as viewed from isozyme variation. 7th Int Wheat Genet. Symp., pp, 59-63.
- Nybom, H., B.A. Schaal & S.H. Rogstad, 1989. DNA fingerprints can distinguish cultivars of black berries and raspberries. *Acta Hortica* 262: 305–310.

- Ogihara, T., Tsunewaki, K., 1988, Diversity and evolution of chloroplast DNA in Triticum and Aegilops as revealed by restriction fragment analysis. *Theor. Appl. Genet.*, 76, 321-332.
- Okuno, K., Ebana, K., Noov, B., and Yoshida, H, 1998. Genetic Diversity of Central Asian and North Caucasian *Aegilops* Species as Revealed by RAPD Markers, *Genet. Res. Crop Evol.*, 1998, vol. 100, pp. 1–6.
- Ozkan H., Brandolini A., Pozzi C., Effgen S., Wunder J., Salamini F, 2005. A reconsideration of the domestication geograph of tetraploid wheats. *Theor Appl Genet* 110: 1052-1060 DOI.1007/s00122-005-1925-8.
- Özgen, M., Adak, M.S., Söylemezoğlu, G., Ulukan, H., 1995. Bitkisel Gen Kaynaklarının Korunma Ve Kullanımında Yeni Yaklaşımlar. www.zmo.org.tr/etkinlikler/5tk02/10.
- Pınarkara, E. 2007. Uyuşturucu Tipi Kenevir Genotiplerinin RAPD-PCR Metodu İle Karakterizasyonu Ve Kullanılan İstatistikî Yöntemlerin Değerlendirilmesi Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Konya.
- Plucknett, D. L., Smith, N. J. H., Williams, J. T., Anishetty, N. M., 1983, Crop germplasm conservation and developing countries. *Science.*, 220, 163-169.
- Prasad M., Varshney R.K., Roy J.K., Balyan H.S., Gupta P.K, 2000. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat, *Theor. Appl. Genet.* 100 (2000) 584–592.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.1. Exeter Publishing, Ltd.: Setauket, NY.

- Quinn, G. P., Keough M. J. 2002. Experimental Design and Data Analysis for Biologists. Cambridge University Press, 488-491.
- Quiros CF, Hu J, This P, Chevre AM, Delseny M (1991) Development and chromosomal localization of genome-specific markers by polymerase chain reaction in *Brassica*. *Theor Appl Genet* 82 : 627-632.
- Sakamura, T., 1918, Kurze Mitteilung über die Chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhältnisse der Triticum-Arten. *Bot. Mag.*, 32:151-154.
- Sarkar, P. and Stebbins, G.L, 1956. Morphological Evidence Concerning the Origin of the B Genome in Wheat, *Am. J. Bot.*, 1956, vol. 43, pp. 297–304.
- Sasanuma, T., Miyashita, N.T., Tsunewaki, K., 1995, Wheat phylogeny determined by RFLP analysis nuclear DNA. 3. Intra and interspecific variations of five *Aegilops* species. *Theor. Appl. Genet*, 92, 928-934.
- Sasanuma, T., Chabane, K., Endo, T.R., Valkoun, J, 2004. Characterization of genetic variation in and phylogenetic relationships among diploid *Aegilops* species by AFLP: incongruence of chloroplast and nuclear data. *Theor. Appl. Genet.* 108, 612–618.
- Sax, K., 1922, Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids. *Genetics*, 7, 513-522.
- Schnell, G. D., Watt, D. J., Douglas M. E. 1985. Statistical comparison of proximity matrices: applications in animal behaviour. *Anim. Behav.* 33: 239-253.
- Schulz, A., 1913, Die Geschichte der kultivierten Getreide. Nebert, Haile.

- Stebbins, G. L., 1956, Taxonomy and the evolution of genera, with special reference to the family Gramineae. *Evolution*, 10, 235-245.
- Sun, Q., Z. Ni, Z. Liu, J. Gao & T. Huang, 1998. Genetic diversity in elite wheat cultivars revealed by random amplified polymorphic DNA. *Annl. Wheat Newsl Items from China* 44.
- Takumi, S., S. Nasuda, Y.-G. Liu & K. Tsunewaki, 1993. Wheat phylogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA. 1. Einkorn wheat. *Jpn J Genet* 68: 73–79.
- Tanksley, S.D. 1993. Mapping Polygenes. *Annu. Rev. Genet.*, 27; 205-233.
- Tanksley, S.D., 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Mol Biol Rep* 1: 3.
- Tanksley, S.D., N.D. Young, A.H. Paterson & M.W. Bonierbale, 1989. RFLP mapping in plant breeding: New tools for old science. *Biotechnology* 7: 257.
- Terachi, T., Ogihara, Y., Tsunewaki, K., 1990, The molecular basis of genetic diversity among cytoplasm of *Triticum* and *Aegilops*. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial species. *Theor. Appl. Genet.*, 80, 366-373.
- Upadha, M. D., Swaminathan, M. S., 1963, Genome analysis in *Triticum zhukovskyi*, a new hexaploid wheat. *Chromosoma*, 14, 589-600.
- Van Slageren, M.W., 1994, Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. And *Amblyopyrum* (Jaub. Spach) Eig (Poaceae). Wageningen: Agricultural University: Aleppo, Syria: ICARDA.

- Van Zeist, W., Bakker-Heeres, J.A. H., 1985, Archaeological studies in the Levant. Neolithic sites in the Damascus Basin: Aswad, Ghoraife, Ramad. *Palaeohistoria*, 24, 165-126.
- Vierling, R.A. & H.T. Nguyen, 1992. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 84: 835–838.
- Waines J.G. and Barnhart D. 1990. Constraints to germplasm evolution. In: Srivastava J.P. and Damania A.B. (eds), *Wheat Genetic Resources Meeting, Diverse Needs*. John Wiley, Chichester, UK, pp. 103–111.
- Waines J.G. and Barnhart D. 1992. Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum*. *Hereditas* 116: 207–212.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. and Meyer, W. 1995. DNA fingerprinting in plants
- Welsh, J. & M. McClelland, 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Acids Res* 18: 7213–7218.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey, 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res* 18: 6531–6535.
- Yıldırım, F. ve. Akkaya, S.M, 2006. DNA fingerprinting and genetic characterization of Anatolian *Triticum* ssp. Using AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*(2006) 53:1033-1042 DOI 10.1007/s10722-004-7938-3.
- Zhukovsky, P. M., 1928, A critical-systematical survey of species of genus *Aegilops* L. *Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Br.*, 18, 584-609.

Zohary, D., 1970, Wild wheats. Frankel, O.H., Bennett, E. (eds). Genetic resources in plant-their exploration and c onservati on. IBP Handbook No.11. Blackwell Scientific Publ, 239-248, Oxford

Zohary,D., Feldman, M., 1962, Hybridization between amphidiploids and the evolution of polyploides in the weat (*Aegilops-Triticum*) group. Evolution, 16, 44-61.

ÖZGEÇMİŞ

Adı soyadı: Nuri KESEN
Doğum yeri ve tarihi: KONYA, 1980
Ünvan: Biyoloji Öğretmeni
Yabancı dil: İngilizce
Adres: S.Ü. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü, Kampüs /
KONYA
E-mail: kesen80@mynet.com
Cep Tel: 05376787810
EĞİTİM

Program	Yıl
Cumhuriyet İlkokulu	1987-1992
Yeniceoba Lisesi (Orta kısım)	1992-1995
Yeniceoba Lisesi	1995-1999
S.Ü. Eğitim Bilimleri Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Programı	1999-2004
S.Ü. FBE Tarla Bitkileri ABD Yüksek Lisans Programı	2004-

Araştırma Konuları

Hiperakümülatör Bitkiler