

***T. dicoccoides* ve *T. dicoccon* TÜRLERİ ARASINDAKİ GENETİK
ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD-PCR TEKNİĞİ İLE
BELİRLENMESİ**

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GENETIC DIVERSITY
BETWEEN *T. dicoccoides* and *T. dicoccon* SPECIES BY
RAPD-PCR TECHNIQUE**

AYŞE YEŞBEK

Hacettepe Üniversitesi
Lisans Üstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

2007

Fen bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan
Prof. Dr. Erol AKSÖZ

Üye (Danışman)
Doç. Dr. Afife İZBIRAK

Üye
Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ

Üye
Prof. Dr. Cihan ÖNER

Üye
Prof. Dr. Sibel SÜMER

ONAY

Bu tez/....../2007 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

....../....../2007

Prof.Dr. Erdem YAZGAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

***T. dicoccoides* ve *T. dicoccon* TÜRLERİ ARASINDAKİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD-PCR TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

Ayşe Yeşbek

ÖZ

Bitki gen kaynaklarının etkin bir şekilde kullanımı ve korunması amacıyla genetik çeşitliliğin karakterizasyonuna ihtiyaç vardır. Bitki genomlarını karakterize etme ve tanımlamada kullanılan çeşitli markır sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemlerden biri olan RAPD-PCR, buğday ve diğer bitki türlerinde genetik çeşitliliğin saptanmasında kullanılan etkin bir tekniktir.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de yetişen yabancı emmer ve gernik (kültüre alınmış emmer) buğdaylarının RAPD-PCR tekniği ile analiz edilerek, aralarındaki genetik çeşitliliğin moleküler düzeyde saptanmasıdır. Bu amaçla 11 adet yabancı emmer ve 8 adet gernik buğdayı RAPD-PCR tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan 25 adet primerden 20 tanesinin informatif olduğu belirlenmiştir. RAPD primerlerinden elde edilen toplam 178 PCR ürününden 85’i polimorfik bulunmuştur. Çalışılan yabancı emmer ve gernik buğdayı örneklerinde polimorfizm oranı %47.75 olarak saptanmıştır. Bütün veriler Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu ile (UPGMA) değerlendirilmiş ve fenogram bu yöntemle çizilmiştir. UPGMA analizi, TUR 02456 kayıt numaralı gernik buğdayı ile TUR 03399 kayıt numaralı yabancı emmer örneğinin birbirine en uzak; TUR 03562 ve TUR 03564 kayıt numaralı gernik buğdayı örneklerinin birbirine en yakın olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Yabancı emmer buğdayı, gernik buğdayı, *T. dicoccoides*, *T. dicoccon*, RAPD-PCR, genetik çeşitlik, polimorfizm, UPGMA.

Danışman: Doç. Dr. Afife İZBIRAK, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GENETIC DIVERSITY BETWEEN *T. dicoccoides* and *T. dicoccon* SPECIES BY RAPD-PCR TECHNIQUE

Ayşe Yeşbek

ABSTRACT

It is necessary to characterize genetic diversity of the plant resources for their effective usage and protection. There are well known various marker systems to analyse and define the plant genomes. RAPD-PCR is one of the efficiently used technique for distinguishing the genetic variation among the wheat species as well as the other plants.

The objective of this study is molecular characterization of the genetic diversity of wild emmer wheat and gernik wheat (cultivated emmer) each of which is planted in Turkey by RAPD-PCR technique. For this purpose 11 wild emmer wheats and 8 gernik wheats were analyzed. Out of 25 randomly selected primers, 20 were found to be informative. Of the total 178 amplification products, 85 were polymorphic. Frequency of the polymorphic band patterns were determined as 47.75 % for the wild emmer and gernik wheats. All the data were employed to construct phenograms using an unweighted pair-group method with arithmetical averages (UPGMA). The UPGMA analysis indicated as a result that the lowest similarity was between gernik wheat recorded as TUR 02456 and wild emmer wheat recorded as TUR 03399, whereas, the genetic distance between two gernik wheats which are recorded as TUR 03562 and TUR 03564 was the highest.

Keywords: Wild emmer wheat, gernik wheat, *T. dicoccoides*, *T. dicoccon*, RAPD-PCR, genetic diversity, polymorphism, UPGMA.

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Afife IZBIRAK, Hacettepe University, Faculty of Science, Biology Department.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan, ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Afife İzbırak'a,

laboratuvar çalışmalarından, sonuçların değerlendirilmesine kadar hiçbir konuda yardımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Mehmet Karcicio'ya,

deney sonuçlarının görüntülenmesi konusunda laboratuvar olanaklarından faydalanmamı sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Cihan Öner ve Prof. Dr. Nilüfer Aksöz'e,

buğday materyallerinin temin edilmesini sağlayan T.C. Tarım Bakanlığı, Tarla Bitkileri Enstitüsü Merkez Laboratuvarları'na ve Sayın Dr. Alptekin Karagöz'e,

bu güne kadar beni her konuda destekleyip, bana güvenerek her zaman yanımda olan çok değerli aileme en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarımın Başlangıcı ve Buğdayın Kültüre Alınması.....	5
2.2. Yabani Buğdaylardan Kültür Buğdaylarına Geçiş	8
2.3. Emmer Buğdayları	10
2.4. Sitogenetik Çalışmalar ve Buğday Sistematiği	11
2.5. Moleküler Sistematiği	13
2.5.1. Morfolojik Markırlar	14
2.5.2. Protein Markırları	15
2.5.3. DNA Markırları.....	15
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Buğday Örneklerinin Eldesi	25
3.2. Genomik DNA İzolasyonu.....	27
3.3. RAPD-PCR	29
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. RAPD Markırlarının Elektroforez Sonuçları	34
4.2. Kümeleme Analizi Sonuçları	50
4.3. Tartışma	55
5. KAYNAKLAR	60

EKLER

EK-1 Fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Verimli Hilâl Bölgesi	5
Şekil 4.1. OPF 02 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	34
Şekil 4.2. OPF 03 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	35
Şekil 4.3. OPF 04 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	35
Şekil 4.4. OPF 05 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	36
Şekil 4.5. OPF 07 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	36
Şekil 4.6. OPF 09 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	37
Şekil 4.7. OPK 04 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	37
Şekil 4.8. OPK 16 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	38
Şekil 4.9. OPA 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	38
Şekil 4.10. OPA 14 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	39
Şekil 4.11. OPF 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	39
Şekil 4.12. OPF 10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	40
Şekil 4.13. OPP 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	40
Şekil 4.14. OPP 33 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	41

Şekil 4.15. OPP 123 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	41
Şekil 4.16. OPP 09 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	42
Şekil 4.17. OPP 437 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	42
Şekil 4.18. OPP 394 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	43
Şekil 4.19. UBC 493 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	43
Şekil 4.20. UBC 546 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	44
Şekil 4.21. UBC 285 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	44
Şekil 4.22. OPP 232 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	45
Şekil 4.23. OPF 14 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	45
Şekil 4.24. OPA 12 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	46
Şekil 4.25. OPO 02 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	46
Şekil 4.26. UPGMA metoduyla oluşturulan, <i>T. dicoccoides</i> ve <i>T. dicoccon</i> türleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram	52
Şekil. 4.27. UPGMA metoduyla oluşturulan, <i>T. dicoccoides</i> türü içerisindeki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.....	54
Şekil. 4.28. UPGMA metoduyla oluşturulan, <i>T. dicoccon</i> türü içerisindeki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.	55

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Yabani ve kültür buğdaylarının genomik formülleri.....	12
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan buğday örneklerine ait bilgiler.....	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. RAPD–PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerin dizileri, Tm dereceleri ve %GC oranları	31
Çizelge 4.1. <i>T.dicoccoides</i> ve <i>T.dicoccon</i> örneklerinden elde edilen RAPD markırları.....	47
Çizelge 4.2. RAPD-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant karakteristikleri	48
Çizelge 4.3. <i>T.dicoccoides</i> örneklerinden elde edilen RAPD markırları.....	49
Çizelge 4.4. <i>T.dicoccon</i> örneklerinden elde edilen RAPD markırları	49
Çizelge 4.5. <i>T. dicoccoides</i> ve <i>T. dicoccon</i> türlerinde Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matriksi değerleri	51
Çizelge 4.6. <i>T. dicoccoides</i> türünde Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matriksi değerleri	53
Çizelge 4.7. <i>T. dicoccon</i> türünde Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matriksi değerleri	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
AFLP	Amplified fragment length polymorphism (=çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi)
AP-PCR	Arbitrary Primed PCR
bç	Baz çifti
C	Sitozin
CAPS	Cleaved amplified polymorphic sequence (=çoğaltılmış kesilmiş polimorfik dizi)
cDNA	Eşlenik DNA
cm	Santimetre
cpDNA	Kloroplast DNA'sı
CTAB	Hexadecyltrimethylammonium bromide
DAF	DNA amplification fingerprinting (=DNA çoğaltımlı parmak izi)
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
G	Guanin
ISSR	Inter-simple sequences repeats (=basit ara dizi tekrarları)
ITS	Internal transcribed spacer (=genler arası bölge)
kg	Kilogram
M	Molar
m	Metre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
M.Ö	Milattan önce
mRNA	Messenger RNA (=elçi RNA)
ng	Nanogram
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System

PCR	Polymerase chain reaction (=polimeraz zincir reaksiyonu)
pmol	Pikomol
RAPD	Randomly amplified polymorphic DNA (=rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
rDNA	Ribozomal DNA
RFLP	Restriction fragment length polymorphism (=kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi)
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal RNA
rpm	rotation per minute (=dakikadaki devir)
SAHN	Sequential, Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region (=dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölge)
SI	Similarity index (=benzerlik indeksi)
SIMQUAL	Similarity for Qualitative Data
sn	Saniye
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (=tek nükleotid polimorfizmi)
SSR	Simple Sequence Repeats (=basit dizi tekrarları)
STS	Sequence Tagged Sites (=dizisi etiketlenmiş bölge)
T	Timin
T.	<i>Triticum</i>
TBE	Tris-Borat-EDTA
TE	Tris-EDTA
UPGMA	Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Mean Averages (=aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu)

1. GİRİŞ

Yeryüzündeki tüm yaşam biçimleri dolaylı ya da dolaysız olarak bitkilere bağımlıdır. Besinlerimiz ya doğrudan doğruya bitkilerden ya da bitkilerle beslenen hayvanlardan sağlanan ürünlerden oluşmaktadır. Bitkiler aynı zamanda insanların yağ, ilaç ve giyim gibi gereksinimlerini de karşılamaktadır. Günümüzde dünyada tarımı en çok yapılan bitki buğdaydır. İnsan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında dünyada, ekiliş ve yayılış bakımından ilk sırayı buğday almaktadır. Tarımının kolay ve tamamen makineye dayalı oluşu, buğday tarımını teşvik etmektedir. Buğdayla yapılan yiyecekler dünya insanların üçte birinden fazlasının günlük besinlerinin çok önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Devlet Planlama Teşkilâtı'nın yaptığı bir araştırmaya göre Türkiye'de günlük enerji gereksiniminin %52'si ekmek ve tahıl ürünlerinden karşılanmaktadır (Süzer, 2003).

Hızla artan dünya nüfusu, her gün daha fazla sayıda insanın beslenme sorununu ortaya çıkarmakta, beslenme yetersizliği ve açlıktan ölümler devam etmektedir. Mevcut çeşitler ve ıslah hatlarındaki genetik farklılıkların kullanılması, bu ürünlerin verim artırımı için yeterli olamamaktadır. Bu nedenle tarımsal üretim artışını sağlayacak yeni çeşitlerin geliştirilmesi zorunludur. Bu amaçla yapılacak çalışmalarda ıslahçıların en büyük yardımcısı, bitkisel gen kaynakları olacaktır (Şehirli ve Özgen, 1987).

Türkiye, bitki genetik kaynakları yönünden çok özel bir konumda bulunmaktadır. Bitkilerin çeşitlenme ve orijin merkezi olarak Vavilov (1935)'un açıkladığı merkezlerden ikisi olan Akdeniz ve Yakınoğu, Türkiye üzerinde örtüşmektedir. J. Harlan'a göre ülkemizde 100'den fazla türün geniş değişim gösterdiği 5 mikro-gen merkezi bulunmaktadır (Demir, 1990). Bu merkezler, Ağrı ve civarı Samsun–Tokat–Amasya, Kayseri ve civarı, Güney–Doğu Anadolu ve Trakya–Ege'dir. Türkiye aynı zamanda topoğrafya, iklim ve jeomorfolojik yönden geniş çeşitlilik göstermesinin doğal sonucu olarak, habitat tipleri yönünden de zengindir ve bu durum, bitki türlerinin sayısına ve endemizm oranına da yansımıştır. Nitekim Davis (1965–85) ve Davis et al., (1988)'un açıklamalarına göre, tohumlu bitkilerimizin toplam sayısı 8.745 ve bu sayının üçte birine karşılık gelen 2.763 bitki türü endemiktir. Son verilere göre, Türkiye'de bulunan bitki taksonlarının sayısı 10.754 olup, bunların da 3.708 adedi (% 34,5) endemiktir (Güner et al., 2000). Bir başka

deyişle Türkiye, bitki biyoçeşitliliği bakımından çok önemli bir merkez durumundadır.

Yirminci yüzyılın başından beri Türkiye'deki buğday çeşitliliği dünyada her zaman büyük ilgi uyandırmıştır. Türkiye'de bulunan buğdayları keşfetme ve toplama çalışmaları artmış, toplanan örnekler farklı ülkelerde geliştirilmiştir (Gökgöl, 1935, 1939; Harlan, 1950; Zhukovsky et al., 1951). Türk bilimadamı Mirza Gökgöl (1935, 1939), Türkiye'nin her yanından topladığı binlerce buğday örneğini karakterize ederek 18.000'in üzerinde farklı tip ve bunların arasından da 256 adet yeni buğday varyetesi belirlemiştir. Gökgöl, Türkiye'de bulunan çeşitlerin, bitki ıslahçıları için sonsuz bir hazine olduğunu belirtmiştir.

Yüksek verimli ve besin değeri daha fazla olan buğday çeşitlerinin elde edilmesi amacıyla yapılan yoğun ıslah çalışmaları sonucunda, kültür formlarının genetik çeşitliliği giderek azalmış, zararlılara, çevresel strese ve değişik hastalıklara karşı hassasiyeti artmıştır (Feldman and Sears, 1981; Plucknett et al., 1983). Kültür buğdaylarının gen havuzlarının zenginleştirilmesi ve iyileştirilmesinde yabancı akrabalardan faydalanılmaktadır. Ülkemiz yabancı buğday türlerinin genetik çeşitlenme merkezidir. Ortadoğu ve ona komşu Akdeniz çevresi ile Batı Asya, yirmi iki yabancı buğday türünün yayılım gösterdiği alandır. Ancak on dört buğday türü ile bunların en yoğun biçimde bir arada bulunduğu coğrafya ülkemizdir (Van-Slageren, 1994). Yetiştigi bölgelerin her türlü koşullarına uzun zaman sürecinde adapte olmuş, genetik çeşitliliği yüksek olan yabancı türler, zengin gen kaynağı olarak oldukça büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle yabancı türlerdeki genetik çeşitliliğin analiz edilmesi ve bu kaynakların korunması gerekmektedir.

Genetik kaynakların korunmasının amacı, gen havuzunda bulunan çeşitliliğin gerçek ya da potansiyel kullanımına kadar etkin biçimde saklanması ve genetik çeşitliliğin insanlığın kullanımına sunulmasıdır. Temelde her biri değişik tekniklerin bir araya gelmesiyle oluşan iki ana koruma sistemi vardır. Bu sistemler *ex situ* (gurbette) ve *in situ* (memleketinde) koruma adını almaktadır.

Bitki genetik kaynaklarının korunmasında en yaygın uygulama alanı bulan strateji *ex situ* koruma olmuştur. Bunun en önemli nedeni, gurbette korumanın daha ucuz ve kolay olmasıdır. Bu koruma sisteminde tohum, DNA ve çiçektozu

depolanmakta, tarla gen bankaları ve botanik bahçeleri oluşturulmaktadır. Bu sistem özellikle tahıllar açısından oldukça etkin olmaktadır. *In situ* koruma ise, doğal kaynakların kendi doğal yaşam alanlarında korunmaları anlamına gelmektedir. Bu tür koruma sisteminde, doğal yaşam alanlarındaki populasyonlar çeşitliliğini devam ettirerek evrimlerini sürdürebilmekte ve yeni özellikler taşıyan bitkilerin ortaya çıkmasına olanak sağlanmaktadır. Ancak unutulmamalıdır ki evrim, yalnızca yeni karakterlerin ortaya çıkmasına neden olmayıp, aynı zamanda çok kullanışlı olan bazı eski karakterlerin yitirilmesine de neden olabilmektedir. İklimdeki ani değişimler, çevre kirliliğinin artması ve her türlü doğal ve insan kaynaklı stresler bu yönden tehlikelidir. Bu durumda *in situ* koruma projelerinin başlangıç aşamasında, temsili tohum örneklerinin gen bankalarında uzun süreli korunmaya alınması gerekmektedir. Dolayısıyla *in situ* koruma, tek başına bitki genetik kaynaklarını koruma yöntemi olarak görülmemekte, *ex situ* korumanın tamamlayıcı bir unsuru olarak, onunla birlikte ele alınmaktadır.

Genetik çeşitliliğin, yani genetik benzerlik ve farklılıkların saptanması ve korunması amacıyla yapılan çalışmalarda, mevcut çeşitliliğin karakterizasyonuna ihtiyaç vardır. Bitki genetik çeşitliliğinin tür-içi ve türlerarası düzeylerde saptanması gerekmektedir. Bu amaçla klasik genetik tekniklerinin populasyon genetiği, sistematik ve moleküler biyoloji teknikleri ile bir arada kullanılması gerekmektedir (Kresovich and McFerson, 1992). Bu sentez sayesinde, bitki genetik kaynaklarının kullanımı ve gelecek için korunması mümkün olacağı gibi, kültür varyeteleri ve yabani bitkilerin tür-içi ve türlerarası düzeylerde genetik varyasyonlarının daha iyi karakterizasyonu da sağlanmış olacaktır. Bitki genomlarını karakterize etme ve tanımlamada kullanılan çeşitli markır sistemleri mevcuttur. Bu sistemler, doğal populasyonların genetik çeşitliliği hakkında geçmişte elde edilmesi mümkün olmayan detaylı bilgilere kısa zamanda ve düşük maliyetle ulaşılmasını sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, Türkiye'de yetişen yabani emmer buğdayı (*Triticum turgidum* L. ssp. *dicocoides* (Körn. Ex Asch. & Graebn.) Thell) ve kültürü yapılan emmer buğdaylarının (*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell=gernik buğdayı), RAPD-PCR yöntemi ile analiz edilerek, aralarındaki benzerlik ve farklılıkların moleküler düzeyde saptanmasını sağlamaktır. Bu çalışmadan elde edilecek olan sonuçların, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesindeki gen

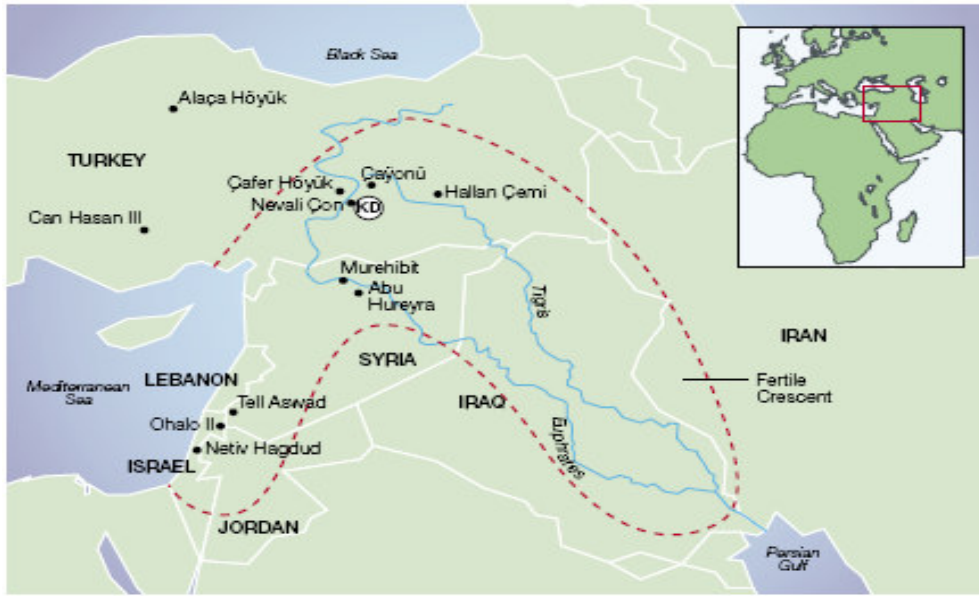
bankası için yararlı bir veri tabanı oluşturacağı düşünülmektedir. Tez çalışmasında kullanılan buğdaylar T.C. Tarım Bakanlığı'na bağlı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarımın Başlangıcı ve Buğdayın Kültüre Alınması

Günümüzden yaklaşık olarak 12.000 yıl önce insanoğlu avcı–toplayıcı yaşamdan, tarıma–dayalı yerleşik hayata geçmeye başlamıştır. Çiftçilik Yakındoğu’da başlamış olup, evcilleştirilmiş çeşitli bitki ve hayvan türleri Avrupa, Asya ve Afrika’ya yayılmıştır (Salamini et al., 2002). Tarımın nerede, nasıl ve neden başladığı sorusu hâlâ tartışmalı bir konudur.

Tarımın başlaması insan kültüründe “Neolitik Devrim” olarak bilinen pek çok değişikliğe yol açmıştır. Tarım, toplumun sınıflara ayrılmasına ve anahtar teknolojilerin geliştirilmesine olanak veren yerleşik hayatı güçlendirmiştir; bu nedenle tarımın nerede ortaya çıktığını bilmek, insan kültürünün geçmişini anlamak açısından da önemlidir. Tarım uygulamalarının öncülüğünü yapan ilk insanlar bugün Türkiye, İran, Irak, Suriye, İsrail, Ürdün ve Lübnan boyunca yayılmış olan, “Verimli Hilâl” adı verilen bölgede (Şekil 2.1) yaşamıştır (Gopher et al., 2002). Verimli Hilâl bölgesinde tarımın başlaması bu bölgede yoğun bir insan popülasyonunun gelişmesine olanak sağlamıştır. İnsanların başarılı şekilde tarım yapabilmeleri ve yiyecek fazlasını depo edebilmeyi başarmaları ile birlikte, bölgedeki kültürel gelişim hız kazanmıştır (Diamond, 1997).



Şekil 2.1. Verimli Hilâl Bölgesi (Salamini et al., 2002)

Tarımın başlamasından önce Verimli Hilâl bölgesi, bugün insanoğlu için halen vazgeçilmez kaynaklar olan yabancı hayvanlar ve yüksek protein içerkli bitkiler açısından zengin, doğal bir yapıya sahipti. Arkeolojik kayıtlar, insanların bitkileri kültüre almadan ve evcilleştirmeden önce doğal olarak bulunan buğday, arpa, mercimek, nohut ve keten gibi yabancı tahılları –özellikle baskın olan buğday ve arpayı– hasat ettiklerini göstermektedir (Gopher et al., 2002). Halen tam olarak bilinmeyen bazı nedenler tarıma yönelmeyi tetiklemiştir. Ortaya koyulan pek çok hipotezden biri, yaklaşık 1000 yıl süren soğuk ve kuru iklimin, doğal tahıl kaynaklarını daraltması ya da zayıflatması ve böylelikle toplulukları tarım faaliyetleri ile uğraşmaya yöneltmiş olmasıdır. Soğuk ve kuru iklimin başlaması ile birlikte primer habitatlardaki yabancı buğdayların ortadan kalkmasının, insanları bu bitkileri kültüre almaya itmiş olabileceği düşünölmektedir (Diamond, 1997; Hillman, 2000; Bar–Yosef and Meadow, 1995). Ekim ve hasat aynı yerde uzun süre kalmayı gerektirdiği için insanlar, binlerce yıldır sürdürdükleri göçebe, avcı–toplayıcı yaşam tarzından yerleşik–üretici yaşama geçmişlerdir.

Yeryüzünde tarım yapılan ilk insan köyleri günümüzden yaklaşık 10 bin yıl önce bugünkü Güneydoğu Anadolu ve kuzey Suriye sınırları içerisinde görölmeye başlanmıştır (Nesbit and Samuel, 1996). Suriye’deki Abu Hüeyra ve Türkiye’deki Cafer Höyük, Çayönü ve Nevali Çori gibi arkeolojik kazı yerleri ilk tarım köyleri arasındadır. Bundan sonraki 1500 yıl içinde de buğday tarımı güneye (Ürdün Vadisi’ndeki Beidha), doğuya (İran’daki Jarmo ve Ali Kosh) ve batıya (Orta Anadolu’daki Aşıklı Höyük, Can Hasan III ve Çatal höyük) doğru yayılmıştır. Avrupa’daki en eski kültür buğdayı örnekleri Yunanistan’da bulunmuş olup, M.Ö. 5900 yıllarına aittir (Nesbit and Samuel, 1996).

Başarıyla kültüre alınmış ilk buğday, diploid bir tür olan *T. monococcum* L. ssp. *monococcum* ’ (einkorn=kaplıca) dur ve ilk olarak Türkiye’nin güneydoğusunda kültüre alındığı bilinmektedir. Bu buğday yabancı atası olan *Triticum boeoticum*’dan evcilleştirilmiştir (Harlan and Zohary, 1966; Van–Zeist et al., 1991). İnsanlar Bronz Çağı’nda kaplıca buğdayını kültüre almaktan vazgeçmişlerdir. Büyük bir olasılıkla, ılıman iklimlere üstün adaptasyon sağlamaları ve hasada elverişli olmalarından dolayı, poliploid buğdaylara yönelmişlerdir. Günümüzde bir kısmı hâlâ kullanılmakta olan evcilleştirilmiş tetraploid buğday varyeteleri tek bir atadan, yani *T. dicoccoides*’ten elde edilmiştir. Türkiye’nin güneydoğusu ilkin einkorn ve emmer

buğdaylarının esas evcilleştirme bölgesidir (Elias et al.,1996; Diamond, 1997). Son yıllarda yayınlanmış olan çok sayıdaki araştırmanın bulguları, buğday tarımının dünyada ilk kez Verimli Hilâl içinde yer alan Karacadağ ve yöresinde başladığını vurgulamaktadır (Diamond, 1997; Nesbit and Samuel, 1998; Lev–Yadun et al., 2000; Özkan et al., 2005).

Kapsamlı arkeobotanik çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, emmer buğdayı, einkorn, arpa, mercimek, nohut ve keten “Eski Dünya’da” (Colomb’un keşiflerinden önceki Avrupa, Asya ve Afrika) tarımı başlatan “kurucu” tahıllardır. Bu sekiz tahılın evcilleştirilmesine dair ilk işaretler erken Neolitik dönemde, M.Ö 8. yüzyılın ikinci yarısı ile M.Ö 7. yüzyılda Verimli Hilâl’de gelişen çiftçi köylerinde bulunmuştur. Neolitik tarımın Yakınoğu’da geliştikten sonra Güneybatı Asya’nın diğer bölgeleri ile Akdeniz Bölgesi, ılıman Avrupa ve Mısır’a doğru yayılım gösterdiği sonucuna varılmıştır (Van-Zeist et al., 1991).

Buğday günümüzde de dünyanın hemen her yerinde ekilebilmektedir. Kuzey yarıkürede 67° kuzey enleminde yer alan Finlandiya, Norveç ve Rusya’dan; güney yarıkürede 45° güney enleminde yer alan Arjantin’e kadar geniş bir alanda buğday tarımı yapılabilmektedir. Bununla birlikte, tropik ve subtropik bölgelerde coğrafi koşullar nedeniyle buğday tarımında sınırlamalar mevcuttur. Rusya’nın güney bölgeleri, Amerika Birleşik Devletleri’nin orta bölgeleri, güney Kanada, Akdeniz Havzası, güney–orta Çin, Hindistan, Arjantin ve güneybatı Avustralya buğday tarımının yapıldığı ana bölgelerdir.

Ülkemizde buğday yaklaşık 9,5 milyon hektar alanda ekilmektedir. Üretim yıldan yıla değişmekle birlikte, Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, ortalama yılda 20 milyon ton civarında gerçekleşmektedir (FAO, 2000). Diğer Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında Türkiye, 21 milyon ton ile Fransa’dan ve 25,4 milyon ton ile Almanya’dan sonra gelmektedir. FAO’nun 2004 yılı verilerine göre dünya çapındaki buğday üretimi 500 milyon tondan fazladır (FAO Food Outlook Report, 2005). 2005 yılında dünya çapındaki kişi başına buğday tüketimi 68 kg’dır (Bhalla, 2006). Gelişmekte olan ülkelerde tüketim 61 kg iken, gelişmiş ülkelerde bu miktar 95 kg’a kadar çıkmaktadır (Bhalla, 2006). Buğday hayvan yemi olarak da kullanılmakta olup bu amaçla 2004 yılında 110 milyon tondan fazla buğday tüketilmiştir.

2.2. Yabani Buğdaylardan Kültür Buğdaylarına Geçiş

Ekin varyetelerinin yabani türlerden kültür formlarına geçiş sürecinde, üç temel özellik evrimsel olarak değişim göstermiştir. Bunlar tohum büyüklüğü, başak sapının kırılabilirliği ve kavuzların tohumdan ayrılabilirlik özelliğidir. Tohum büyüklükleri açısından karşılaştırıldığında, yabani türlerin kültür formlarına göre daha küçük tohumlara sahip oldukları görülür. Başak sapları, başaklar olgunlaşınca parçalanıp tohumların birbirinden farklı bölgelere dağılmasını sağlayacak şekilde kırılabilir bir yapıya sahiptir. Bu durum, yabani buğdaylar için tercih edilebilecek bir özellik olmakla birlikte, kültür buğdaylarının hasadını zorlaştıracak nitelikte olduğundan, kültür formları daha dayanıklı bir başak sapına sahiptir. Tohumların korunmasını sağlayan yaprak benzeri yapılar olan kavuzlar, yabani türlerde ya birleşmiştir ya da tohuma çok sıkı bir şekilde bağlanmıştır. Evcil türlerde ise, tohumun kolayca dışarı salınmasını sağlayacak şekilde olduğundan, “çıplak daneli” adını almaktadırlar (Salamini et al., 2002). Kültür çeşitleri ile bunların yabani akrabaları arasındaki bir diğer fark, kültür formlarının daha az dorman olmalarıdır. Yabani emmer buğdayında başakçıkta iki tohum bulunur; bunlardan bir tanesi ilk sonbaharda, diğeri ise genellikle bir sonraki yıl çimlenir. Yabani arpanın başakçığında bir tohum bulunur; fakat etrafa yayılan tohumların hepsi ilk yıl çimlenmez. Yabani bitkiler için böyle bir durum avantaj sağlarken, kültüre alınan bitkilerde bu durum istenmez; tersine atılan tohumun hepsinin aynı yıl çimlenmesi arzu edilir. Bitkilerin kültüre alınması sürecinde dormansi göstermeyen mutasyona uğramış tipler bu yüzden otomatik olarak seçilmiştir (Salamini et al., 2002).

Perrino (1989) bitkilerin kültüre alınışının çeşitli basamaklardan geçtiğini ileri sürmektedir: (1) Bitkilerin kültüre alınmaya başlandığı ilk yıllarda, bütün bitki türleri çok büyük genetik farklılıklara sahipti ve insanoğlu bu genetik farklılıklar içinden en çok beğendiklerini topladı. (2) Seçilen ve yarı kültüre alınmış olan bu bitkiler hayatlarını sürdürebilmek için insan yardımına ihtiyaç duymaya başladığı zaman, ilkel hasat ve ekim tekniklerinin uygulamaya koyulması tarımın başlangıcını oluşturdu. (3) İnsanoğlu aynı coğrafi bölgede yeni yerleşim alanları oluşturdu ve bu yeni yerleşim alanlarına kültüre aldığı veya yeni kültüre almaya başladığı bitkilerin tohumlarını götürdü. Bu yeni yerleşim alanlarında, buraya adapte olabilen yeni bitki tipleri seçildi. (4) Tekrar yeni yerleşim alanları bulundu ve bu yeni yerler

kültüre alınan bitkilerin orijinlerinden uzak olduğu için, bu bölgede kültüre alınan bitkilerin yabancıları yoktu. Doğal olarak yabancılarla melezleşme şanslarının olmaması nedeniyle, genetik çeşitlilik azaldı. (5) Bazı çevre şartlarında yabancı otlar veya yeni kültüre alınmış bitkiler, önceden kültüre alınmış bitkilerden daha iyi performans gösterdi ve böylece bunların da yeni kültür bitkisi olarak tarımı başladı. (6) Yeni alanlar bulunup yerleşildikçe kültüre alınan bitkilerin tohumları buralara taşındı. Bu yerler bitkilerin esas orijinlerinden çok uzak olduğundan, genetik farklılıklar yabancılarla melezleşerek değil, doğal mutasyonlarla oluştu ve bitkilerin bu bölgelere adaptasyonu doğal seçim ile sağlandı.

On dokuzuncu yüzyılın sonlarına kadar tüm buğdaylar, aynı soya ait hatların ve hibrit türlerin oluşturduğu yüksek heterojenite gösteren yerel çeşitlerden meydana gelmiş durumdaydı. İlk seleksiyon çalışmaları ürün miktarını ve un kalitesini artırmak, daha büyük tohum elde etmek ve oldukça farklı iklim koşullarına uyumu sağlayabilmek amacıyla gerçekleştirilmiştir (Feldman et al., 1995). Daha sonra bitki ıslahçıların çalışmaları ile verim ve kalitesi yüksek, yeni alanlara daha iyi adapte olabilen çeşitler ıslah edilmiştir. Islah edilmiş, yüksek verimli fakat dar genetik farklılığa sahip bu yeni çeşitler, güçlü bir genetik yapısı olan geleneksel çeşitlerin yerini almıştır.

Hemen hemen tüm kültür buğdaylarının genetik temeli oldukça dardır (Feldman and Sears, 1981). Asins ve Carbonell (1986)'in yaptığı izozim araştırmaları, aynı soy ile melezleme (inbreeding) çalışmaları sonucunda bitki çeşitliliğinin azaldığına dikkat çekmektedir. Bu durum kültür buğdaylarını yeni hastalıklara, zararlılara ve çevresel strese karşı daha hassas yapmaktadır (Joshi and Nguyen, 1993). Bu sebeple istenilen özelliklerin yabancı buğdaylardan alınıp, introgresyon çalışmalarında kullanılması, kültür buğdayı geliştirilmesi konusunda büyük umutlar vaat etmektedir. Bu anlamda, bitki çeşitliliğinin ve yabancı akrabaların önemine ilk değinen ve onları toplayan kişi Nicolai I. Vavilov olmuştur (Vavilov, 1935).

Buğday, insan yaşamını ekonomik ve kültürel olarak etkilerken, insan da buğdayın evrimini etkilemiştir. İlk tarım köylerinde kaplıca (*Triticum monococcum*) ve gernik (*Triticum dicoccon*) buğdayları ekilmekteydi. Bunlar, yabancı atalarına göre biraz daha iri taneli, ama yine yabancılar gibi kavuzlu ve başağı taşıyan sapları yarı kırılğan yapıda olan türlerdi. Daha sonraki dönemlerde iri taneli, uzun saplı ve

kavuzsuz, bu nedenle işlenmesi daha kolay iki tür ortaya çıktı. Bu türler makarnalık buğday (*Triticum durum*) ve ekmeçlik buğday (*Triticum aestivum*) dı. Buğdayın geçirdiği bu genetik ve fenotipik değişiklikler, insanların kendi işlerine yarayan özellikteki buğdayları seçerek, bir sonraki yıl ekmek üzere ayırmaları ile başlamış ve zaman içinde birikerek oluşan seçilim baskısının sonucu olarak ortaya çıkmışlardır.

Bugün tüm dünyada yaygın olarak ekimi yapılan yalnız iki tür bulunmaktadır: (1) hekzaploid ekmeçlik buğday *T. aestivum* (6n = 42 kromozom) ve (2) tetraploid sert makarnalık ya da düşük kaliteli durum tipi buğday olan *T. turgidum* (4n = 28)'dur. Türkiye'nin bazı yüksek bölgelerinde ise çok kısıtlı miktarda da olsa, çoğunlukla hayvan yemi olarak kullanılan siyez ve gernik tarımına rastlanmaktadır. Dünyanın başka bölgelerinde de yöresel iklim ve toprak koşullarına uygun, kısıtlı miktarda üretimi yapılan başka buğday türleri ya da alttürleri mevcuttur. Ayrıca, Avrupa'daki spelt buğdayı gibi (*Triticum spelta*) geçmişte çok yaygın olarak ekilirken, sonradan yerini makarnalık ve ekmeçlik buğdaylara bırakarak yok olan buğday türleri de vardır.

2.3. Emmer Buğdayları

Hekzaploid buğdayların ve tetraploid kültür buğdaylarının yabani atası olarak kabul edilen *Triticum turgidum L. ssp. dicocoides (Thell)*, arzu edilen tarımsal özellikler bakımından farklı ve zengin bir kaynak (Poyarkova, 1988) olmasının yanı sıra, istenilen özelliklerin kültür buğdaylarına aktarılmasına olanak sağlaması açısından da büyük önem taşımaktadır (Tahir and Pashayani, 1990). Bu polimorfizmler allozimler (Aagaard et al., 1998), rDNA (Flavell et al., 1986), RAPD (Fahima et al., 1999, Li et al., 1999), mikrosatellitler (Li et al., 2000a, Li et al., 2000b, Fahima et al., 2002) ve AFLP (Özkan et al., 2005) gibi farklı yöntemlerle yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır.

Yabani ataları ile aynı genomu (AABB) taşıyan tetraploid kültür buğdayları harman özelliklerine göre ikiye ayrılmaktadır. Bunlar kabuklu buğday, *T. turgidum L. ssp. dicoccon* ve daha gelişmiş bir tür olan açık tohumlu *T. turgidum conv. durum Desf (T. durum Desf.)*' tir. Durum buğdayları açık tohumlu tetraploid buğdayların ana temsilcisi olup, Neolitik devirde, Akdeniz çevresinde evcilleştirilmiştir. *T. dicoccon*,

yabani atasından biraz daha büyük tohumlara ve yarı kırılğan başak sapına sahiptir. Neolitik dönemde ve Bronz çağının başlarında, Eski Dünya tarımındaki en önemli buğday türü olarak, gıda ve bira yapımında kullanılmaktaydı. Sonraları yerini daha gelişmiş, açık toumlu tetraploid ve hekzaploid buğday türleri almıştır. Emmer buğdayı günümüzde hâlâ seyrek olarak Balkanlar, Anadolu, Batı Asya, Hindistan ve yoğun olarak da Etiyopya'da yetiştirilmektedir.

2.4. Sitogenetik Çalışmalar ve Buğday Sistematığı

Buğday *Poaceae* familyasının, *Triticeae* sınıfının *Triticum*, *Aegilops*, *Thinopyrum*, *Dasypyrum*, *Lophopyrum* ve *Secale* de dahil olmak üzere yaklaşık 35 cinsini içeren *Triticeae* alt sınıfına aittir. *Triticum* cinsine ait pek çok tür, ya poliploidi ya da doğrudan genetik materyal değişimi aracılığı ile melezler oluşturabilmektedir. Linnaeus (1753) buğdayın yabani akrabalarını *Aegilops* cinsine dahil ederken, *Triticum* cinsi içerisinde 7 tür olduğunu ileri sürmüştür. Stebbins (1956), Bowden (1959), Kimber ve Feldman (1987)'in iki cinsi *Triticum* içerisinde birleştirmeye başlamasına kadar geçen 200 yıllık sürede Linnaeus'nin diktomisi taksonomistler tarafından benimsenmiştir.

Sitogenetik çalışmalar, *Triticum* çeşitlerinin 7 basit haploid kromozomun ($n = 7$) katlarını içeren poliploidi düzeylerine sahip olduklarını göstermiştir. Diploid ($2n = 14$), tetraploid ($4n = 28$) ve hekzaploid ($6n = 42$) olmak üzere üç farklı poliploidi sınıfı tanımlanmıştır. Poliploid buğdaylar (tetraploid ve hekzaploid) amfiploid olup, her biri farklı bir atadan gelen iki ya da daha fazla genom taşırlar ve diploid gibi davranırlar. Poliploid buğdayların diploide benzer davranışları, homolog kromozomların eşleşmesinin spesifik bir gen ya da bir "eşleşme inhibitörü (pairing-inhibitor=*Ph*)" tarafından baskılanmasından kaynaklanmaktadır (Riley and Chapman, 1958). *T. aestivum*'da bu gen B genomunun 5. kromozomu üzerinde bulunmakta ve 5B geni olarak bilinmektedir (Riley, 1965). Diploidizasyon, kromozomların doğru bir şekilde birbirinden ayrılmasını, genetik kararlılığı, heterojenliği ve yüksek verimliliği sağlamanın yanı sıra, kromozomlardaki yapısal değişikliklere fazla tolerans gösteren genomlar için de koruma sağlamaktadır. Kromozom eşleşmesi üzerine yapılmış önceki çalışmalar (Kihara, 1954), farklı diploid türlerin kromozomlarının türlerarası hibritlerde düzgün bir şekilde eşleşmediğini ve bu nedenle her genomun farklı bir genomik formüle sahip

olduğunu göstermiştir. Türlerarası hibritlerde düzenli bir eşleşme görülmemesi sayesinde diploid türler arasında tam bir kısırılık ve üreme izolasyonu gerçekleşir.

Kültür ve yabani emmer buğdaylarının tümü (*T. dicoccon* ve *T. dicoccoides*) ile durum buğdayı (*T. durum*) AABB genomik formülünü paylaşmaktadır. Tablo 2.1. üç farklı poliploid düzeydeki yabani ve kültür buğdaylarına ait genom formüllerini göstermektedir. Miller (1987) tarafından önerilen terminoloji (adlandırma) Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1. Yabani ve kültür buğdaylarının genom formülleri (Miller, 1987)

Tür	Yaygın adı	Genomik Yapısı
Diploid (2n=14)		
<i>Triticum boeoticum</i>	Yabani einkorn	AA
<i>Triticum urartu</i>	İki daneli einkorn	AA
<i>Triticum monococcum</i>	Kültüre alınmış einkorn	AA
<i>Triticum speltooides</i>	Yabani ot	SS
<i>Triticum tauschii</i>	Yabani ot	DD
Tetraploid (2n=28)		
<i>Triticum dicoccoides</i>	Yabani emmer	AABB
<i>Triticum dicoccon</i>	Kültüre alınmış emmer	AABB
<i>Triticum durum</i>	Makarnalık/durum buğdayı	AABB
<i>Triticum turanicum</i>	Kamul	AABB
<i>Triticum polonicum</i>	Polonya buğdayı	AABB
Hexaploid (2n=42)		
<i>Triticum spelta</i>	Spelt buğdayı (kültüre alınmış)	AABBDD
<i>Triticum aestivum</i>	Ekmeklik/yaygın buğday	AABBDD

Daha önceki sitogenetik çalışmalar einkorn (*T. monococcum*) buğdayını A genomu vericisi olarak kabul etmekteydi (Kihara, 1954). Ancak Chapman ve arkadaşları (1976), A genomunun *T. urartu*'dan köken aldığını belirlemiştir. Dvorak ve

arkadaşları da (1988), tekrarlayan baz dizilerinin sayısındaki farklılıkların poliploid buğday filogenisinin araştırılmasında kullanılabileceğini ve bu yöntemle, A genomunun *T. monococcum*'dan çok *T. urartu* ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Tetraploid buğdayların ikinci genomu *T. turgidum*'da B, *T. timopheevi*'de ise G'dir. Bu iki genom birbiriyle yakından ilişkili olup, her ikisi de *T. speltooides*'ten köken almış gibi görünmektedir. Özellikle rRNA genlerinin yapıları ile ilgili çalışmalar (Dvorak et al., 1989) ve tetraploid buğdaylardaki cpDNA çalışmaları (Ogihara and Tsunewaki, 1988) G genomu vericisinin *T. speltooides* olduğuna işaret etmektedir.

Morfolojik, coğrafik ve sitolojik kanıtlar *T. speltooides*'in (SS) ya da buna yakın akraba başka bir türün B genomu vericisi olduğunu gösterse de, B genomu vericisinin kimliği tam olarak bilinmemektedir (Riley and Chapman, 1958). Moleküler kanıtlar *T. speltooides*'in B genomuna katkıda bulunan türlerin mevcut olan en yakın akrabası olduğunu doğrulamaktadır (Dvorak and Appels, 1982; Dvorak and Zhang, 1990; Peterson et al., 2006). Ancak kromozom bantlama, *in situ* hibridizasyon, mayotik eşleştirme ve izozim çalışmaları *T. speltooides*' in B genomunun modern tetraploid ve hekzaploid buğdayların B genomu ile aynı olmadığını göstermektedir (Waines and Bernhart, 1992).

D genomunun orijini ise tamamen *Aegilops squarrosa* L. (*Triticum tauschii*) ile ilişkilidir (Kihara, 1944; Jones et al., 1982). DD genomuna sahip diploid *T. tauschii*'nin tetraploid AABB genomu ile birleşmesi, hekzaploid AABBDD genomunun ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bunun en büyük etkisi, buğdayın yeryüzündeki yayılımı üzerine olmuştur. D genomunun içeriğindeki genlerin, ekmek yapma ve buğday ununun hamur özellikleri üzerine büyük etkileri olmuştur.

2.5. Moleküler Sistematiği

Dünyada geniş kullanım alanları bulması ve sahip olduğu büyük genomu ile buğday, diğer tahıllar arasında tarım ve beslenme açısından çok önemli bir konuma sahiptir. Bu durum buğday yetiştiricilerini daha fazla sayıda kültür buğdayı geliştirmeye yönlendirmiştir. Çok hızla artan nüfus ve modern yaşam tarzı, yetiştiricileri yüksek verimli, tohum kalitesi yüksek, zararlılara ve patojenlere dayanıklı yeni buğday çeşitleri geliştirmeye zorlamaktadır. Bu nedenle buğday biyoteknolojisi, son 20–30 yılda önem kazanmış ve buğday yetiştirme

programlarında önemli bir araç haline gelmiştir. DNA markır teknolojisi, tahıl geliştirme programlarında etkili olarak kullanılacak pozitif bir katkıdır ve bitki yetiştirme çalışmalarının verimliliğini artırıcı bir biyoteknoloji alanıdır.

Kalıtım şekilleri morfolojik, biyokimyasal ve DNA düzeyinde izlenebilen karakterlere “genetik markır” denir. Bu karakterlerin markır olarak isimlendirilmesinin nedeni, çalışılan organizmadaki ilgilenilen özelliklerin genetiği hakkında –dolaylı da olsa– bilgi sağlamalarıdır. Genetik markırlar taksonomi, embriyoloji, fizyoloji ve genetik mühendisliği gibi pek çok alanda genetik haritaların hazırlanması, genetik parmakizi analizi, doğrudan gen etiketlenmesi, gen kopyalanması, genom analizi, evrimsel analizler, genetik varyasyon belirlenmesi ve kromozomlarda oluşan yapısal değişimlerin belirlenmesi gibi pek çok amaca yönelik olarak kullanılmaktadır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Günümüzde pek çok farklı genetik markır sistemi kullanılmaktadır. Araştırmada kullanılacak olan markır sisteminin seçimi, tamamen çalışmanın amacına bağlı olmanın yanı sıra, bir markır sisteminin sahip olması gereken bazı özellikler de göz önünde bulundurulmaktadır. Bunlar güvenilirlik, bilgi verici özellikte olma, yüksek polimorfizm gösterme, tekrarlanabilirlik, fenotip üzerinde olumsuz etkisi olmama, kolay elde edilebilir olma, Mendell tipi kalıtım gösterme, genom üzerinde sık bulunma, kullanım kolaylığı ve hızı, otomasyona uygunluk, genetik haritalama çalışmalarına uygunluk, sistemin kuruluş ve uygulama maliyeti gibi özelliklerdir.

Genetik markırlar morfolojik markırlar, protein markırları ve DNA markırları olmak üzere üç gruba ayrılarak incelenebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

2.5.1. Morfolojik Markırlar

Tek bir lokus tarafından kontrol edilen morfolojik özellikler, eğer buldukları çevrede ekspresyonları tekrarlanıyorsa bir genetik markır olarak kullanılabilir. Morfolojik markırlar çiçek rengi, tohum şekli, pigmentasyon gibi görülebilir fenotipik karakterleri kapsamaktadır. Dominant özellik gösteren markırlardır. Analizlerinin kolay olması en büyük avantajları iken, sayılarının az olması, çevresel şartlardan ya da bitkinin içinde bulunduğu gelişme sürecinden ve diğer lokuslardan etkilenmeleri, kullanımlarını ve güvenilirliklerini etkileyen dezavantajlardır (Winter and Kahl, 1995).

2.5.2. Protein Markırları

Protein markırları enzimler ve enzim olmayan proteinler (gliadin ve glutenin gibi depo proteinleri) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Depo proteinleri, bir jel üzerinde yürütölüp boyandıklarında, farklı genotiplerde ortaya çıkan yapı farklılıkları kolaylıkla belirlenebilmekte ve bu özellik genetik markır olarak kullanılabilir. Analizleri çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir özelliktedir; ancak sayılarının az olması nedeniyle geniş bir kullanım alanı bulamamaktadır.

İzozimler, farklı genler ya da aynı genin farklı allelleri tarafından kodlanan enzimlerdir. İzozimler kinetikleri, substrat ilgileri, alt üniteleri, amino asit dizileri ve sayıları bakımından farklılık göstermektedir. Bu sayede izozimlerin birbirinden ayırt edilebilmeleri için elektroforez tekniği kullanılmaktadır. Proteinler taşıdıkları yük ve kütlelerinin oranına göre jelde farklı hızlarda hareket etmektedir. Elektroforez sonrasında ilgili proteine ait seçici boyama teknikleri kullanılarak, proteinin jel içinde bulunduğu pozisyon belirlenebilmekte ve bu pozisyona göre farklı alleller tanımlanabilmektedir. Kodominant özellikteki markırlardır.

Enzim markırlarının temel avantajları analizlerinin çabuk, ucuz ve güvenilir olmasıdır. Çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmemektedirler. Sayılarının çok az olması ve post-translasyonel modifikasyonlardan etkilenmeleri nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Ayrıca bazı izozimlerin ancak özel dokularda ve belli bir gelişme döneminde gözlenebilir olması, dezavantajları arasında yer almaktadır (Staub et al., 1996).

2.5. 3. DNA Markırları

Farklı genotiplere ait DNA'ların dizi farklılıklarını çeşitli şekillerde ortaya koyan markırlardır. DNA markırları, DNA'nın aktif bölgelerinden veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilir. Çevreden, diğer lokuslardan veya bitkinin gelişme sürecinden etkilenmemeleri, sayılarının çok olması ve güvenilirliklerinin yüksek olması nedeniyle çok geniş bir kullanım alanına sahiptir.

DNA markırları, hibridizasyon ve PCR tekniğine dayanan markırlar olmak üzere sınıflandırılır. İlk moleküler markır kuşağı olan RFLP (restriksiyon parça uzunluk

polimorfizmleri), DNA–DNA hibridizasyonu temeline dayanan, yavaş ve yüksek maliyetli olan bir tekniktir. DNA parçalarını çoğaltmaya yarayan polimeraz zincir reaksiyonunun keşfi ile daha hızlı ve daha düşük maliyetli olan, PCR yöntemine dayalı ikinci kuşak moleküler markırların oluşturulması sağlanmıştır. PCR yöntemine dayanan markır tekniklerinde, rasgele oligonükleotid primerlerin kullanılmaya başlanmasıyla birlikte, daha önceden karakterize edilmemiş olan genomlarla çalışabilmek kolaylaşmıştır. Aşağıda bazı markır sistemlerinden ayrıntılı olarak bahsedilmiştir.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP, genomik DNA'nın özgül restriksiyon endonükleazlar ile kesilmesiyle oluşturulmuş DNA parçalarının uzunluklarındaki farklılıklardır. Restriksiyon enzimlerini keşfeden Hamilton Smith ve Daniel Nathans, 1978 yılında Nobel tıp ödülünü almıştır. Bu enzimlerin keşfi, yeni genetik markırların temelini oluşturmuştur. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizminden, ilk olarak 1980'lerde insan genom çalışmaları için yararlanılmış olup, daha sonra bitkilere uygulanmaya başlanmıştır. Linkaj ve genetik akrabalığın belirlenmesi çalışmalarında özellikle bu yöntem kullanılmıştır.

RFLP analizinde, izole edilmiş genomik DNA restriksiyon enzimleri ile kesilir. Oluşan DNA fragmentleri elektroforeze tabi tutularak, büyüklüklerine göre jelde ayrılmaları sağlanır. DNA fragmentleri, Southern transfer metoduyla jel ortamından naylon filtrelere tek iplikli olarak transfer edilir. Filtre üzerindeki fragmentlerle, çeşitli biçimlerde işaretlenmiş ve tek iplik haline getirilmiş prob DNA hibridize edilir. RFLP tekniği ile prob DNA'nın temsil ettiği lokusun analizi yapılır. RFLP probu olarak, genellikle 200–2000 bp uzunluğunda DNA parçaları kullanılır. Prob DNA'nın en önemli özelliği genomda az sayıda kopyasının bulunmasıdır. Genomdaki tekrar dizilerini içeren DNA problemleri kullanılması durumunda, membran üzerinde prob pek çok yere yapışacak ve analiz yapmak imkânsız olacaktır. Pratikte RFLP probu olarak cDNA'lar kullanılır.

Polimorfizm yaygın olarak enzimin tanıdığı iki kesim bölgesi arasındaki insersiyon ya da delesyonlardan kaynaklanır.

RFLP markırlarının en önemli avantajlarından biri, bu yöntemle elde edilen verilerin farklı türler, cinsler ve hatta familyalar arasında kullanılabilir olmasıdır. Böylece, bir bitki türünde bir RFLP markırı bir kez haritalandığında, diğer akraba türlerde de bu haritalama bölgesinde bir markır bulunma potansiyeli olacaktır. Güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar veren bir teknik olmasına karşın, pek çok dezavantajı bulunmaktadır. RFLP markırları kodominant markırlardır, orta düzeyde polimorfizm gösterirler ve analizleri için radyoaktivite gerekmektedir. Oldukça pahalı bir yöntem olmasının yanında, fazla zaman ve iş gücü gerektirir. En önemli dezavantajı ise çok miktarda ve yüksek kalitede DNA gerektirmesidir (IAEA, 2002).

STS (Sequence Tagged Sites)

STS tekniği RFLP güvenilirliğini ve PCR kolaylığını bir araya getiren bir tekniktir. Nükleotid dizisi bilinen, az kopyalı RFLP problemlerinden 18–24 bp'lik primerler geliştirilerek probun temsil ettiği bölgenin amplifikasyonu yapılmaktadır. Polimorfizm genellikle amplifikasyon ürünleri arasındaki büyüklük farkına göre belirlenmektedir. Ancak seçilen primerlerin kopya sayılarının az olması ve genomlar arasında yüksek oranda korunmuş olmalarından ötürü, genellikle orta düzeyde polimorfizm gözlenebilmektedir. Ürünler arasında büyüklük farkının gözlenmediği durumlarda restriksiyon enzimleri kullanılarak polimorfizm saptanabilmektedir (Talbert et al., 1994). Kullanımı RFLP'ye göre daha kolay, ucuz ve hızlıdır. Az miktarda başlangıç materyali gerektirir, otomasyona uygundur ve primer seçimine bağlı olmakla birlikte haritalar arası transferi mümkündür. İlgili bölgeye ait dizi bilgisine ihtiyaç duyulması ve polimorfizm oranının orta seviyede olması tekniğin en önemli dezavantajlarından biridir (Walton, 1993).

EST (Expressed Sequence Tags)

İlk kez Adams et al. (1991) tarafından tanımlanan yöntemde rasgele cDNA kopyalarının bölgesel dizi analizi yapılmaktadır. Haritalama ve genom dizileme çalışmaları için de uygun bir yöntemdir. cDNA'lar mRNA'lardan elde edildikleri için belirli şartlarda ya da gelişimin farklı aşamalarında ifade edilen genlerin incelenmesine olanak sağlar.

SNP (Single Nucleotide Polymorphisms)

SNP'ler en yaygın olarak görülen DNA polimorfizmleridir. İnsanlarda yaklaşık üç milyon SNP olduğu bilinmektedir (Russell, 2001), buğday genomunda bu sayı her 1/370 bç ile 1/540 bç arasındadır (Procunier et al., 2003; Somers et al., 2003). Bazı popülasyon ya da popülasyonlardaki normal bireylerde bulunan ve genomik DNA üzerinde farklı dizi alternatifleri (allel) olarak tanımlanan tek nükleotid değişiklikleridir. Bu allel frekansının dağılımı en az %1 ve daha büyüktür (Brookes, 1999). Bazı araştırmacılar tek nükleotid substitüsyonlarını yaygın olarak SNP adı altında sınıflandırsa da, SNP'ler tek nükleotid insersiyon ya da delesyonları değildir.

Teorik olarak her bir nükleotid pozisyonunda dört allel (dört farklı nükleotid olduğu için) bulunabilir; ancak pratikte kural olarak sadece iki allel bulunabilir (Brookes, 1999). Başka bir deyişle SNP markırları, eşit olmayan (unequal) nükleotid transisyon ($A \leftrightarrow G$, $T \leftrightarrow C$) ve transversiyonları ($A \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow T$, $G \leftrightarrow C$, $G \leftrightarrow T$) olarak tanımlanan biallelik markırlardır. Multiallelik markırların aksine biallelik olan SNP markırları tamamen otomatize edilebilir ve DNA'nın mikroarraylere uygulanması ile aynı anda birkaç bin SNP analizi yapılabilir. Modern tekniklerin kullanılmasıyla, SNP analizlerinin etkinliği diğer DNA analiz yöntemlerine göre birkaç misli artırılmış olur (Khlestkina and Salina, 2006).

SSR (Simple Sequence Repeats)

Mantar, bitki, hayvan ve insan genomu gibi ökaryotik genomlar boyunca ardışık olarak tekrarlanan, 2–6 nükleotidlik, yüksek varyasyona sahip DNA dizileridir. Basit tekrarların çoğunluğu kodlayıcı olmayan DNA bölgelerinde, ayrıca genler arası bölgelerde ve intronlarda da bulunur. Genetik markır olarak kullanılan mikrosatellitler genellikle bu gruptadır ve nötral evrim geçirdikleri düşünülmektedir.

Mikrosatellit dizileri ve genomda bulunma sıklıkları organizmadan organizmaya göre farklılık göstermektedir (Lagercrantz et al., 1993, Gupta et al., 1996). Örneğin insan genomu, bitki genomunun 10 katı kadar fazla mikrosatellit içermektedir (Powell et al., 1996). (AC) n ve (GA) n dizileri, çeşitli tahıl türleri arasında sık olarak bulunan ikili nükleotid tekrarlarıdır. Wang et al. (1994)'ün 54 bitki üzerinde yapmış

olduğu çalışmaya göre, en sık olarak (AT)_n dizisine rastlanmış olup, bunu (A)_n, (AG)_n, (AAT)_n, (AAC)_n, (AGC)_n, (AAG)_n, (AATT)_n, (AAAT)_n ve (AC)_n tekrarlarının izlediği tespit edilmiştir. Buğday genomunda ise (GA)_n ve (AC)_n ikili tekrarları sırasıyla en sık bulunan tekrarlardır.

Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olmakla birlikte, ardışık SSR tekrar sayısındaki farklılık nedeniyle PCR sonucunda farklı uzunlukta DNA parçaları ortaya çıkar. Bu tekrarlar, çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir. SSR'leri çevreleyen DNA dizileri primer olarak kullanılarak, PCR yöntemi ile bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir. Amplifikasyon sonucunda elde edilen farklı uzunluklardaki SSR allelleri, jel elektroforezi ile ayrılabilir, gümüş boyama ve otoradyografi gibi yöntemlerle görüntülenebilir.

SSR'ler yüksek oranda polimorfizm gösterdikleri için bitkilerde oldukça fazla bilgi verici özellik gösterirler. SSR'ler haritalama ve genotipleme araştırmalarında oldukça iyi çalışılmıştır. Kodominant olarak kalıtılmaları ve PCR ile kolaylıkla çoğaltılabilmeleri, kullanım oranlarını artırmaktadır. En önemli dezavantajları poliakrilamid jel elektroforezi gerektirmesi, markır geliştirmenin oldukça fazla iş gücü ve zaman isteyen zor ve pahalı bir işlem olmasıdır (IAEA, 2002).

ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)

Hedef dizilerinin arasındaki bölgeleri çoğaltmak için SSR primerlerini kullanan, PCR tekniğine dayanan bir yöntemdir. Birbirine yakın bulunan SSR'ler arasındaki DNA dizileri çoğaltılır ve ortaya çıkan fragmentlerin uzunlukları karşılaştırılır. İlk kez Zietkiewicz et al. (1994) tarafından tanımlanan teknikte, genomik DNA, 3' ucunda birkaç farklı baz içeren mikrosatellit markırları ile çoğaltılmaktadır. 3' ucunda iki, üç, dört veya beş bazın çeşitli birleşimlerine bağlı olarak çok sayıda (ör; $3^3 = 27$, $4^4 = 256$) ISSR markırı elde etmek mümkündür. Çoğunlukla dominant markırlardır. Yüksek polimorfizm göstermeleri, güvenilir olmaları ve otomasyona uygunlukları nedeniyle oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms)

AFLP tekniği, PCR ve RFLP tekniklerinin temel prensiplerine dayanır (Vos et al. 1995). Özellikle birbiriyle yakından ilişkili genotipler arasındaki polimorfizmin belirlenmesinde etkili olarak kullanılmaktadır (Saiki et al., 1988, Ehrlich et al., 1991).

Total genomik DNA, birisi sık diğerı nadir kesen bir çift restriksiyon enzimi ile kesilir. Ortaya çıkan farklı uzunlukta ve dizisi bilinmeyen DNA fragmentlerinin uçlarına, dizisi bilinen adaptörler takılır. Ortama koyulan adaptörlere komplementer olan işaretlenmiş primerler, restriksiyon fragmentlerini çoğaltmak için kullanılır. PCR ile çoğaltılmış olan parçalar daha sonra elektroforez ile birbirlerinden ayrılarak, bant şemaları değerlendirilir.

Pek çok enzim ve primer AFLP parmak izi kompleksliğini çalışmalara uygun hale getirebilir. Bu yüzden ayırt edici özellikte primer seçimine dikkat edilmelidir.

Tekniğin polimorfizm oranı çok yüksektir. RAPD kadar olmasa da RFLP'den daha hızlıdır. Masraf, iş gücü gereksinimi ve güvenilirliği bakımından RAPD ile RFLP arasında yer almaktadır. Çok sayıda lokusu aynı anda ve etkili bir şekilde taraması, genom kaynağına ait dizi bilgisine ihtiyaç duymaması nedeniyle parmakizi analizine çok uygundur. Önemli dezavantajları; fazla miktarda DNA gereksinmesi, dominant bir markır olması, uygulamadaki zorluğu ve farklı genetik haritalar arasındaki transfer güçlüğüdür.

rDNA-ITS (Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacers)

rDNA, ökaryotlarda çekirdekçik düzenleme bölgesi (Nucleolar Organizer Regions=NORs) olarak bilinen kromozomal bölgelerde ardışık sıralı tekrarlar halinde bulunan çoklu gen ailesidir. Her bir tekrar unitesi küçük (18S) ve büyük (28S) rRNA alt ünitelerini kodlayan genlerden oluşur. 5.8 S rRNA genleri bu genler arasında yer alır ve sırasıyla ITS 1 (internal transcribed spacer) ve ITS 2 dizileri ile genlerden ayrılır. rDNA multigen ailesinden taksonomi ve moleküler filogeni çalışmalarında yararlanılmaktadır. 18S ve 28S alt ünitelerinde bulunan korunmuş diziler evrimsel açıdan oldukça bilgi verici özelliktedir. En küçük alt birim olan 5.8S alt birimi ise filogenetik olarak güvenilir bilgi sağlayamayacak kadar kısadır. Daha

hızlı evrimleşen ITS dizileri korunmuş dizilere kıyasla tür-içi ve türlerarası çalışmalarda daha bilgi vericidir. ITS'ler biparantel kalıtım gösterirler, kodominantlıklar ve yüksek derecede varyasyon göstermektedirler. Etrafındaki korunmuş bölgeler esas alınarak tasarlanmış evrensel primerler kullanılarak ya da diğer moleküler teknikler yardımıyla ITS bölgelerindeki varyasyonlar belirlenebilir (Bayer et al., 1996).

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)

RAPD, rasgele nükleotid dizisine sahip kısa oligonükleotid primerleri kullanılarak, herhangi bir DNA parçasını, nükleotid dizi bilgisine ihtiyaç duymadan amplifiye edebilen, PCR temeline dayalı bir DNA markır sistemidir. İlk kez Welsh ve McClelland (1990) tarafından tanımlanmıştır.

Standart PCR'da ilk olarak, analiz edilecek olan DNA bölgesinin dizisi belirlenir. Daha sonra hedef DNA dizisi içerisinde yer alan, ona komplementer olarak sentezlenmiş iki adet spesifik primer (18–25 bç uzunluğunda), amplifikasyon reaksiyonunu başlatmak üzere kullanılır. Buna karşılık RAPD–PCR metodunda rasgele dizilimde, ortalama PCR reaksiyonlarından daha düşük bağlanma sıcaklığına sahip, tek ve kısa bir primer (6–10 bç uzunluğunda) kullanılır. Primer, DNA'nın karşılıklı zincirleri üzerinde komplementer olduğu bölgelere bağlanır ve amplifikasyon için birbirine uygun mesafede bulunanlar arasındaki (birkaç bin baz çifti aralığında) genom bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleşir. Kullanılan rasgele dizilimli primerler, tüm genom boyunca komplementer oldukları bölgelere bağlanabildiklerinden, belirli bir DNA bölgesi değil, genom boyunca birçok lokusun amplifikasyonu gerçekleşmiş olur. Reaksiyon ürünleri, agaroz jel elektroforeziyle, radyoaktif izotoplar kullanılmasına gerek kalmadan, etidyum bromür ile boyanarak analiz edilebilir. Polimorfizm, ilgili bantların bireylerde “var” ya da “yok” olma durumlarına göre belirlenir. Tekniğin en büyük avantajı, analiz edilecek olan genomik DNA'nın dizi bilgisine ihtiyaç duymamasıdır. Kısa oligonükleotidlerin spesifik koşullar altında farklı birçok genomdan tekrarlanabilir amplifikasyonlar gerçekleştirebilmesi mümkün olduğundan, hemen hemen tüm organizmalardan nanogram düzeyinde genomik DNA kullanarak polimorfizmleri doğrudan belirleyecek evrensel primer panelleri oluşturmak mümkündür (Bowditch et al., 1993; Williams et al., 1993).

RAPD primerleri rasgele diziye sahip olmasına karşılık, GC içeriği %60–70 olacak şekilde tasarlanmış primerlerin kullanılması tercih edilmektedir. RAPD primerlerinin yüksek G–C içeriği, düşük bağlanma sıcaklığından kaynaklanabilecek özgül olmayan bağlanmaları önlemektedir. Meydana gelecek bant görüntüleri bitki genomundaki mevcut G–C içeriği ile doğru orantılı olacaktır. Oluşacak PCR ürününün toplam sayısı kalıp genomunun büyüklüğüne bağlı olarak da değişecektir.

DNA'lar arasındaki RAPD polimorfizmi, primer bölgeleri arasında sekonder yapıların oluşmasından, bir primer bağlanma bölgesi oluşturan ya da bağlanma bölgesini ortadan kaldıran baz substitüsyonlarından, primer bağlanma bölgesinde ya da primer bağlanma bölgeleri arasındaki insersiyon, delesyon ya da inversiyonlardan kaynaklanabilmektedir. RAPD–PCR tekniği, potansiyel olarak tüm mutasyon türlerini tespit edebilmesine rağmen, çoğu mutasyonların temelini substitüsyonların oluşturduğu düşünülmektedir. Williams ve arkadaşlarının (1993) yapmış olduğu çalışmada, özellikle primerin 3' ucunda meydana gelen substitüsyonların, oluşan bant görüntülerinin değişmesinde daha etkili olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde bu durum, DNA dizisinin değiştiği durumlar için de geçerlidir. Ortaya çıkan farklı boylardaki RAPD fragmentlerinin yanı sıra, oluşan bant yoğunlukları arasında da polimorfizm görülmektedir. Bunun sebebinin, primere ait dizinin genomdaki kopya sayısının az olması, heterozigotluk, PCR ürünleri arasındaki rekabet ve yanlış bağlanmalar olabileceği düşünülmektedir (Adams and Demeke, 1993; Venugopal et al., 1993; Williams et al., 1993; Lorenz and Börner, 1994; Dowling et al., 1996). Bowditch ve arkadaşları (1993), tekniğin sadece primer bağlanma bölgeleri ile sınırlı kalmayıp, bunun dışında kalan bölgelerdeki mutasyonları da belirleyebildiğini ve bunun da RAPD polimorfizminin yüksek olmasını açıklamaya yardımcı sebeplerden biri olarak ileri sürmektedir.

RAPD markırları birçok amaçla kullanılmaktadır. Genetik haritaların oluşturulması, tohumların test edilmesi, varyasyon/hat tanımlanması, markır yardımcı seçilim ve bitki ıslahı çalışmaları kullanım alanlarından bazılarıdır. RAPD tekniğinin avantajları arasında çalışılacak olan organizmaya ait biyokimyasal ya da DNA dizi bilgisine ihtiyaç duyulmaması, çok sayıda lokusun kısa sürede analiz edilmesi, ucuz olması, az iş gücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kalitede DNA'ya ihtiyaç duyması gelmektedir. Ayrıca polimorfizm oranı çok yüksektir. Bu

özellikleriyle teknik otomasyona uygundur. Ancak tekniğin bazı dezavantajları vardır. Farklı laboratuvarlarda, farklı araştırmacılar tarafından ve hatta farklı PCR cihazlarında elde edilen sonuçlar birbirinden farklı olabilmektedir. Ancak bu dezavantajlar koşulların çok iyi optimize edilmesi ile aşılabilmektedir. Sistemin diğer bir dezavantajı da dominant bir markır sistemi olmasıdır.

DAF (DNA Amplification Fingerprinting)

DAF ve AP-PCR teknikleri prensip olarak RAPD-PCR tekniğine benzemekle birlikte, deneysel bakımdan çeşitli farklılıklar göstermektedir.

DAF tekniği ilk kez Caetano-Anolle's ve arkadaşları (1991) tarafından tanımlanmıştır. Bu teknikte 5-8 baz uzunluğunda, tek bir rasgele primer kullanılır. Sistem, PCR koşullarının çok iyi optimize edilmesini gerektirir. Oluşan PCR ürünleri poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılır ve gümüş boyama yöntemi kullanılarak analiz edilebilir.

AP-PCR (Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction)

Primerler 10-50 baz çifti uzunluğundadır. Reaksiyonlar çok sıkı olmayan bağlanma sıcaklığı koşullarında gerçekleştirilir. Reaksiyon ürünleri poliakrilamid jel elektroforezi ile otoradyografisi alınarak analiz edilir (Welsh et al., 1991).

SCAR (Sequence Characterized Amplified Region)

RAPD markırları özgül ve daha uzun primerler tasarlanmasıyla SCAR markırlarına dönüştürülmektedir (Paran and Michelmore, 1993). İlgilenilen bir özelliğe ait olan RAPD fragmenti klonlanıp dizisi belirlendikten sonra, yaklaşık 24 nükleotidlik primerler kullanılarak, RAPD markırları SCAR markırlarına dönüştürülür. RAPD primerlerinden daha uzun primer kullanılması, sistemin etkinliğini ve güvenilirliğini artırmaktadır. SCAR markırları dominant markırlardır. Amplifikasyon öncesinde ya da sonrasında dört nükleotidlik tanıma bölgesi olan restriksiyon enzimleri ile kesim yapılarak kodominant markırlara dönüştürülebilirler.

CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence)

PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerindeki uzunluk polimorfizmleridir. Kodominant bir markır sistemidir. Primer dizaynı için gerekli olan dizi bilgisi bir gen bankasından, klonlanmış PCR ürünlerinden, genomik ya da cDNA klonlarından elde edilebilir (Konieczn and Ausubel, 1993; Jarvis et al., 1994).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Buğday Örneklerinin Eldesi

Araştırma kapsamında, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış 8 adet *T. dicoccon* ve 11 adet *T. dicoccoides* buğdayı kullanılmıştır. Araştırma için gerekli olan buğdaylar T.C. Tarım Bakanlığı'na bağlı, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Buğday türlerine ait kayıt numaraları, toplandıkları il, toplama yeri ve yükseltisine ait bilgiler Tablo 3.1' de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan buğday örneklerine ait bilgiler

“	KAYIT NO	TÜR ADI	İLİ	TOPLAMA YERİ	YÜKSELTİ (m)
1	TUR 02443	<i>T. dicoccon</i>	Sinop	Durağan Kösedik K Çamlıcam (Mehmet Gelil Ambarı)	1150
2	TUR 02453	<i>T. dicoccon</i>	Sinop	Durağan Gölyeri K (İsmet Topal Ambarı)	1200
3	TUR 02456	<i>T. dicoccon</i>	Sinop	Durağan Beyardıç K (Satılmış Meriç Ambarı)	1000
4	TUR 02637	<i>T. dicoccoides</i>	Şanlıurfa	Cyp.Tim.Y.Evcimen Vadi Kayalıkları	480
5	TUR 03346	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Gömmetaş'ın 2 Km S Kaşıkçı Köyü	850
6	TUR 03358	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	750
7	TUR 03362	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	1140
8	TUR 03369	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	1080
9	TUR 03371	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	1050
10	TUR 03376	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	1080
11	TUR 03388	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	810
12	TUR 03391	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ	930
13	TUR 03399	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ radar yolu	1500
14	TUR 03402	<i>T. dicoccoides</i>	Diyarbakır	Karacadağ Karlı Köy	990
15	TUR 03558	<i>T. dicoccon</i>	Sinop	Durağan Sarıkadı K (Ahmet Ermiş Ambarı)	1100
16	TUR 03560	<i>T. dicoccon</i>	Kastamonu	Merkez ilçe	800
17	TUR 03562	<i>T. dicoccon</i>	Karabük	Karabük–Ovacık– Gümüşler Mah.	1020
18	TUR 03564	<i>T. dicoccon</i>	Kastamonu	Kastamonu–Araç– Beytüre Yaylası	1050
19	TUR 03565	<i>T. dicoccon</i>	Sinop	Durağan Sarıyar K (Osman Okutucu Ambarı)	1050

3.2. Genomik DNA İzolasyonu

Araştırmada kullanılan buğday tohumları, laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında, strafom kaplar içerisinde (15x10x2 cm), bahçe toprağı kullanılarak çimlendirildi. Kayıt numaralarına göre tohumlar ayrı kapların içerisinde ekildi ve su ihtiyacına bağlı olarak günde bir ya da iki kez sulandı. Buğdaylar 14 gün boyunca yetiştirildikten sonra (~15 cm boyunda), her bir kabın içerisindeki 10 bireye ait yaklaşık 500 mg yaş yaprak dokusu alınıp genomik DNA izolasyonu için kullanıldı. Kullanılan DNA izolasyon yöntemi Hulbert ve Bennetzen (1991) 'den modifiye edilmiştir.

CTAB (hexadecyltrimethylamonium bromide) Mikroekstraksiyon Yöntemi İle Buğdaydan Genomik DNA İzolasyonu

- 1– Her bir strafom kap içerisinde çimlenen bireylerden, 500 mg buğday yaprağı bir makas yardımıyla kesilir. Yapraklar porselen havan içinde, distile su ile yıkanır ve kurutma havluları ile kurulanır.
- 2– Yaprakların üzerine sıvı azot dökülür ve yapraklar toz haline gelinceye kadar havaneli yardımıyla ezilir.
- 3– Toz haline gelmiş yapraklar 1,5 ml'lik ependorf tüplere alınır ve üzerine 750 µl CTAB'lı mikroekstraksiyon tamponu ve 4 µl 2–merkaptoetanol eklenir. Örnek ile tamponun iyice karışması sağlanır.
- 4– Örnekler 65 °C'deki su banyosunda yaklaşık 45 dakika bekletilir. 15 dakikada bir örnekler alt–üst edilerek tampon ile iyice karışması sağlanır.
- 5– Sıcak su banyosundan alınan örnekler oda sıcaklığına gelene kadar soğutulur. Üzerine 750 µl kloroform: izoamil alkol (24:1 oranında) eklenir ve iyice karışması sağlanır.
- 6– Ependorf tüpler içindeki örnekler 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.
- 7– Süpernatant yeni bir ependorf tübe alınır. Üzerine 750 µl etanol (% 100'lük, soğuk) ve 250 µl, 0,3 M sodyum–asetat çözeltisi eklenir. Bu aşamada presipite olan DNA, gözle görülebilir hale gelir pipet ucuna sarılarak yeni bir

ependorf tübe aktarılır. Alternatif olarak 10.000 rpm'de 30 sn kadar santrifüj edilerek DNA çöktürülür ve alkolün fazlası uzaklaştırılır.

- 8– DNA 200 µl TE tamponunda çözülür. Bu karışıma 20 µl RNase eklenir ve 37 °C'deki su banyosunda 3 saat bekletilir.
- 9– Örnek üzerine 250 µl fenol ve 250 µl kloroform eklenir. Birkaç kez alt–üst edilerek karıştırılır ve 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.
- 10– Yeni bir tübe alınan süpernatanın üzerine 600 µl etanol (%100, soğuk) eklenir ve DNA'nın çökmesi sağlanır.
- 11– Örnek tüpleri 13.000 rpm'de kısa süre santrifüj edilerek, alkolün fazlası uzaklaştırılır.
- 12– DNA pelletinin üzerine 400 µl soğuk %70'lik etanol eklenir. 13.000 rpm'de kısa süre santrifüj edilerek alkolün fazlası uzaklaştırılır.
- 13– DNA 100 µl TE tamponunda çözülür.
- 14– DNA örnekleri kullanıma kadar –20 °C'de saklanır.

2XCTAB Mikroekstraksiyon Tamponu, pH 7.5 (100 ml)

0.025 M	→ EDTA
2.175 M	→ NaCl
0.1 M	→ Tris
%2	→ CTAB

TE Tamponu (pH 7.5)

10 mM Tris–HCl
1 mM EDTA

İzolatlardaki DNA miktarları, Boehringer–Manheim marka DNA moleküler ağırlık markırı (λ DNA/Hind III, 0.75 µg/µl) kullanılarak saptanmıştır. Örnekler %1' lik agaroz jelde, 1 x TBE tamponu (100 mM Tris, 100 mM borik asit, 2 mM EDTA, pH 8,3) kullanılarak, elektroforeze tabi tutulmuş ve Sygene Gene Genius Bio Imaging

jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. PCR reaksiyonları için DNA örnekleri 25 ng/µl olacak şekilde sulandırılarak kullanılmıştır.

3.3. RAPD–PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), nükleik asidin belirli bir bölgesinin çoğaltılmasını sağlayan bir *in vitro* nükleik asit sentez yöntemidir. Bilim dünyasına sunulmasından itibaren PCR, hem araştırmalarda hem de klinik laboratuvar tanılarında yeni bir çığır açmıştır. PCR tekniği ABD’de Cetus Corporation’da çalışan Kary B. Mullis tarafından keşfedilmiştir (Mullis and Faloona, 1987). Bu buluşuyla Kary Mullis, 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü’nü almıştır.

Tipik bir PCR reaksiyonu, kalıp görevi yapacak olan bir nükleik asit (DNA/RNA), sıcaklığa dayanıklı bir DNA polimeraz (Taq DNA polimeraz), dört farklı deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP), magnezyum iyonu, oligonükleotid primerler ve uygun bir tampon içerir. Reaksiyonlar üç temel basamaktan oluşur:

Denatürasyon Basamağı: Nükleik asidin yüksek sıcaklıkta çift zincirli halden tek zincirli hale getirilmesi.

Primerlerin Bağlanması: Primerlerin denatüre edilmiş olan nükleik asidin karşılıklı zincirlerinde, komplementer oldukları bölgelere bağlanması.

Uzama: Taq DNA polimerazın, kalıp nükleik asit üzerine bağlanmış olan primerlerin 3’ uçlarına dNTP’leri ekleyerek bağlanma bölgeleri arasında zincir replikasyonunu gerçekleştirmesi.

Bu üç basamak bir PCR “döngüsü” adını almaktadır. PCR reaksiyonları bu tekrarlayan döngülerden oluşmaktadır. Her bir döngüde çoğaltılmak istenen DNA miktarı 2^n şeklinde artmaktadır (n= döngü sayısı). Bu sayede çok az miktardaki başlangıç materyaliyle çalışabilmek mümkün olmaktadır.

RAPD–PCR Reaksiyon Karışımı

Genomik DNA	: 2 µl (25ng/ µl)
Random primer	: 4 µl (50 ng/ µl)
MgCl ₂	: 5 µl (25mM/ µl)
dNTP karışımı	: 4 µl (2.5 mM/ µl)
Taq DNA Polimeraz	: 1,5 ünite
10XPCR tamponu	: 5 µl
Toplam hacim 50 µl'ye tamamlanmıştır.	

RAPD-PCR Reaksiyonlarında Kullanılan Primerler

RAPD–PCR deneylerinde Operon (A, F, K, O ve P serilerinden) ve UBC firmalarına ait 25 adet rasgele RAPD primeri kullanılmıştır. Primerlere ait diziler, Tm dereceleri ve %GC içerikleri Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. RAPD–PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerin dizileri, Tm dereceleri ve %GC oranları.

<u>PRİMER DİZİLERİ (5'-3')</u>	<u>Tm</u>	<u>%GC</u>
OPA 01– CAG GCC CTT C	34 °C	70
OPA 12– TCG GCG ATA G	32 °C	60
OPA 14– TCT GTG CTG G	32 °C	60
OPF 01– ACG GAT CCT G	32 °C	60
OPF 02– GAG GAT CCC T	32 °C	60
OPF 03– CCT GAT CAC C	32 °C	60
OPF 04– GGT GAT CAG G	32 °C	60
OPF 05– CCG AAT TCC C	32 °C	60
OPF 07– CCG ATA TCC C	32 °C	60
OPF 09– CCA AGC TTC C	32 °C	60
OPF 10– ACG GTA CCA G	32 °C	60
OPF 14– TGC TGC AGG T	32 °C	60
OPK 04– CCG CCC AAA C	34 °C	70
OPK 16– GAG CGT CGA	32 °C	60
OPO 02 – ACG TAG CGT C	32 °C	60
OPP 01– GTA GCA CTC C	32 °C	60
OPP 09– GTG GTC CGC A	34 °C	70
OPP 33– GTA AAA CGA CGG CCA GT	52 °C	52.9
OPP 123– GGG ATT CGA C	32 °C	60
OPP 232– CCG CTT GTT G	32 °C	60
OPP 394– CGA CTC CAA C	32 °C	60
OPP 437– CGG ATC GAC A	32 °C	60
UBC 285– GGG CGC CTA G	36 °C	80
UBC 493– CCG AAT CAC T	30 °C	50
UBC 546– CCC GCA GAG T	34 °C	70

RAPD–PCR Döngüsü:

<u>İşlem</u>	<u>Sıcaklık</u>	<u>Süre</u>
Ön denatürasyon	94°C	3 dk
Denatürasyon	94 °C	30 sn
Bağlanma	30–52 °C	1 dk
Uzama	72 °C	2 dk (Toplam 40 döngü)
Son uzama	72 °C	10 dk

RAPD–PCR reaksiyonlarının farklı laboratuvar koşullarında ve farklı cihazlarda aynı sonuçları verebilmesi; yani amplifikasyon sonuçlarının tekrarlanabilir olması, elde edilen verilerin güvenilirliği açısından oldukça önemlidir. Bunu sağlayabilmek için PCR koşullarının çok iyi optimize edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla her bir primere ait reaksiyonlar birkaç kez tekrar edilerek, deneyler için uygun olan koşullar belirlenmiş ve reaksiyonlar en az iki kez tekrar edilerek sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığını saptamak için, tüm PCR reaksiyonlarında negatif kontrol (genomik DNA hariç diğer bütün PCR bileşenlerini içeren reaksiyon tübü) kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 1,5' lik agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir. Bu amaçla her örneğe ait 15 µl PCR ürününe, 5 µl yükleme boyası (% 0,025 ksilen siyanol, % 0,025 brom fenol blue ve % 40 sükroz) eklenerek toplam 20 µl hacimdeki örnekler jele yülenmiştir. Yürütme tamponu olarak 1X TBE tamponu (100mM Tris, 100mM Borik asit, 2mM EDTA, pH 8.3) kullanılmıştır. Elektroforez 4 saat süreyle 90 V sabit voltaj uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi sonrasında agaroz jeller etidyum bromürle boyanarak, PCR ürünleri görünür hale getirilmiş ve Sygene Gene Genius Bio Imaging jel görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülenmiştir.

Görüntülenen agaroz jellerdeki PCR ürünlerine bakılarak, monomorfik (tüm örneklerde bulunan bantlar) ve polimorfik (bazı örneklerde bulunan bazılarında bulunmayan bantlar) bantlar tespit edilmiştir. İlk aşamada NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versiyon 2.10 (Rhoft, 2000) bilgisayar programında NT-edit versiyon 1.2f alt programı kullanılarak, polimorfik olan bantlar bilgisayara “var” (1) ya da “yok” (0) şeklinde girilmiştir. Böylece daha sonraki aşamalarda kullanılacak olan bant matrisleri oluşturulmuştur. Bir sonraki aşamada SIMQUAL (Similarity for Qualitative Data) alt programı kullanılarak örnekler arasındaki Dice eşitliğini temel alan benzerlik matrisleri (similarity index) oluşturulmuştur. Son aşamada SAHN (sequential, agglomerative, hierarchical and nested clustering) kümeleme alt programı içinde benzerlik matrislerini temel alan UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages= aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu) algoritması kullanılarak örneklere ait fenogramlar elde edilmiştir.

Benzerlik indeksi (SI)= $2N_{ab} / N_a + N_b$

N_{ab} : a örneği ile b örneği arasındaki ortak bantların sayısı

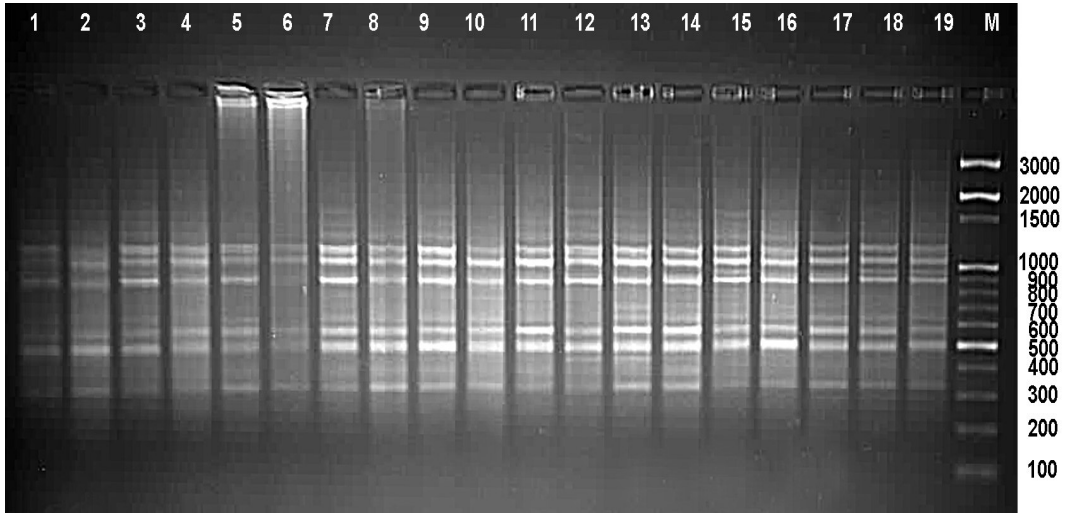
N_a : a örneğinde değerlendirilen bantların sayısı

N_b : b örneğinde değerlendirilen bantların sayısı

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

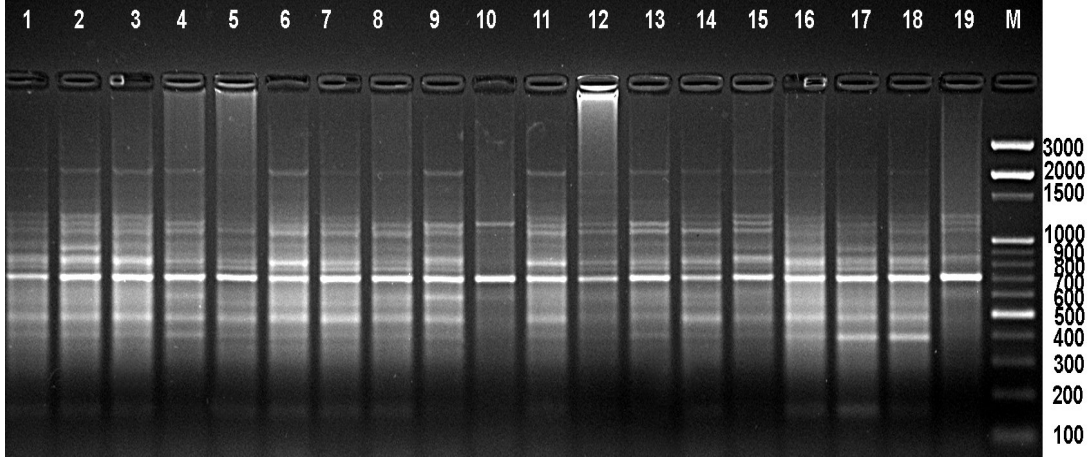
4.1. RAPD Markırlarının Elektroforez Sonuçları

Çalışma kapsamında 8 adet *T. dicoccon* ve 11 adet *T. dicoccoides* olmak üzere toplam 19 adet buğday örneği, 25 farklı RAPD primeri ile taranmıştır. Analizler sonucu elde edilen jel görüntüleri* (Şekil 4.1–4.25) ve primerlerden elde edilen bant karakteristikleri (Çizelge 4.1 ve 4.2) aşağıda sunulmuştur.

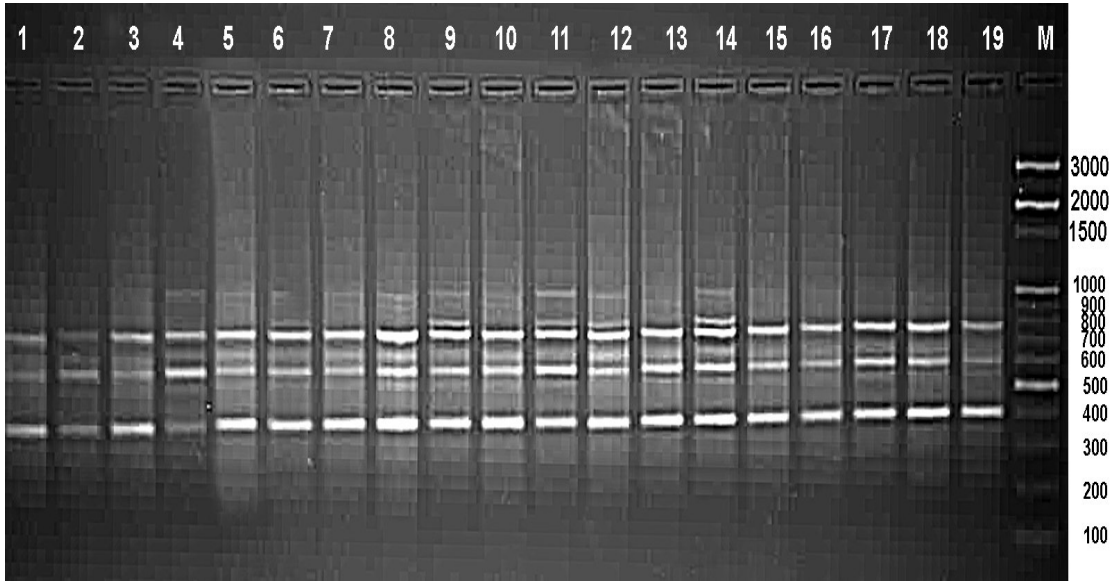


Şekil 4.1 OPF 02 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides* tir.

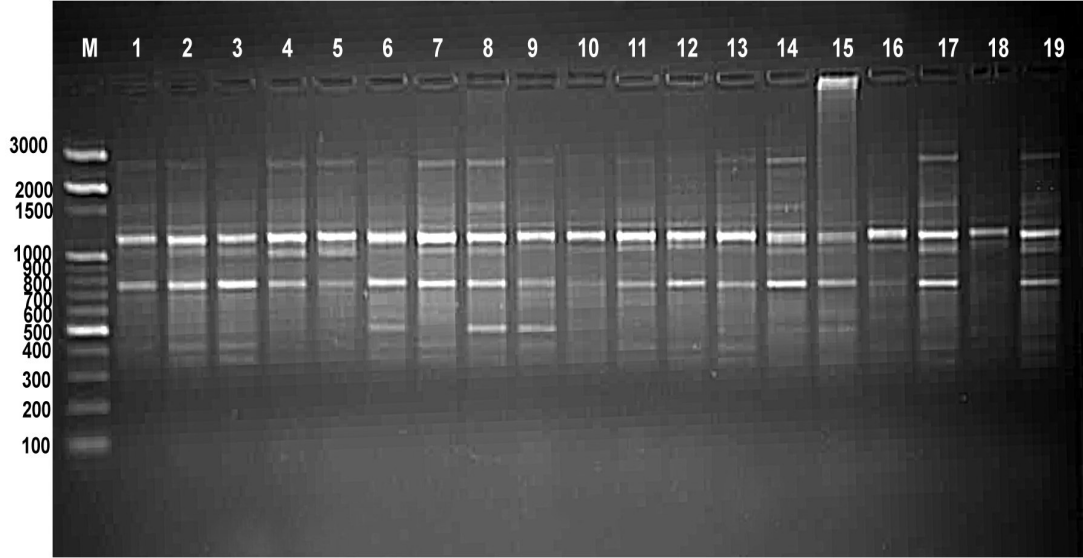
* Tüm jel görüntülerinde verilmiş olan numaralar Tablo 3.1'deki sırayı izlemektedir.



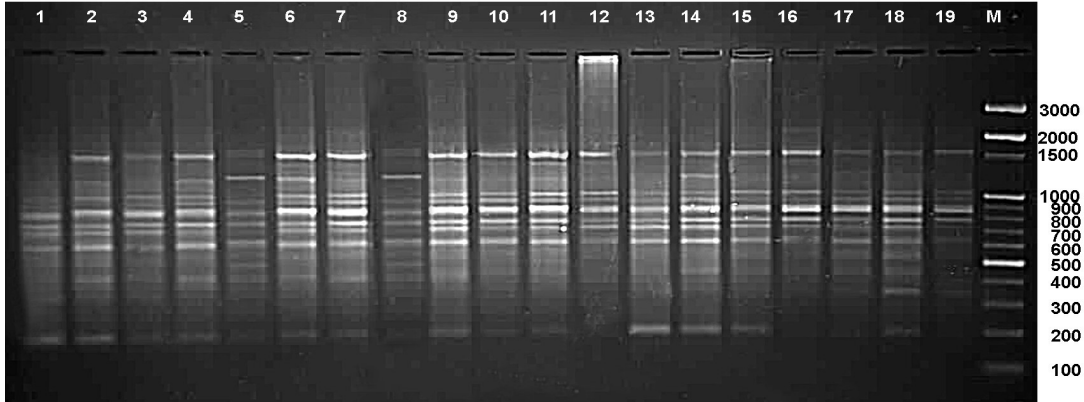
Şekil 4.2 OPF 03 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



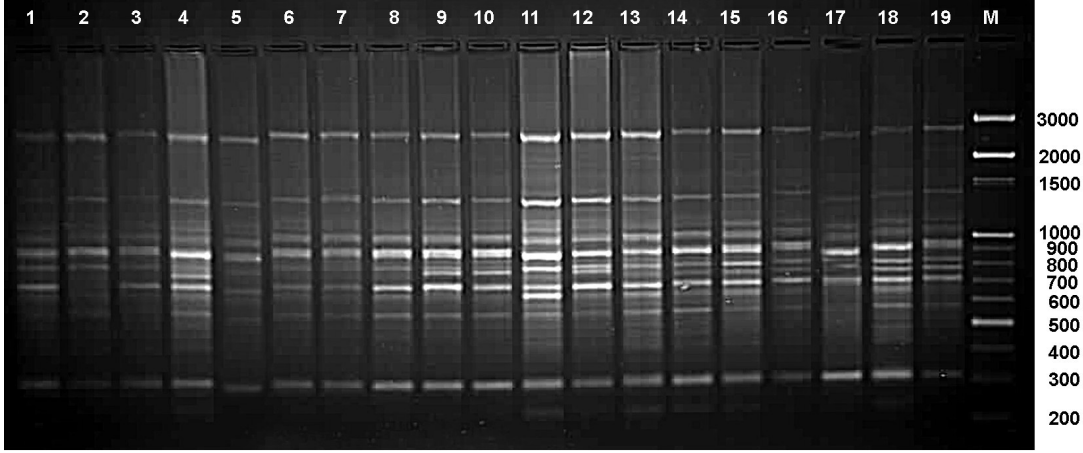
Şekil 4.3 OPF 04 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



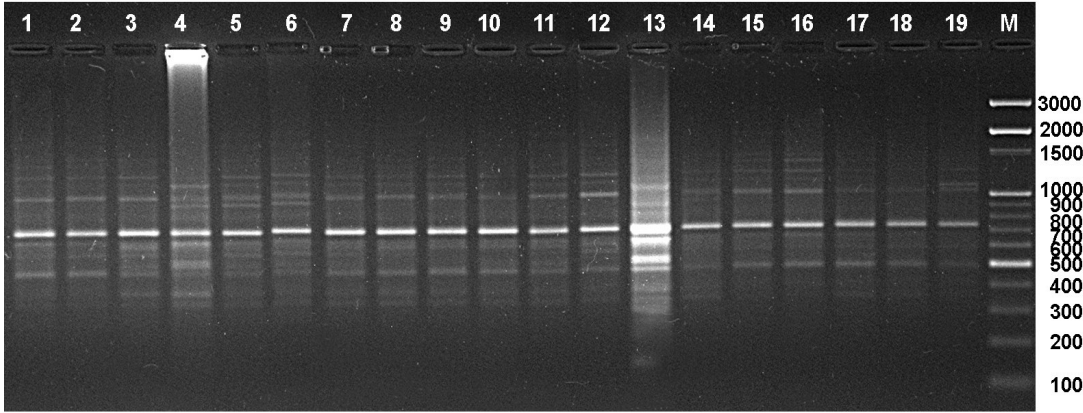
Şekil 4.4 OPF 05 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



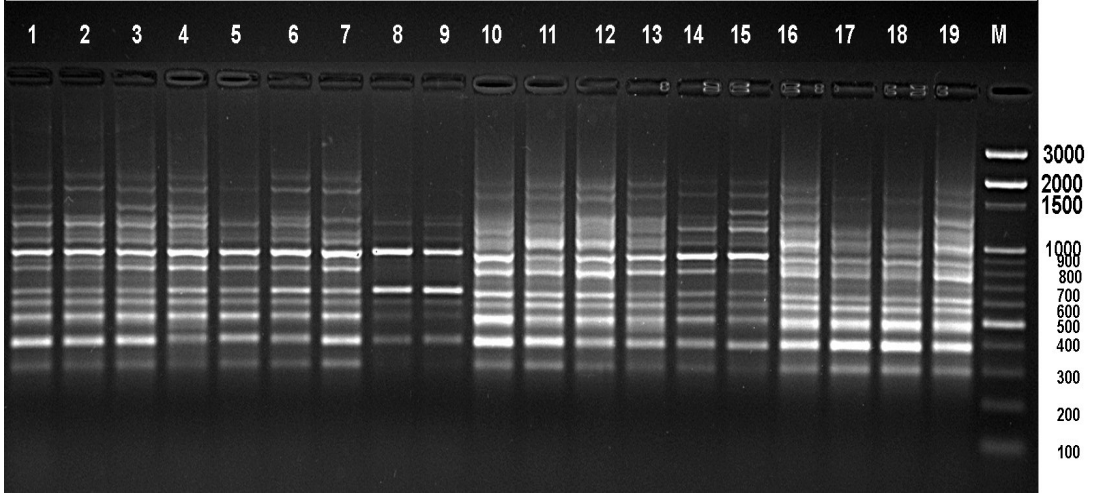
Şekil 4.5 OPF 07 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



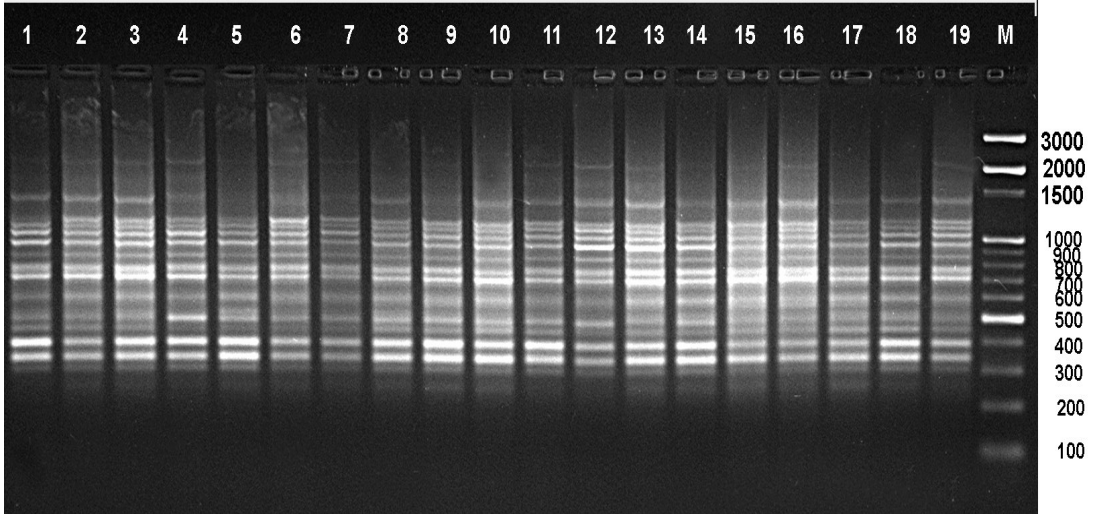
Şekil 4.6 OPF 09 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



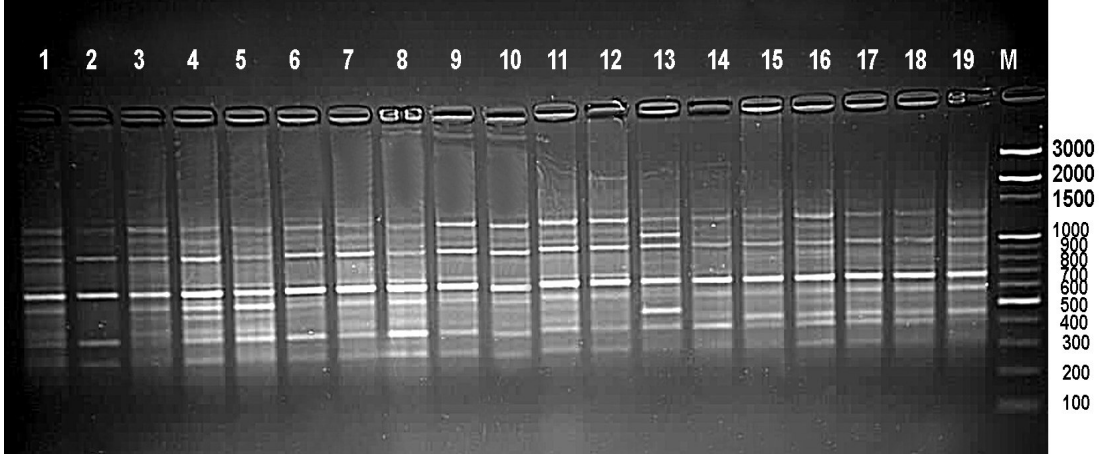
Şekil 4.7 OPK 04 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



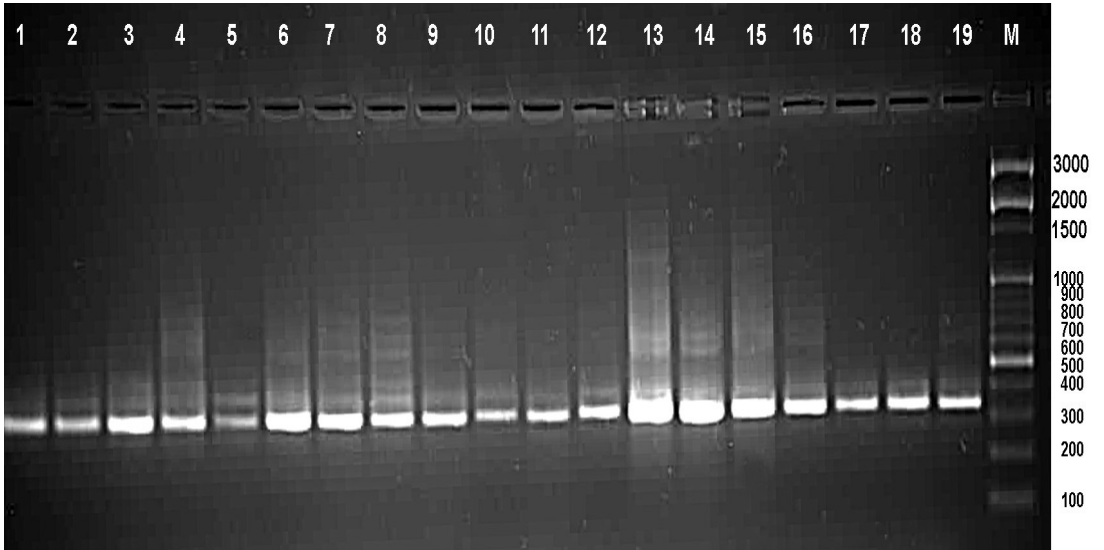
Şekil 4.8 OPK 16 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



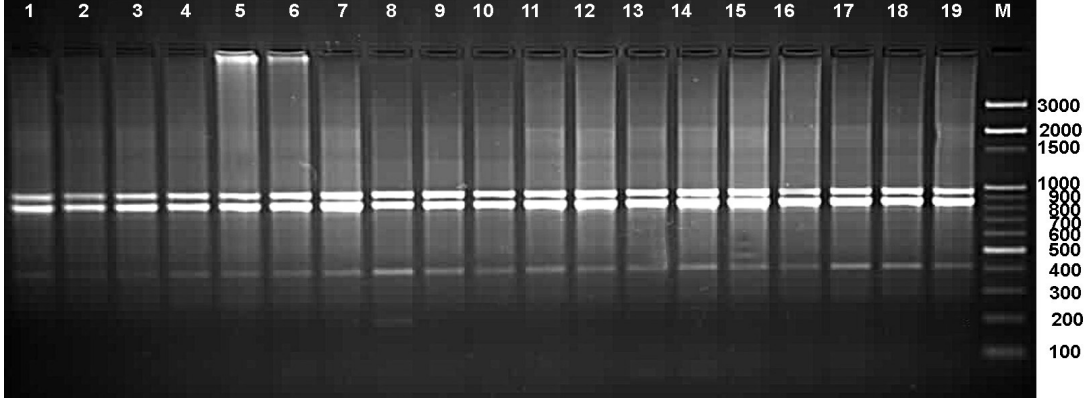
Şekil 4.9 OPA 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



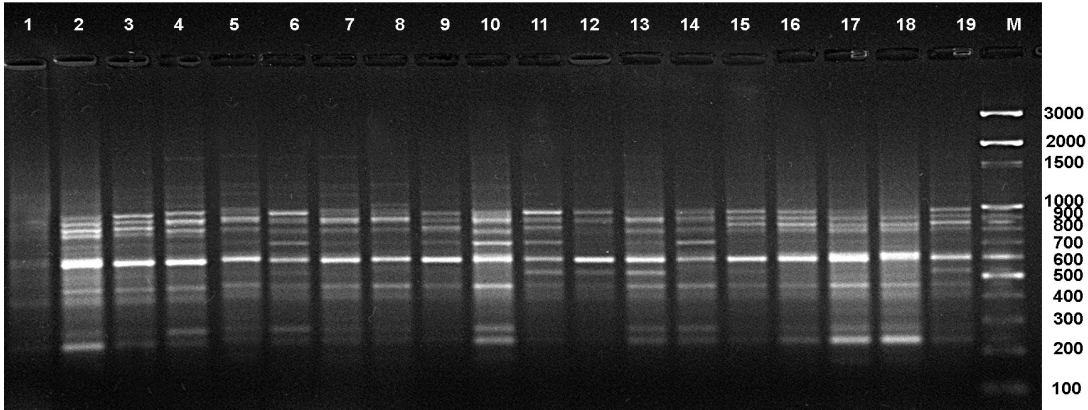
Şekil 4.10 OPA 14 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



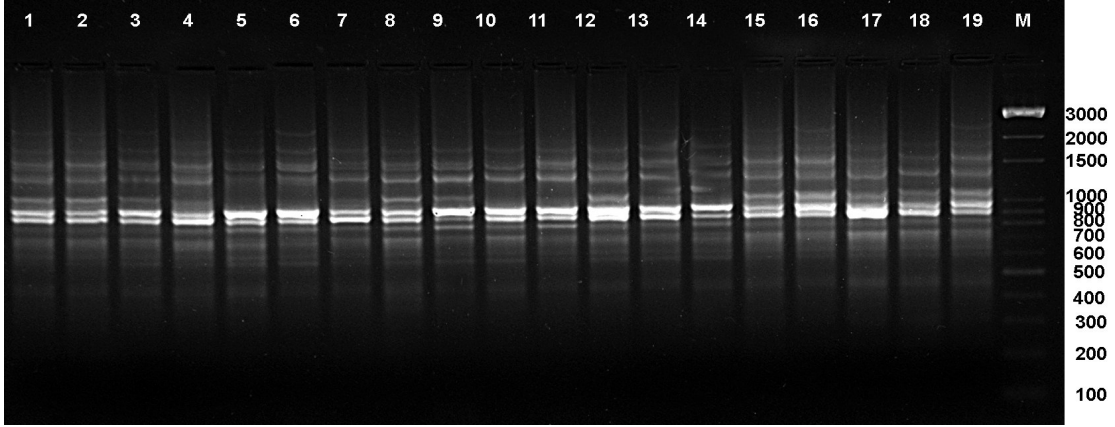
Şekil 4.11 OPF 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



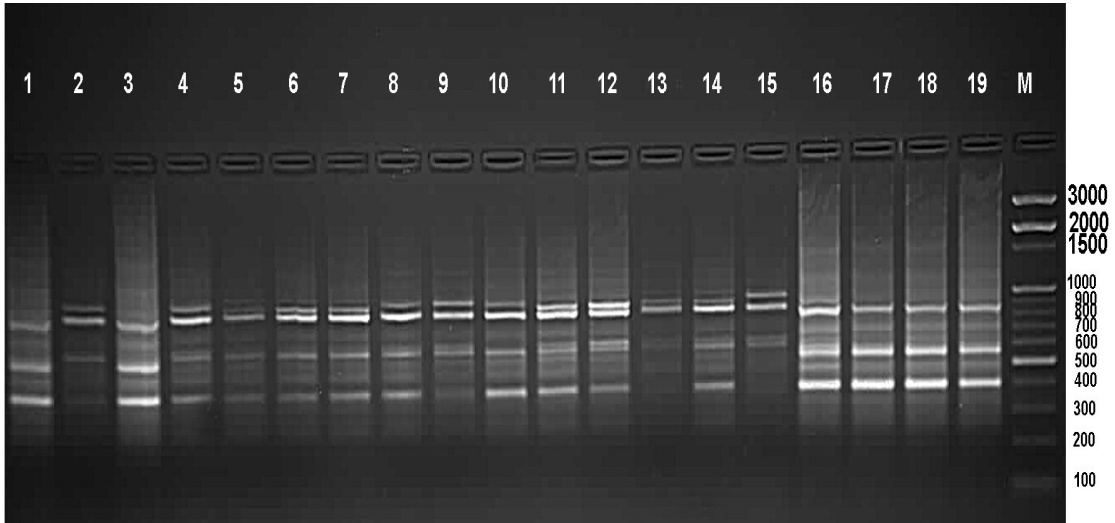
Şekil 4.12 OPF 10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides'tir*.



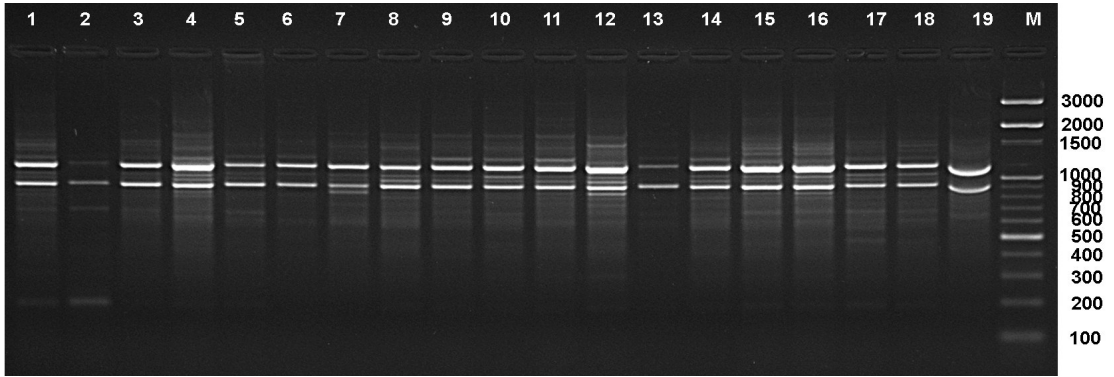
Şekil 4.13 OPP 01 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides'tir*.



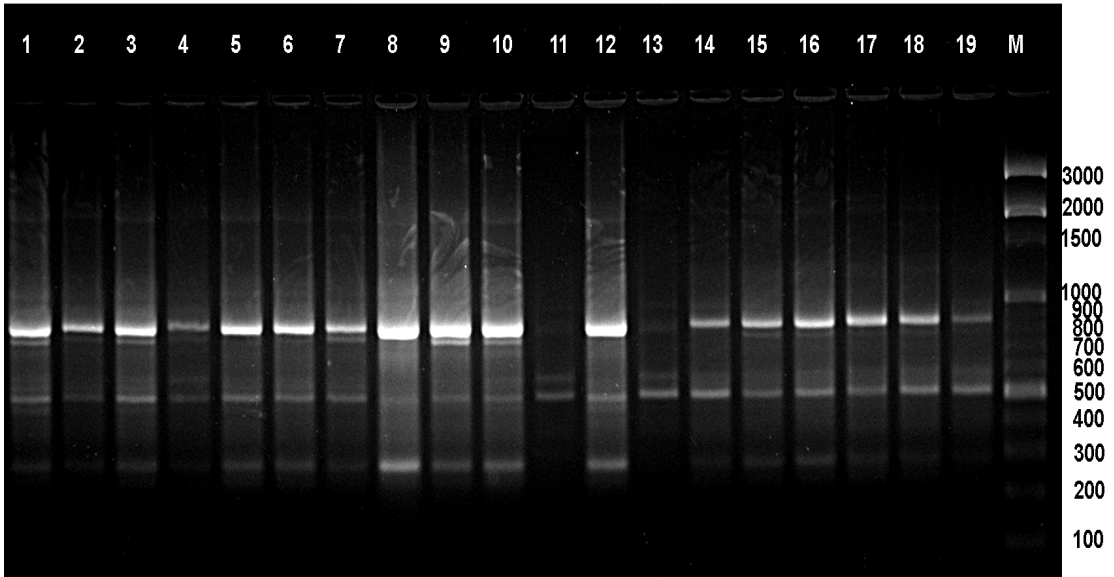
Şekil 4.14 OPP 33 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



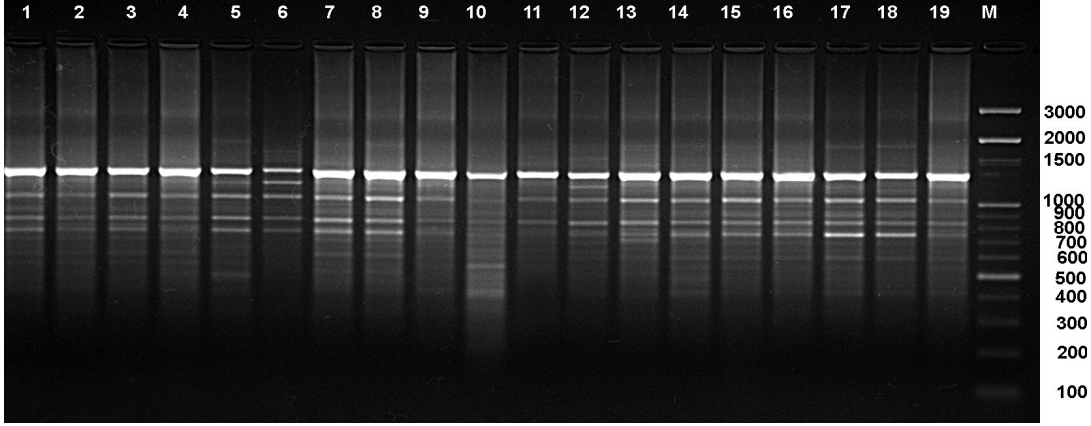
Şekil 4.15 OPP 123 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



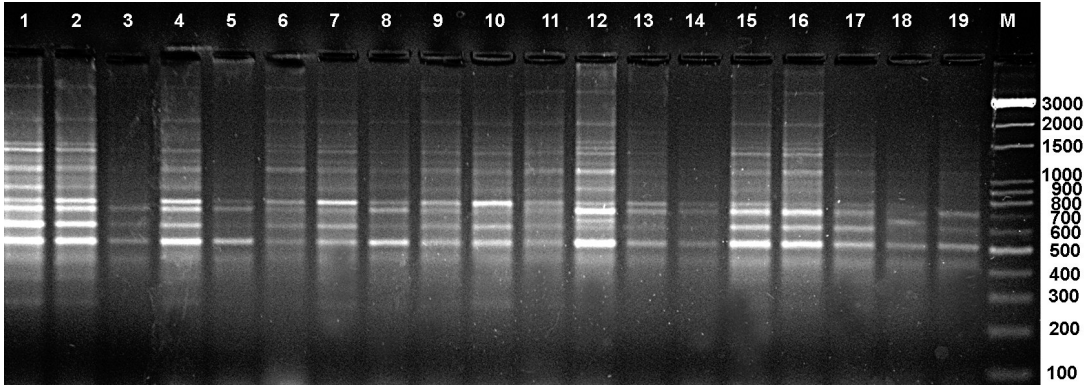
Şekil 4.16 OPP 09 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



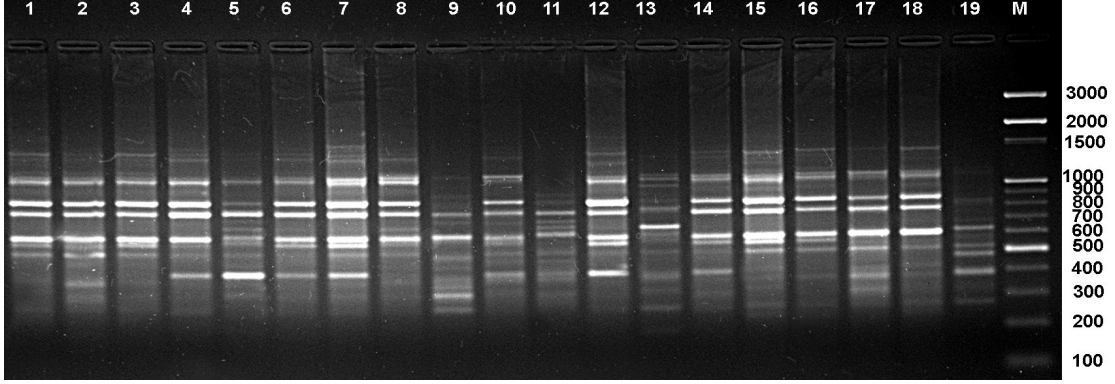
Şekil 4.17 OPP 437 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



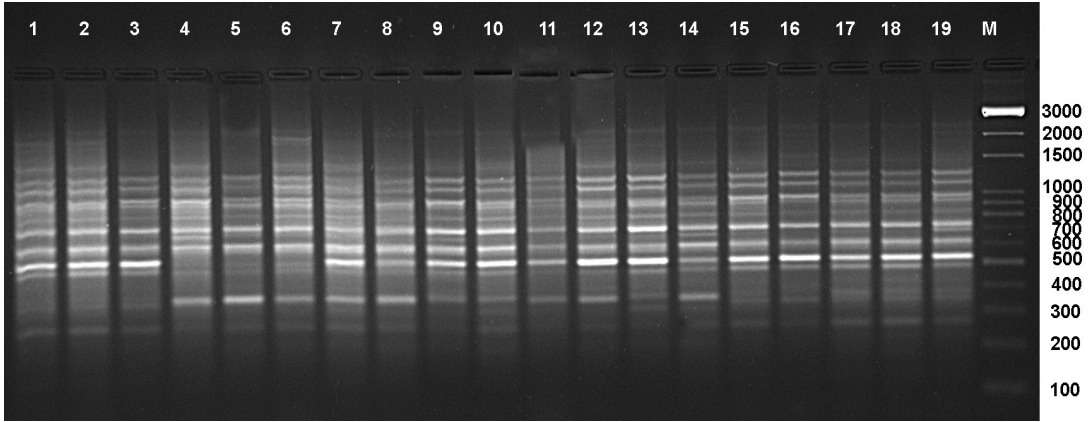
Şekil 4.18 OPP 394 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



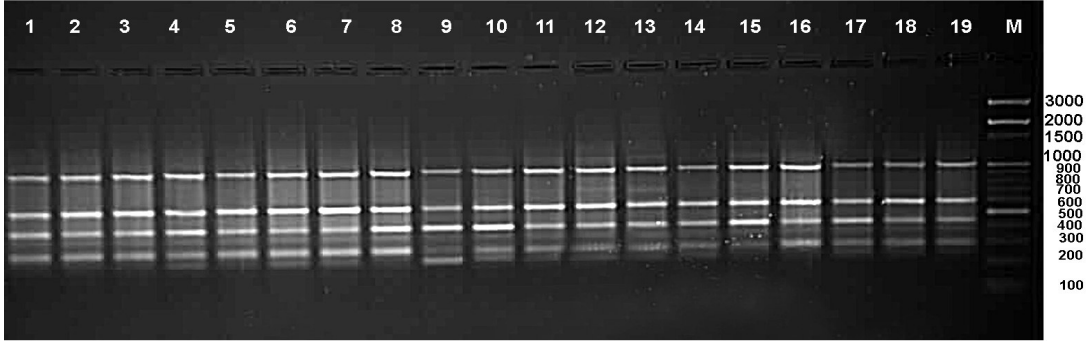
Şekil 4.19 UBC 493 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



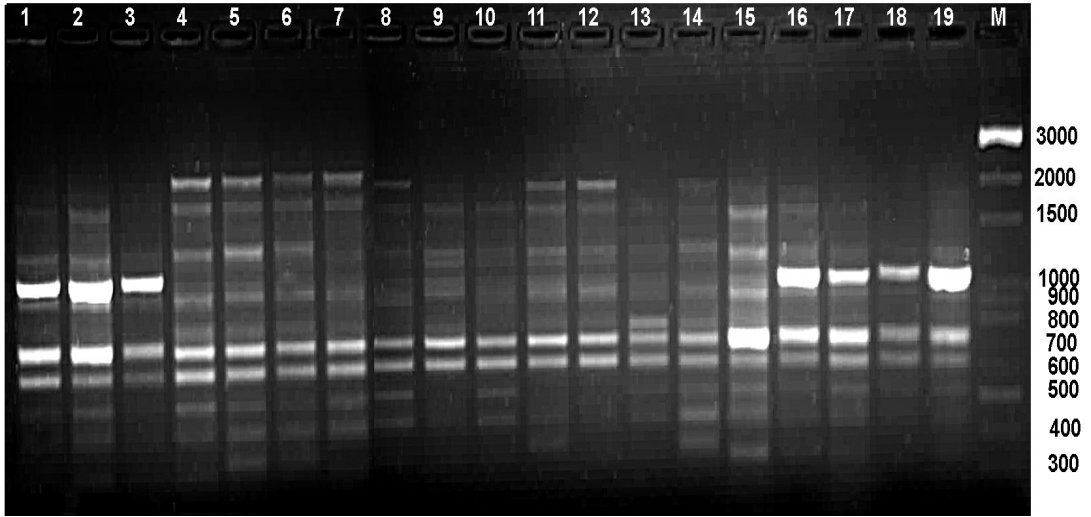
Şekil 4.20 UBC 546 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



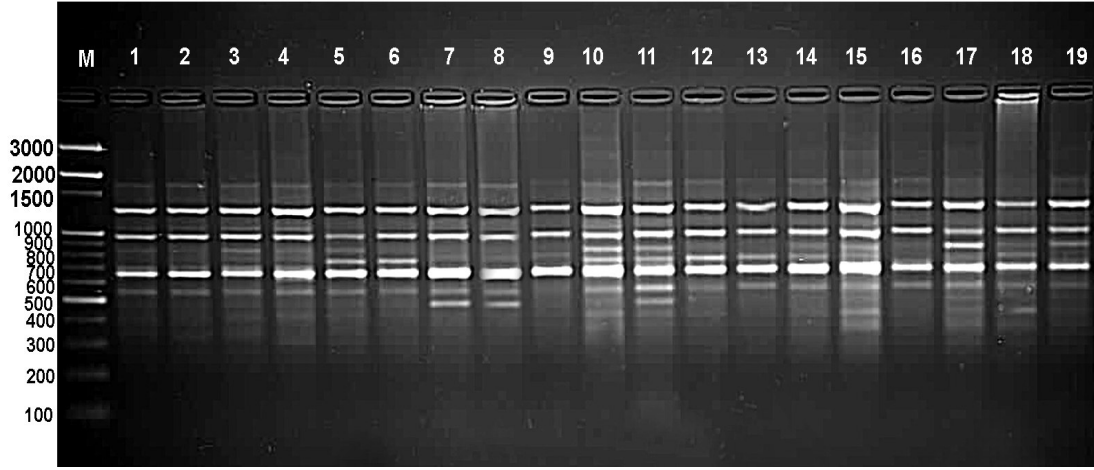
Şekil 4.21 UBC 285 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



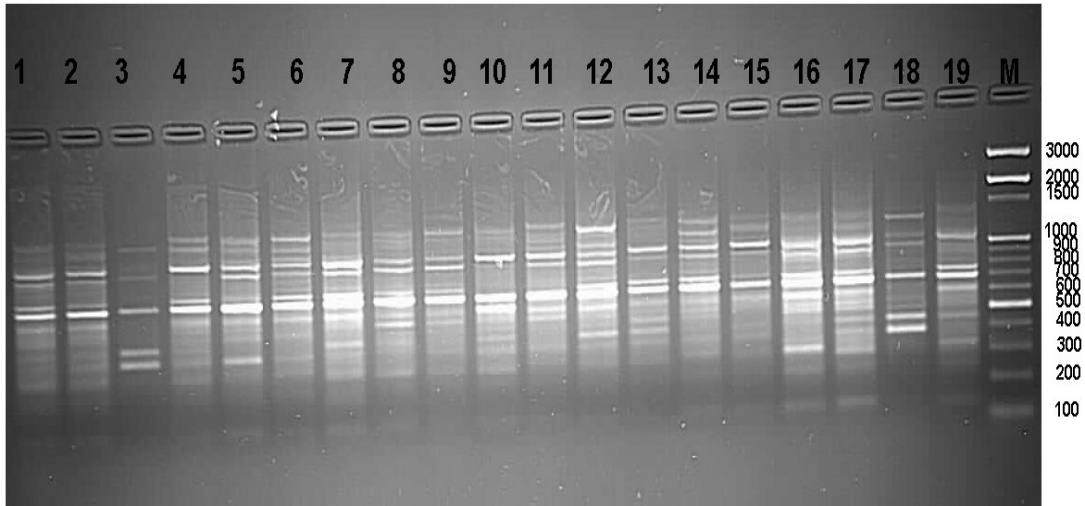
Şekil 4.22 OPP 232 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



Şekil 4.23 OPF 14 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bç DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



Şekil 4.24 OPA 12 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.



Şekil 4.25 OPO 02 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M=100 bp DNA moleküler ağırlık markırı, 1–3 ve 15–19 numaralı örnekler *T.dicoccon*, 4–14 numaralı örnekler *T.dicoccoides*'tir.

Çalışmada kullanılan toplam 25 adet primerden 20'si (%80) *T.dicoccon* ve *T. dicoccoides* türlerinde polimorfik, 5 tanesi (%20) ise monomorfik RAPD-PCR bantları vermiştir. Polimorfik primerlerden toplam 178 adet bant elde edilmiş olup, bu bantlardan 85 tanesinin (%47.75) polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Polimorfik primerlerden OPA 14 primerinde 13 numaralı örnekte (1100 bç), UBC 493 primerinde 12 (650 bç), UBC 546 primerinde 13 (820 ve 1000 bç), OPP 123 primerinde 15 (980 bç) ve OPP 09 primerinde 12 numaralı örnekte (1250 bç) sadece o örneklere özgül PCR bantları elde edilmiştir. Polimorfik primerlerin oluşturduğu PCR ürünlerinden elde edilen en düşük bant ağırlığı 200 bç, en büyük bant ağırlığı ise 1600 bç olup, her iki bant da OPF 07 primerinden elde edilmiştir (Şekil 4.5). Monomorfik PCR ürünlerinden en düşük bant ağırlığı 280 bç olup, OPP 232 primerinden (Şekil 4.22), en büyük bant ağırlığı ise 1400 bç olup OPA 01 primerinden elde edilmiştir (Şekil 4.9). Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı 4.25 olarak tespit edilmiştir. En fazla polimorfik RAPD markırı oluşturan primerler OPP 123 (9 bant) (Şekil 4.15) ve OPO 02 (8 bant) (Şekil 4.25) olarak bulunmuştur. En yüksek polimorfizm yüzdesini (%100) OPP 123 primeri, en düşük polimorfizm yüzdesini (%9) ise UBC 285 primeri (Şekil 4.21) göstermiştir. Toplam 9 adet primer ile (OPA 12, OPP 437, OPP 09, OPF 03, OPK 04, OPP 123, UBC 546, OPO 02 ve UBC 493) %60 ve üzerinde polimorfizm gözlenirken, geri kalan 11 adet primerle %9 ile %43 arasında polimorfizm gözlenmiştir. Çizelge 4.1 ve 4.2'de RAPD-PCR sonuçları ile ilgili bant karakteristikleri ve Ek-1'de fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri verilmiştir.

Çizelge 4.1 *T.dicoccoides* ve *T.dicoccon* örneklerinden elde edilen RAPD markırları

Çalışılan primer sayısı	25
Polimorfik primer sayısı	20
Çalışılan primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	204
Polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	178
Elde edilen fragmentlerin bant büyüklükleri	200-1600
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı	8.9
Polimorfik bant sayısı	85
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı	4.25
Polimorfik primerlerden elde edilen polimorfizm yüzdesi	47.47

Çizelge 4.2 RAPD-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant karakteristikleri

Sıra	Primer	Bant Büyüklüğü	Toplam Bant Sayısı	Monomorfik Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	% Polimorfizm
1	OPP 232	1000, 600, 430, 380, 300, 280	6	6	0	0
2	OPA 12	1300, 1050*, 980, 820*, 730*, 700*, 650, 550*	8	3	5	63
3	OPF 01	340	1	1	0	0
4	OPF 10	980, 880, 420	3	3	0	0
5	OPP 437	850, 800*, 580*, 500, 290*	5	2	3	60
6	OPF 02	1150, 1050, 950*, 900, 630*, 570, 500, 480*, 330	9	6	3	33
7	OPP 394	1300, 1200, 1050, 840, 790*, 750	6	5	1	17
8	OPP 09	1300*, 1250*, 1200*, 1125*, 1050*, 1000*, 920, 880*	8	1	7	88
9	OPP 33	950, 900	2	2	0	0
10	OPF 03	1350*, 1250, 1150*, 920*, 850*, 750*, 700	7	2	5	71
11	OPF 04	980*, 825*, 790, 640, 600, 560*, 400	7	4	3	43
12	OPF 05	1250, 1130, 1050, 1000*, 780, 500*	6	4	2	33
13	OPK 04	1050*, 750, 680*, 550*, 500	5	2	3	60
14	OPA 01	1400, 1170, 1120, 1050, 980, 860, 780, 700, 600, 500, 450, 390, 350, 300	14	14	0	0
15	OPP 123	980*, 950*, 920*, 890*, 850*, 640*, 600*, 550*, 400*	9	0	9	100
16	OPP 01	990, 920, 850*, 800*, 720, 600, 530*, 450, 400, 280, 230	11	8	3	27
17	OPF 07	1600, 1250*, 1030, 980, 880*, 800*, 770, 740, 640, 200	10	7	3	30
18	OPF 09	1200, 1060, 950, 865*, 825, 785*, 720, 680*, 580, 320	10	7	3	30
19	OPK 16	1500*, 1350*, 1250*, 1200, 1050*, 1000, 890, 790, 740*, 620, 580, 490, 390, 300	14	9	5	36
20	UBC 285	1340, 1170, 990, 950, 840, 730, 690*, 620, 530, 490, 380	11	10	1	9
21	UBC 546	1125*, 1070*, 1000*, 800*, 780, 670*, 600, 570*, 520, 420*	10	3	7	70
22	OPF 14	1250, 1200*, 1100, 950, 780*, 720, 600, 500, 400	9	7	2	22
23	OPA 14	1300, 1200, 1100*, 1050*, 1000, 730, 700, 620*, 580*, 530, 500*, 460*, 400, 300	14	8	6	43
24	OPO 02	1150*, 1050*, 950, 750*, 700, 600*, 560*, 500*, 450*, 390*	10	2	8	80
25	UBC 493	1450*, 1400*, 1200*, 890*, 780*, 720, 650*, 600, 520	9	3	6	67
TOPLAM			204	119	85	47.7
POLİMORFİK PRİMERLERDEN ELDE EDİLEN TOPLAM BANT SAYISI			178			

*Polimorfik

PCR

bantları

T.dicoccoides ve *T.dicoccon* örnekleri ayrı gruplar halinde de değerlendirilerek, elde edilen sonuçlar ışığında kendi grupları içindeki çeşitlilik belirlenmiş ve yabancı ata ile kültür formu birbiriyle karşılaştırılmıştır. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen RAPD markırları Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4' de özetlenmiştir. Bu çizelgelere bakıldığında, polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı ve polimorfizm yüzdesinin iki grup arasında farklılık gösterdiği görülmektedir. Polimorfik primerlerden 3 tanesi için (OPP 394, OPF 09 ve UBC 285) için, her iki grupta da aynı bant karakterleri gözlenirken, geriye kalan 17 polimorfik primerde durum farklıdır. Elde edilen polimorfizm yüzdesi, yabancı emmer buğdaylarında %41.5, gernik buğdaylarında ise %32.9 olarak hesaplanmıştır. *T.dicoccon* için, en bilgi verici primer OPF 02 (8 polimorfik bant) olurken, *T.dicoccoides* için, OPP 09 ve UBC 546 primerleri (7 polimorfik bant) en bilgi verici primerler olmuştur.

Çizelge 4.3 *T.dicoccoides* örneklerinden elde edilen RAPD markırları

Çalışılan primer sayısı	25
Polimorfik primer sayısı	20
Çalışılan primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	197
Polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	171
Elde edilen fragmentlerin bant büyüklükleri	200-1600
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı	8.5
Polimorfik bant sayısı	71
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı	3.5
Polimorfik primerlerden elde edilen polimorfizm yüzdesi	41.5

Çizelge 4.4 *T.dicoccon* örneklerinden elde edilen RAPD markırları

Çalışılan primer sayısı	25
Polimorfik primer sayısı	20
Çalışılan primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	190
Polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı	164
Elde edilen fragmentlerin bant büyüklükleri	200-1600
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı	8.2
Polimorfik bant sayısı	54
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı	2.7
Polimorfik primerlerden elde edilen polimorfizm yüzdesi	32.9

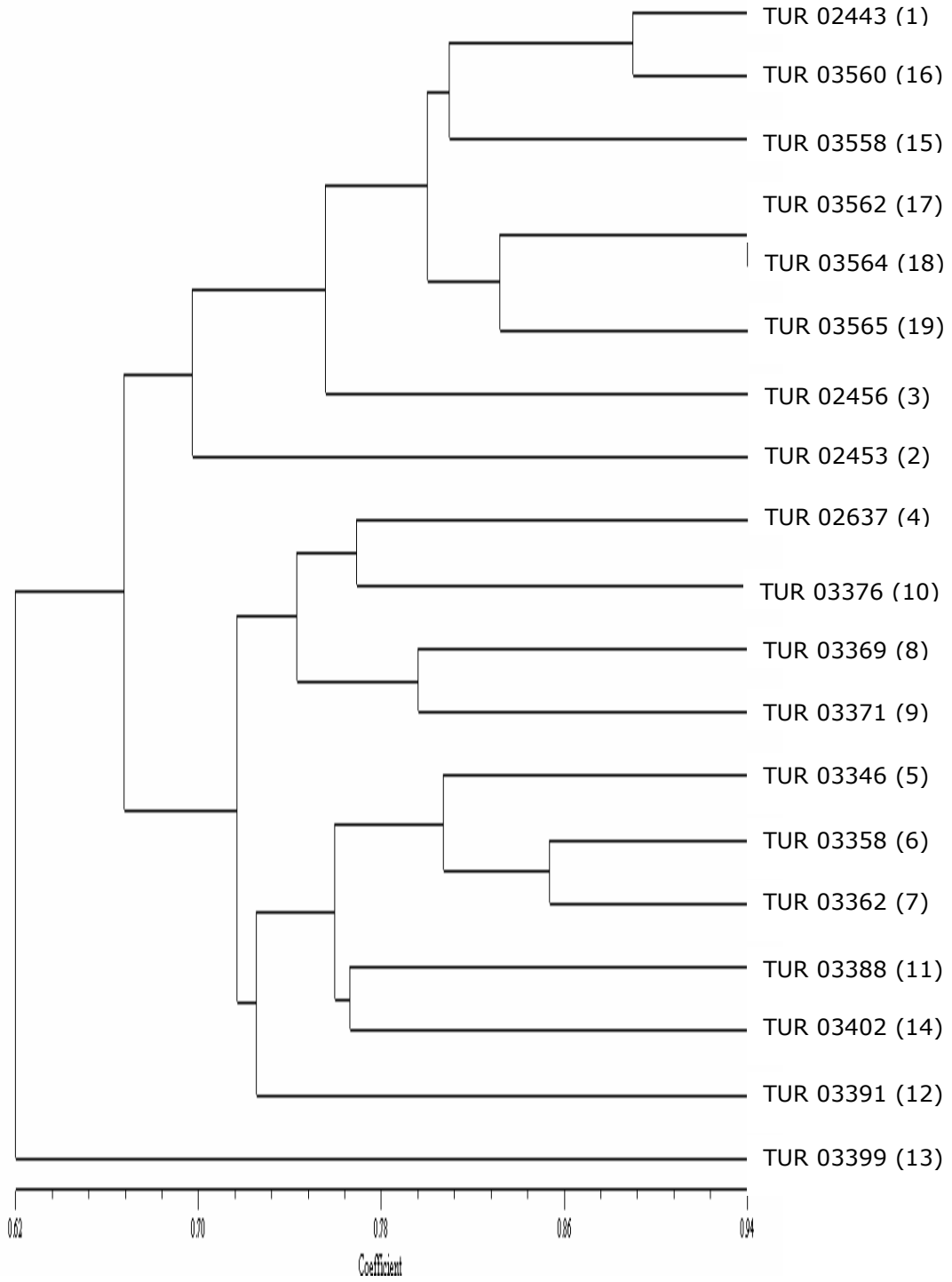
4.2. Kümeleme Analizi Sonuçları

Polimorfik primerlerden elde edilen PCR ürünlerine ait bant indekslerinin, “var” (1) ya da “yok” (0) şeklinde bilgisayar programına girilmesi sonucunda elde edilen bant matrisleri yardımıyla, Dice eşitliği kullanılarak oluşturulan benzerlik matrisine ait değerler Çizelge 4.5’ de verilmiştir. Bu verilere göre en düşük benzerliğin 0.4680 değeri ile 3 ve 12 numaralı örnekler arasında, en yüksek benzerliğin 0.9423 değeri ile 17 ve 18 numaralı örnekler arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda birbirine en çok benzeyen örnekler 17 ve 18, birbirine en uzak olan örnekler ise 3 ve 12 numaralı örneklerdir. İkinci en yüksek benzerlik değeri 0.8910 ile 16 ve 1 numaralı örnekler arasında, ikinci en düşük benzerlik değeri 0.4782 ile 13 ve 3 numaralı örnekler arasında bulunmuştur.

Dice eşitliğinden elde edilen benzerlik değerleri temel alınarak oluşturulan fenogram bilgilerine göre, *T.dicoccoides* ve *T. dicoccon* örnekleri iki ana gruba ayrılmaktadır (Şekil 4.26). Grup A, TUR 03399 olarak kayıtlı olan 13 numaralı *T.dicoccoides* örneğini kapsamaktadır. Grup B ise kendi içinde iki alt gruba ayrılmıştır. Grup B1, 1–3 ve 15–19 numaralı *T. dicoccon* örneklerinden, grup B2 ise 4–14 (13 hariç) numaralı *T.dicoccoides* örneklerinden oluşmaktadır.

Çizelge 4.5 *T. dicoccoides* ve *T. dicoccon* türleri arasında Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	1,0000																		
2	0,8089	1,0000																	
3	0,8131	0,6097	1,0000																
4	0,7450	0,7526	0,6315	1,0000															
5	0,6382	0,6352	0,6206	0,7142	1,0000														
6	0,6938	0,6966	0,5714	0,7450	0,8085	1,0000													
7	0,7291	0,7356	0,6067	0,7800	0,8043	0,8541	1,0000												
8	0,6363	0,6329	0,5185	0,7173	0,7619	0,7272	0,7674	1,0000											
9	0,6451	0,6666	0,5116	0,7628	0,6516	0,7311	0,7692	0,7951	1,0000										
10	0,6736	0,6976	0,6136	0,7676	0,6813	0,6947	0,7741	0,7058	0,7777	1,0000									
11	0,6732	0,6304	0,5531	0,7428	0,7010	0,8118	0,7676	0,6593	0,7291	0,6938	1,0000								
12	0,6336	0,6304	0,4680	0,7238	0,6391	0,7524	0,7272	0,6153	0,6666	0,6938	0,7500	1,0000							
13	0,5050	0,5333	0,4782	0,6601	0,6526	0,6666	0,6391	0,5617	0,6170	0,6458	0,6666	0,6862	1,0000						
14	0,6464	0,6222	0,5434	0,7572	0,7578	0,7474	0,7628	0,6516	0,7021	0,7083	0,7647	0,7450	0,7400	1,0000					
15	0,7924	0,7010	0,7070	0,7454	0,6666	0,7169	0,7692	0,6458	0,6732	0,7378	0,7522	0,7522	0,6542	0,7663	1,0000				
16	0,8910	0,7391	0,7659	0,7428	0,6391	0,6732	0,7272	0,6373	0,6875	0,6938	0,6538	0,6538	0,6078	0,6862	0,8256	1,0000			
17	0,7920	0,6739	0,7446	0,7238	0,7216	0,6930	0,7676	0,6373	0,6666	0,7142	0,6538	0,6153	0,5882	0,7254	0,8073	0,8461	1,0000		
18	0,7524	0,6304	0,7446	0,7047	0,6804	0,6534	0,7272	0,6373	0,6458	0,7346	0,6538	0,6153	0,5882	0,7058	0,8073	0,8269	0,9423	1,0000	
19	0,7959	0,6966	0,7472	0,7058	0,6382	0,6326	0,6666	0,5909	0,5806	0,6736	0,6336	0,5940	0,5858	0,6464	0,7547	0,8118	0,8514	0,8118	1,0000



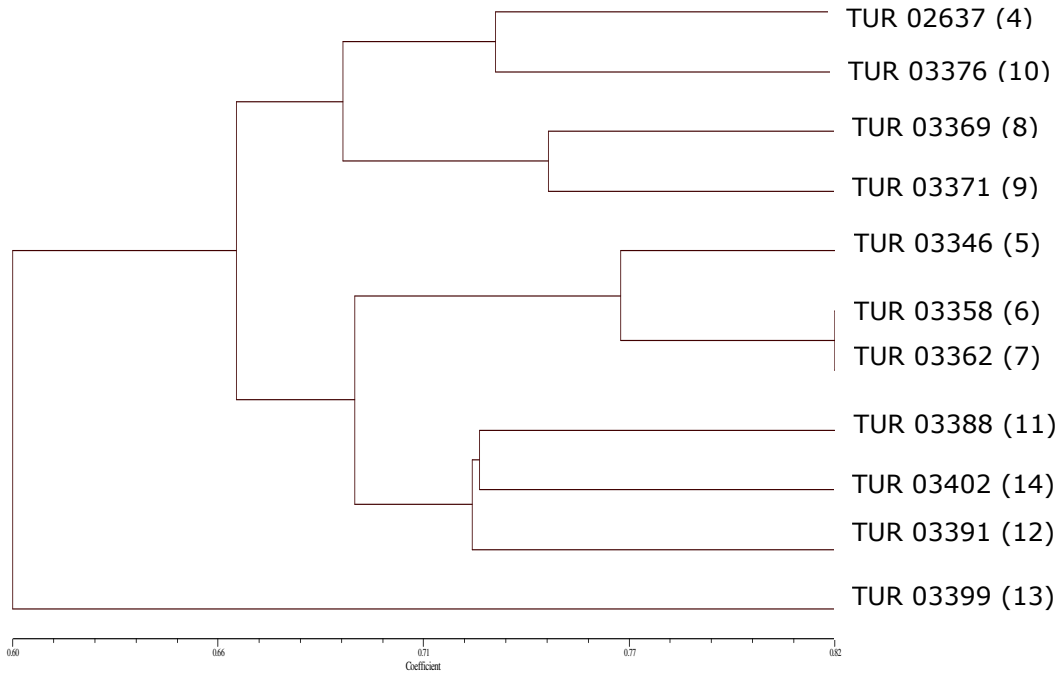
Şekil. 4.26 UPGMA metoduyla oluşturulan, *T. dicoccoides* ve *T. dicoccon* türleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.

T. dicoccoides ve *T. dicoccon* türleri için birbirlerinden bağımsız olarak değerlendirildiklerinde elde edilen benzerlik matrisi değerleri Çizelge 4.6 ve 4.7’ de, fenogram bilgileri ise Şekil 4.27 ve 4.28’de verilmiştir. Şekil 4.27’de yer alan fenograma bakıldığında, *T. dicoccoides* örneklerinin iki ana gruba ayrılmış olduğu görülmektedir. Birinci ana grubu tek başına 13 numaralı buğday örneği oluşturmaktadır. İkinci ana grubun kendi içerisinde iki alt gruba ayrıldığı, bu grupların da kendi içerisinde çeşitlendiği görülmektedir. Çizelge 4.6’da yer alan benzerlik matrisi değerlerine bakıldığında 0.8250 benzerlik değeri ile birbirine en yakın olan örnekler, fenogramda da açıkça görülmekte olan, 6 ve 7 numaralı örneklerdir. Birbirlerine en uzak olan örnekler ise 0.4800 değeri ile 8 ve 13 numaralı örneklerdir.

T. dicoccon türüne ait fenogram incelendiğinde (Şekil 4.28), örneklerin 2 ana gruba ayrıldığı, 1. grubu 2 numaralı *T. dicoccon* örneğinin, 2. grubu ise geri kalan *T. dicoccon* örneklerinin oluşturduğu görülmektedir. İkinci ana grup kendi içerisinde de 2 alt gruba ayrılmaktadır. Çizelge 4.7’de yer alan benzerlik değerlerine bakıldığında, birbirine en yakın iki örnek 0.9117 değeri ile, yine fenogramda açıkça görülen 17 ve 18 numaralı örnekler, en uzak olanlar ise 0.3043 değeri ile 2 ve 3 numaralı örneklerdir.

Çizelge 4.6 *T. dicoccoides* türünde Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri

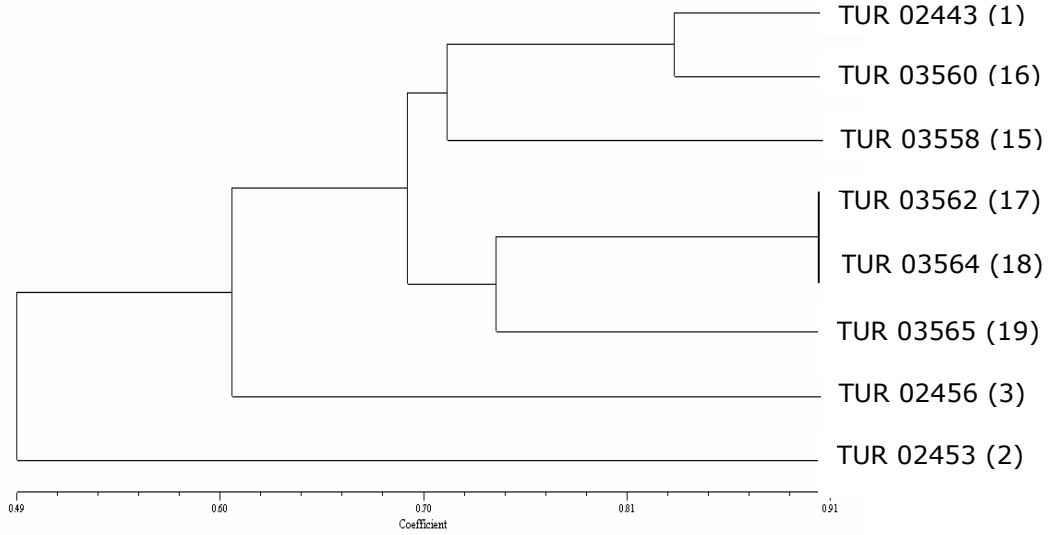
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
4	1,0000										
5	0,6666	1,0000									
6	0,7058	0,7692	1,0000								
7	0,7469	0,7631	0,8250	1,0000							
8	0,6666	0,7058	0,6666	0,7142	1,0000						
9	0,7250	0,5753	0,6753	0,7200	0,7462	1,0000					
10	0,7317	0,6133	0,6329	0,7272	0,6376	0,7297	1,0000				
11	0,7045	0,6419	0,7764	0,7228	0,5866	0,6750	0,6341	1,0000			
12	0,7032	0,5714	0,7045	0,6744	0,5384	0,6024	0,6352	0,7252	1,0000		
13	0,6136	0,5925	0,6117	0,5783	0,4800	0,5500	0,5853	0,6136	0,6593	1,0000	
14	0,7272	0,7160	0,7058	0,7228	0,5866	0,6500	0,6585	0,7272	0,7252	0,7045	1,0000



Şekil. 4.27 UPGMA metoduyla oluşturulan, *T. dicoccoides* türü içerisindeki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.

Çizelge 4.7 *T. dicoccon* türünde Dice eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri

	1	2	3	15	16	17	18	19
1	1,0000							
2	0,6792	1,0000						
3	0,6909	0,3043	1,0000					
15	0,6857	0,5245	0,5396	1,0000				
16	0,8307	0,5714	0,6206	0,7397	1,0000			
17	0,6769	0,4642	0,5862	0,7123	0,7647	1,0000		
18	0,6153	0,3928	0,5862	0,7123	0,7352	0,9117	1,0000	
19	0,6774	0,4905	0,5818	0,6285	0,7076	0,7692	0,7076	1,0000



Şekil. 4.28 UPGMA metoduyla oluşturulan, *T. dicoccon* türü içerisindeki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.

4.3. Tartışma

Elde edilen veriler ışığında çizilen fenogram bilgilerine göre, çalışmada kullanılan toplam 19 adet buğday örneğinin iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir. Birinci ana grubu, 13 numaralı *T. dicoccoides* örneği oluştururken, ikinci ana grubu birbirinden belirgin bir şekilde ayrılmış olan *T. dicoccoides* ve *T. dicoccon* alt grupları oluşturmaktadır. Bu sonuca göre araştırmada incelenen 11 adet yabancı emmer ve 8 adet gernik buğday örneklerine RAPD-PCR tekniği uygulanmasıyla elde edilen DNA parmakizi bantlarının, birbirine yakın akraba olan bu genotiplerde mevcut genetik farklılığı başarılı bir şekilde ortaya koymuş olduğu görülmektedir.

Buğday materyallerinin temin edildiği T.C. Tarım Bakanlığı'na bağlı, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından verilen materyal bilgilerine göre, 13 numaralı *T. dicoccoides* örneği, bu güne kadar *T. dicoccoides* türünün bulunabildiği en yüksek noktadan (1500 m) toplanmıştır. Bu örnek fenogramda tek başına ana gruplardan birini oluşturmaktadır. Bu durumda çalışmada kullanılan diğer buğday örneklerinden farklı polimorfizmler içerdiği yorumu yapılabilir. Nevo ve arkadaşları (1986) ekolojik çevrenin, yabancı buğdaylar ve diğer yabancı bitki türleri ile birlikte, bazı kültür bitkilerinin evrimi için temel itici güç olduğunu belirtmektedir. Enlem, boylam, iklim, toprak yapısı ve suya ulaşılabilirlik gibi

etmenlerle birlikte yükseklik, polimorfizmlerin ortaya çıkmasını tetikleyen önemli faktörlerden bir tanesidir (Fahima et al., 1999). Bu örneğin, bulunduğu yükseklik ve bununla birlikte değişen çevresel koşullara adapte olabilmek için ya da bunlardan bağımsız olarak geliştirmiş olduğu farklı özelliklerden dolayı, diğerlerinden farklı bir çeşitlilik göstermiş olabileceği düşünülmektedir.

İkinci ana grup incelendiğinde, yabani emmer ve gernik buğdaylarının birbirinden ayrı 2 alt grup oluşturmakla birlikte, hem birbirleriyle hem de 13 numaralı örnek ile bağlantılı oldukları görülmektedir. Ortak bir atayı (*T. dicoccoides*) paylaştıklarından dolayı, fenogramda birbirleriyle ilişkili olarak görülmeleri beklenen bir sonuçtur.

Birinci alt grubu oluşturan gernik buğdayları, kendi içinde iki gruba ayrılmaktadır. Birinci grubu, diğerlerinden farklı polimorfizmler gösteren 2 numaralı örnek oluşturmaktadır. 2 numaralı örnekle ortak atayı paylaşan 2. grup, 3 numara ve diğer gernik buğdayı örnekleri olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

İkinci alt grubu oluşturan yabani emmer buğdaylarına bakıldığında, ortak bir atadan gelerek iki ayrı gruba ayrıldıkları görülmektedir. Birinci grubu 4, 8, 9 ve 10 numaralı örnekler oluşturmaktadır. Sadece 4 numaralı örnek Şanlıurfa'dan toplanmış olup, diğer *T. dicoccoides* örnekleri ona komşu olan Diyarbakır'ın Karacadağ yöresinden toplanmıştır. 4 numaralı örneğin toplandığı yerin yüksekliği (480 m) diğer *T. dicoccoides* örneklerinden oldukça düşüktür. Ancak toplama yöresi, Karacadağ bölgesi gibi kayalık bir alandır. Benzer toprak koşullarına uyum sağlayabilmek için birbirine yakın adaptif özellikler geliştirmiş olabilecekleri düşünülmektedir. İkinci gruba bakıldığında kendi içinde 2 alt gruba ayrıldığı, 1. alt grubu tek başına 12 numaralı örneğin oluşturduğu görülmektedir. Bu durumda 12 numaralı örneğin çevre koşullarının yeniden ele alınarak gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Şekil 4.26' daki fenogramda, yabani emmer ve gernik buğdayları arasında ve grupların kendi içerisinde çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebinin bu türlerin buldukları makro ve mikro çevre koşullarına adaptasyon göstermek için geliştirdikleri çeşitlilikler olduğu düşünülmektedir.

Sonuçlar kısmında belirtildiği gibi çalışmada kullanılan toplam 25 adet primerin 5 tanesi monomorfik (%20), 20 tanesi ise polimorfik (%80) bantlar oluşturmuştur.

Yabani emmer buğdayları ve gernik buğdayları birbirinden ayrı olarak değerlendirildiğinde, polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı ve polimorfizm yüzdesinin iki grup arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Polimorfik primerlerden üçü (%17.6) için (OPP 394, OPF 09 ve UBC 285), her iki grupta da aynı bant karakterleri gözlenirken geriye kalan 17 polimorfik primer için (%82.4) durum farklıdır. Elde edilen polimorfizm yüzdesi, yabani emmer buğdaylarında %41.5, gernik buğdaylarında ise %32.9 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, yabani emmer buğdaylarında, kültür formu olan gernik buğdaylarından daha yüksek bir polimorfizm elde edilmiştir. Bu verilere göre, çalışmada kullanılmış olan *T. dicoccoides* genomunda, *T. dicoccon* genomuna göre daha fazla çeşitlilik bulunduğu sonucu çıkartılabilir. Elde edilen polimorfizm oranları, yapılan diğer çalışmalara göre düşük olarak değerlendirilebilir. Bu sonucun, kullanılan örnek sayısının ayrı ayrı analiz için yeterli olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Waines ve Barnhart (1992) *Triticum* ve *Aegilops* sınıfları içerisindeki ve sınıflar arasındaki çeşitliliğin, ancak yeterli sayıda örnekle çalışıldığı zaman tespit edilebileceğini belirtmiştir. Joshi ve Nguyen (1993) tarafından yapılan bir çalışmada, *T. dicoccoides* ve kültür buğdayı olan *T. durum* buğdayları kullanılmış ve polimorfizm *T. dicoccoides* buğdaylarında, yani yabani atada, kültür formundan daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %88 ve %68). Vierling ve Nguyen (1993) tarafından yapılan diğer bir çalışmada da diploid yabani ve kültür buğdayları kullanılmış, benzer şekilde yabani buğdaylarda polimorfizmin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Nevo ve arkadaşları (1982) yabani buğdayların dağ zirvelerinden ovalara, kuru iklimlerden nemli iklimlere kadar adapte olmalarını sağlayan büyük bir genetik çeşitliliğe sahip olduğunu belirtmiştir. Bu çeşitliliğin türlerin kayalık, volkanik bölgeler ve kireçli topraklar gibi farklı arazi koşullarına adapte olmalarını sağlayacağını belirtmiştir. Bunlara ek olarak Nevo (1983, 1989, 1995, 2001), yabani emmer buğdaylarının doğal popülasyonlarının hastalık direnci, tohum kalitesi, fotosentetik verim, tuz toleransı, herbisit dirençliliği gibi çeşitli ekonomik özellikler ve morfolojik karakterler bakımından da oldukça polimorfik olduklarını belirtmiştir. Karagöz ve arkadaşları (2006) yapmış oldukları çalışmada Şanlıurfa, Adıyaman ve Karacadağ bölgesinden toplanmış olan buğdayların agro-morfolojik

özellikler (bitki boyu, başaklanma gün sayısı, gelişme formu, bitki başına sap sayısı ve başak uzunluğu) bakımından çeşitlilik gösterdiğini tespit etmiştir.

Bizim çalışmamızda kullanılan yabancı emmer buğdayları (4 numaralı örnek hariç) Diyarbakır'ın Karacadağ yöresinden toplanmıştır. Özkan ve arkadaşlarının (2005) yapmış olduğu filogenetik çalışmada, birbirinden çok farklı iki *T. dicoccoides* sınıfının (taxa) bulunduğu belirtilmektedir. Birinci sınıf, Batı grubu olup İsrail, Suriye, Lübnan ve Ürdün'de bulunurken, ikinci sınıf olan Merkez Doğu grubu Türkiye'de, nadir olarak da İran ve Irak'ta bulunmaktadır. Evcilleştirilmiş türlerin atasının Merkez Doğu kaynaklı olan yabancı emmer buğdayları olduğu belirtilmiştir (Özkan et al., 2002; Mori et al., 2003; Salamini et al., 2004). Türkiye'de de Karacadağ yöresi, tarımın kökeninde "merkez bölge" (core area) olarak tanımlanmıştır (Lev-Yadun et al., 2000). Bu bölge tetraploid buğdayın orijin merkezi olduğundan, bölgedeki yabancı emmer buğdayları büyük çeşitliliğe sahiptir (Özkan et al. 2005). Bu sebeple bölgeden toplanacak örneklerin çok daha ayrıntılı olarak çalışılması gerekliliğini vurgulamakta fayda vardır.

T. dicoccoides tetraploid kültür buğdaylarına sitogenetik olarak yakındır ve onlarla hibritleşme özelliğine sahiptir (Tanyolaç et al., 2003). Bu özelliği sayesinde, yoğun olarak yapılan ıslah çalışmaları sonucunda genetik temeli daralarak hastalıklara, zararlılara ve olumsuz çevre şartlarına karşı duyarlı hale gelmiş olan kültür buğdaylarının genetik yapısını zenginleştirmek amacıyla, genler yabancı emmer buğdaylarından kültür buğdaylarına aktarılabilir. Bu sebeple yabancı ataların özelliklerinin iyi karakterize edilmesi çok önemlidir.

Islah çalışmalarında, bitkilerin genlerinin değiştirilmesiyle ortaya çıkan varyasyondan yararlanılarak yapılacak seleksiyonlarla daha kaliteli, yüksek verimli, hastalıklar ve zararlılara dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan yeni çeşitlerin mümkün olduğunca kısa sürede elde edilmesi istenmektedir. Bitki ıslahında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerin ve seleksiyonun etkinliği arttırılmaya çalışılsa da, bunlar çok uzun zaman alan, zahmetli ve yüksek maliyetli işlemlerdir. Moleküler markırların kullanılması ıslah çalışmalarında süreyi kısaltarak, maliyetlerini düşürmektedir. Seleksiyonda, genetik ve linkaj haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde moleküler markırlardan yararlanılmaktadır. Genetik

markır çalışmalarından elde edilen bilgilerle, gen bankalarında örnek duplikasyonları engellenebildiği gibi, hangi örneklerin korunmasının gerekliliği de ortaya konmuş olur (Karcicio, 2006).

RAPD markırlarının ıslah çalışmalarında uygun ataların seçilmesinde, germplazmlardaki genetik çeşitliliğin korunmasında önemli olduğu daha önce vurgulanmıştır (Karcicio, 2006). RAPD-PCR tekniği kullanılarak elde edilen polimorfizm değerleri reaksiyon koşullarına, kullanılan örnek ve primer sayısına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Sistemin tekrarlanabilirliği hassastır. Bu tez çalışmasında güvenilirliği sağlayabilmek amacıyla PCR koşulları iyi bir şekilde optimize edilip, her bir primer için deneyler yinelenerek, sadece tekrarlanabilir nitelikteki bantlar bilgi verici özellikte kabul edilmiş ve bu bantlar değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada kullanılan primerler universal primerler olup, çeşitli çalışmalarda *Triticum* türlerinde bilgi verici özellikte olduğu saptanmış olan primerlerdir. Rasgele dizilime sahip kısa oligonükleotidler kullanılıp, bağlanma rastgele meydana geldiğinden ve oluşan bant profilleri sadece o primerin temsil ettiği bölgeyi kapsadığından, çeşitliliği doğru bir şekilde ortaya koyabilmek için çok sayıda örnek ve primerle çalışılmasında fayda vardır.

Bu tez çalışmasından elde edilen bilgilerin, ıslah çalışmaları yürütmekte olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesindeki Gen Bankası için yararlı bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir. Bu tez çalışması, yapılacak olan daha ileri araştırmalar için bir başlangıç niteliği taşımaktadır. Bu sonuçlar ıslah çalışmalarında uygun ataların tanımlanması amacıyla yapılan haritalama çalışmaları ve gelecekte yapılacak olan örnekleme stratejileri için kullanışlı olacaktır. Özellikle bu çalışma sonucunda, diğer yabancı emmer buğdaylarından farklı polimorfizm gösterdiği saptanan 13 numaralı örneğin toplandığı bölgeden alınacak olan yeni örneklerle, daha ileri analizlerin yapılması önerilmektedir. Elde edilen sonuçların başka yöntemlerden alınacak sonuçla karşılaştırılıp yorumlanarak, güvenilirliğin artırılması ve sonuçların zenginleştirilmesi sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- Aagaard, E.J., Krutovskii, V.K. and Strauss, H.S., 1998, RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity*, 81 (1): 69–78
- Adams, R.P. and Demeke, T., 1993, Systematic relationships in *Juniperus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Taxon*, 42: 553–571.
- Adams, M.D., Kelley, J.M., Gocayne, J.D., Dubrick, M., Polymeropoulos, M.H., Xiao, H., Merrit, C.R., Wu, A., Oide, B., Moreno, R.P., Kalavage, A.R., McCombie, W.R., Venter, J.C., 1991, Complementary DNA sequencing: Expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 210: 1651–1656.
- Asins, M.J. and Carbonell, E.A., 1986, A comparative study of variability and phylogeny of *Triticum* species. 1. Intra-specific variability. *Theor. Appl. Genet.* 72: 551–558.
- Bar-Yosef, O. and Meadow, R.H., 1995, In *Last Hunter, First Farmers* (Price, T.D. & Gebauer, G., eds.) 39–94 School of American Research Press, Santa Fé, California.
- Bayer, R., Soltis, D.E. and Soltis, P.S., 1996, Phylogenetic inferences in *Antennaria* (Asteraceae: Gnaphalieae: Cassiniinae) based on sequences from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Am. J. Bot.* 83: 824–832.
- Bhalla, P.L., 2006, Genetic engineering of wheat—current challenges and opportunities. *Trends in Biotechnology*, 24: 305–311.
- Bowden, W.M., 1959, The taxonomy and nomenclature of wheats, barleys and tyres and their wild relatives. *Can. J. Bio.* 37: 967–684.
- Bowditch, B.M., Albright, D.G., Williams, J.G.K. and Braun, J.M., 1993, Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genome studies. *Methods in Enzymology*, 224: 294–309.
- Brookes, A., 1999, The Essence of SNPs, *Gene*, 234: 177–186.
- Caetano-Anolle's, G., Bassam, B.J., Gresshoff, P.M., 1991, DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Bio/Technology* 9: 553–557.
- Chapman, V., Miller, T.E., Riley, R., 1976, Equivalence of the A genome of bread wheat and that of *Triticum urartu*. *Genet. Res.* 27: 69–76.

- Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K., 1988, Flora of Turkey and the East Aegean Islands. V 10. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, U. K.
- Davis, P.H., 1965–1985, Flora of Turkey and the East Aegean Islands. V 1–9. Edinburgh Univ. Press. Edinburgh U. K.
- Demir, İ., 1990, Genel Bitki Islahı. E. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No 496: 366 s. E.Ü.Z. F. Ofset Atelyesi, İZMİR.
- Diamond, J., 1997, Location, location, location: the first farmers. *Science*, 278: 1243–1244.
- Dowling, T.E., Moritz, C., Palmer, J.D. and Rieseberg, L.H., 1996, Nucleic Acids III: Analysis of fragments and restriction sites in molecular systematics, (D. M. Hillis, C. Moritz and B. K. Mable eds.), Sinauer Associates Sunderland Mass., pp. 249-320.
- Dvorak, J., Zhang, H.B., 1990, Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 9640–9644.
- Dvorak, J., Zhang, H.B., Kota, R.S., Lassner, M., 1989, Organisation and evolution of the 5S ribosomal RNA gene family in wheat and related species. *Genome*, 32, 1003–1016.
- Dvorak, J., MacGuire, P. E., Cassaidy, B., 1988, Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphisms in abundance and restriction fragment length of repeat nucleotide sequences. *Genome*, 30, 680–689.
- Dvorak, J. and Appels, R., 1982, Chromosome and nucleotide sequence differentiation in genomes of polyploid *Triticum* species. *Theor. Appl. Genet.*, 63: 349–380.
- Ehrlich, H.A., Celfand, G.H., Sninsky, J.J., 1991, Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* 252: 1643–1651.
- Elias, E.M., Steiger, K.D. and Cantrell, R.G., 1996, Evaluation of lines derived from wild emmer chromosome substitutions. II. Agronomic traits. *Crop Sci.* 36, 228–233.
- Fahima, T., Röder, M.S., Wandhake, K., Nevo, E., 2002, Microsatellite polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor Appl Genet.* 104(1):17–29.
- Fahima, T., Sun, G.L., Beharav, A., Krugman, T., Beiles, A., Nevo, E., 1999, RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. Appl. Genet.* 98: 434–447.

- FAO, 2000, FAOSTAT Agriculture Database (http://apps.fao.org/cgi-bin/nph_db.pl?subset=agriculture)
- FAO Food Outlook Report, 2005.
http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/J5051e/J5051e00
- Feldman, M., Lipton, F.G.H., Miller, T.E., 1995, Wheats. *Triticum spp.* (*Gramineae–Triticineae*). In: Smart, J., Simmonds, N. W. (eds.) Evolution of crop plants. Longman Sci. And Tech. Pres, London, pp: 184–192.
- Feldman, M., Sears, E.R., 1981, The wild resources of wheat. *Sci. Am.* 244: 102–112.
- Flavell, R.B., D'Dell, M., Sharp, P., Nevo, E. and Beiles, A., 1986, Variation in the intergenic spacer of ribosomal DNA of wild wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Mol Biol Evol* 3: 547–558.
- Gopher, A., Abbo, S. and Lev–Yadun, S., 2002, The “when”, the “where” and the “why” of the Neolithic revolution in the Levant. *Documenta Prehistorica* 28: 49–62.
- Gökgöl, M., 1939, Turkish Wheats, Vol. II. Yesilköy Seed Breeding Institute Publications. No. 14, Tan Press, Istanbul, Turkey (In Turkish), 955 pp.
- Gökgöl, M., 1935, Turkish Wheats, Vol. I. Ministry of Agriculture, Yesilköy Seed Breeding Institute Publications. No: 7, Devlet Press, Istanbul, Turkey (In Turkish), 436 pp.
- Gupta, P.K., Balyan, H.S., Sharma P.C. and Ramesh, B., 1996, Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. *Curr. Sci.* 70: 45–54.
- Güner, A., Özatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (eds), 2000, Flora of Tukey and the East Aegean Islands. Vol. 11. Edinburgh Univ. Pres Ltd., Edinburgh.
- Harlan, J.R. and Zohary, D., 1966, Distribution of wild wheats and barley. *Science* 153, 1074–1080.
- Harlan, J.R., 1950, Collection of crop plants in Turkey. *Agron. J.* 42: 258–259.
- Hillman, G.C., 2000, in Village on the Euphrates, from Foraging to Farming at Abu Hureyra (eds Moore, A. M. T. Hillman, G. C. & Legge, A. J.) 327–398 (Oxford Univ. Pres).
- Hulbert, S.H. and Bennetzen, J.L., 1991, Recombination at the Rp1 locus of maize. *Mol. Gen. Genet.*, 226: 377–382.
- IAEA, 2002, Mutant germplasm characterization using molecular markers: A manual. Training Course Series 19. IAEA, Vienna, 87p.

- Jarvis, P. , Lister, C., Szabo, V., Dean, C., 1994, Integration of CAPs markers into the RFLP map generated using recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol. Biol. 24: 685–667.
- Jones, B.L., Lookhart, G.L., Mak, A., Cooper, D.B., 1982, Sequences of purothionins and their inheritance in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. J. Hered. 73: 143–144.
- Joshi, C.P. and Nguyen, H.T., 1993, Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. Genome, 36 (3) 602–609
- Karagöz, A., Pılanalı, L., Polat, T., 2006, Agromorphological characterization of some wild wheat (*Aegilops L. and Triticum L.*) species. Turk. J. Agric. For. 30: 387-398.
- Karcicio, M., 2006, Yerel durum buğdayı çeşitlerinde (*Triticum durum Desf.*) RAPD-PCR tekniği ile genetik çeşitlilik analizi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 93s.
- Khlestkina, E.K. and Salina, E.A., 2006, SNP Markers: Methods of Analysis, Ways of Development, and Comparison on an Example of Common Wheat. Russian Journal of Genetics, 42 (6): 585–594.
- Kihara, H., 1944, The discovery of the DD analyzer, one of the ancestors of *T. vulgare*. Agric. Hortic. 19: 889–890
- Kihara, H., 1954, Consideration on the evolution and distribution of *Aegilops* species based on the analyser method. Cytologia 19:L 336–357.
- Kimber, G. and Feldman, M., 1987, Wild wheat, an introduction. Columbia (MO): Collage of agriculture. University of Missouri Special Report No: 353, 146 p.
- Konieczyn, A. and Ausubel, F.M., 1993, A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. Plant J., 4(2): 403-10.
- Kresovich, S., McFerson, J.R., 1992, Assessment and management of plant genetic diversity: consideration of intra and inter-specific variation. Field Crops Research, 29, 185–204.
- Lagercrantz, U., Ellegren, H. and Andersson, L., 1993, The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. Nucleic Acids Res. 21: 1111–1115.
- Lev–Yadun, S., Gopher, A. and Abbo, S., 2000, The cradle of agriculture. Science, 288: 1602–1603.

- Li, Y.C., Fahima, T., Peng, J.H., Röder, M.S., Kirzhner, V.M., Beiles, A., Korol, A.B., Nevo, E., 2000a, Edaphic microsatellite DNA divergence in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, at a microsite: Tabigha, Israel. *Theor. Appl. Genet.* 101:1029–1038.
- Li, Y.C., Fahima, T., Peng, J.H., Röder, M.S., Kirzhner, V.M., Beiles, A., Korol, A.B., Nevo, E., 2000b, Microsatellite diversity correlated with ecological–edaphic and genetic factors in three microsites of wild emmer wheat in north Israel. *Mol. Biol. Evol.* 17: 851–862.
- Li, Y.C., Fahima, T., Beiles, A., Korol, A.B., Nevo, E., 1999, Microclimatic stress and adaptive DNA differentiation in wild emmer wheat *Triticum dicoccoides*. *Theor. Appl. Genet.* 98: 873–883.
- Linnaeus, C., 1753, *Species Plantarum Laurentii Salvii, Holmiae*, The Hague.
- Lorenz, M., Weihe, A. and Börner, T., 1994, DNA fragments of organellar origin in random amplified polymorphic DNA (RAPD) patterns of sugar beet (*Beta vulgaris L.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 775–779.
- Miller, T.E., 1987, Systematics and evolution. In *Wheat breeding: its scientific basis*. Lupton, F.G.H (Ed). Chapman and Hall, London, pp, 1–30.
- Mori, N., Ishii, T., Ishido, T., Hirosawa, T., Watatani, H., Kawahara, T., Nesbitt, M., Belay, G., Takumi, S., Ogihara, Y., Nakamura, C., 2003, Origin of domesticated emmer and common wheat inferred from chloroplast DNA fingerprinting. 10th Int. Wheat Genet. Symposium. Paestum, Italy, pp 25–28.
- Mullis, K.B. and Faloona, F.A., 1987, Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335–350.
- Nesbit, M. and Samuel, D., 1998, Wheat domestication: archaeobotanical evidence. *Science* 279: 1433–1435.
- Nesbit, M. and Samuel, D., 1996, From staple crop to extinction? The archaeology and history of the hulled wheats. In *Hulled wheats. Proceedings of the 1st international workshop on hulled wheats*. Padulosi, S., Hammer, K., Heler, J. (eds) pp 41–100.
- Nevo, E., 2001, Genetic resources of wild emmer, *Triticum dicoccoides*, for wheat improvement in the third millenium. *Israel J. Plant Sci.*, 49 (Supplement): 77–91.
- Nevo, E., 1995, Genetic resources of wild emmer, *Triticum dicoccoides*, for wheat improvement: news and views. In: Li ZS, Xin ZY (eds) *Proc. 8th Int. Wheat Genet. Symp. China Agricultural Sciencetech. Pres, Beijing*, pp 79–87.

- Nevo, E., 1989, Genetic resources of wild emmer wheat revised: genetic evolution, conservation and utilization. In: Miller TE, Koebner RMD (eds) Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge, pp 121–126.
- Nevo, E., Beiles, A. and Zohary, D., 1986, Genetic resources of wild barley in the Near East: Structure, evolution and application in breeding. Bull. J. Lin. Soc. 27: 355-380.
- Nevo, E., 1983, Genetic resources of wild emmer wheat: structure, evolution and application in breeding. In: Sakamoto S (ed) Proc. of the 6th Int. Wheat Genet. Symp. Kyoto Univ. Kyoto, Japan, pp 421–431.
- Nevo, E., Golenberg, E., Beiles, A., Brown, A.H.D. and Zohary, D., 1982, Genetic diversity and environmental associations of wild wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. Theor. Appl. Genet. 62: 241–254.
- Ogihara, T. and Tsunewaki, K., 1988, Diversity and evolution of chloroplast DNA in *Triticum* and *Aegilops* as revealed by restriction fragment analysis. Theor. Appl. Genet. 76: 321–332.
- Özkan, H., Brandolini, A., Pozzi, C., Effgen, S., Wunder, J., Salamini, F., 2005 A reconsideration of the domestication geography of tetraploid wheats. Theor. Appl. Genet., 110: 1052–1060.
- Özkan, H., Bardolini, A., Schafer-Pregl, R., Salamini, F., 2002, AFLP analysis of a collection of tetraploid wheats indicates the origin of emmer and hard wheat domestication in southeast Turkey. Mol. Biol. Evol., 19: 1797-1801.
- Paran, I. and Michelmore, R. W., 1993, Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance gene in lettuce. Theoretical and Applied Genetics, 85: 985–993.
- Perrino, P. 1989. Plant domestication and gene banks (in Plant domestication by induced mutation. International Atomic Energy Agency, Vienna), pp. 39–43.
- Peterson, G., Seberg, O., Yde, M., Berthelsen, K., 2006, Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the A, B and D genomes of common wheat (*T. aestivum*). Molecular Phylogenetics and Evolution, 39: 70–82.
- Plucknett, D. L., Smith, N. J. H., Williams, J. T., Anishetty, N. M., 1983. Crop germplasm conservation in developing countries. Science 220: 163–169.
- Poyarkova, H., 1988, Morphology, geography and intra-specific taxonomics of *Triticum dicoccoides* Korn: a retrospective of 80 years of research. Euphytica. 38: 11–23.
- Powell, W., Machray, G.C. and Provan, J., 1996, Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends in Plant Sci., 1: 215–222.

- Procunier, J.D., Gray, M., Liakat, A.M. et. al., 2003, Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Hexaploid Wheat and High Throughput SNP Detection by Invader Operation System, *Proc. Plant and Animal Genomes 11th Conf.* San-Diego, p. 251.
- Rholf, F.J., 2000, NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 2.01. Applied Biostatistics, New York.
- Riley, R., 1965, Cytogenetic and evolution of wheat. In *Assays of crop plant evolution*. Hutchinson, J. B. (ed), Cambridge, pp. 103–122.
- Riley, R., Unrau, J., Chapman, V., 1958, Evidence on the origin of the B genome of wheat. *J. Hered* 49: 91–98.
- Riley, R. and Chapman, V., 1958, Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature* 182: 713–715.
- Russell, P.J. (ed), 2001, *Genetics*, Benjamin Cummings, San Fransisco, USA.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffei, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A., 1988, Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Nature*, 239: 487–497.
- Salamini, F., Heun, M., Özkan, H., Wunder, J., 2004, On DNA markers, phylogenetic trees and mode of origin of crops. *Genome*, 46: 448–453.
- Salamini, F., Özkan, H., Brandolini, A., Schafer-Pregl, R. and Martin, W., 2002, Genetics and geography of wild cereal domestication in the Near East. *Nature Reviews, Genetics*, 3: 429–441.
- Somers, D.J., Kirkpatrick, R., Moniwa, M. and Walsh, A., 2003, Mining Single-Nucleotide Polymorphisms from Hexaploid Wheat ESTs, *Genome*, 49: 431–437.
- Staub, J.E., Serquen, F.C., Gupta, M., 1996, Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science*, 31(5): 729–741.
- Stebbins, G. L., 1956, Taxonomy and evolution of genera with special reference to the family *Graminae*. *Evolution*, 10: 35–36.
- Süzer, S., 2003, Buğday tarımı, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, <http://www.ttae.gov.tr/fiyatlar/suzertekirdag.htm>
- Şehirali, S. ve Özgen, M., 1987, Bitki genetik kaynakları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları No: 1020. Ders Kitabı: 294, Ankara.
- Tahir, M. and Pashayani, H., 1990, Transfer of agronomic traits from wild *Triticum* species to *T. Turgidum L. var durum*. in *Wheat Genetic Resources: Meeting Diverse Needs*. Edited by J.P. Srivastava and A.B. Damania. John Wiley and Sons, New York. Pp. 317–326.

- Talbert, L.E., Blake, N.K., Chee, P.W., Blake, T.K., Magyar, G.M., 1994, Evolution of "sequence tagged site": PCR products as molecular markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 789–794.
- Tanyolaç, B., Linton, E. and Özkan, H., 2003, Low genetic diversity in wild emmer (*T. turgidum* L. subsp. *dicoccoides* (Körn. ex Asch. et Graebn.)Thell.) from South-east Turkey revealed by Restriction Fragment Length Polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 829–833.
- Vavilov, N.I., 1935, *Theoretical Basis for Plant Breeding*, Vol. 1. Moscow. Origin and Geography of Cultivated Plants. in *The Phytogeographical Basis for Plant Breeding* (D. Love, transl.), 316–366pp. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- Van-Slageren, M.W., 1994, "Wild Wheats: A monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig (*Poaceae*)". Veenman Drukkers, Wageningen, Hollanda.
- Van-Zeist, W., Wasylkova K. and Behre, K.H., 1991, *Progress in Old World Palaeoethnobotany*. Balkema, Rotterdam, The Netherlands.
- Venugopal, G., Mohapatra, S. and Salo, D., 1993, Multiple mismatch annealing: basis for random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Biochemical and biophysical research communications*, 197: 1382–1387.
- Vierling, R.A. and Nguyen, H.T., 1993, Use of RAPD makers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 84: 835–838.
- Vos P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van Der Lee, T., Frijters, A., Peleman, J., Kuiper, M. and Zalbean, M., 1995, AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: 4407 – 4414.
- Waines, J.G. and Bernhart, D., 1992, Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum*. *Hereditas*, 116: 207–212.
- Walton, M., 1993, Molecular markers: which ones to use? *Seed World*, July 1993, p: 23–29
- Wang, Z., Weber, J.L., Zhong, G. and Tanksley, S.D., 1994, Survey of plant short tandem repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 1–6.
- Welsh, J., Hoercutt, R.J., McClelland, M. and Sobral, B.W.S., 1991, Parentage determination to maize hybrids using the arbitrary primed polymerase chain reaction (AP-PCR). *Theor. Appl. Genet.* 82: 473–476.
- Welsh, J. and McClelland, M., 1990, Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.*, 18: 7213–7218.

- Williams, J.G.K., Hanefey, M.K., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1993, Genetic analysis using random amplified polyorphic DNA markers. *Methods in Enzymology*, 1993; 218: 704–740.
- Winter, P. and Kahl, G., 1995, Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 11: 438–448.
- Yıldırım, A., Kandemir, N., 2001, Genetik markörler ve analiz metodları. Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., (eds). *Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği Uygulamaları*, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, pp: 334–363.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994, Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)–anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20 (2):176–83
- Zhukovsky, P.M., Kipcak, C., Nouruzhan, H. and Türkistanli, S., 1951, Ecological types and economic importance of Anatolian wheat. *Agricultural Structure of Turkey*. Turkish Sugar Beet Plants Publications No. 20: 158–214. (In Turkish), 887 pp.

Ek-1

Fenogram çiziminde kullanılan bant matiksleri

OPA 12

1300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
980	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
820	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1
730	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
700	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
650	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
550	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 437

850	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
800	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
580	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
290	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1

OPF 02

1150	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
950	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1
900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
630	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
570	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
480	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 394

1300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
840	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
790	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
750	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 09

1300	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0
1250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1200	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1

Ek 1 Devam ediyor

1125 0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1050 1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1000 1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
920 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
880 1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0

OPF 03

1350 1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1
1250 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1150 1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
920 1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
850 1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
750 1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
700 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPF 04

980 0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
825 0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
790 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
640 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
560 0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1
400 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPF 05

1250 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1130 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000 1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
780 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500 0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0

OPK 04

1050 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
750 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
680 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
550 0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
500 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 123

980 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
950 0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
920 0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
890 0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Ek 1 Devam ediyor

850	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
550	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
640	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0
600	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0

OPP 01

990	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
920	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
850	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
800	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
720	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
530	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1
450	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
280	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
230	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPF 07

1600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1250	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1030	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
980	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
880	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
800	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
770	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
740	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
640	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPF 09

1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1060	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
865	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0
825	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
785	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
720	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
680	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0
580	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
320	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek 1 Devam ediyor

OPK 16

1500	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1350	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1
1250	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
890	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
790	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
740	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
620	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
580	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
490	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
390	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

UBC 285

1340	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1170	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
990	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
840	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
730	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
690	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
620	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
530	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
490	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
380	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

UBC 546

1125	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1070	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
780	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
670	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
570	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
520	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
420	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0

Ek 1 Devam ediyor

OPF 14

1250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
1100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
780	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPA 14

1300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1050	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
720	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
580	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
530	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
460	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPO 02

1150	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
1050	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
750	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1
700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
560	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
500	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1
450	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1
390	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0

UBC 493

1450	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
1400	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1

Ek 1 Devam ediyor

890	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
780	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
720	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
650	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
520	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 232

1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
430	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
380	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
280	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPF 01

340	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

OPF 10

980	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
880	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
420	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPP 33

950	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

OPA 01

1400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1170	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1120	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
980	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
860	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
780	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
450	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
390	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
350	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyad : Ayşe Yeşbek
Doğum Yeri : Adana
Doğum Yılı : 1982
Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1996–2000 Çağrı Bey Süper Lisesi
Lisans : 2000–2004 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans : 2004–2007 Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü
Yabancı Dil : İngilizce
İş Tecrübesi : Ocak 2006-Mayıs 2007- GENAR Biyoteknoloji ve
Moleküler Biyoloji Laboratuvarları