

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE ORİJİNLİ BAZI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE  
PEROKSİDAZ GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan  
Hamid CEYLAN**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT  
Doç. Dr. Osman GÜLŞEN**

**Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2010  
KAYSERİ**



**T.C.**

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE ORJİNLI BAZI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE  
PEROKSİDAZ GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan  
Hamid CEYLAN**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT  
Doç. Dr. Osman GÜLŞEN**

**Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma, Erciyes üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
FBY-09-1106 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2010  
KAYSERİ**

Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT ve Doç. Dr. Osman GÜLŞEN danışmanlığında **Hamid CEYLAN** tarafından hazırlanan “**Türkiye Orijinli Bazı Buğday Çeşitlerinde Peroksidaz Gen Polimorfizminin Belirlenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

26/07/2010

## JÜRİ:

Başkan : Doç. Dr. Abdurrahman AYVAZ



Üye : Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT

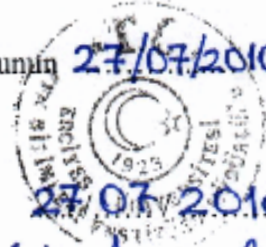


Üye : Yrd. Doç. Dr. Fatma ÖZTÜRK



## ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun **27/07/2010** tarih ve **2010/25-18** sayılı kararı ile onaylanmıştır.



**N. Ayıldız**  
Prof. Dr. Nusret AYILDIZ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında rehberlik ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT ve Doç. Dr. Osman GÜLŞEN'e teşekkür ederim.

Yaptığı birçok yardım ve değerli tavsiyelerinden dolayı bölüm hocalarımdan Doç. Dr. Abdurrahman AYVAZ'a ve Gıda Mühensiliği'nden Doç. Dr. Mahmut Doğan'a teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuar çalışmalarımda yardım ve desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan arkadaşlarım Ahmet CEYLAN, Erman AŞIK, Mehmet TAŞKIRAN, Uğur AZİZOĞLU, Fatih TAŞÇI, Semih YILMAZ, Seval EKMEKÇİ, Sunay TEKİN, Derya SARİBEK, Özlem ALTAY, Özge TUNÇBİLEK, Vedat BAŞTÜRK, Mehmet Yavuz PAKSOY, Handan KILIÇOĞLU, Gökhan HINISLI, Muhammer KARABACAK, Ömer GÜRBÜZ, Ahmet E. Yetiman, Ömer Fikret GÜRKAN, Niyazi Serdar ARSLAN, Abdulkadir TAŞDEMİR, ve Volkan SARIKAYA'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim süresince de maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

# TÜRKİYE ORIJİNLİ BAZI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE PEROKSİDAZ GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ

**Hamid CEYLAN**

**Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2010**

**Tez Danışmanları: Yrd. Doç. Dr. Mikail AKBULUT**

**Doç. Dr. Osman GÜLŞEN**

## ÖZET

Bu çalışmada buğdaylarda peroksidaz gen polimorfizmini belirlemek için değişik ploidi seviyelerinden 59 buğday çeşidi (diploid, tetraploid, hekzaploid) kullanılmıştır. Çeltik genomundaki peroksidaz genlerinin sekansına göre dizayn edilen 14 farklı POX primeri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu yapılmıştır. Agaroz jel elektroforezi sonrası elde edilen bantlar skorlanmış ve analiz edilmiştir. Buğday çeşitleri arasında % 74 oranında polimorfizm belirlenmiştir.

Buğday genotipleri (59 genotip) arasındaki genetik mesafe ortalama 0.82 olarak bulunmuştur. POX9, POX11, POX13 ve POX14 primerleri, tetraploid ve hekzaploid buğdayları birbirinden ayırmıştır. Ayrıca POGP primerleri ile yapılan çalışmalar yerel çeşitler ile ıslah hatlarını da ayırmıştır

Peroksidaz gen polimorfizm (POGP) markırlarının, buğdaylarda daha önce başka markır sistemleri ile yapılan polimorfizm çalışmaları ile karşılaştırıldığında daha avantajlı olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Triticum*, peroksidaz, polimorfizm, POGP

**DETECTION of PEROXIDASE GENE POLYMORPHISM in WHEATS FROM  
TURKEY**

**Hamid CEYLAN**

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**M.Sc.Thesis, July 2010**

**Thesis Supervisors: Assist. Prof. Dr. Mikail AKBULUT**

**Assoc. Prof. Dr. Osman GÜLŞEN**

**ABSTRACT**

In this study, 59 wheat genotypes from different ploidy levels (diploid, tetraploid, hexaploid), including breeding lines, landraces and wild relatives were used to detect peroxidase gene polymorphism. PCR amplification of peroxidase gene sequences were carried out by using 14 different primers designed from rice peroxidase gene sequences. After electrophoresis, DNA bands were scored and analyzed. The level of polymorphism was found to be 74% among the wheat genotypes studied.

Mean genetic distance was found to be 0.82 among the 59 genotypes. POX9, POX11, POX13 and POX14 primers separated the tetraploid and hexaploid wheat genotypes from each other. Landraces and breeding lines were also separated by peroxidase gene specific primers

Considering the other nuclear marker systems, peroxidase gene polymorphism (POGP) markers were found to be more advantageous to detect the level of polymorphism among wheat genotypes.

**Keywords:** *Triticum*, peroxidase, polymorphism, POGP.

**KISALTMA ve SİMGELER**

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
BSA	: Bovine serum albumin
CTAB	: Setil 3-Metil Amonyum Bromid
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dH <sub>2</sub> O	: Distile su
dNTP	: Deoksiribonükleik asit trifosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
gDNA	: Genomik DNA
HCl	: Hidrojen klorür
ISSR	: Internal Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları Arası )
M	: Molar
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
PAGE	: Poli Akrilamid Jel Elektrofrezisi (Polyacrylamide Gel Electrophoresis )
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
Pmol	: pikomol
POX	: Peroksidaz
POGP	: Peroksidaz gen polimorfizmi

- RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele oğaltılmış Polimorfizm DNA)
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi)
- SCAR : Sequence Characterized Amplified Region (Dizisi Karakterize Edildikten Sonra oğaltılmış Bölge)
- SDS : Sodyum dodesil sülfat
- SSR : Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
- TAE : Tris asetik asit - EDTA
- TE : Tris – EDTA
- Tris : Trisodyum tuzu
- V : Volt
- UPGMA : Unweighted pair group method using arithmetic averages (aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu)
- $\mu$ l : Mikrolitre

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

KABUL ve ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TABLolar LİSTESİ .....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	x
1. BÖLÜM	
GİRİŞ .....	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Buğday .....	4
2.1.1. Buğday Hakkında Genel Bilgi .....	4
2.1.2. Buğdayın Orijini ve Evrimi .....	4
2.1.3. Buğday Genetiği .....	7
2.1.4. Buğdayın Taksonomisi .....	8
2.1.5. Poaceae Familyasının Genel Özellikleri .....	9
2.1.6. Buğdayın Genel Özellikleri .....	9
2.1.7. Dünyada ve Türkiye’de Buğdayın Önemi .....	10
2.1.8. Dünyada ve Türkiye’de Buğday Üretim ve Tüketimi .....	11
2.2. Peroksidazlar .....	15
2.3. Moleküler Sistematiği .....	17
2.3.1. Moleküler Sistematiği Kullanılan Markırlar .....	17
2.3.1.1. Morfolojik Markırlar .....	17
2.3.1.2. Biyokimyasal Markırlar .....	18
2.3.1.3. DNA Markırları .....	18

2.3.1.3.1. RAPD .....	19
2.3.1.3.2. RFLP .....	19
2.3.1.3.3. AFLP .....	20
2.3.1.3.4. Mikrosatellit DNA Analizi (Basit Sıra Tekrarları) .....	21
2.3.1.3.5. SCAR .....	21
2.3.1.3.6. ISSR .....	22
3. BÖLÜM MATERİYAL VE METOD .....	23
3.1. Materyal .....	23
3.1.1. Bitki Materyali .....	23
3.1.2. Primerler.....	25
3.2. Metot .....	26
3.2.1. Bitki Yetiştirilmesi .....	26
3.2.2. Genomik DNA İzolasyonu.....	27
3.2.3. DNA Miktarı ve Temizliği.....	28
3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	28
3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi .....	29
3.2.6. Polimorfizmin Hesaplanması .....	30
4. BÖLÜM BULGULAR.....	31
5. BÖLÜM TARTIŞMA VE SONUÇ .....	63
Ek-1 ÖNERİLER .....	67
KAYNAKLAR .....	68
ÖZGEÇMİŞ .....	75

**TABLolar LİSTESİ**

Tablo 2.1. Dünya Hububat Üretim Miktarları. ....	12
Tablo 2.2. Dünya Buğday Üretim Miktarları.....	13
Tablo 2.3. Dünyada ve Türkiye’de Yıllara Göre Buğday Tüketim Miktarları .....	14
Tablo 2.4. Peroksidazların Sınıflandırılması.....	16
Tablo 3.1. Çalışma Kapsamında Kullanılan Çeşitler.....	23
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan primerler.....	25
Tablo 3.3. Hoagland Solüsyonu.....	26
Tablo 3.4. PZR Reaksiyon Karışımı.....	29
Tablo 3.5. PZR Döngüsü.....	29
Tablo 4.1. 14 Farklı primer kombinasyonu kullanılarak elde edilen bant profilleri..	32
Tablo 4.2. Dış grupların dahil edilmediği durumda oluşan bant profilleri.....	34
Tablo 4.3.Dış grupların dahil edildiği durumda DICE metoduna göre yapılan benzerlik matriksi.....	51
Tablo 4.4. Dış grupların dahil edilmediği durumda DICE metoduna göre yapılan benzerlik matriksi.....	54
Tablo 4.5. Hekzaploid (6n) genoma sahip örnekler arasında DICE metoduna göre yapılan benzerlik matriksi.....	57
Tablo 4.6. Tetraploid (4n) genoma sahip örnekler arasında DICE metoduna göre yapılan benzerlik matriksi.....	60

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Verimli Hilal (Fertile Crescent) olarak adlandırılan bölge ve Karaca Dağ ....	5
Şekil 2.2. Hekzaploid buğdayların evrimi ile tetraploid ve diploid buğdaylarla olan genetik ilişkisi .....	6
Şekil 2.3. Buğdayın evrimi sonucu değişen şekil ve boyut farklılıkları .....	7
Şekil 2.4. Buğdaydan genel görünüş.....	10
Şekil 2.5. Bayırturpu (Horseradish) peroksidaz izoenzim C' nin yapısı.....	17
Şekil 3.1. Büyüme çemberinde büyütülen buğdaylardan genel bir görünüş.....	27
Şekil 4.2. POX 1 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	35
Şekil 4.3. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	36
Şekil 4.4. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	36
Şekil 4.5. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	37
Şekil 4.6. POX 3 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	37
Şekil 4.7. POX 3 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	38
Şekil 4.8. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	38
Şekil 4.9. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	39
Şekil 4.10. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	39
Şekil 4.11. POX 5 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	40
Şekil 4.12. POX 5 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	40
Şekil 4.13. POX 6 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	41
Şekil 4.14. POX 6 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	41
Şekil 4.15. POX 7 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	42

Şekil 4.16.	POX 7 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	42
Şekil 4.17.	POX 8 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	43
Şekil 4.18.	POX 8 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	43
Şekil 4.19.	POX 9 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	44
Şekil 4.20.	POX 9 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	44
Şekil 4.21.	POX 10 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	45
Şekil 4.22.	POX 10 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	45
Şekil 4.23.	POX 11 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	46
Şekil 4.24.	POX 11 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	46
Şekil 4.25.	POX 12 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	47
Şekil 4.26.	POX 12 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	47
Şekil 4.27.	POX 13 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	48
Şekil 4.28.	POX 13 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	48
Şekil 4.29.	POX 14 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	49
Şekil 4.30.	POX 14 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri .....	49
Şekil 4.31.	Dış grupların dahil edildiği POGP çalışmalarından elde edilen sonuçlar arasındaki DICE matrisine göre oluşturulan UPGMA dendogram .....	52
Şekil 4.32.	Dış grupların dahil edilmediği POGP çalışmalarından elde edilen sonuçlar arasındaki DICE matrisine göre oluşturulan UPGMA dendogram .....	55
Şekil 4.33.	Hekzaploid (6n) genoma sahip örnekler arasında DICE matrisine göre oluşan UPGMA dendogram.....	58
Şekil 4.34.	Tetraploid (4n) genoma sahip örnekler arasında DICE matrisine göre oluşan UPGMA dendogram.....	61

Şekil 4.35. Diploid (2n) genoma sahip örnekler arasında oluşan benzerlik matriksi ve DICE matriksine göre oluşan UPGMA dendogram .....	62
--	----

## 1. BÖLÜM

### GİRİŞ

Bitkilerin ekonomiye katkısı en belirgin şekilde tarımda görülmektedir. Tarım alanında ilerlemiş ülkeler için, tarım ürünleri hem temel bir gelir kaynağı hem de politik bir güç haline gelmiştir [1]. Vavilov'a göre dünya üzerinde uzun zamandır tarım yapılan ve gen merkezi niteliğinde olan sekiz bölge bulunmaktadır. Türkiye bu merkezlerden ikisinin (Yakın Doğu ve Akdeniz) kesiştiği bir konumda yer almakta ve buğday, arpa, çavdar ve yulaf gibi temel tahılların yeryüzüne dağıldığı ya da çeşitlendiği gen merkezi olarak bilinmektedir. Bitki biyoçeşitliliği ve genetik kaynakları bakımından Türkiye, dünyadaki en zengin ülkelerden biridir. Türkiye'de bulunan bitki türü sayısı 11.014 civarında olup, bunların 3.708'si endemiktir [2].

Dünya nüfusunun bugünkü beslenme düzeyine gelmesinde bitkisel kaynaklar büyük katkı sağlamıştır. Bunun yanı sıra bitkiler giyecek, ilaç ve kozmetik gibi birçok sanayi dalının da hammaddesini oluşturmaktadır. Artan nüfusun besin ihtiyacı, tarımın hızla gelişmesinde itici bir güç olmuştur. İnsanlığın temel besin ihtiyacının büyük bir kısmını karşılaması, buğdayların önemini giderek artırmış ve bu bitkileri ıslah programlarının merkezine yerleştirmiştir. Buğday insan beslenmesi için gerekli olan kalori ve proteinin önemli bir kısmını karşılamakta olup, dünya nüfusunun % 35'ini oluşturan yaklaşık 40 ülkenin temel gıda maddesidir. İnsanoğlunun değişmekte olan tüketim alışkanlıkları ve gelişen teknolojiye bağlı olarak, buğday ürünleri de çeşitlenmiştir. Buğdayın en yaygın tüketim şekilleri un, ekmek, makarna, irmik, bisküvi, bulgur ve eriştedir. Dünyada ve Türkiye'de bu ürünlerin dışında geleneksel ürünler, tatlılar, nişasta vb. amaçla da tüketimi yapılmaktadır [3].

Çoklu moleküler formlara ve geniş bir hücre altı dağılımına sahip olan peroksidaz genleri bitkilerde büyük oranda bulunur. Bitkilerde bulunan peroksidazlar bir multigen ailesinin üyesi olup bitkilerde patojen enfeksiyonu, böcek toleransı, tuz toleransı, oksijen indirgeme, hücre duvar lignifikasyonu ve bitki senesensi gibi birçok strese bağlı

etkileşimlerde önemli rol oynarlar [4]. Peroksidaz, elverişsiz dış faktörler altında üretilen zararlı oksijen radikallerinin seviyesini düzenleyen, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazı da içeren bitki hücrelerinin koruyucu enzim kompleksinin bir parçasıdır [5].

Bitkisel peroksidaz yapraklarda, yaralanan gövdelerde, kotiledon yapraklarda, çiçek saplarında bulunmuş ve bu doku hücrelerinde nükleus, mitokondri, ribozom, hücre duvarı ve hücre membranlarında, ayrıca ekstraselüler bölgelerde de yer aldığı gözlemlenmiştir [6 - 10].

Genetik çeşitlilik bir türün hayatta kalabilmesi veya yaşadığı ortama adapte olabilmesinde büyük önem taşır. Bu yüzden büyük oranda sahip olan türler hayatta kalma mücadelesinde daha avantajlıdır. Alternatif gen kaynaklarına sahip olmayan türler ise büyük risk altındadırlar. Özellikle genetik çeşitliliğin az olduğu bitkiler yaygın hastalıklara karşı aşırı derecede hassastırlar [11]. Bitki genetik çeşitliliğinin tanımlanmasında morfolojik, biyokimyasal ve DNA markırları yoğun olarak kullanılmaktadır. Morfolojik markırlar çevre koşullarının etkisi altında kalabildiklerinden ve kısıtlı olmalarından dolayı karakterizasyon çalışmalarında kullanımı sınırlıdır. Aynı şekilde biyokimyasal markırların da polimorfizm seviyesinin düşük olması, bu markırların kullanımını da sınırlandırmaktadır. Bitki gen kaynaklarının karakterizasyonunda DNA markır sisteminin seçimi; araştırmanın amacına, popülasyonun yapısına, çalışılan bitki türün çeşitliliğine, markır sisteminin çalışılacak laboratuarda bulunma durumuna, analiz için gerekli zamana ve maliyete bağlı olarak değişir. Her bir markır sistemi avantaj ve dezavantajlara sahiptir [12]. Peroksidazlar düşük maliyetli oldukları ve yüksek derecede polimorfizm gösterdiklerinden dolayı bitkiler aleminde yaygın bir markır olarak kullanılabilirler [13]. Peroksidaz gen polimorfizm (POGP) markırlarının farklılığı, maruz kalınan stres faktörlerini yansıtabileceği için farklı coğrafik bölgelerde bulunan bitki genotipleri arasındaki akrabalığı tanımlamada, biyotik ve abiyotik stres varlığında oluşan gen ifadesi çalışmalarında da kullanılabilirler [4].

Çoğu bitki türünde çeşitler arasındaki genetik varyasyonu ortaya çıkarmakta hangi moleküler DNA tekniğinin en uygun olduğunu belirlemek amacıyla RFLP, AFLP, RAPD, SSR ve ISSR DNA markır teknikleri karşılaştırılmış ve polimorfizm bakımından SSR ve AFLP teknikleri, maliyet bakımından RAPD ve ISSR teknikleri,

tekrarlanabilirlik bakımından RFLP, SSR, ISSR ve AFLP DNA tekniklerinin avantajlı oldukları belirlenmiştir [12].

Bu tez çalışması, DNA markır tekniklerinden biri olan PZR (PCR - Polimerase Chain Reaction) yöntemini kullanarak, spesifik primerlerle yurdumuzda geniş ölçekte tarımı yapılan Türkiye orijinli buğday (*Triticum*) çeşitlerindeki peroksidaz genlerinde bulunduğu düşünülen genetik çeşitlenmeye moleküler düzeyde açıklık getirmek için planlanmıştır. Üzerinde çalışılacak olan Türkiye orijinli buğday çeşitlerine (diploid, tetraploid, hekzaploid) ait tohumlar Türkiye Cumhuriyeti Tarım Bakanlığı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir.

## 2. BÖLÜM GENEL BİLGİLER

### 2.1. Buğday

#### 2.1.1. Buğday Hakkında Genel Bilgi

Buğday, dünyada tarımı yapılan en önemli üç tahıldan birisidir. Mısır ve pirinçle birlikte küresel protein ve kalori ihtiyacının yarısından fazlasını karşılamaktadır. Günümüzde elli binden fazla çeşidi bulunan buğdayın en önemli üç türü; ekmek yapımında kullanılan ve yaygın buğday olarak adlandırılan *Triticum aestivum*, makarnalık buğday olarak adlandırılan *T. durum* ve çeşitli hamur işleri için kullanılan *T. compactum*'dur. Buğday, kullanım alanlarının yanı sıra biyoyakıt, bira üretimi için fermantasyonda ve votka yapımında da etkin bir şekilde kullanılmaktadır [14, 15].

İnsan beslenmesi için gerekli olan kalori ve proteinin kayda değer bir kısmını karşılamakta olan buğday, dünya nüfusunun % 35'ini oluşturan yaklaşık 40 ülkenin temel gıda maddesidir. Değişen tüketim alışkanlıkları ve ilerleyen teknoloji ile birlikte, buğday ürünleri çeşitlenmiş ve tüketici istekleri de değişmiştir. Buğday en fazla un, ekmek, makarna, irmik, bisküvi, bulgur ve erişte şeklinde tüketilmektedir. Bu formların yanı sıra buğdayın geleneksel ürünler, tatlılar, nişasta vb. amaçla da tüketimi yapılmaktadır [3].

#### 2.1.2. Buğdayın Orijini ve Evrimi

Buğday ve arpa bilinen ilk ıslah edilmiş tahıllardır. Buğdayın yetiştiriciliği hakkında ilk arkeolojik kanıtlar Toroslar'ın güneyinden başlayarak Orta Doğu'nun büyük bir kısmını kapsayan Levant adı verilen bölgeden ve Türkiye'den gelmektedir. Ülkemizde ve Dünyada bu denli büyük öneme sahip olan buğdayın orijini olarak Verimli Hilal (Fertile Crescent) olarak adlandırılan bölge (Şekil 2.1.) gösterilmektedir [16]. Fakat günümüzde

buğday, Arktik Bölgenin kuzeyinden ekvatorial bölgenin güneyine kadar uzanan geniş bir bölgede tarımı yapılabilen bir konuma gelmiştir.

Buğdayın ıslahı 10000 yıl öncesine dayanmaktadır. Buğdayın ilk kültür formları Türkiye'nin güneydoğusunda bulunan Karacadağ (Diyarbakır)'dan orijinlenen diploid ve tetraploid buğdaylardır [17]. Kültüre alınan çeşitler, çiftçiler tarafından yabancı popülasyonlardan seçilen yüksek verim ve diğer birçok özelliğe sahip yerel çeşitlerden oluşmuştur.

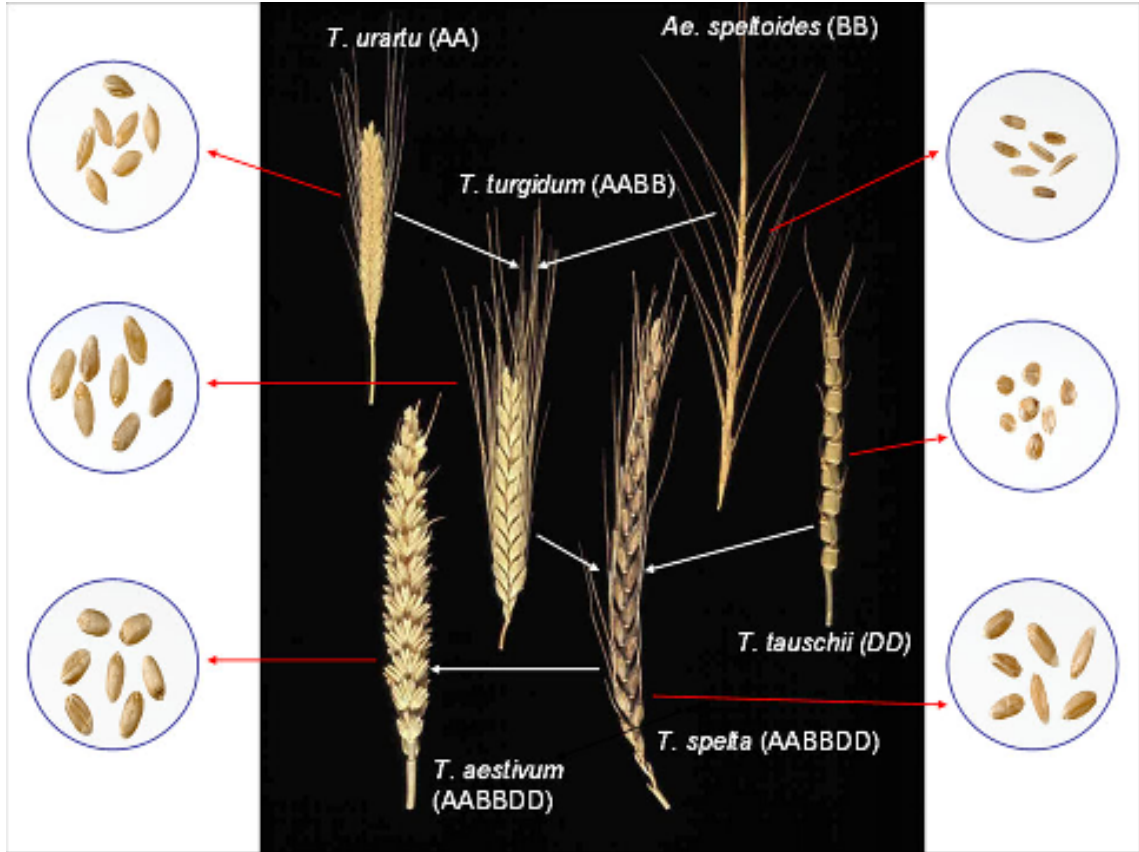


Şekil 2.1. Verimli Hilal (Fertile Crescent) olarak adlandırılan bölge ve Karacadağ [18].

Diploid ve tetraploid buğdaylar doğal popülasyonların ıslahı ile elde edilebilirken modern buğday olarak adlandırılan ekmeklik (hekzaploid) buğdaylar sadece kültüvasyonla elde edilmiştir [19]. Hekzaploid buğdaylar, yabancı diploid ve tetraploid buğdayların spontan hibridizasyonu sonucu meydana gelmiştir. Modern buğdayın evrimi Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

Şekil 2.2'de gösterildiği gibi modern buğdaylar A,B ve D olmak üzere 3 farklı genomun hibridizasyonu sonucu (AABBDD) meydana gelmiştir. Hekzaploid ve tetraploid buğdayların A genomlarının yabancı diploid buğdaylarla ilişkili olduğu açıktır. Aynı

şekilde D genomunun ise diploid *Triticum tauschii*'den geldiği saptanmıştır. Tetraploid ve hezaploidlerde bulunan B genomunun ise muhtemelen *Aegilops*'un Sitisos altşubesinde bulunan S genomundan kaynakladığı düşünülmektedir.



Şekil 2.2. Hekzaploid buğdayların evrimi ile tetraploid ve diploid buğdaylarla olan genetik ilişkisi [20].

Tetraploid buğdaylar hezaploid buğdaylardan yaklaşık 500 bin yıl önce meydana gelmiştir. Bu yüzden tetraploid buğdayların genomu önemli ölçüde farklılık gösterir ve tetraploidlerdeki B genomunun diploid donörünün belirlenmesi D genomuna oranla daha zordur [21].



Şekil 2.3. Buğdayın evrimi sonucu değişen şekil ve boyut farklılıkları. (Üst. modern varyeteler. Alt. atasal buğday çeşitleri) [22].

Buğdayın ilk orijininin dünyaya yayılması farklı yollarla farklı zamanlarda gerçekleşmiştir. Avrupa'ya yayılması 8000 yıl önce Anadolu üzerinden Yunanistan'a ulaşması ile başlamış, 3000 yıl önce İran üzerinden Asya kıtasına, 5000 yıl önce de İtalya, Fransa ve İspanya üzerinden İskandinav ülkelerine de ulaşmıştır [23].

### 2.1.3. Buğday Genetiği

Buğdayın genetik yapısı diğer ıslah hatlarına göre daha karmaşıktır. Bazı türler iki kromozom takımına sahipken ( $2n$ , diploid) bazıları dört ( $4n$ , tetraploid) bazıları ise altı ( $6n$ , hekzaploid) takım kromozom taşırlar [24]. Poliploidi, angiospermiler arasında oldukça yaygındır [25]. Bu poliploidi düzeyleri bitkilere orijinal fonksiyonlarını tutmanın yanı sıra yeni fonksiyonlar da kazandırabilir [26].

Diploidlerin dışındaki buğday türleri sahip oldukları kromozom takımlarını farklı cinslerden aldıkları için allopoliploidtir. Yapılan son çalışmalar allopoliploidinin buğdayların evriminde rastgele kodlanan veya kodlanmayan DNA dizilerinin yok edilmesi, kodlanan veya kodlanmayan DNA dizilerinin metilasyonu ve susturulması,

bitişik genlerin ve retroelementlerin ifadesinin aktive edilmesi gibi birçok önemli rol oynadığını göstermiştir [27].

#### 2.1.4. Buğdayın Taksonomisi

<b>Alem</b>	Plantae – Bitkiler
<b>Alt Alem</b>	Tracheobionta – Damarlı Bitkiler
<b>Üst Şube</b>	Spermatophyta – Tohumlu Bitkiler
<b>Şube</b>	Magnoliophyta – Çiçekli Bitkiler
<b>Sınıf</b>	Liliopsida – Monokotiller
<b>Alt Sınıf</b>	Commelinidae
<b>Takım</b>	Poales
<b>Familya</b>	Poaceae – Otsular
<b>Cins</b>	<i>Triticum</i> L. – Buğday
<b>Tür</b>	<i>Triticum durum</i> Desf. <i>Triticum turgidum</i> L. <i>Triticum aestivum</i> L. <i>Triticum spelta</i> L. <i>Triticum baeoticum</i> Boiss. <i>Triticum monococcum</i> L. [28]

### 2.1.5. Poaceae Familyasının Genel Özellikleri

Kozmopolit olan familya, yaklaşık olarak 650 cins ve 9000 kadar tür içermektedir. Ülkemizde 142 kadar cins ve 512 kadar türü bulunmaktadır. Genellikle tek veya çok yıllık otsular, nadiren çalılar ve ağaçlardan (Bamboos: Altfamilya Bambusodieae) oluşan bir familyadır. Kök yapısı fibrilli, rizom veya yoktur. Gövde dik, yatık, yükselici veya sürünücü tiptedir. Gövdenin içi boş olup sadece nodyumlarda doludur. Yapraklar gövde üzerinde iki sıralı, her nodyumda tek, kını gövdeyi sarıcı, ligulalı ve genellikle paralel damarlı ve çoğunlukla şeritsidir. Çiçekler erdişi, bazen tek eşeyli spikula adı verilen özel yapılarda toplanmıştır. Spikulalar spika, rasemus veya panikula durumlarındadır. Her bir spikula eksenin dibinde brakteye karşılık gelen 2 gluma mevcuttur (alt ve üst gluma). Spikula ekseninde bulunan çiçekler glumella adı verilen iki brakteolün koltuğundan çıkarlar. Stamenler genellikle 3, nadiren çok sayıdadır (1-6). Ovaryum üst durumlu, 3 karpelli, 1 ovüllüdür. Stigma 2 ve tüylüdür. Meyva nişasta bakımından zengin bir karyopsis, nadiren fındıksı ve bakkadır.

Birçok türü tahıl bitkisi olarak büyük bir öneme sahiptir. Bunun yanı sıra şeker ve yağ içeren türleri de mevcuttur. Ayrıca çayır ve meraların önemli bitkileri de bu familyaya aittir [29].

### 2.1.6. Buğdayın Genel Özellikleri

Tek yıllık otsu bitkidir. Çiçek durumu yoğun bir spika halindedir. Spikulalar her nodyumda tek ve 2-6 (9) çiçekli, üstteki 7 veya 2 çiçek genellikle verimsizdir. Glumalar trunkattır. Yaprak yüzeyi düzdür. Lemma derimsi, palea zarsı ve 2 gagalıdır. Birçok kültür varyetesi bulunmaktadır [30].



Şekil 2.4. Buğdaydan genel görünüş [31, 32].

Mısır ve pirinçle dünyada en fazla tarımı yapılan buğday ekonomik yönünün yanı sıra besinsel yönüyle de büyük önem taşımaktadır. Buğdayda mevcut protein miktarı tür, çeşit, çevre koşulları (iklim, toprak, hastalık ve zararlılar) ve üretim koşullarına (gübreleme, sulama) bağlı olarak %6-22 oranında artabilir [33].

#### 2.1.7. Dünyada ve Türkiye’de Buğdayın Önemi

Hızla artan dünya ve ülkemiz nüfusunun beslenme sorunlarının çözümünde, sınırlı olan tarım alanlarındaki bitkisel besin kaynağı üretiminin maksimum verimlilikte elde edilmesi büyük önem taşımaktadır. İnsan besin kaynakları arasında en ön sırada gelen tarla bitkilerinden birisi şüphesiz ki buğdaydır. Buğdaydan elde edilen un, bulgur, makarna ve nişasta insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Buğdayın sap kısmı ise kağıt - karton sanayisinin ham maddesi olarak ve besicilikte hayvan gıdası olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde yıllık buğday ekim alanı yaklaşık olarak 10 milyon hektardır ve bu alanlardan elde edilen ortalama ürün miktarı yıllık yağışa bağlı olarak yaklaşık 20 milyon ton civarlarındadır [34].

Dünyanın ve Türkiye’nin neredeyse her bölümünde üretimi yapılabilen buğdayın, ilgilendirdiği üretici ve tüketici kitlesinin genişliğinden dolayı oldukça önemli bir konumu vardır. Üretim açısından yaklaşık olarak 4 milyon işletmeyi diğer bir ifade ile 15 milyon çalışanı, tüketim açısından ise dünya nüfusunun yaklaşık olarak % 35’ini ilgilendirmektedir. Bu gibi nedenlerden dolayı dünyadaki buğday üretim ve verim

arttırma teknolojisindeki çalışmalar yakından takip edilmekte ve yurdumuza adapte edilmeye çalışılmaktadır. Bununla birlikte, Türkiye’de fazla çeşit bulunmasına rağmen buğdayda uygun çeşit standardı belirlenememiş, verim ve kalite sorunları çözümlenememiştir. Üretimin çok geniş alana yayılmış olması, kuru ve marjinal alanlarda üretim yapılması birim alandan elde edilen üretim miktarını düşüren sebepler arasında gösterilmektedir [3].

### **2.1.8. Dünyada ve Türkiye’de Buğday Üretim ve Tüketimi**

Günümüzde üretilen buğday miktarının %95 gibi büyük bir kısmını hekzaploid ekmeklik buğdaylar oluşturmaktadır. Geri kalan %5’lik kısmın büyük bölümünü de makarnalık veya pastalık buğday olarak bilinen tetraploid buğdaylar oluşturmaktadır. Tetraploid buğdaylar hekzaploid buğdaylara göre kuru Akdeniz iklimine daha iyi adaptasyon göstermektedirler. Çok küçük bir kısmı oluşturan kıvılcık buğday (*Triticum monococcum*), emmer (*Triticum dicoccum*) ve spelt (*Triticum spelta*) çeşitleri Türkiye, İspanya ve Balkanlar gibi bazı bölgelerde özel kullanım amaçları için yetiştirilmektedirler.

Besin kaynağı olarak tahılların sahip olduğu önem tartışmasızdır. 2009 yılında gerçekleşen tahıl üretim miktarları Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Mısır hububatlar arasında en yüksek üretim oranına sahiptir. Mısırdan sonra en fazla tarımı yapılan tahıl ise buğdaydır.

Tablo 2.1. Dünya Hububat Üretim Miktarları [35].

Ülke	Buğday	Arpa	Mısır
	Milyon ton		
AB Ülkeleri (27 Ülke)	136,0	59,4	57,8
Çin	110,0	3,0	160,0
Hindistan	77,6	1,5	18,5
ABD	56,0	4,8	302,0
Rusya	57,0	17,0	-
Kanada	24,5	10,0	10,5
Avustralya	22,5	7,5	0,4
<b>Türkiye</b>	<b>18,0</b>	<b>6,7</b>	<b>3,8</b>
Ukrayna	18,0	9,8	8,0
Arjantin	10,0	1,6	18,0
Kazakistan	14,5	2,0	-
Dünya (Toplam)	652,3	142,8	767,8

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO: Food and Agriculture Organization) verilerine göre, 2008-2009 dönemlerinde gerçekleşen dünya buğday üretim değerleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Dünya Buğday Üretim Miktarları [24].

Ülke	2008	2009	2008-2009 %fark
	<b>Milyon ton</b>		
AB Ülkeleri (27 Ülke)	150.0	138.6	-8
Çin	112.5	111.0	-1
Hindistan	78.4	77.6	-1
ABD	68.0	55.1	-19
Rusya	63.8	55.0	-14
Kanada	28.6	25.9	-9
Pakistan	21.8	23.8	9
Ukrayna	25.9	19.1	-26
Avustralya	21.4	22.0	3
<b>Türkiye</b>	<b>17.8</b>	<b>20.0</b>	<b>12</b>
Kazakistan	12.5	14.0	12
İran	9.8	13.5	38
Arjantin	8.3	9.6	16
Mısır	8.0	7.8	-2
Suriye	2.1	4.0	92
Diğer Ülkeler	55.8	58.8	5
Dünya (Toplam)	684.6	655.8	-4

FAO verilerine göre dünyada toplam buğday üretim miktarı % 4 oranında azalma göstermesine karşın tüketim oranı % 1.6 oranında artış göstermiştir.

Tablo 2.3. Dünyada ve Türkiye’de Yıllara Göre Buğday Tüketim Miktarları [36].

	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10 Mayıs	2009/10 Haziran
<b>Bin Ton</b>						
Cezayir	7,750	7,850	8,050	8,150	8,250	8,250
Brezilya	10,450	10,300	10,300	10,700	10,900	10,900
Kanada	8,242	8,986	6,373	9,190	8,800	8,800
Çin	101,500	102,000	106,000	102,500	101,000	101,000
Mısır	14,800	15,450	15,950	16,550	16,550	16,850
AB	127,525	125,500	116,536	127,500	127,500	127,500
Hindistan	69,980	73,365	76,345	70,300	72,500	72,500
İran	14,800	15,300	15,500	15,600	15,900	15,900
Kazakistan	7,400	7,500	7,500	7,500	7,500	7,500
Fas	6,800	7,150	7,300	7,200	7,300	7,300
Pakistan	20,900	21,900	22,400	22,800	23,300	23,300
Rusya	38,400	36,400	37,700	38,700	40,500	40,000
<b>Türkiye</b>	<b>16,100</b>	<b>16,650</b>	<b>16,800</b>	<b>16,900</b>	<b>17,000</b>	<b>17,000</b>
Ukrayna	12,500	11,700	12,900	13,800	13,400	12,800
Özbekistan	6,118	6,500	6,800	7,050	7,000	7,100
Diğer Ülkeler	122,341	120,703	117,824	123,899	125,609	125,784
Ara Toplam	591,240	584,363	588,139	599,706	608,127	607,707
ABD	31,320	30,940	28,574	34,046	34,646	34,102
Genel Toplam	622,560	615,303	616,713	633,752	642,773	641,809

## 2.2. Peroksidazlar

Hayvan, bitki ve mikroorganizma dokularındaki enzimlerin bir sınıfı olan peroksidazlar, peroksit ( $H_2O_2$ ) veya oksijen ( $O_2$ ) 'in varlığında bileşikleri oksitleyebilen proteinlerdir [37]. Peroksidaz  $H_2O_2$ 'yi kullanarak fenoller ve hidrokinonlar gibi çok sayıda aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonunu katalizleyen [6], hem yapısına sahip proteinlerdir [7, 9]. hem grubundaki Fe (demir) katalitik aktiviteden sorumludur. Çoklu moleküler formlara ve geniş bir hücre altı dağılımına sahip olan peroksidaz genleri, bitkilerde çok sayıda bulunur. Peroksidazların yüksek sıcaklıktaki stabilliği ve aktivitelerinin basit kromojenik reaksiyonlarla kolayca ölçülmesinden dolayı, protein yapısı, enzim reaksiyonları ve enzim fonksiyonu çalışmalarında model bir enzim olarak kullanılmaktadır [37].

Peroksidazlar yapısal ve katalitik özellikleri temel alındığında 3 sınıfa ayrılırlar [38]. Sınıf I peroksidaz ailesi hayvanlarda glutatyonperoksidaz, miyeloperoksidaz, eozinofilperoksidaz, laktoperoksidaz ve prostoglandinperoksidaz sentazın bazı kısımları gibi enzimleri içerir. Glutatyonperoksidaz, hayvan peroksidazları arasında gösterilmesine rağmen aktivitesi bitkilerde de saptanmıştır [39]. Sınıf II peroksidaz ailesi, hayvan, bitki, bakteri, mantar ve mayalardaki katalazlardan meydana gelir. Sınıf III peroksidaz ailesi, bitki, mantar, bakteri ve mayalardaki peroksidazlardan meydana gelir [40].

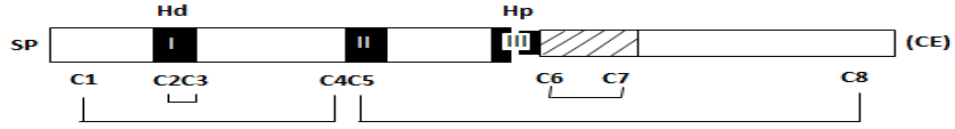
Tablo 2.4. Peroksidazların Sınıflandırılması [38].

Üst sınıf	Sınıf	Üye	(EC Numarası) Orijin	Moleküler Ağırlık (kDa)
Hayvan peroksidazları		Eozinofilperoksidaz (EC 1.11.1.7)	Hayvan	50-75
		Laktoperoksidaz (EC 1.11.1.7)	Hayvan	78-85
		Miyeloperoksidaz (EC 1.11.1.7)	Hayvan	79-150
		Troidperoksidaz (EC 1.11.1.7)	Hayvan	90-110
		Glutasyonperoksidaz (EC 1.11.1.9)	Hayvan ve Bitki	6-22 ve 75-112
		Prostaglandin endoperoksit sentaz (EC 1.14.99.1)	Hayvan	115-140
Katalaz		Katalaz (EC 1.11.1.6)	Hayvan, bitki, mantar ve maya	140-530
Bitki Peroksidazları	I	sitokrom c peroksidaz (EC 1.11.1.5)	Maya ve bakteri	32-63
		Katalaz peroksidaz (EC 1.11.1.6)	Bakteri ve mantar	150-240
		Askorbat peroksidaz (EC 1.11.1.6)	Bitki	30-58
	II	Manganez bağımlı peroksidaz (EC 1.11.1.13)	Mantar	43-49
		Ligninaz (EC 1.11.1.14)	Mantar	40-43
	III	<b>Peroksidaz (EC 1.11.17, POX)</b>	<b>Bitki</b>	<b>28-60</b>

Bitki peroksidazları geniş bir multigen ailesi tarafından kodlanırlar. Bitki peroksidazları lignifikasyon [41], suberizasyon [42], oksin metabolizması [43], hücre duvar proteinlerinin bağlanması [44], patojen ataklarına karşı koruma [45], tuz toleransı [46], senesens [47], çimlenme [48] ve oksidatif stres [37] gibi birçok fizyolojik olaylarda çok önemli görevler üstlenirler.

Primer yapılarındaki farklılıklardan dolayı bitki peroksidazları kendi içlerinde 3 farklı sınıfa ayrılırlar [49]. Sınıf I bitki peroksidazları, intraselüler peroksidazları içerir [50]. Sınıf II bitki peroksidazları ekstraselüler peroksidazları içerir. Sınıf III bitki peroksidazları hem intraselüler hem ekstraselüler peroksidazları içerir.

Peroksidazlar, distal ve proksimal hem bağlama domaini ve fonksiyonu tam olarak belirlenmemiş bir merkezi domain olmak üzere üç tane yüksek derecede korunmuş bölge içerirler [37].



Şekil 2.5. Bayırturpu (Horseradish) peroksidaz izoenzim C' nin yapısı (HRPC). SP. N-terminal sinyal peptidi, CE. C-terminal uzantısı, I. distal hem-bağlama domaini, II. merkezi korunmuş bölge, III. proksimal hem-bağlama domaini, Hd. distal histidin, Hp. proximal histidin, C1' den C8' e. sekiz sistein kalıntısı [51, 52].

### 2.3. Moleküler Sistematiik

Uzun yıllar boyunca araştırmacılar dünyadaki biyolojik çeşitliliği anlamak ve değerlendirmek için büyük bir çaba göstermişlerdir. 17. yy'da Linnaeus tarafından yapılan hiyerarşik tabanlı sistem, bu biyolojik çeşitliliği sınıflandırmada ve tanımlamada temel oluşturmuştur. Linnaeus'tan sonraki araştırmacılar ise filogenetik akrabalıkların önemini ön plana çıkarmış ve böylece moleküler sistematiik diye adlandırılan yöntem sistematiikte yer almaya başlamıştır [53]. 1960'larda moleküler sistematiğin temelini oluşturan genetik materyalin yani DNA'nın keşfi ile bu alandaki çalışmalar daha da hızlanmıştır. Moleküler sistematiik alanındaki ilerlemeyle elde edilen sonuçlar, morfoloji temelli sistematiik yaklaşımını tamamen devre dışı bırakmasa da, filogenetik çalışmalarda moleküler düzeyde bir yaklaşımın daha güçlü sonuçlar elde edeceğini ortaya koymuştur [54].

#### 2.3.1. Moleküler Sistematiikte Kullanılan Markırlar

##### 2.3.1.1. Morfolojik Markırlar

Morfolojik markırlar geçmişte ve günümüzde yaygın olarak kullanılan markırlardır. Ancak sayılarının az olması, çevresel faktörlerden etkilenmeleri gibi dezavantajlara sahiptirler. Bunların yanı sıra morfolojik markırlar genellikle dominant özelliktedirler. Bu yüzden morfolojik markırlarla dominant (AA veya Aa) ve resesif (aa) fenotipler belirlenebilir. Bu yüzden heterozigot (Aa) fenotipler dominant fenotiplerden ayırt edilemezler. Bu markırların avatajı ise analizlerinin kolay olmasıdır [55].

### 2.3.1.2. Biyokimyasal Markırlar

Proteinlerin elektroforetik olarak ayrılmasına ve bu proteinlerin substratları ile enzimatik boyanmasını temel alan yöntemdir [56]. Bu markırlar depo ve enzim proteinleri olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Depo proteinleri bir jelde hareket ettirilip belirli boya ile boyandıklarında farklı genotiplerde ortaya çıkan farklı bantlar genetik markır olarak kullanılabilir. Analizlerinin çabuk, tekrarlanabilir ve güvenilir olması bu markırların en önemli avantajıdır [55].

Enzim markırları izoenzimler ve allozimler olmak üzere kendi içinde iki ana gruba ayrılırlar. Belli bir enzimin katalitik aktivitesi aynı, fakat elektriksel alanda göçü, doku dağılımı, inhibitör ve aktivatörlere yanıtları farklı olan formlarına o enzimin izoenzimleri denir. İzoenzimler, amino asit dizinleri farklı proteinler olduğu halde aynı tepkimeyi katalize eden enzimlerdir; farklı dokularda veya farklı intrasellüler kompartmanlarda farklı rollere sahiptirler. Eğer bir reaksiyon hücrenin hem sitozolünde hem mitokondrisinde oluyorsa, genellikle farklı izoenzimler tarafından katalize edilir [57]. Alloenzimler ise aynı lokustaki farklı alleler tarafından kodlanan bir enzimin farklı moleküler formlardır [58].

İzoenzimlerin metabolizmada üstlendikleri rollerin iyi bilinmesi, kullanılan yöntemlerin ucuz ve hızlı olması, izoenzim markırlarını avantajlı hale getirmektedir. Ancak az sayıda lokus olması, bazı izoenzimlerin belirli dokulara spesifik olması veya belli dönemlerde ifade edilebiliyor olması ve tranlasyon sonrası modifikasyonlara uğraması bu markırların temel dezavantajlarıdır [59].

### 2.3.1.3. DNA Markırları

Genel olarak DNA markırları, DNA'yı oluşturan nükleik asitlerin sahip olduğu diziliş farkını ortaya koyan markırlardır. DNA markırları günümüzde bitki ıslah çalışmalarında moleküler biyolojinin başvurduğu en önemli araçların başında gelmektedir. Filogenetik bağlantıların açıklanmasında kullanılan DNA temelli metotlar, deneysel farklılıkların dışında genelde PZR temellidir. Son yıllarda özellikle RAPD, AFLP ve ISSR gibi PCR temelli markırlar populasyon içi ve populasyonlar arası genetik farklılığı ortaya çıkarmada daha çok kullanılmaktadırlar [60].

Tüm dünyada moleküler ve genetik alanında yapılan çalışmalar çok hızlı bir şekilde ilerlemektedir. Böylece tür içi ve türler arası genetik farklılıklar bireylerin DNA'larının karşılaştırılmasıyla moleküler düzeyde araştırılabilmektedir [61].

Son zamanlarda özellikle RAPD, ISSR ve AFLP gibi PZR temelli dominant markırlar popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik yapının ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır [60].

#### **2.3.1.3.1. RAPD**

RAPD tekniği; nükleotid dizisi rastgele belirlenen kısa zincirli oligonükleotidlerin kullanıldığı, PZR ile genomik DNA'da ilgili bölgelerin çoğaltıldığı bir yöntemidir. Bu teknikte 6–10 nükleotid uzunluğunda başlatıcı DNA'lar kullanarak genom üzerinde rastgele bölgelerin DNA amplifikasyonu yapılır. Başlatıcı DNA'ların hazırlanmasında belirli bir DNA sırasına ait bilgi gerekmemektedir.

RAPD tekniği; hızlı sonuç vermesi, maliyetinin düşük olması, az işgücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kalitede DNA'ya gereksinim duyulması bakımından popüler hale gelmiştir. Ayrıca polimorfizm oranı da çok yüksektir. Tekniğin dezavantajları ise güvenilirliğin çok sınırlı olması, tekrarlanabilirliğin düşük olması ve dominant kalıtım göstermesidir [62].

#### **2.3.1.3.2. RFLP**

RFLP tekniği, dokulardan izole edilmiş olan genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince özel olarak kesilmesi ve prob esasına dayanmaktadır.

Bir DNA parçasının yaklaşık her 100 nükleotid çiftindeki nükleotid dizilimi bireyden bireye değişiklik gösterir. Sonuç olarak; bir kromozom üzerinde bulunan bir kesme enzimi tanıma dizisi, diğer kromozom üzerinde bulunmayabilir. Bu durumda, kesme parçası büyüklükleri bu bölge için farklı olacaktır. Bu yöntemde, özütleme ve saflaştırmadan sonra elde edilen DNA kesme enzimleri ile kesilir, oluşan parçalar daha sonra molekül büyüklüklerine göre jel elektroforezinde ayrılırlar. Bir RFLP DNA'nın nükleotid sıralanışındaki varyasyonla oluşur. Bu varyasyonun sebebi; bir nokta mutasyonu, kaybolma (delesyon) ya da eklenme (insersiyon) olabilir. Elektroforez sonucu büyüklüklerine göre ayrılan bantlar, RFLP analizinin diğer aşamalarında

kullanılmak üzere southern blot metodu kullanılarak taşıyıcı bir yüzeye aktarılır ve orada sabitlenebilir. Alkali solüsyon ile yıkama işleminden sonra hibridizasyon göstermeyen parçalar uzaklaştırılır. Daha sonra uygun görüntüleme teknikleri ile tanımlama ve değerlendirme yapılır [61].

RFLP tekniğinin DNA amplifikasyonuna dayalı moleküler tekniklere göre pahalı olması, radyoaktif madde kullanılması, zaman alıcı ve fazla miktarda DNA gerektirmesi ve uygulanmasının zor olması gibi dezavantajları vardır. Bunun yanı sıra RFLP analizi ile değişik laboratuarlarda aynı sonuçlara ulaşılabilir, RFLP kodominant kalıtılır ve heterozigot bireylerin tanımlanmasını sağlar [63].

### 2.3.1.3.3. AFLP

AFLP tekniğinde; DNA kesme endonükleazları ve PZR tekniği bir arada kullanılır. DNA *EcoRI* gibi 6 bp'lik tanıma sırasına sahip nadir kesim yapan ve 4 bp'lik *MseI* gibi tanıma sırasına sahip daha sık kesim yapan iki enzimle kesilir. Bu şekilde meydana gelen kesme parçalarının kesim yerlerine, adaptör olarak adlandırılan kesme enzimi için özgün sıralar eklenir. Daha sonra iki aşamalı PZR uygulanır. Adaptör sırasına ve bu kesim yerine komplementer ayrıca 3' ucundaki seçiciliği artırmak için ekstra bir nükleotid taşıyan +1 primer eklenir. Bu nedenle DNA şablonunda çoğaltım sadece primerin ekstra seçici bazının kesme fragmentinin buna karşılık gelen bazına komplementer olması halinde mümkündür. İki +1 primerin kullanılmasıyla çoğaltılan fragmentlerin sayısı teorik olarak, orijinal fragmentlerin 1/16'sı kadar azalır. Daha sonra seçici çoğaltım olarak tanımlanan 2. PZR uygulanarak primerin seçiciliği artırılır. Bu amaçla, kesim yerine adaptöre komplementer olacak ekstra iki baz içeren bir primer eklenir (+2 primer). Sayısı primerin seçici bazıyla ve nadir kesim yapan enzimin katıldığı fragmentlerin gösterilmesiyle önemli ölçüde azalan fragmentler, jel elektroforezinde ayrılırlar, röntgen filmi ya da florans boya kullanılmasıyla görünür hale getirilirler [61].

Haritalamada kullanılabilmesi, tüm genomun taranmasına olanak vermesi, fazla sayıda lokusu tarayabilmesi gibi avantajlarının yanı sıra, AFLP yönteminin bazı dezavantajları da mevcuttur. Tekniğin optimizasyonunun zaman alması ve pahalı olması, fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması, radyoaktif izotopların kullanılması ve çoğunlukla dominant kalıtımı AFLP tekniğinin dezavantajı olarak gösterilebilir [64].

#### **2.3.1.3.4. Mikrosatellit DNA Analizi (Basit Sıra Tekrarları)**

SSR veya STR olarak da isimlendirilen mikrosatellit DNA 2–9 baz çiftlik, ardışık olarak tekrarlanan birimlerden oluşmuştur. Mikrosatellit polimorfizmi ya da tekrarlanma sayısındaki farklılıklar, bu lokusların iki tarafındaki korunmuş sıralara komplementer olan özgün primerler kullanılarak PZR ile çoğaltılması ve daha sonra fragmentlerin elektroforetik ayrımı temelinde saptanabilir. Daha sonra bu fragmentler poliakrilamid jelde görünür hale getirilir.

Mikrosatellit DNA markırları; popülasyon düzeyindeki araştırmalarda son derece kullanışlıdır. Şimdiye kadar değinilen yöntemlerden farklı olarak, bir mikrosatellit lokusun çoğaltılabilmesi için bu sıranın etrafındaki sıraların bilinmesi gerekmektedir. Mikrosatellitlerin genetik markır olarak kullanılmasındaki en zor aşama bu sıraların belirlenmesi aşamasıdır.

Mikrosatellitlerde polimorfizm oranı ile sonuçların tekrarlanabilirliği çok yüksektir. Bir diğer avantajı ise kodominant markır olduğundan heterozigotlarla homozigotların ayırt edilebilmesidir [61].

#### **2.3.1.3.5. SCAR**

SCAR yöntemi RAPD lokuslarına özgü primerler ile DNA amplifikasyonuna dayanan ve genetik açıdan tek bir lokus olarak tanımlanan genomik DNA fragmentlerini karakterize eder. SCAR markırları kodominant olarak kalıtılır. 1993 yılında RAPD markırını ilk olarak SCAR markırına dönüştürülmüş ve RAPD yönteminin etkinliği biraz daha artırılmıştır. SCAR işleminin yapılabilmesi için amplifikasyon ürünleri klonlanır ve DNA dizileri belirlenir. Dizi bilgisi dikkate alınarak RAPD lokuslarına özgü ve daha uzun primerler tasarlanır. SCAR primerinde bulunan 24 nükleotitin ilk on bazı orijinal RAPD primerinden, geri kalan bölgesi ise internal dizilerden oluşmuştur. Bu primerler SCAR markırlarının oluşturulmasında kullanılır. SCAR markırları kesim enzimleri ile kesilerek kodominant markırlara dönüştürülebilmektedir. SCAR markırının tekrarlanabilirliği, RAPD ve ISSR markırlarına göre çok daha yüksektir [65].

### 2.3.1.3.6. ISSR

ISSR tekniği mikrosatellitlerin arasındaki dizilerin PZR amplifikasyonuna dayanır. Tek bir primer kullanılır. Primer uzunluğu 16-20 nükleotid olup (Orneđin; (CTTG) duruma göre primerlerin uçlarından biri 2-4 baz uzatılır. Primerin bu uzantılar içerisindeki kısımlarında secici bazlar bulunmaktadır. Bu sayede çok sayıda lokus aynı anda izlenebilir [66].

Teknik 5'-3' uclarındandır güçlendirilen, kısa- tekrarlanan batlar ve secici bantlar primer olarak PZR reaksiyonlarında kullanılmasını, PZR ürünlerinin elektroforez ile büyüklüklerine göre ayrılmasını ve jel üzerinde DNA'nın tespitini içerir. Bir reaksiyonda tekrarlanan dizi aynı kalmak kaydıyla, secici bantların farklı kombinasyonları tekrarlanan kısımla birlikte primer olarak aynı reaksiyonda kullanılabilir. Böylece tek PZR reaksiyonunda güçlendirilen hedef DNA bölgesinin sayısı artırılır. Dolayısıyla tek bir jel üzerinde üretilebilecek bant ya da markır sayısı arttırılabilir. ISSR tekniği on dizi bilgisine gerek duymaması, birçok lokusta es zamanlı olarak amplifikasyon yapılabilmesi nedeniyle genetik varyasyonları tespit etmede avantajlıdır [67].

### 3. BÖLÜM

#### MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan diploid, tetraploid ve hekzaploid buğday tohumları T.C Tarım Bakanlığı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir ve Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışma Kapsamında Kullanılan Çeşitler.

No	Örnek Adı	Ploidi Seviyesi
1	<i>Triticum aestivum</i> cv. Aksel	Hekzaploid (6n)
2	<i>Triticum aestivum</i> cv. Altay	Hekzaploid (6n)
3	<i>Triticum aestivum</i> cv. Atay - 85	Hekzaploid (6n)
4	<i>Triticum aestivum</i> cv. Atlı	Hekzaploid (6n)
5	<i>Triticum aestivum</i> cv. Bağcı	Hekzaploid (6n)
6	<i>Triticum aestivum</i> cv. Bayraktar	Hekzaploid (6n)
7	<i>Triticum aestivum</i> cv. Bezostaya	Hekzaploid (6n)
8	<i>Triticum aestivum</i> cv. Bolal	Hekzaploid (6n)
9	<i>Triticum aestivum</i> cv. Demir	Hekzaploid (6n)
10	<i>Triticum aestivum</i> cv. Doğu – 88	Hekzaploid (6n)
11	<i>Triticum aestivum</i> cv. Eser	Hekzaploid (6n)
12	<i>Triticum aestivum</i> cv. Galil	Hekzaploid (6n)
13	<i>Triticum aestivum</i> cv. Gerek	Hekzaploid (6n)
14	<i>Triticum aestivum</i> cv. Gün - 91	Hekzaploid (6n)
15	<i>Triticum aestivum</i> cv. İkizce	Hekzaploid (6n)
16	<i>Triticum aestivum</i> cv. Kate - A1	Hekzaploid (6n)
17	<i>Triticum aestivum</i> cv. Kırgız	Hekzaploid (6n)
18	<i>Triticum aestivum</i> cv. Meridionale N186	Hekzaploid (6n)
19	<i>Triticum aestivum</i> cv. Mızrak	Hekzaploid (6n)
20	<i>Triticum aestivum</i> cv. Seval	Hekzaploid (6n)
21	<i>Triticum aestivum</i> cv. Tosunbey	Hekzaploid (6n)
22	<i>Triticum aestivum</i> cv. Türkmen	Hekzaploid (6n)
23	<i>Triticum aestivum</i> cv. Uzunyayla	Hekzaploid (6n)

(Tablo 3.1. in Devamı)

No	Örnek Adı	Ploidi Seviyesi
24	<i>Triticum aestivum</i> cv. Yakar	Hekzaploid (6n)
25	<i>Triticum aestivum</i> cv. Zincirci	Hekzaploid (6n)
26	<i>Triticum durum</i> cv. Altın	Tetraploid (4n)
27	<i>Triticum durum</i> cv. Ankara – 98	Tetraploid (4n)
28	<i>Triticum durum</i> cv. Ç-1252	Tetraploid (4n)
29	<i>Triticum durum</i> cv. Çakmak	Tetraploid (4n)
30	<i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş	Hekzaploid (6n)
31	<i>Triticum durum</i> cv. Eminbey	Tetraploid (4n)
32	<i>Triticum durum</i> cv. Gökgöl	Tetraploid (4n)
33	<i>Triticum durum</i> cv. Karakilçık	Tetraploid (4n)
34	<i>Triticum durum</i> cv. Kızıltan	Tetraploid (4n)
35	<i>Triticum durum</i> cv. Kunduru - 1149	Tetraploid (4n)
36	<i>Triticum durum</i> cv. Mirzabey	Tetraploid (4n)
37	<i>Triticum durum</i> cv. Sevinç	Tetraploid (4n)
38	<i>Triticum durum</i> cv. Şark	Tetraploid (4n)
39	<i>Triticum durum</i> cv. Şiraslan	Tetraploid (4n)
40	<i>Triticum durum</i> cv. Tartar	Tetraploid (4n)
41	<i>Triticum durum</i> cv. Yılmaz	Tetraploid (4n)
42	<i>Triticum durum</i> cv. Zenit	Tetraploid (4n)
43	<i>Secale cereale</i> cv. N356	Diploid (2n)
44	<i>Triticum baoticum</i>	Diploid (2n)
45	<i>Triticum baoticum</i> cv. N167	Diploid (2n)
46	<i>Triticum monococcum</i> N487	Diploid (2n)
47	<i>Triticum turgidum</i> cv. <i>albojoducum</i> N65	Tetraploid (4n)
48	<i>Triticum spelta</i> cv. <i>alefeldii</i>	Hekzaploid (6n)
49	<i>Triticum aestivum</i> cv. Ak	Hekzaploid (6n)
50	<i>Triticum aestivum</i> cv. Akbaşak	Hekzaploid (6n)
51	<i>Triticum aestivum</i> cv. Ankara 093/44	Hekzaploid (6n)
52	<i>Triticum durum</i> cv. Berkmen	Tetraploid (4n)
53	<i>Triticum durum</i> cv. İmren hanım	Tetraploid (4n)
54	<i>Triticum aestivum</i> cv. Köse	Hekzaploid (6n)
55	<i>Triticum durum</i> cv. Kunduru 414/44	Tetraploid (4n)
56	<i>Triticum durum</i> cv. Meram	Tetraploid (4n)
57	<i>Triticum aestivum</i> cv. Sivas	Hekzaploid (6n)
58	<i>Triticum aestivum</i> cv. Sürak	Hekzaploid (6n)
59	<i>Triticum aestivum</i> cv. Yayla	Hekzaploid (6n)
60	<i>Triticum aestivum</i> cv. Yektay	Hekzaploid (6n)

### 3.1.2. Primerler

Bu çalışmada Gülşen ve arkadaşları [4] tarafından peroksidaz sekanslarını çoğaltmak için dizayn edilen 14 farklı POX primeri kullanılmıştır (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan primerler [4].

Primer	Baz Dizisi	Tm Sıcaklığı (°C)
POX1F POX1R	5'-CTCGACCTACAAGGAC-3' 5'-ATGTAGGCGCTGGTGA-3'	46
POX2F POX2R	5'-CTCGACGTCAAGGACCTC-3' 5'-GCCCATCTTCACCATGG-3'	46
POX3F POX3R	5'-CAACGAGACCAACATCGA-3' 5'-CCTGATCTGTCCCTGCG-3'	47
POX4F POX4R	5'-TTACGCTACATAACAATTTCAA-3' 5'-ACTCGACTGCGACCAG-3'	46
POX5F POX5R	5'-CACACGATCGGGGCGATC-3' 5'-AATCTGCCGGCAGAGCC-3'	53
POX6F POX6R	5'-TACCCGACGGTGAGC-3' 5'-CTTGATCGTACTGACTCTA-3'	40
POX7F POX7R	5'-CTCGACACAACCGATGTTG-3' 5'-TTCACAACTAGTCACAATCACA-3'	47
POX8F POX8Rb	5'-CACCATCAAGAGCGTCATAAC-3' 5'-TTGCTAGAGCGAGCTGG-3'	50
POX9F POX9R	5'-GGCGTCGGCGTCG-3' 5'-ATCGGGAAGCTTCCCCTC-3'	52
POX10Fa POX10Ra	5'-CCACGCCCTCATCGC-3' 5'-CATCTGGCCGTGCGTC-3'	50
POX11F POX11R	5'-CCTTCTTCTTGCCATCTTGC-3' 5'-CATATCGCTCCACGACCTTT-3'	51
POX12Fa POX12Ra	5'-CGAGCTGAGAGTGAATCGATC-3' 5'-CTTGAACGCCTGGATGAGC-3'	50
POX13F POX13R	5'-GACGGTTCTATTGGGAAGAAG-3' 5'-CATGAAAGTGATGAGATGGC-3'	47
POX14F POX14R	5'-CTCATCGTTAACGTCGCATC-3' 5'-GATGCAAGGAGTATAGTGCAAATG-3'	50

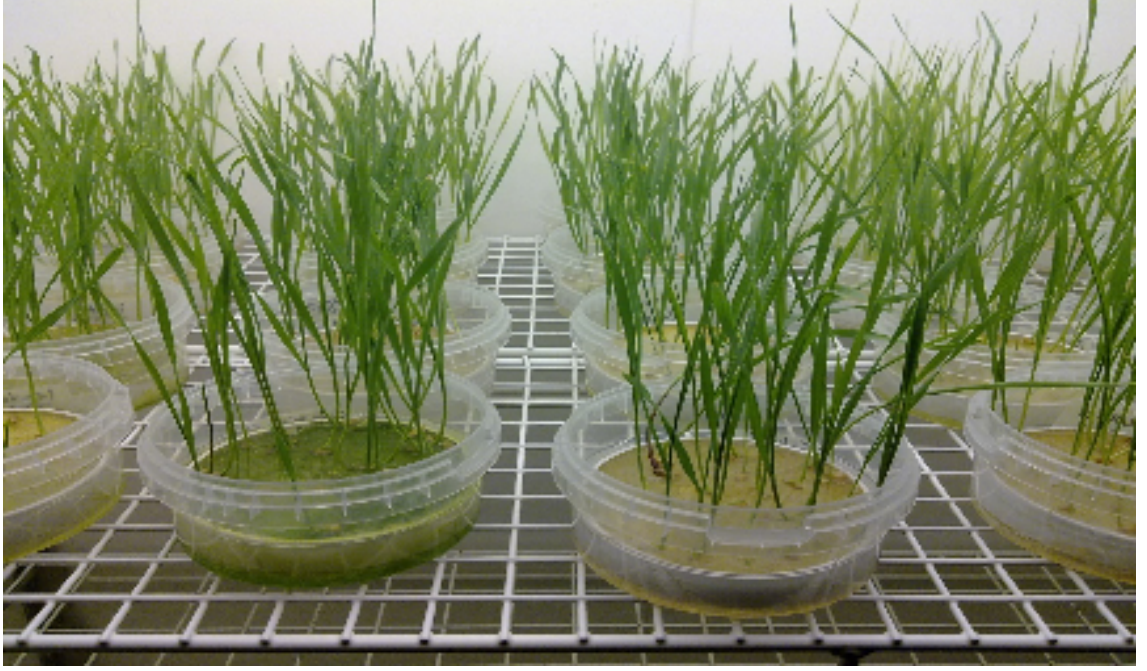
### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Bitki Yetiştirilmesi

DNA izolasyonu için dokuları kullanılacak olan buğday tohumları 2-3 hafta boyunca Sanyo Fitotron marka büyüme çemberinde Hoagland solüsyonu ile büyütülmüştür (Şekil 3.1.).

Tablo 3.3. Hoagland Solüsyonu.

<b>1000 ml çözelti için</b>		
<b>Kimyasallar</b>	<b>Stok Solüsyon</b>	<b>Kullanılan Miktar</b>
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	24.6 g/100 ml	1.0 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	13.6 g/100 ml	0.5 ml
KNO <sub>3</sub>	10.1 g/100 ml	2.5 ml
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	23.6 g/100 ml	2.3 ml
SOLÜSYON A		0.5 ml
SOLÜSYON B (Fe-EDTA)		20.0 ml
<b>Solüsyon A (1X Stok)</b>		
<b>Kimyasallar</b>	<b>Stok Solüsyon</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g/L	
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	182 g/L	
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.22 g/L	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.09 g/L	
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.09 g/L	
<b>Solüsyon B (1X Stok)</b>		
<b>Kimyasallar</b>	<b>Stok Solüsyon</b>	
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.121g/250mL	
EDTA	0.375g/250mL	



Şekil 3.1. Büyüme çemberinde büyütülen buğdaylardan genel bir görünüş

### 3.2.2. Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için CTAB DNA çıkarma işlemi değiştirilerek kullanılmıştır [68]. Her bir örnek için 250-300 mg arasında taze yaprak dokusu alınmış ve sıvı azot ile toz haline getirilmiştir. Azotla ezme işleminin ardından toz haline gelen dokunun üzerine 1 ml ekstraksiyon tamponu ( %2 (W/v) CTAB, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM Na EDTA pH 8.0, % 0.2  $\beta$ -merkaptoetanol) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Ezme işleminden sonra bitki özütü bir ependorf tüpüne alınmış, 62 °C'ye ayarlı su banyosunda 60 dk bekletilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra 700  $\mu$ l kloroform: izoamilalkol (24:1) eklenmiş ve tüpler 100 defa yavaşça ters düz edildikten sonra 16000 g'de 7 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant temiz bir tüpe alınmış ve üzerine hacmin 2/3'ü kadar soğuk isopropanol eklenerek -20 °C'de 30 dk bekletilmiş, bunu takiben 14000 g'de, +4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırılmıştır. Kalan pellet üzerine 500  $\mu$ l yıkama tamponu (%76 EtOH, 10 M amonyum asetat) ilave edilerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Beklemenin ardından 14000 g'de, +4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiş ve sıvı kısım yine uzaklaştırılmıştır. Kalan beyaz pellet üzerine 300  $\mu$ l TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilerek 65 C'de 60 dk bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra 10  $\mu$ g/ml

konsantrasyonda olacak şekilde RNAz ilave edilerek 37 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Ardından 200 µl TE ve 15 µl amonyum asetat (10 M, pH: 7.7) ilave edilmiş ve tüp içerisindeki toplam çözelti hacminin iki katı kadar %80'lik soğuk etanol eklenerek -20 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Yine 14000 g'de, +4 °C'de 5 dk santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası sulu kısım dikkatlice uzaklaştırılarak kalan pellet gece boyunca kurumaya bırakılmıştır.

Kuruyan pellet uygun miktarda TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) içerisinde çözülerek PZR aşamasında kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3. DNA Miktarı ve Temizliği**

Reaksiyonlarda kullanılacak olan DNA'nın temizliği ve miktarı reaksiyon verimliliği için son derece önemlidir. Bu yüzden izolasyon sonrası genomik DNA % 1'lik agaroz jel elektroforezinde 1X TAE tamponu içerisinde yürütülerek temizliği ve yaklaşık miktarı hakkında bilgi edinilmiştir.

### **3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Uygun reaksiyon koşullarını saptamak için gDNA ve MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları optimize edilmiştir. Reaksiyonlar Sensequest marka PZR cihazında gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonları hacmi 15 µl olacak şekilde ayarlanmıştır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. PZR Reaksiyon Karışımı.

PZR Bileşeni	Kullanılan Miktar ( $\mu$ l)	Son Konsantrasyon
dH <sub>2</sub> O	6.8 – 7.1	-
Primer R (100 nmol)	0.5	30 pmol
Primer F (100 nmol)	0.5	30 pmol
Tampon (10X)	1.5	1X
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1.5 – 1.8	2.5 - 3 mM
BSA (20mg/ml)	1.2	0.016 mg
dNTP (10 mM)	0.5	0.33 mM
Taq Polimeraz (5 u/ $\mu$ l)	0.2	1 Ünite
gDNA	2	
Toplam Reaksiyon Hacmi	15	

Bütün PZR reaksiyonları beş aşamada gerçekleştirilmiştir. Aşamalar ve detayları Tablo 3.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 3.5. PZR Döngüsü.

Aşamalar	Sıcaklık / Süre / Döngü
Ön Denatürasyon	94 °C / 2 dk / 1 döngü
Denatürasyon	94 °C / 1 dk / 34 döngü
Yapışma (Annealing)	40 - 53 °C / 2 dk / 34 döngü
Uzama (Extension)	72 °C / 2 dk / 34 döngü
Son Uzama	72 °C / 5 dk / 1 döngü
Bekleme	+4 °C / -

### 3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen PZR ürünleri % 2.5'lük agaroz jelde 110 V / 4 saat yürütülmüştür. Ayrışan bantların büyüklüğünü belirlemek için 100-300 ve 100-10000 baz çifti aralığında DNA markırları kullanılmıştır. Jeller son konsantrasyonu 0.5  $\mu$ g/ml olan etidyum bromür ile boyanarak görüntüleme cihazında resimleri çekilmiştir.

### **3.2.6. Polimorfizmin Hesaplanması**

Agaroz jelde görüntülenen bantların her biri "1", "0" veya "9" olarak kaydedilmiş olup, 1; bandın varlığını, 0; bandın olmadığını, 9 ise; değerlendirilemeyen bantları göstermektedir. Veriler NTSYS-pc (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) version 2.1 paket bilgisayar programı (Exeter Software, Setauket, New York, USA) ile değerlendirilmiştir.

## 4. BÖLÜM

### BULGULAR

Bu çalışmada çeşitli abiyotik ve biyotik stres koşullarında buğday bitkisinde ifadesi artan peroksidaz enzimini kodlayan genlerin polimorfizminin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma kapsamında 59 farklı buğday çeşidi ve 1 çavdar çeşidi olmak üzere toplam 60 örnek, peroksidaz gen polimorfizmi (POGP) belirlemek amacı ile dizayn edilen 14 farklı peroksidaz (POX) primeri ile taranmıştır.

PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde verdiği bantlar var (1), yok (0) veya kayıp veri (9) olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen toplam monomorfik ve polimorfik bant sayıları ile polimorfizm oranları Tablo 4.1. ve 4.2. de verilmiştir.

14 farklı primer kullanılarak yapılan PZR çalışmasında dış grupların da dahil edildiği durumda 100-2500 bç aralığında toplam 167 adet bant elde edilmiştir. 100-2500 bç aralığında olan bu bantların genel polimorfizm oranı %94 olarak hesaplanmıştır. Dış grupların dahil edilmediği durumda ise yine 100-2500 bç aralığında toplam 145 adet bant elde edilmiştir. Kullanılan primerler arasında POX12 (f-r) primer kombinasyonu en fazla bant veren (19 bant) primer olmuştur. En az bant ise (1 bant) POX5 (f-r) primer kombinasyonu ile elde edilmiştir. 60 adet çeşit üzerinde denenen 14 adet POGP primerleriyle yapılan denemelerde primerlerin % 36'sı (5 tane) ile %100 polimorfizm tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. 14 Farklı primer kombinasyonu kullanılarak elde edilen bant profilleri.

<b>Primer Adı</b>	<b>TBS<sup>a</sup></b>	<b>BÇ<sup>b</sup></b>	<b>MBS<sup>c</sup></b>	<b>PBS<sup>d</sup></b>	<b>% Polimorfizm</b>
POX 1 (f-r)	18	100-960	2	16	89
POX 2 (f-r)	16	100-1800	1	15	94
POX 3 (f-r)	9	180-870	1	8	89
POX 4 (f-r)	11	300-1700	0	11	100
POX 5 (f-r)	1	400	1	0	0
POX 6 (f-r)	13	170-1600	0	13	100
POX 7 (f-r)	14	150-1500	0	14	100
POX 8 (f-r2)	13	200-1100	1	12	92
POX 9 (f-r)	6	210-1700	1	5	83
POX 10 (f-r)	17	150-1500	0	17	100
POX 11 (f-r)	11	100-1500	1	10	91
POX 12 (f-r)	19	100-2500	1	18	95
POX 13 (f-r)	8	100-1100	1	7	88
POX 14 (f-r)	11	170-1500	0	11	100
Toplam	167		10	157	87

a) TBS. Toplam Bant Sayısı, b) BÇ. Baz Çifti, c) MBS. Monomorfik Bant Sayısı, d) PBS. Polimorfik Bant Sayısı.

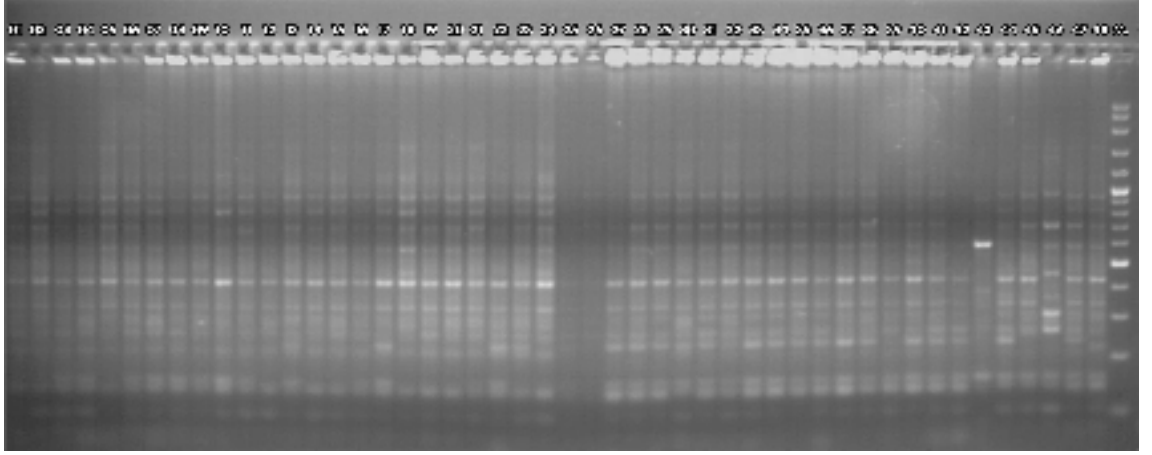
Peroksidaz gen polimorfizmine bakılan örneklerde dış gruplar değerlendirme dışı bırakıldığında elde edilen sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir. 14 POGP primerinde toplam 145 bant elde edilmiştir. Bantların 37 tanesi monomorfik olup, geriye kalan 108 tanesinde polimorfizm gözlenmiştir. Dolayısı ile 100-2500 bç aralığında olan bu bantların genel polimorfizm oranı %74’tür. 14 farklı primerden POX 5 (F-r) primer kombinasyonu hiç polimorfizm göstermeyen primer olarak belirlenmiştir. Kullanılan primerlerden POX 7 (f-r) primer kombinasyonu ise %92 polimorfizm oranı ile en polimorfik primer olarak belirlenmiştir. Dış grupların dahil edilmediği durumda POX 1 (f-r) ve POX 12 (f-r) primerleri 16 bant ile en fazla bant veren primerler olarak belirlenmiştir. POX 5 (f-r) primeri ise 1 bantla en az bant veren primer olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.2. Dış grupların dahil edilmediği durumda oluşan bant profilleri.

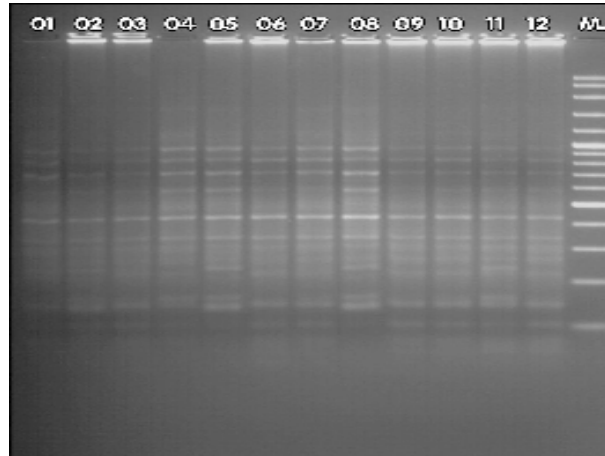
<b>Primer Adı</b>	<b>TBS<sup>a</sup></b>	<b>BÇ<sup>b</sup></b>	<b>MBS<sup>c</sup></b>	<b>PBS<sup>d</sup></b>	<b>% Polimorfizm</b>
POX 1 (f-r)	16	100-960	2	14	88
POX 2 (f-r)	13	190-1800	7	6	54
POX 3 (f-r)	9	180-870	2	7	78
POX 4 (f-r)	11	300-1700	4	7	64
POX 5 (f-r)	1	400	1	0	0
POX 6 (f-r)	11	170-1600	1	10	91
POX 7 (f-r)	12	150-1500	1	11	92
POX 8 (f-r2)	9	200-1100	3	6	67
POX 9 (f-r)	5	210-1700	3	2	40
POX 10 (f-r)	15	150-1500	4	11	73
POX 11 (f-r)	11	100-1500	2	9	82
POX 12 (f-r)	16	100-2500	5	11	69
POX 13 (f-r)	5	320-1100	1	4	80
POX 14 (f-r)	11	170-1500	1	10	91
Toplam	145		37	108	69

a) TBS: Toplam Bant Sayısı, b) BÇ: Baz Çifti, c) MBS: Monomorfik Bant Sayısı, d) PBS: Polimorfik Bant Sayısı.

**POX 1(f-r) primer kombinasyonu:** POX 1 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 100-960 bç aralığında toplam 18 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 100-960 bç aralığında 14'ü polimorfik, 2'si monomorfik olmak üzere toplam 16 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 88 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

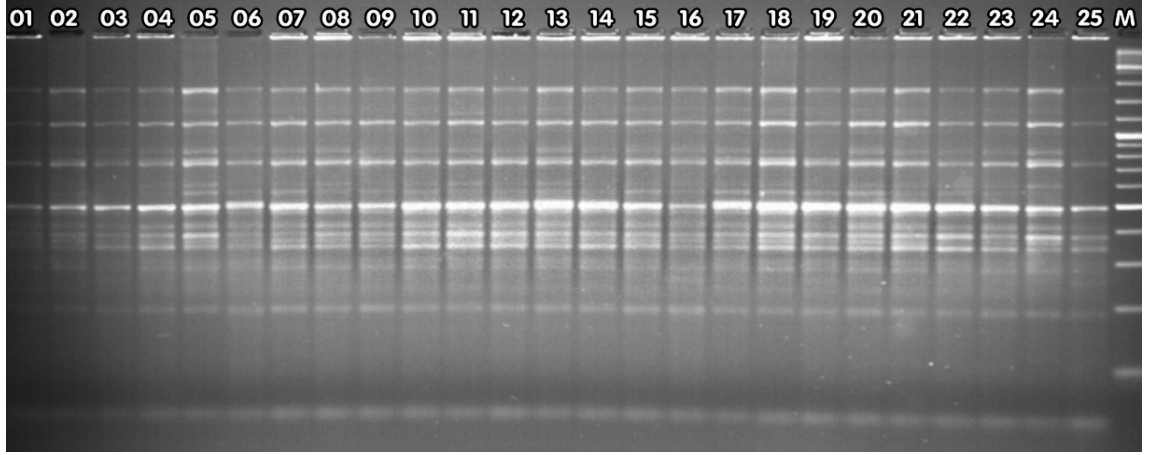


Şekil 4.1. POX 1 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

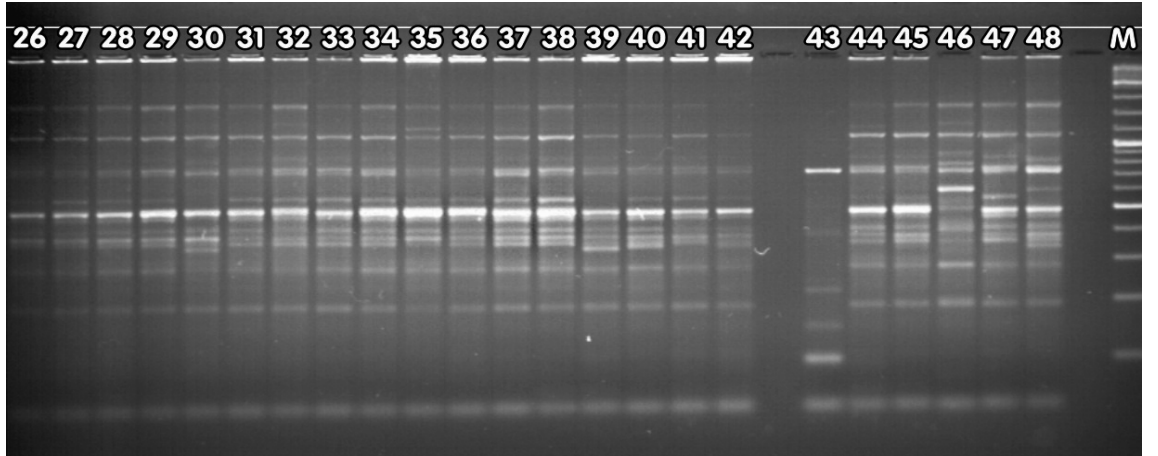


Şekil 4.2. POX 1 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

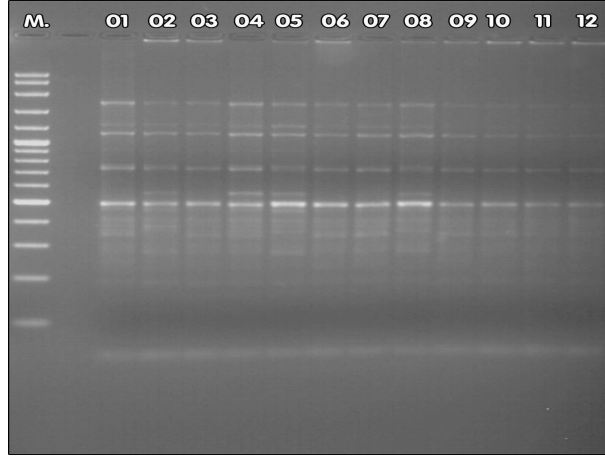
**POX 2 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 2 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 100-1800 bç aralığında toplam 16 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 190-1800 bç aralığında 6'sı polimorfik, 7'si monomorfik olmak üzere toplam 13 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 54 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.3. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (M. 100-10000 bç DNA markırı).

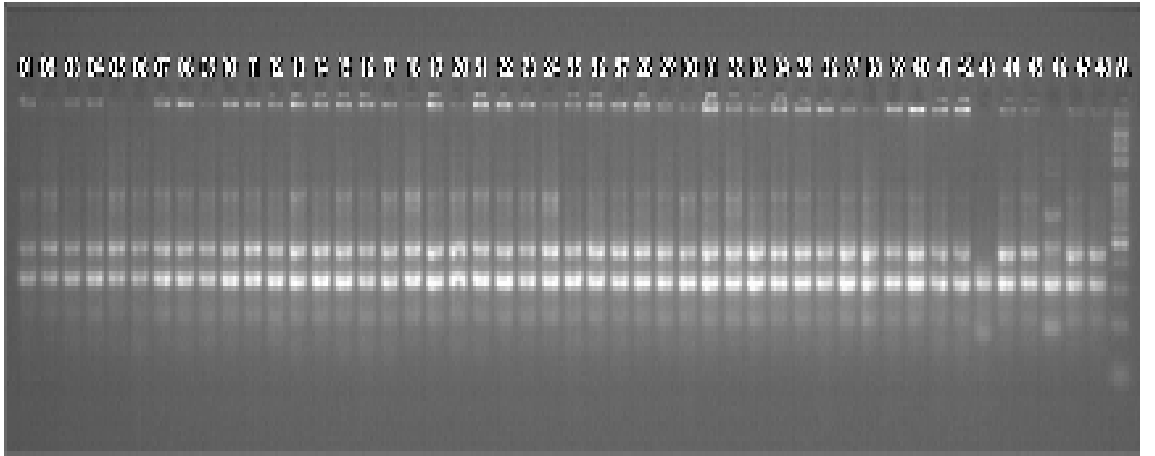


Şekil 4.4. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

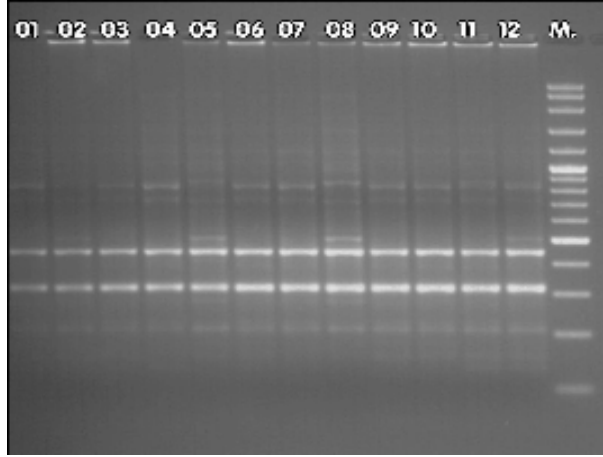


Şekil 4.5. POX 2 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 3 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 3 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 180-870 bç aralığında toplam 9 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 180-870 bç aralığında 7'si polimorfik, 2'si monomorfik olmak üzere toplam 9 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 78 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

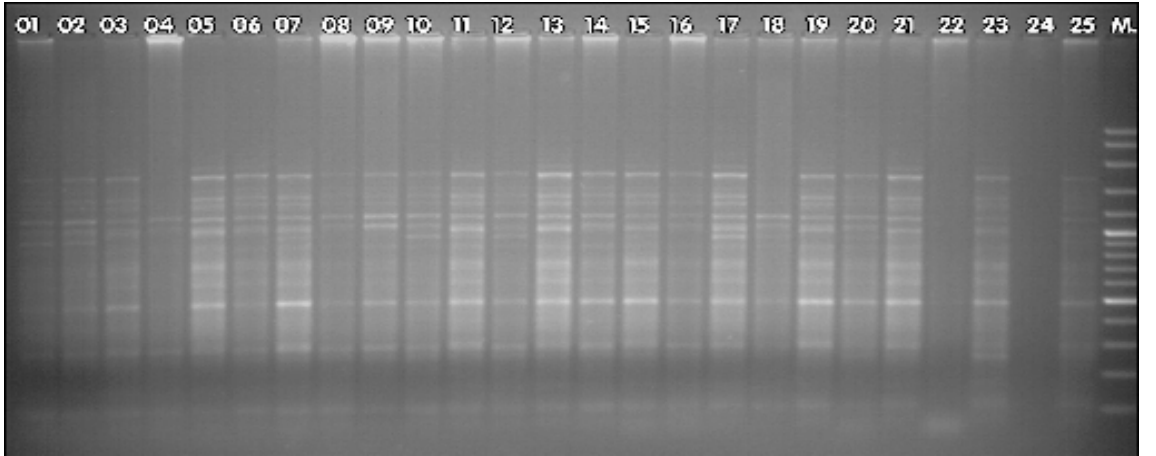


Şekil 4.6. POX 3 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

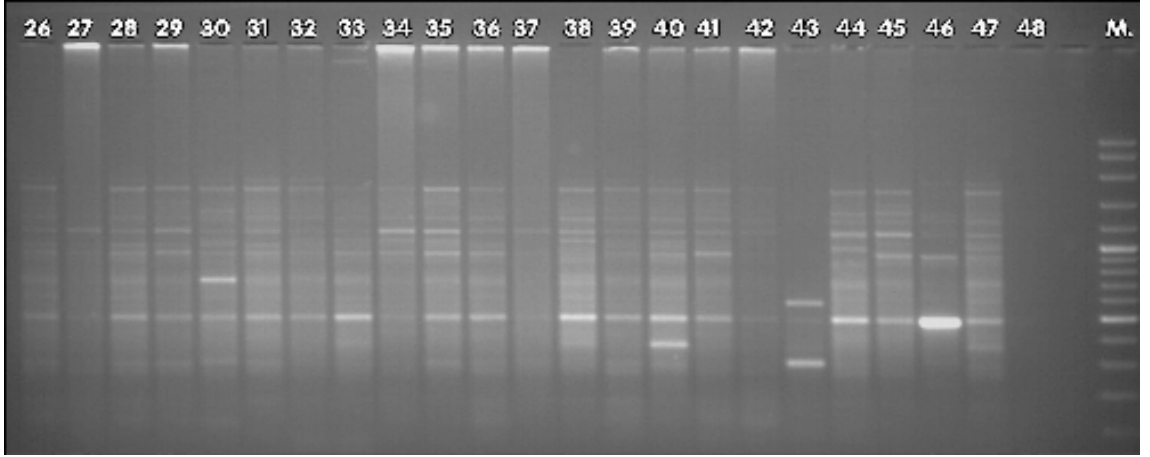


Şekil 4.7. POX 3 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

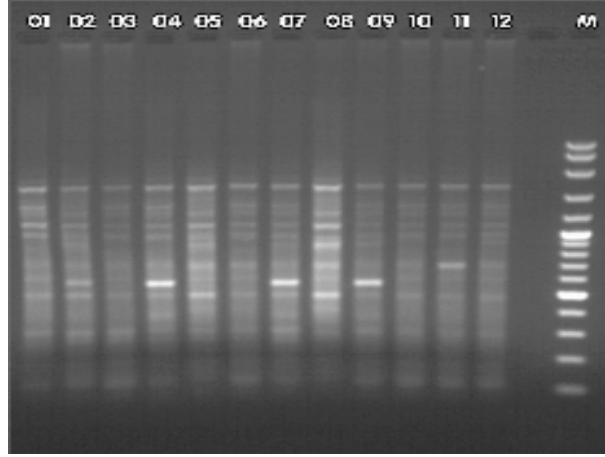
**POX 4 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 4 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 300-1700 bç aralığında toplam 11 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 300-1700 bç aralığında 7'si polimorfik, 4'ü monomorfik olmak üzere toplam 11 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 64 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.8. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (M. 100-10000 bç DNA markırı).

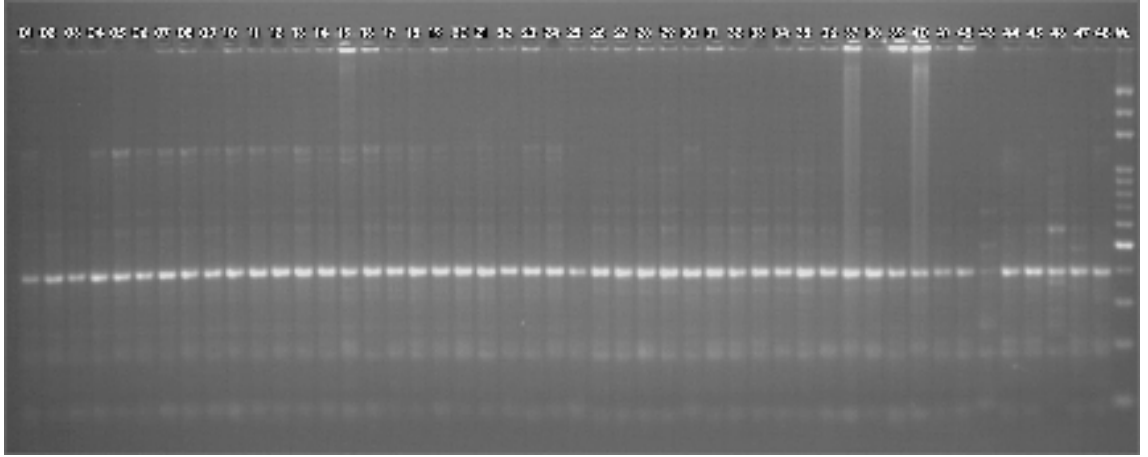


Şekil 4.9. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

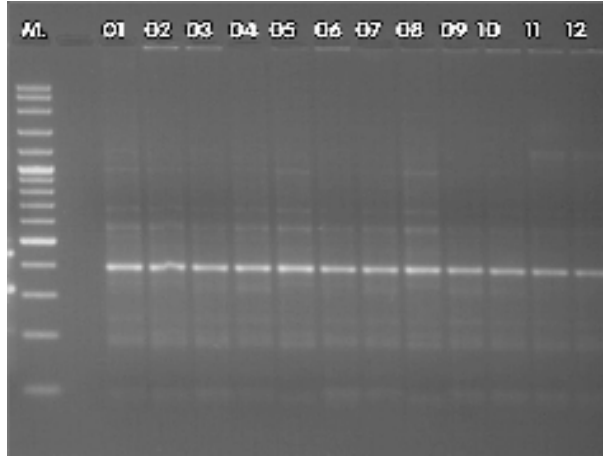


Şekil 4.10. POX 4 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 5 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 5 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 400 bç büyüklüğünde toplam 1 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle sadece 400 bç büyüklüğünde 1 adet monomorfik bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada polimorfizm görülmemiştir (Tablo 4.2).

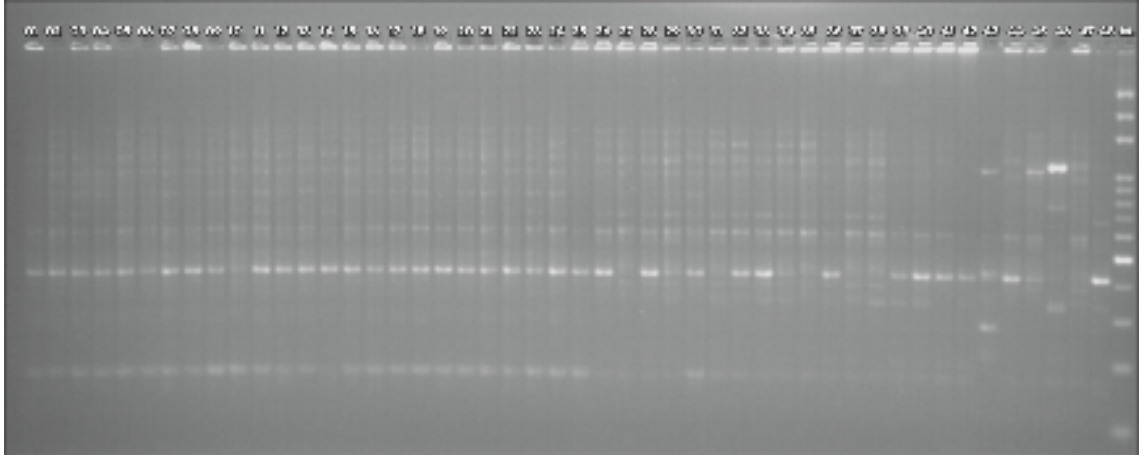


Şekil 4.11. POX 5 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).

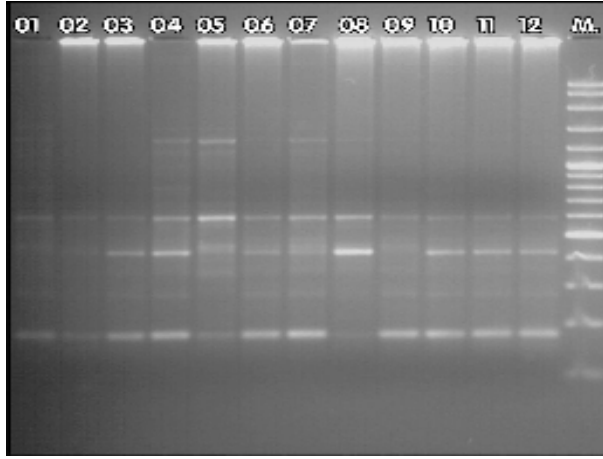


Şekil 4.12: POX 5 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 6 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 6 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 170-1600 bç aralığında toplam 13 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 300-1600 bç aralığında 10'u polimorfik, 1'i monomorfik olmak üzere toplam 11 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 91 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

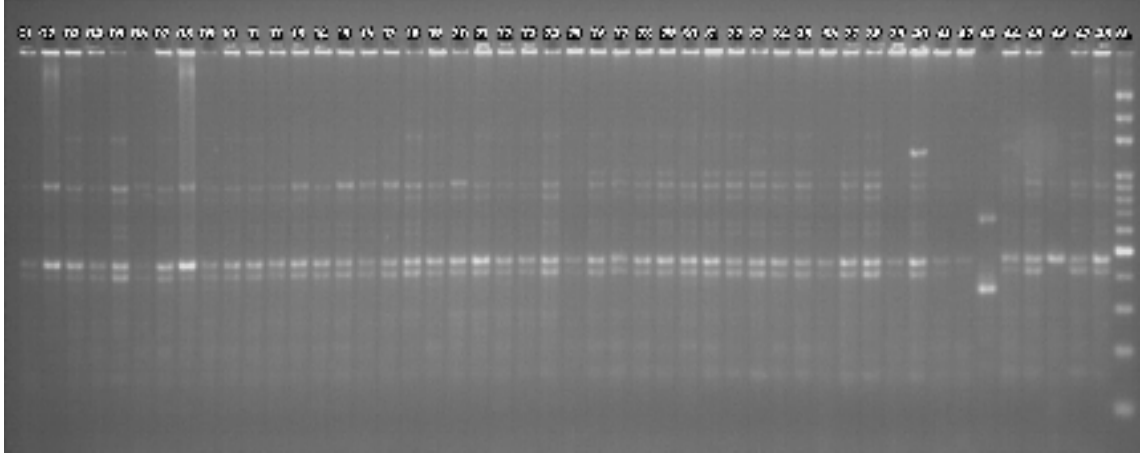


Şekil 4.13. POX 6 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).

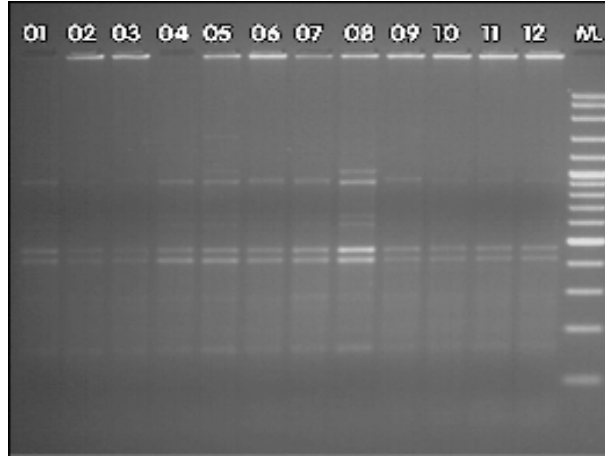


Şekil 4.14:POX 6 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 7 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 7 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 150-1500 bç aralığında toplam 14 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 150-1500 bç aralığında 11'i polimorfik, 1'i monomorfik olmak üzere toplam 12 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 92 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

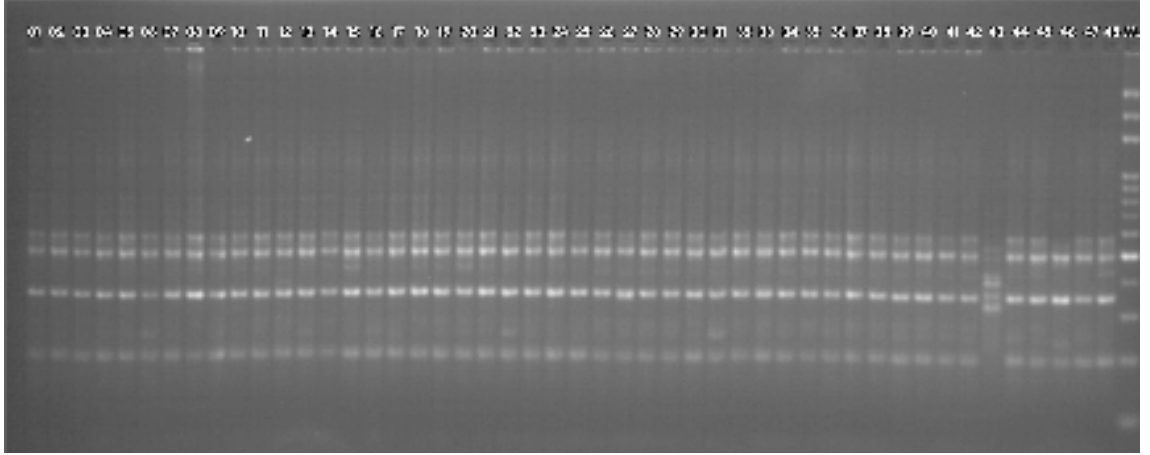


Şekil 4.15:POX 7 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).

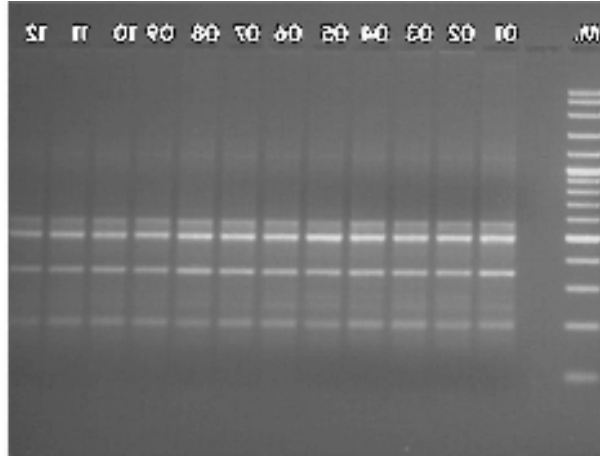


Şekil 4.16. POX 7 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 8 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 8 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 200-1100 bç aralığında toplam 13 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 200-1100 bç aralığında 6'sı polimorfik, 3'ü monomorfik olmak üzere toplam 9 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 67 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

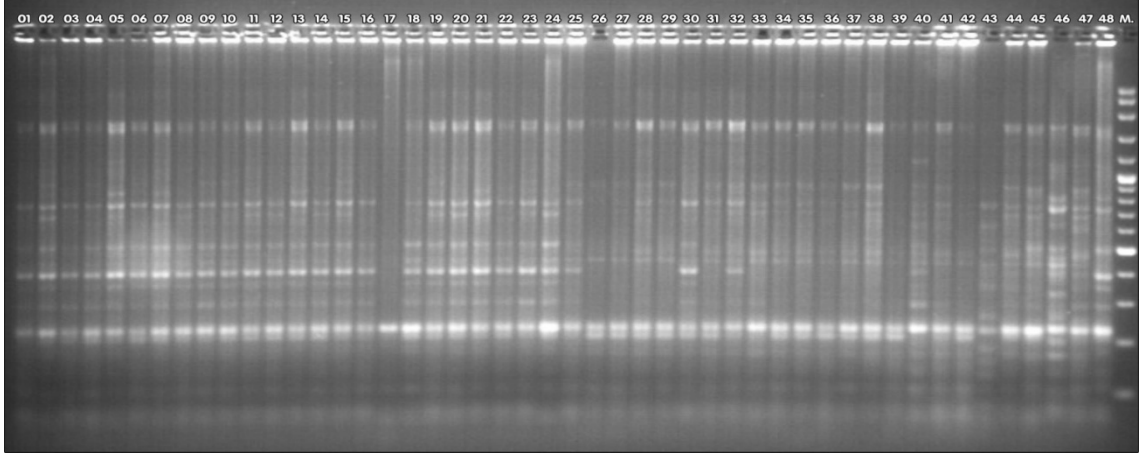


Şekil 4.17:POX 8 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).

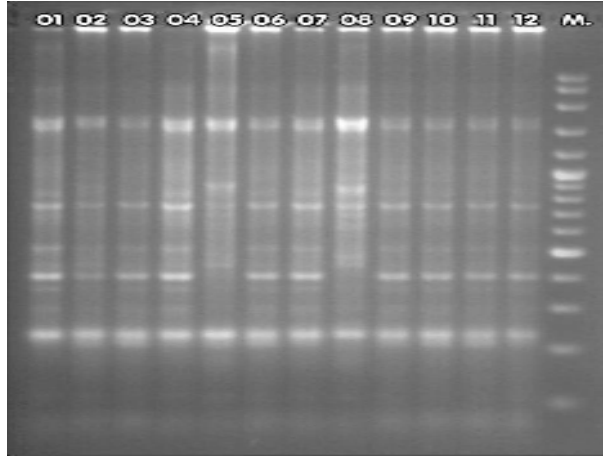


Şekil 4.18:POX 8 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 9 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 9 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 210-1700 bç aralığında toplam 6 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 210-1700 bç aralığında 2'si polimorfik, 3'ü monomorfik olmak üzere toplam 5 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 40 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

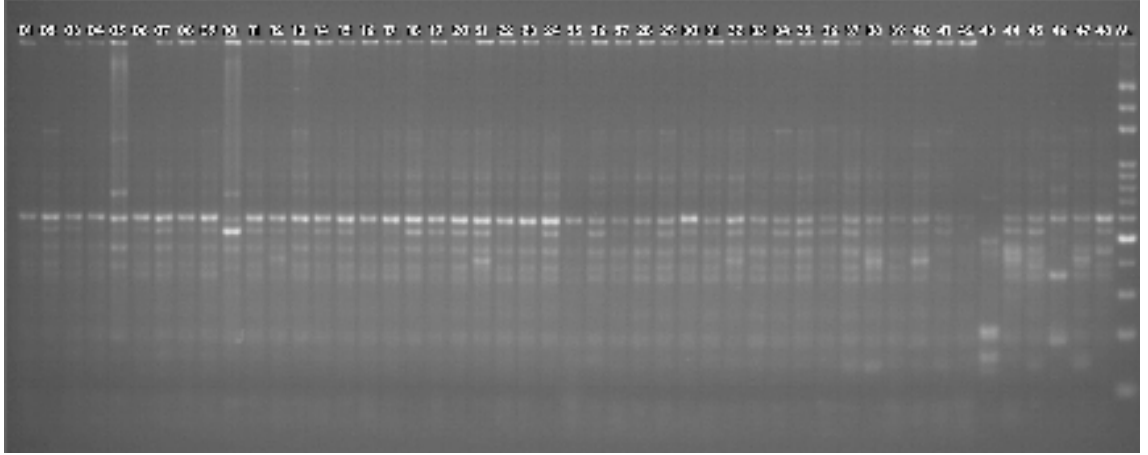


Şekil 4.19. POX 9 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

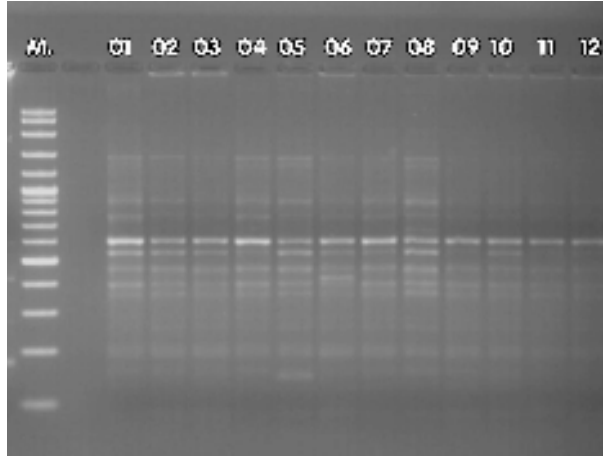


Şekil 4.20. POX 9 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 10 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 10 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 150-1500 bç aralığında toplam 17 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 150-1500 bç aralığında 11'i polimorfik, 4'ü monomorfik olmak üzere toplam 15 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 73 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2)..

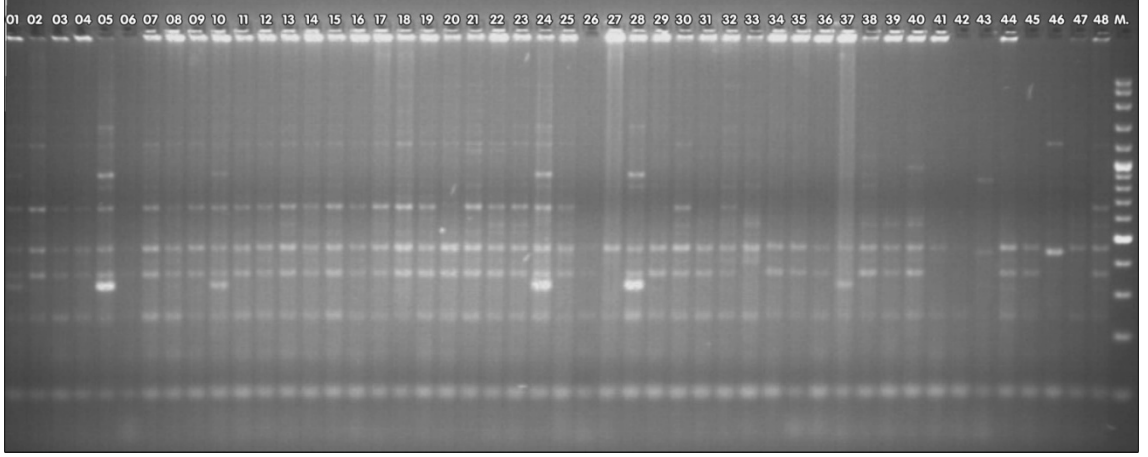


Şekil 4.21. POX 10 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).

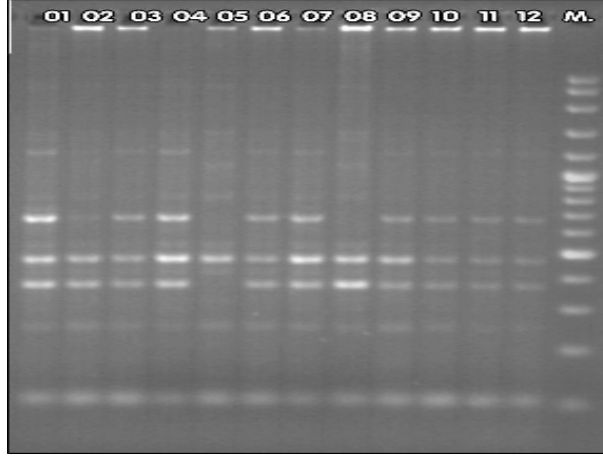


Şekil 4.22. POX 10 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 11 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 11 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 100-1500 bç aralığında toplam 11 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 100-1500 bç aralığında 9'u polimorfik, 2'si monomorfik olmak üzere toplam 11 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 82 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

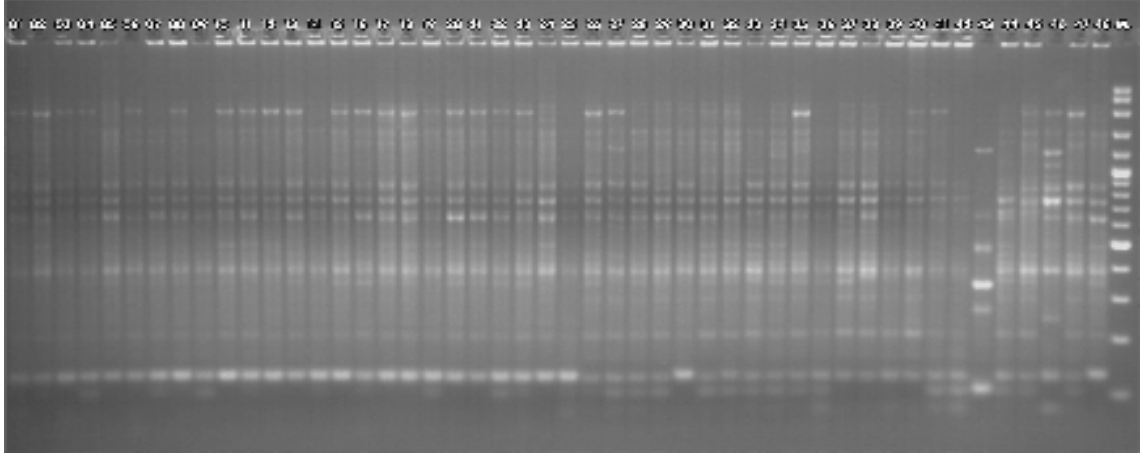


Şekil 4.23. POX 11 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

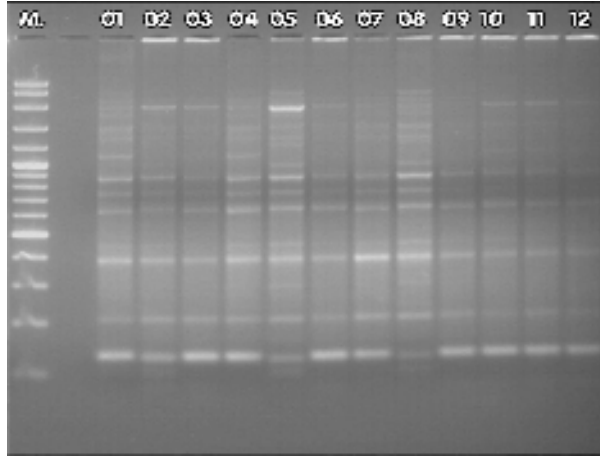


Şekil 4.24. POX 11 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 12 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 12 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 100-2500 bç aralığında toplam 19 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 100-2500 bç aralığında 11'i polimorfik, 5'i monomorfik olmak üzere toplam 16 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 82 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

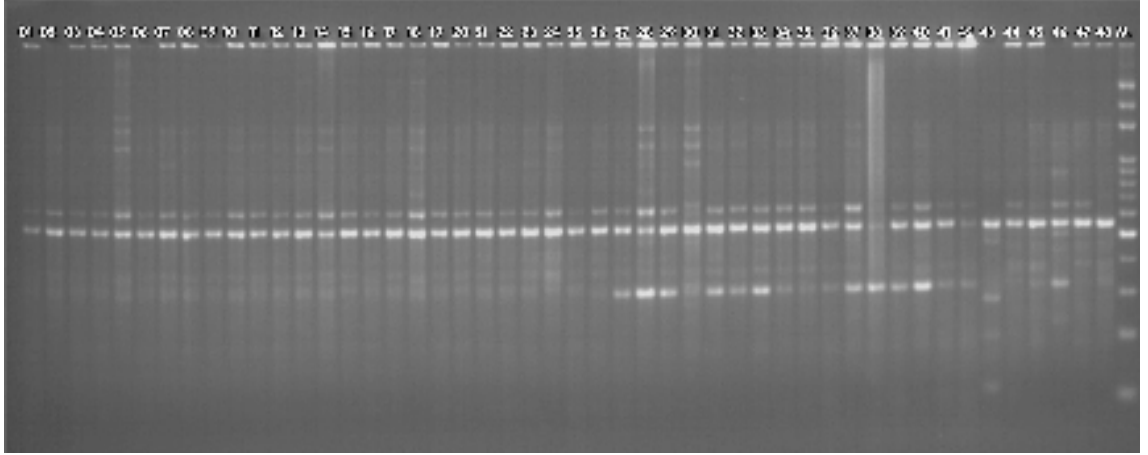


Şekil 4.25. POX 12 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

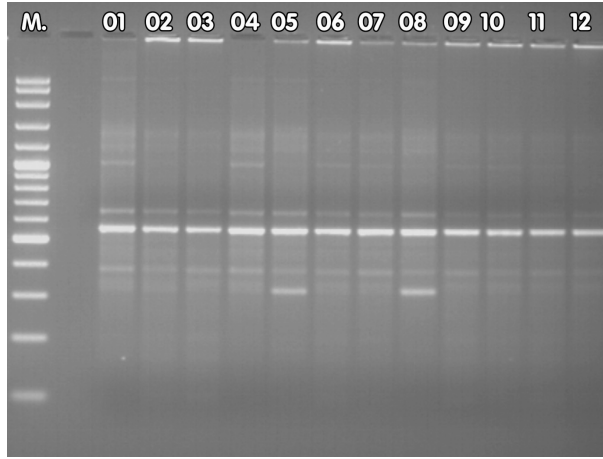


Şekil 4.26: POX 12 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 13 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 13 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 100-1100 bç aralığında toplam 8 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 320-2500 bç aralığında 4'ü polimorfik, 1'i monomorfik olmak üzere toplam 5 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 80 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).

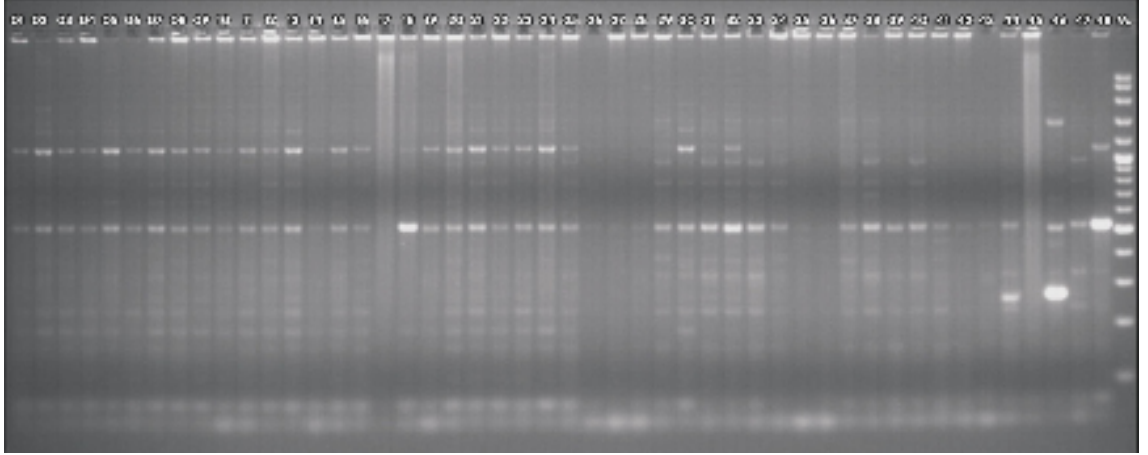


Şekil 4.27. POX 13 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-3000 bç DNA markırı).



Şekil 4.28. POX 13 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

**POX 14 (f-r) primer kombinasyonu:** POX 14 primeri kullanılarak yapılan çalışma neticesinde 170-1500 bç aralığında toplam 11 bant elde edilmiştir (Tablo 4.1). Dış gruplar dahil edilmediğinde yine aynı primerle 170-1500 bç aralığında 10'u polimorfik, 1'i monomorfik olmak üzere toplam 11 bant elde edilmiştir. Bu primerle yapılan çalışmada % 91 oranında polimorfizm elde edilmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.29. POX 14 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (43. dış grup, M. 100-10000 bç DNA markırı).

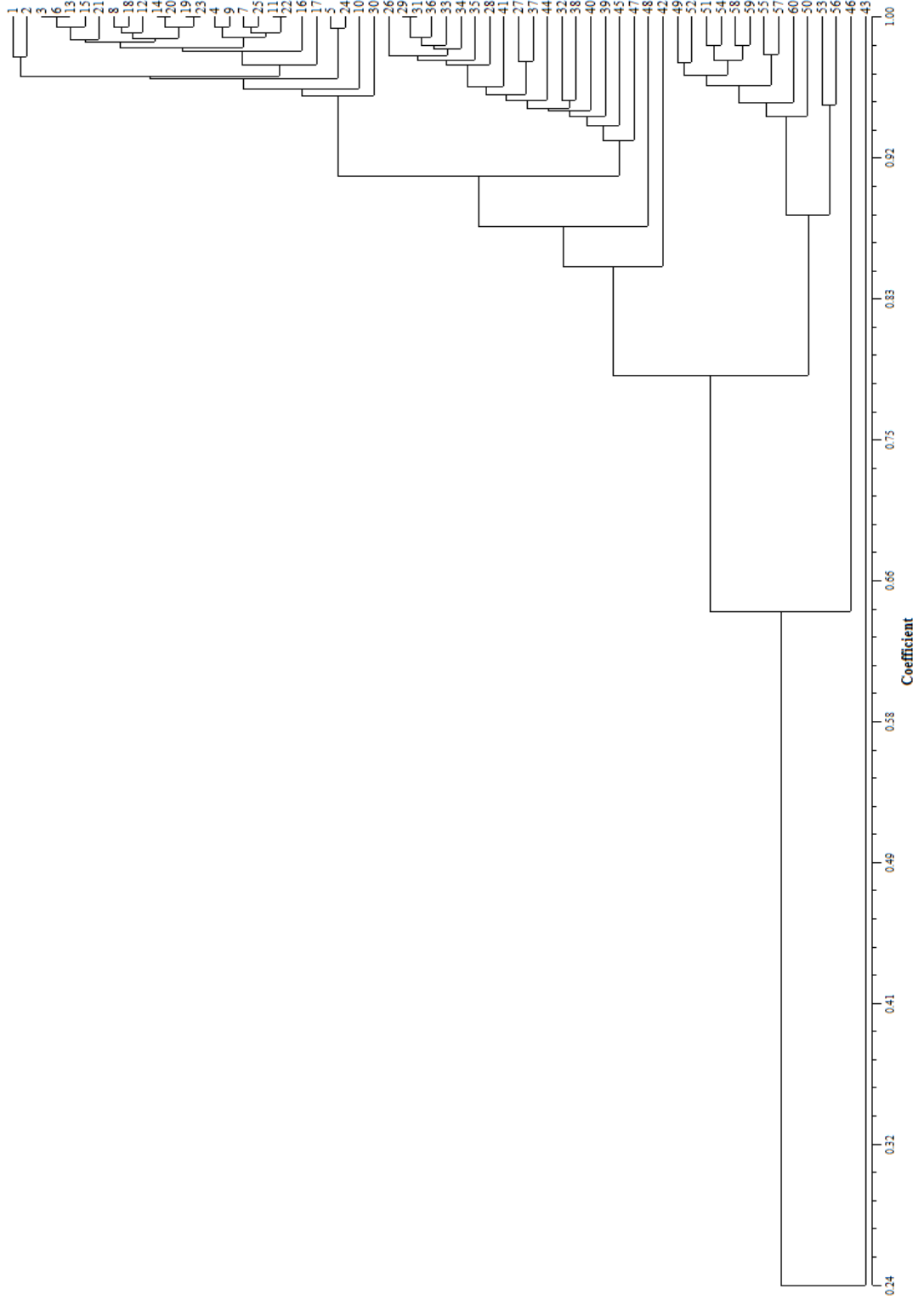


Şekil 4.30. POX 14 (f-r) primeri kullanılarak elde edilen bant profilleri (1-12. 49-60 numaralı örnekler, M. 100-10000 bç DNA markırı).

Elde edilen bant profillerine ait skorlar NTSYS pc 2.1 (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) paket programı (Exeter Software, Setauket, New York, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. SIMQUAL modülü kullanılarak oluşturulan genetik benzerlik (GS) matriksi Şekil 4.31., 4.33., 4.35., 4.37. ve 4.39'da gösterilmiştir. Oluşturulan bu benzerlik matriksleri çalışılan genotipler arasındaki genetik akrabalığı belirlemek amacı ile UPGMA (unweighted pair group method arithmetic average) modülü kullanılarak dendogram oluşturmada kullanılmıştır. Elde edilen dendogramlar Şekil 4.32., 4.34., 4.36., 4.38. ve 4.39'da gösterilmiştir.

Dış gruplar dahil edildiğinde bütün bireyler arasındaki benzerlik oranı % 24 ile % 100 arasında, ortalama % 62 olarak bulunmuştur. Elde edilen benzerlik matrisine göre (Tablo 4.3) birbirlerine en yakın genotiplerin % 100 benzerlik oranı ile *Triticum aestivum* cv. Atay 85 - *Triticum aestivum* cv. Bayraktar - *Triticum aestivum* cv. Gerek, *Triticum aestivum* cv. gün 91 - *Triticum aestivum* cv. Seval, *Triticum aestivum* cv. eser - *Triticum aestivum* cv. Türkmen, *Triticum aestivum* cv. Mızrak - *Triticum aestivum* cv. Uzunyayla, *Triticum durum* cv. Çakmak - *Triticum durum* cv. Eminbey olduğu gözlenmiştir. Birbirlerine en uzak genotiplerin ise % 18 oranıyla *Secale cereale* cv. N356 ile *Triticum aestivum* cv. Yektay arasında olduğu gözlenmiştir.



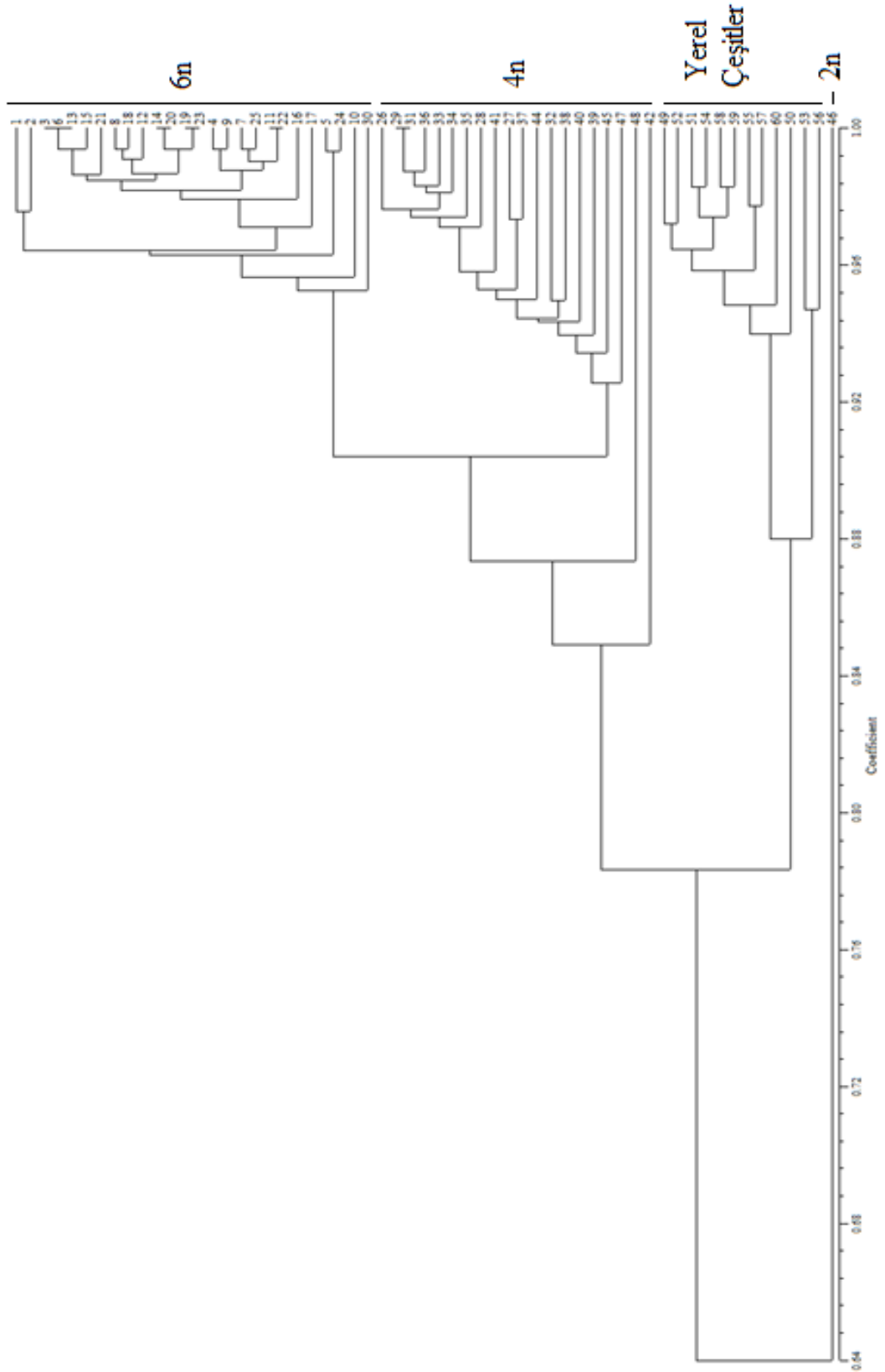


Şekil 4.31. Dış grupların dahil edildiği POGP çalışmalarından elde edilen sonuçlar arasındaki DICE matrisine göre oluşturulan UPGMA dendrogram.

Dış grupların dahil edilmediği durumda elde edilen dendograma genel olarak bakıldığında (Şekil 4.32) temel ayırım noktasının örneklerin ploidi seviyelerinin olduğu görülebilmektedir. Elde edilen dendograma göre genotipler iki ana gruba ayrılmışlardır. İkinci ana grubta sadece diploid genoma sahip olan *Triticum monococcum* N487 bulunmaktadır. İlk grup ise kendi içinde ilk olarak iki dala ayrılmaktadır. İkinci dalda tetraploid ve hekzaploid genoma sahip landrace genotipler bulunmaktadır. İlk dal ise yine kendi içinde iki farklı dala ayrılmıştır. Bu grubun ikinci dalında sadece tetraploid genoma sahip olan *Triticum durum* cv. zenit bulunmaktadır. Birinci dal ise yine kendi içinde iki farklı dala ayrılmıştır. Bu grubunda ikinci dalında sadece hekzaploid genoma sahip *Triticum spelta* bulunmaktadır. Birinci dal ise kendi içerisinde tekrar iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grup sadece hekzaploid genoma sahip *Triticum aestivum*'a ait kültür çeşitlerini içermektedir. İkinci grup ise diploid genomlu *Triticum boeoticum* ve *Triticum boeoticum* N167 ile tetraploid genomlu *Triticum turgidum* var. *albojoducum* ve *Triticum durum*'a ait kültür çeşitlerini kapsamaktadır.

Elde edilen benzerlik matrisinde de gösterildiği gibi (Tablo 4.4) birbirlerine en yakın genotiplerin % 100 benzerlik oranı ile *Triticum aestivum* cv. Atay 85 - *Triticum aestivum* cv. Bayraktar - *Triticum aestivum* cv. Gerek, *Triticum aestivum* cv. Gün 91 - *Triticum aestivum* cv. Seval, *Triticum aestivum* cv. Eser - *Triticum aestivum* cv. Türkmen, *Triticum aestivum* cv. Mızrak - *Triticum aestivum* cv. uzunyayla, *Triticum durum* cv. Çakmak - *Triticum durum* cv. Eminbey olduğu gözlenmiştir. Birbirlerine en uzak genotiplerin ise % 61 oranıyla *Triticum monococcum* N487 ile *Triticum durum* cv. Meram arasında olduğu gözlenmiştir.



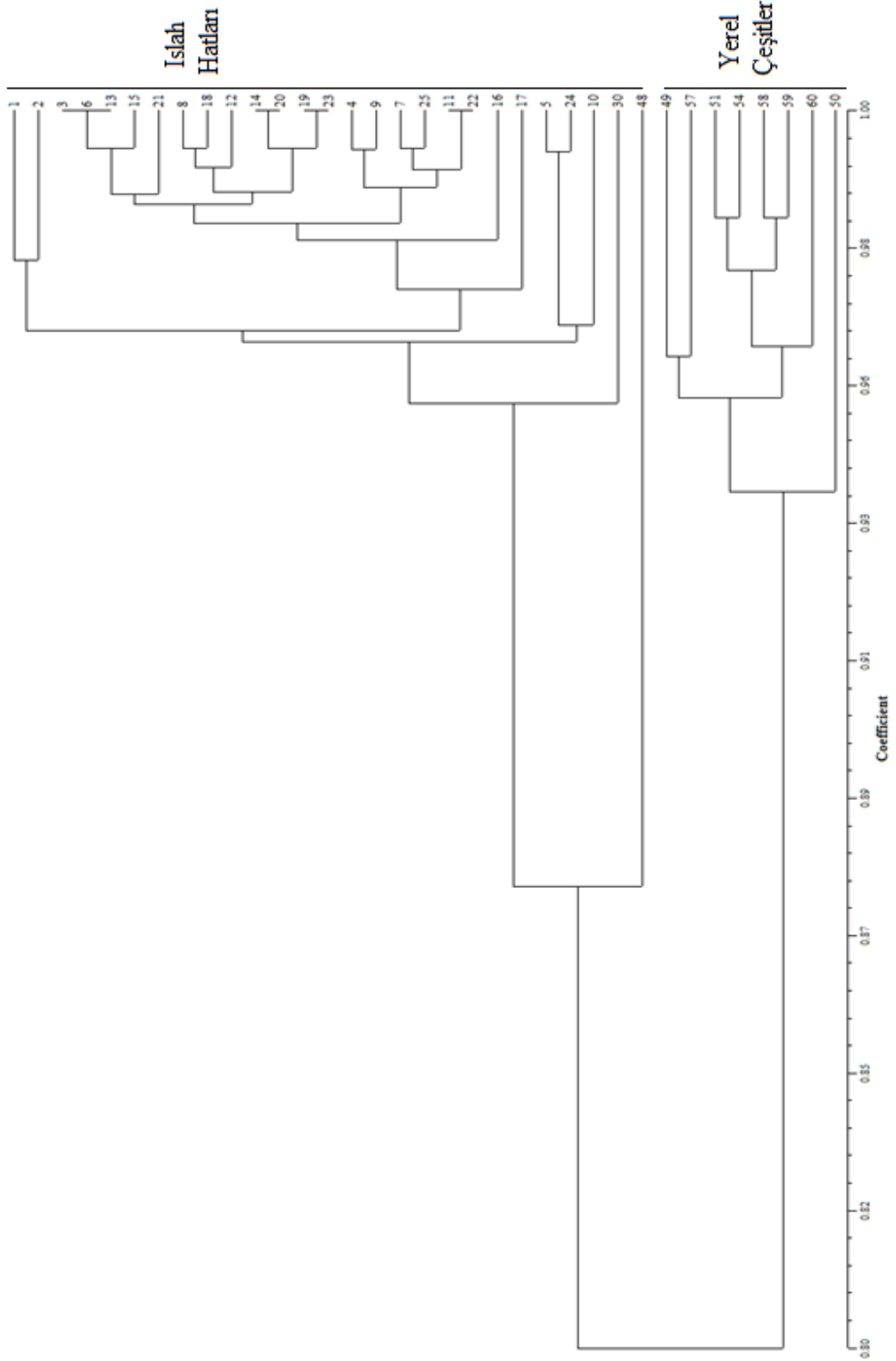


Şekil 4.52. Diş gruplarını dâhil etmediği FOGF çalışmalarından elde edilen sonuçlar arasındaki DICE matrisine göre oluşturulan UPGMA dendrogramı.

Sadece hekzaploid genomlu bireyler bir arada değerlendirildiğinde oluşan benzerlik dendogramı (Şekil 4.33) tüm bireylerle oluşturulan dendogramla aynı benzerlik oranları göstermektedir. Bireyler oluşan dendogramda iki ana kol üzerinde dağılım göstermiştir. Islah programlarına tabii tutulmayan bireylerin (*Triticum aestivum* cv. ak, *Triticum aestivum* cv. akbaşak, *Triticum aestivum* cv. Ankara 093/44, *Triticum aestivum* cv. köse, *Triticum aestivum* cv. Sivas, *Triticum aestivum* cv. sürak, *Triticum aestivum* cv. yayla, *Triticum aestivum* cv. yektay) ıslah işlemleri sonucu oluşan genotiplerden tamamen farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Yabani çeşitlerle ıslah çeşitleri arasında %80 oranında benzerlik bulunmaktadır.

Benzerlik matrisine bakıldığında (Tablo 4.5) %100 benzerlik oranı ile *Triticum aestivum* cv. atay 85 - *Triticum aestivum* cv. bayraktar - *Triticum aestivum* cv. gerek, *Triticum aestivum* cv. gün 91 - *Triticum aestivum* cv. Seval, *Triticum aestivum* cv. eser - *Triticum aestivum* cv. Türkmen, *Triticum aestivum* cv. mızrak - *Triticum aestivum* cv. uzunyayla çeşitleri birbirlerine en yakın bireylerdir. *Triticum aestivum* cv. yektay ve *Triticum spelta* cv. alefeldii çeşitleri ise %75 benzerlik ile birbirlerine en uzak bireylerdir.



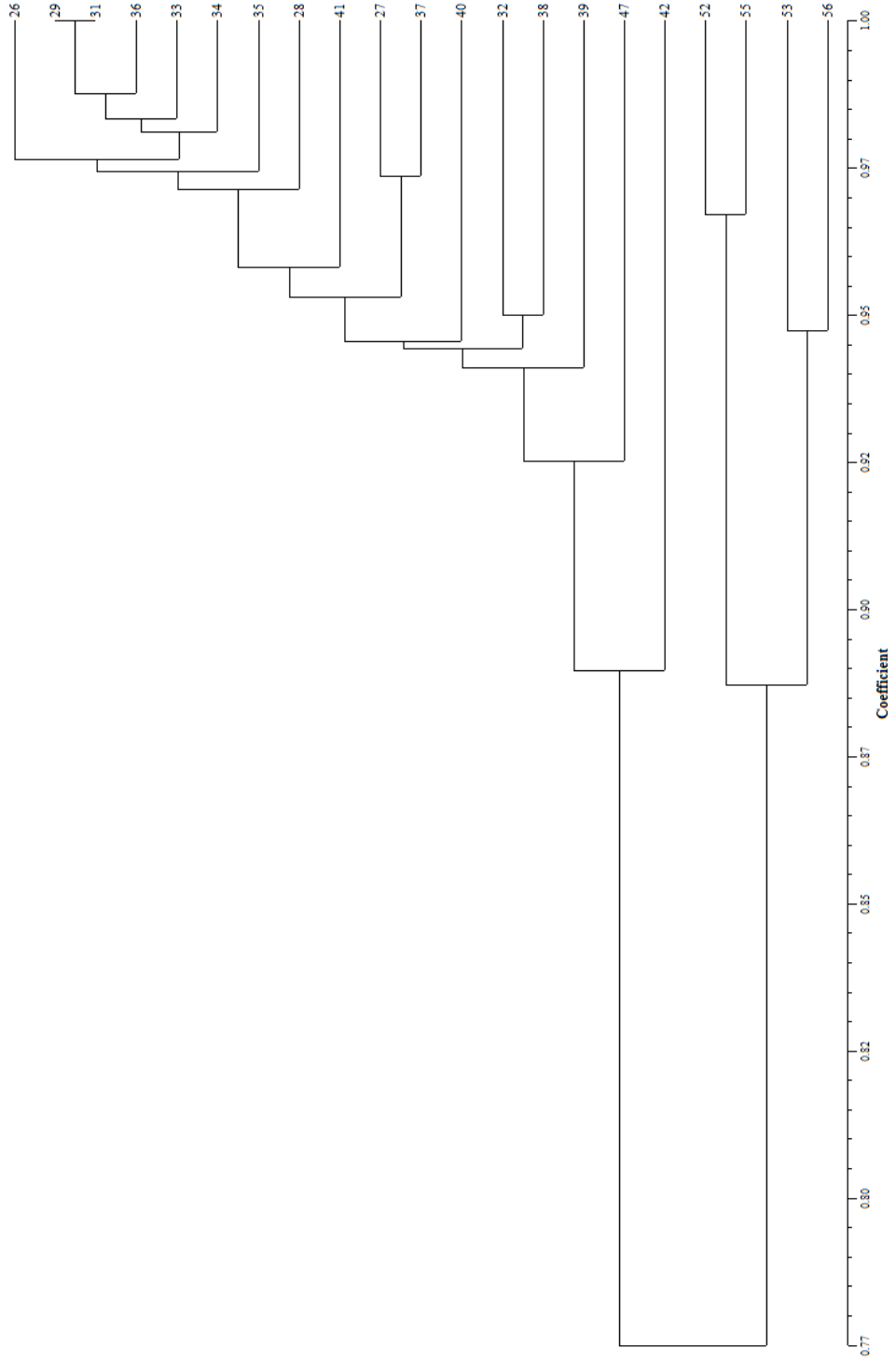


Şekil 4.33. Hekzaploid (6n) genoma sahip örnekler arasında DICE matrisine göre oluşan UPGMA dendrogramı.

Sadece tetraploid genomlu bireyler bir arada değerlendirildiğinde oluşan benzerlik dendogramı (Şekil 4.34) tüm bireylerle oluşturulan dendogramla aynı benzerlik oranları göstermektedir. Bireyler oluşan dendogramda iki ana kol üzerinde dağılım göstermiştir. Dört çeşit (*Triticum durum* cv. Berkmen, *Triticum durum* cv. İmren hanım, *Triticum durum* cv. Kunduru 414/44, *Triticum durum* cv. Meram), diğer tetraploid buğdaylardan ayrılarak farklı bir kol üzerinde dağılmışlardır. Oluşan iki ana grup arasında % 77 oranında benzerlik bulunmaktadır.

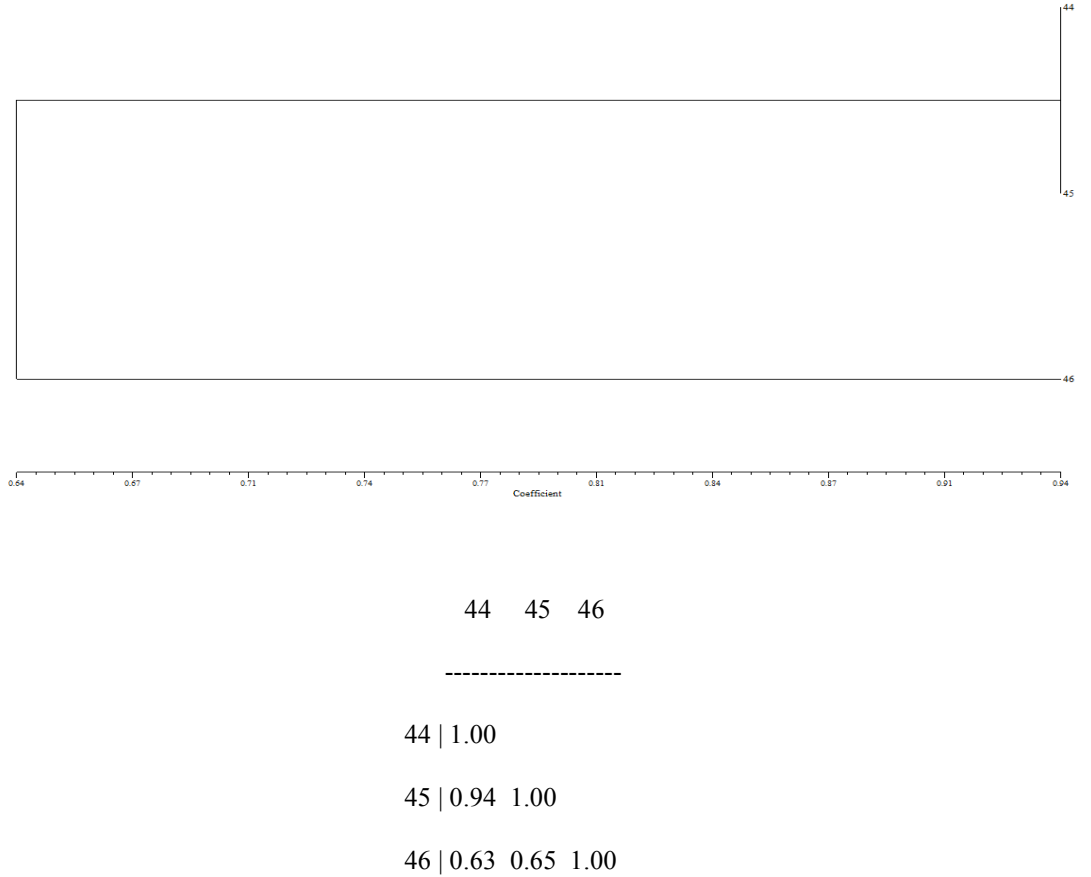
Benzerlik matrisine bakıldığında (Tablo 4.6) %100 benzerlik oranı ile *Triticum durum* cv. çakmak, *Triticum durum* cv. Eminbey çeşitleri birbirlerine en yakın bireylerdir. *Triticum durum* cv. Kunduru 414/44 ve *Triticum durum* cv. Zenit çeşitleri ise %71 benzerlik ile birbirlerine en uzak bireylerdir.





Şekil 4.34. Tetraploid (4n) genoma sahip örnekler arasında DICE matrisine göre oluşan UPGMA dendrogram.

Sadece diploid genomlu bireyler bir arada değerlendirildiğinde oluşan benzerlik dendogramı (Şekil 4.35) tüm bireylerle oluşturulan dendogramla aynı benzerlik oranları göstermektedir. Bireyler oluşan dendogramda iki ana kol üzerinde dağılım göstermiştir. Birinci kolda *Triticum baeoticum* ve *Triticum baeoticum* cv. N167 yer alırken, ikinci kolda sadece *Triticum monococcum* N487 yer almaktadır. Bu bireylerden *Triticum baeoticum* ve *Triticum baeoticum* cv. N167 %94 benzerlik oranı ile en yakın bireylerdir. *Triticum baeoticum* ve *Triticum monococcum* N487 ise aralarındaki %64 benzerlik oranı ile birbirlerine en uzak genotipler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Diploid (2n) genoma sahip örnekler arasında oluşan benzerlik matrisi ve DICE matrisine göre oluşan UPGMA dendogram.

## 5. BÖLÜM

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Islah çalışmalarının temel amacı; bitkilerin genetik yapılarında gerçekleştirilecek değişikliklerle ortaya çıkacak çeşitlilikten faydalanarak yapılacak seleksiyon vasıtasıyla daha kaliteli, yüksek verimli, hastalık ve zararlılara karşı daha dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan yeni çeşitlerin mümkün olduğunca kısa sürede elde edilmesidir. Bitki ıslah programlarında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerin ve seleksiyonun etkinliği arttırılmaya çalışılmaktadır. Bu işlemler çok uzun zaman alan, zahmetli ve yüksek maliyet isteyen işlemlerdir. Bitkilerin genetik potansiyellerinin amaca uygun biçimde yönlendirilmesi için son yıllarda protein, izoenzim ve DNA markırları gibi moleküler markırların gerek araştırma gerekse uygulamada kullanımı büyük önem kazanmakta ve bitki ıslahında bunlardan yararlanma olanakları araştırılmaktadır [69].

Moleküler markırlar, ıslah projelerinin sürelerini kısaltarak maliyetlerini düşürmektedirler. Bunların yanı sıra seleksiyonda, genetik ve bağlantı haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde de moleküler markırlardan yararlanılmaktadır [70].

Bu çalışmada kullanılan, boyutları 13 ile 24 baz arasında değişen büyüklüklerde olan peroksidaz gen polimorfizm (POGP) primerlerinin tamamında skorlanabilir bantlar elde edilmiştir. POGP primerleri ile kullanılan 59 buğday çeşidinde toplam 145 bant elde edilmiştir. 145 bantın 108 (% 74)'inin polimorfik olduğu gözlenmiştir. Kullanılan buğdaylarda gözlemlenen peroksidaz gen polimorfizm (POGP) bantları %64 ve %100 oranları arasında (ortalama %82) benzerlik göstermiştir.

59 farklı buğday üzerinde kullanılan POGP primerlerinden POX5 primeri hariç bütün primerler polimorfik bantlar vermiştir. Genetik benzerlik oranları kullanılarak elde edilen dendograma göre bütün bireyler arasındaki benzerlik oranı % 64 ile % 100 arasında, ortalama % 82 olarak bulunmuştur.

Elde edilen bant profillerine bakıldığında tetraploid bireylerden 126 bant, diploid bireylerden 107 bant ve hekzaploid bireylerden 119 bant elde edilmiştir. Hekzaploid buğdayların tetraploid ve diploid buğdayların spontan hibridizasyonu sonucu oluştuğu göz önüne alındığında [71 ], bu şekilde birbirlerine yakın sayıda bant profillerinin oluşması olağan görülmektedir.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz genotiplerin ploidi seviyeleri ve ıslah programlarına tabii tutuldukları göz önüne alındığında gözlemlenen bu yakınlık ve uzaklıklar anlamlı bulunmaktadır.

Hekzaploid olan *Triticum aestivum* türlerinin oluşturduğu bant profillerine bakıldığında ıslah programları sonucu elde edilen çeşitler ile yerel çeşitler arasındaki farklılık açık bir şekilde görülmektedir. Islah çeşitleri POGP primerleri ile toplam 92 bant oluştururken, yerel çeşitler toplam 99 bant oluşturmuştur. Söz konusu farklılık oluşturulan dendogramda da net bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.36.). Islah çeşitlerinde eksik olan bu 7 farklı bant profilinin ıslah çalışmaları sonucu kaybolduğu söylenebilir. Bu durum ıslah programlarının birçok avantajının yanı sıra, mevcut genetik zenginliğin kaybolması gibi çok önemli bir dezavantaja da sahip olduğunun göstergesi olarak kabul edilebilir.

Altıntaş ve arkadaşları [72], 34 farklı kültür buğday çeşidi üzerinde 3 SAMPL ve 5 AFLP primeri ile çalışmışlardır. Bu çalışma sonucu 5 AFLP primeri ile %64, 3 SAMPL primeri ile %58 oranında polimorfizm tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu polimorfizm oranı % 75 gibi daha yüksek bir değerdedir.

Hazen ve arkadaşları [73], 44 farklı *Triticum aestivum* genotipinde 8 farklı AFLP primeri kullanarak ortalama % 23.2 oranında polimorfizm tespit etmişlerdir. POGP primerleri ile yapmış olduğumuz çalışmamızda 33 farklı *Triticum aestivum* çeşidinde toplam 118 farklı bant elde edilmiştir. Bu bantların 63 tanesi polimorfik olup genel polimorfizm oranı % 53'tür.

Bilgin ve arkadaşları [70], yaptıkları çalışmada 20 farklı ekmeklik (hekzaploid) buğday genotipinde 5 farklı RAPD primeri kullanarak ortalama olarak % 34 oranında

polimorfizm elde etmişlerdir. Daha öncede belirttiğimiz gibi POGP primerleri ile yapılan çalışmamızda bu oran % 53 olarak bulunmuştur.

Soleimani ve arkadaşları [74] yaptıkları çalışmada 10 farklı AFLP primeri kullanmışlardır. 13 farklı tetraploid buğday çeşidi üzerinde yapılan bu çalışmada 950 AFLP markırı bulmuşlardır. Ancak bunlar arasından sadece % 9'unun polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim POGP primerleri ile yapmış olduğumuz çalışmada ise 21 farklı tetraploid buğdayda toplam 122 farklı bant profili elde edilmiştir. Bu bant profillerinin 68 tanesinin (%54) polimorfik olduğu gözlenmiştir.

Iqbal ve arkadaşları [75], 7 farklı buğday çeşidi üzerinde RAPD yöntemini kullanmışlardır. Çalışmalarında toplam 122 bant elde etmişlerdir. Bu bantların 50 tanesinin (%54) polimorfik olduğunu belirtmişlerdir. POGP primerlerini kullandığımız bizim çalışmamızda ise bu oran % 75 olarak belirlenmiştir.

Ahmed ve arkadaşları [76], yaptıkları çalışmada buğdaylarda hem DNA markırı hemde biyokimyasal markır kullanmışlardır. DNA markırı olarak RAPD yöntemini kullanmışlardır. RAPD analizleri sonucu 32 buğday çeşidi ile % 61.4 polimorfizm gözlemlemişlerdir. Biyokimyasal markır olarak SDS-PAGE kullanarak tohum depo proteinlerinde % 73 oranında bir polimorfizm gözlemlemişlerdir. Buna karşın biz POGP markır yöntemi ile toplam % 75 oranında polimorfizm gözlemlemiş bulunmaktayız.

Buğdaylar üzerinde yapılan polimorfizm belirleme çalışmaları ile kıyaslandığında, peroksidaz gen polimorfizm (POGP) markırlarının buğdaylarda polimorfizm belirlemede diğer markır sistemlerine nazaran daha kullanışlı olduğunu göstermektedir. Yüksek polimorfizm yakalama özelliğinin yanı sıra POGP markır sistemi çalışılan örneklerin ploidi seviyelerine göre net bir ayırım yaparak daha özel sonuçlar vermektedir.

Gülşen ve arkadaşlarının [4] POGP primerleri ile yapmış oldukları çalışma da bizim çalışmamızla uyum içerisindedir. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmada 32 farklı çim bitkisinde 22 POGP primeri kullanmışlar ve örneklerin ploidi seviyelerine göre ayrıldığını tespit etmişlerdir.

Yapmış olduğumuz literatür araştırması doğrultusunda daha önce buğdaylar (*Triticum*) üzerinde peroksidaz gen polimorfizm markırları (POGP) ile yapılmış polimorfizm belirlemeye yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısı ile bu çalışma bu alanda ilk olma özelliğindedir. Alınan sonuçlar doğrultusunda POGP markır sisteminin *Triticum* çeşitlerinde polimorfizm belirleme çalışmalarında kullanılması uygun görülmektedir.

**EK – 1****ÖNERİLER**

Bilindiđi gibi Türkiye bitkisel çeşitlilik açısından zengin bir coğrafyadır. Bu çeşitlilik genetik çeşitlilik gibi önemli bir unsuru da beraberinde getirmektedir. Ancak sahip olunan bu zenginlik günümüz koşullarında çevresel ve diğer baskılara maruz kalarak genetik erozyona uğramaktadır. Günümüzde gen kaynaklarının korunması için biyokimyasal, in vitro, yavaş büyüme, dondurarak depolama, yapay tohum depolama ve DNA depolaması gibi birçok yeni teknik kullanılmaktadır [77].

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ise ülkemizin sahip olduğu gen kaynaklarını kaybetme yolunda ilerlediğini gösterir niteliktedir. Islah hatları verim veya dayanıklılık gibi avantajlara sahip olmasının yanı sıra mevcut genetik çeşitliliği tam olarak yansıtmamaktadır. Hasat miktarı veya ürün kalitesi artırılmak istenirken sahip olunan gen kaynaklarının kaybedilmesi gibi önemli yan etkiler de düşünölmeli ve bu doğrultuda ıslah programlarının daha bilinçli olarak yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kışlalıoğlu, M., Berkes, F., Biyolojik eřitlilik, Türkiye evre Vakfı Yayınları, s. 16., Ankara, 1992.
2. Güner, A., zhatay, N., et al., Flora of Turkey and East Aegean Islands (suplement 2), Edinburgh at the Universty Press, 2000.
3. Atlı, A., Kışlık Tahıl retim Bölgelerimizde Yetiřtirilen Bazı Ekmeklik ve Makarnalık Buğday eřitlerinin Kaliteleri ve Kalitelerinin Stabilitesi zerine Araştırmalar, Türkiye Tahıl Sempozyumu, Bursa, 443-454s, 6-9 Ekim 1999.
4. Gülsen, O., Shearman, R.C., et al., Peroxidase Gene Polymorphism in Buffalograss and Other Grasses, Crop Science, 47, March-April, 2007.
5. Bakardjieva, N., Christov, K., Effect Of Calcium And Zinc İons On The Sensitivity Of Peroxidase From Mosses (Mnium sp.) And Ferns (Polydium vulgare) To Hight Temperature, Can. J. Bot., 74, 1665-1670, 1996.
6. Bergmeyer J, Grabl M., Methods of Enzymetic Analysis (Thrid Edition), pp 190-302 Germany. 1983.
7. Banci, L., Structural Properties Of Peroxidase, J. Biotech., 53, 253-263, 1997.
8. Hamed, R.R., Maharem, T.M., et al., Purification Of Peroxidase İsoenzymes From Turnip Roots, Phytochemistry, 48, 1291-1294. 1998.
9. Kim, K.Y., Kwon, S.Y., et al., Differential Expression Of Four Sweet Potato Peroxidase Genes İn Response To Abscisc Acid And Ethaphon, Phytochemistry, 54, 19-22, 2000.
10. Tasđın, E., Atıcı, ., et al., Effects Of Salicylic Acid And Cold Treatments On Protein Levels And On The Activities Of Antioxidant Enzymes İn The Apoplast Of Winter Wheat Leaves, Phytochemistry, 67, 710-715, 2006.
11. White, R., Genetic Diversity, University of Southampton Pres, UK, 2003.

12. Powell, W., Morgante, M., et al., The Comparison of RFLP, RAPD AFLP and SSR Markers For Germplasm Analysis, *Molekular Breeding*, 2, 225-238, 1996.
13. Obinger, C., Burner, U., et al., *Plant Peroxidases, Biochemistry and Physiology*, University of Agriculture, Vienna and University of Geneva, Geneva. 1996.
14. Palmer and John, J., *How to Brew*. Defenestrative Pub. Co., 233, 2001.
15. Neill, R., *Booze: The Drinks Bible for the 21st Century*, Octopus Publishing Group-Cassell Illustrated, 2002.
16. Kingfisher Books, *The Kingfisher History Encyclopedia*. Kingfisher Publications, New York, 2004.
17. Heun, M., Schäfer-Pregl, R., et al., Site of Einkorn Wheat Domestication Identified by DNA Fingerprinting, *Science*, 278, 1997.
18. Türkiye Haritası, <http://maps.google.com/>, Haziran, 2010.
19. Nalam, V.J, Vales M.I., et al., Map-based Analysis Of Genes Affecting The Brittle Rachis Character In Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 112, 373–381, 2006.
20. Snape, J., Pankova, K., *Triticum aestivum* (wheat), *Encyclopedia of life sciences*, John Wiley & Sons Ltd, USA, 2006.
21. Feldman, M., Lupton, F.G.H., et al., Wheats, in Smartt J, Simmonds NW (eds), *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed., 184–192, Longman Scientific, London, 1995.
22. Gegas, V.C., Nazari, A., et al., A Genetic Framework For Grain Size And Shape Variation in Wheat. *Plant Cell*, 22, 1046–1056, 2010.
23. Shewry, P.R., Wheat, *Journal of Experimental Botany*, 60, No. 6, 1537–1553, 2009.
24. Feldman, M., Horowitz, A., et al., Utilization Of Biodiversity From In Situ Reserves, With Special Reference To Wild Wheat And Barley, *Biodiversity and Wheat Improvement*, 21, 311-323, 1988.

25. Gulsen, O., Mutlu , S.S., et al., Polyploidy Creates Higher Diversity Among Cynodon Accessions As Assessed By Molecular Markers, *Theor. Appl. Genet.*, 118, 1309–1319, 2009.
26. Leitch A.R., Leitch I. J., Genomic Plasticity And The Diversity Of Polyploid Plants, *Science*, 320, 481–483, 2008.
27. Feldman, M., Levy, A.A., Allopolyploidy – A Shaping Force İn The Evolution Of Wheat Genomes, *Cytogenetic and Genome Research*, 109, 250–258, 2005.
28. Wheat, [http://www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=42236](http://www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42236) , Mayıs , 2010.
29. Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Island*, Edinburg at the Univercity Press, 8, 156-157, 1988.
30. Seçmen,Ö., Gemici, Y. G., ve ark., *Tohumlu Bitkiler Sistematığı*, E.Ü. Fen Fak. Kitaplar Serisi No. 116, 6. baskı, 2000.
31. Buğday Resmi, <http://www.bote.gazi.edu.tr/beltek/uygulamalar/masallar/Images/bugday.jpg>, 2010.
32. Buğday Resmi, <http://www.sifalibitkiler.us/bitkiler/bugday.jpg>, 2009.
33. Ünal, S.S., *Hububat Teknolojisi*, Bornova, İzmir, 1991.
34. FAO (Food and Agriculture), *Global Food Analysis*, <http://www.fao.org/docrep/011/ai482e/ai482e03.htm>, June, 2009.
35. Cereal Production, [http://www.ars.usda.gov/research/projects/projects.htm?ACCN\\_NO=414406&fy=2009](http://www.ars.usda.gov/research/projects/projects.htm?ACCN_NO=414406&fy=2009), 2009.
36. USDA (United States Department of Agriculture), Foreign Agriculture Service, <http://www.fas.usda.gov/grain/circular/2010/04-10/grainfull04-10.pdf>, April, 2010.
37. Hiraga, S., Sasaki, K., et al., A Large Family Of Class-III Plant Peroxidases, *Plant Cell Physiol*, 42, 462-468, 2001.

38. Welinder, K.G. In *Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*, pp. 3-13, University of Genève, Switzerland, 1991.
39. Churin, Y., Schilling, S., et al., A Gene Family Encoding Glutathione Peroxidase Homologues In *Hordeum Vulgare* (Barley), *FEBS Lett.*, 459, 33-38, 1999.
40. Taurog, A., Molecular Evolution Of Thyroid Peroxidase, *Biochimie*, 81, 557-562, 1999.
41. Whetten, R.W., Mackay, J.J., et al., Recent Advances In Understanding Lignin Biosynthesis, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49, 585-609, 1998.
42. Espelie, K.E, Franceschi, V.R., et al., Immunocytochemical Localization And Time Course Of Appearance Of An Anionic Peroxidase Associated With Suberization In Wound-Healing Potato Tuber Tissue, *Plant Physiol.*, 81, 487-492, 1986.
43. Lagrimini, L.M., Joly, R.J., et al., The Consequence Of Peroxidase Overexpression In Transgenic Plants On Root Growth And Development. *Plant Mol. Biol.*, 33, 887-895, 1997.
44. Fry, S.C., Cross-Linking of Matrix Polymers in the Growing Cell Walls of Angiosperms, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 37, 165-186, 1986.
45. Chittoor, J.M., Leach, J.E. et al., In *Pathogenesis-Related Proteins in Plants*. pp. 171-193, CRC Press, Boca Raton, FL., 1999.
46. Amaya, I., Botella, M.A., et al., Improved Germination Under Osmotic Stress Of Tobacco Plants Overexpressing A Cell Wall Peroxidase, *FEBS Lett.*, 457, 80-84, 1999.
47. Abeles, F.B., Dunn, L.J., et al., Dinterman, R.E. and Schmidt, J., Induction of 33-kD and 60-kD Peroxidases During Ethylene-Induced Senescence Of Cucumber Cotyledons, *Plant Physiol.*, 87, 609-615, 1988.

48. Morohashi, Y. Peroxidase Activity Develops In The Micropylar Endosperm Of Tomato Seeds Prior To Radicle Protrusion, *Journal of Experimental Botany*, 53, No. 374, 1643-1650, July 1, 2002.
49. Welinder, K.G., Superfamily Of Plant Fungal And Bacterial Peroxidases, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2, 388-393, 1992.
50. Wada, N., Kinoshita, S., et al., Purification And Molecular Properties Of Ascorbate Peroxidase From Bovine Eye, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 242, 256-261, 1998.
51. Welinder, K.G., Covalent Structure Of The Glycoprotein Horseradish Peroxidase. *FEBS Lett.*, 72, 19-23, 1976.
52. Gajhede, M., Schuller, D.J., et al., Crystal Structure Determination Of Classical Horseradish Peroxidase at 2.15Å Resolution, *Nature Structural Biology*, 4, 1032-1039, 1997.
53. Karcicio, M., Analysis of Genetic Diversity in Landraces of Macaroni Wheat (*Triticum durum* Desf.) by RAPD Tecnique, Ph.D. Thesis, Hacettepe University Ankara, 2006.
54. Moritz, C., Hillis, D. M., *Molecular Systematics: Context And Controversies*, Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA, 1990.
55. Özcan, S., Gürel, E., et al., *Bitki Biyoteknolojisi II: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, s.354, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2004.
56. Weising, K., Nybom, H., et al., *DNA Fingerprinting in Plants and Fungi*, CRC Press, s. 12-13, Boca Raton, FL., 1995.
57. Işık, M., Aydın Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, *Biyokimya Dersleri* [www.mustafaaltinisik.org.uk](http://www.mustafaaltinisik.org.uk), Nisan, 2010.
58. Kephart, S.R., Starch Electrophoresis of Plant Isozymes, a Comparative Analysis of Thecniques, *American Journal of Botany*, 77, 693-712, 1990.

59. Sataub, J.E., Serquen, F.C., et al., Genetic Markers Map Construction and Their Application in Plant Breeding, *Hortscience*, 31(5), 729-741, 1996.
60. Wolf, A.N.D., Liston, A., Contributions of PCR Based Methods to Plant Systematics And Evolutionary Biology, *Molecular Systematics of Plants II*, Chopman and Hall, New York, 33-86, 1998.
61. Karslı, T., Karabağ. K., et al., DNA Marker Yöntemleri ve Hayvancılıkta Kullanımı, 100. Yıl Üniversitesi, Van, II. Ulusal Zootekni Öğrenci Kongresi, Mayıs, 2006.
62. Backeljau, T. et al., Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Parsimony Cladistic, 11, 119-130, 1995.
63. Gunpa, P.K. et al., Amplification of DNA Marekrs from Evolutionarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple Sequence Repeats, *Thear. Appl. Genet.*, 89, 998-106, 1994.
64. Tingey, S.V., Tufo, J.P., Genetic Analıysis with Random Amplified Polymorphic DNA Markers, *Plant Pysiol*, 101, 349-352, 1993
65. Paran, I., Michelmere, R.W., Development of Reliable PCR-Based Markers Linked to Downy Mildew Resistance Genes in Lettance, *The Aretical and Applied Genetics*, 85, 985-993, 1993.
66. Parker, L., Bordolla, P., Colova, V., Trachg the Pedigree of Cynthiana Grape by DNA Microsattellite Markers, *Proc. Flo. State, Hort. Soc.*, 118, 200-204, 2004.
67. Godwin, I.D. et.al., Application of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Marker to Plant Genetics, *Electrophoresis*, 18, 1524-1528, 1997.
68. Doyle, J. J. and J. L. Doyle. A Rapid Total DNA Preparation Procedure For Fresh Plant Tissue, *Focus*, 12, 13-15, 1990.
69. Halward, T., Stalker, T., et al., Use of Single-Primer DNA Amplifications İn Genetic Studies Of Peanut (*Arachis hypogaea L.*), *Plant Mol. Biol.*, 18, 315–325, 1992.

70. Bilgin, K., Korkut, K., et al., Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi, *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty* 2(3), 245-252, 2005.
71. Matsuoka, Y., Nasuda, S., Durum Wheat As A Candidate For The Unknown Female Progenitor Of Bread Wheat: An Empirical Study With A Highly Fertile F1 Hybrid With *Aegilops Tauschii* Coss, *Theor Appl Genet*, 109, 1710–1717, 2004.
72. Altıntaş, S., Toklu, F., et al., Estimating Genetic Diversity in Durum and Bread Wheat Cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL Markers, *Plant Breeding* 127, 9—14, 2008.
73. Hazen, P. S., Leroy, P., et al., AFLP in *Triticum aestivum* L. Patterns of diversity and genome distribution, *Euphytica* 125, 89—102, 2002.
74. Soleimani, V.D., Baum, B.R., et al., AFLP and pedigree-Based Genetic Diversity Estimates in Modern Cultivars of Durum Wheat [*Triticum turgidum* L. subsp. durum (Desf.) Husn.], *Theor. Appl. Genet.*, 104, 350 –357, 2002.
75. Iqbal, A., Khan, A.S., et al., Study Of Genetic Divergence Among Wheat Genotypes Through Random Amplified Polymorphic DNA, *Genet. Mol. Res.*, 6 (3), 476-481, 2007.
76. Ahmed, F.M., Iqbal, M., et al., Assessment of Genetic Diversity Among Pakistani Wheat (*Triticum aestivum* L.) Advanced Breeding Lines Using RAPD and SDS-PAGE, *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458, 13-issue3, 2010.
77. Baklaya et al., Bitki Genetik Kaynaklarının Muhafaza İmkanları ve Tohum Gen Bankalarının Çalışma Sistemleri, *Ekoloji Çevre Dergisi*, 39, 25-30, 2001.

## ÖZGEÇMİŞ

Hamid CEYLAN 13 Ağustos 1985 tarihinde Kahramanmaraş'ın Elbistan ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Elbistan'da tamamladı. Lisans hayatına 2004 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesinde başladı. 2005 yılında Kayseri Erciyes Üniversitesine yatay geçişle yerleşti. 2008 yılında lisans eğitimini tamamladı ve aynı yıl içerisinde ara vermeden Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. Atatürk Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde Araştırma Görevlisi olup halen Erciyes Üniversitesi'nde eğitimine devam etmektedir.

Adres : Elbistan Şeker Fab. Lojmanları

Elbistan/Kahramanmaraş

Tel : 0555 623 74 79

e-mail : hmdecyln@hotmail.com

