

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

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN YEREL EMMER BUĞDAY
[*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell.]
POPÜLASYONLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
KARAKTERİZASYONU**

Sevilay DEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Özlem ÖZBEK**

**AĞUSTOS
2015**

Sevilay DEMİR tarafından hazırlanan ‘‘ Türkiye’ de Yetişen Yerel Emmer Buğday, [*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell.] Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu’’ adlı tez çalışması 27/10/2015 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Aydın ÖZLÜK

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Özlem ÖZBEK

Üye : Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR

Hitit üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 09./11...2015. tarih ve 2015/134.. sayılı kararı ile Sevilay DEMİR’in Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.


Prof. Dr. Ali KILIÇARSLAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür Vekili

TEZ BEYANI

Tez içindeki bütün bilgilerin eksiksiz etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.



Sevilay DEMİR

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN YEREL EMMER BUĞDAY [*T. turgidum* L. ssp.
dicoccon (Schrank) Thell.] POPÜLASYONLARINDA GENETİK
ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE KARAKTERİZASYONU**

Sevilay DEMİR

**HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ekim 2015

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen dokuz yerel emmer buğday [*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] popülasyonu basit dizi tekrarları (SSR) yöntemiyle araştırıldı. Çalışmada kullanılan tohumlar Ege Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Müdürlüğü’nden temin edildi. Bu çalışmada kullanılan dokuz SSR primeri uzunlukları 57-376 bp arasında değişen ve %100 polimorfik toplam 497 alel üretti. Elde edilen SSR verileri genetik veri analizi yazılım programı olan POPGENE (1.32 versiyonu) ile analiz edildi. Locus düzeyindeki genetik veri analizlerine göre ortalama lokus başına düşen alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), genetik çeşitlilik değeri (H_e) ve Nei’nin genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla 40,89, 13, 0,9 and 0,89 olarak belirlendi. En yüksek ortalama alel sayısı, etkili alel sayısı, genetik çeşitlilik ve Nei’nin genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla $n_a = 50$ (X-gwm-186 için), $n_e = 26.08$ (X-gwm-312 için), $H_e = 0.97$ (X-gwm-312 için) and Nei’s $H_e = 0.96$ (X-gwm-312 için) olarak hesaplandı. En düşük ortalama alel sayısı, etkili alel sayısı, genetik çeşitlilik ve Nei’nin genetik çeşitlilik değerleri sırasıyla $n_a = 30$ (X-gwm-408 için), $n_e = 3,45$ (X-gwm-577 için), $H_e = 0,71$ (X-gwm-577 için) and Nei’s $H_e = 0,71$ (X-gwm-577 için) olarak hesaplandı. Gözlenen en yüksek genetik çeşitlilik $He_{ob.} = 0,24$ ile H popülasyonunda tespit edilirken gözlenen en düşük genetik çeşitlilik $He_{ob.} = 0,08$ ile L popülasyonunda tespit edildi. Beklenen en yüksek genetik çeşitlilik $He_{exp.} = 0,92$ ile L popülasyonunda gözlenirken beklenen en düşük genetik çeşitlilik $He_{exp.} = 0,76$ ile H popülasyonunda tespit edildi. Popülasyonlar arasında genetik farklılaşma ve

gen akışı değerleri sırasıyla $F_{ST} = 0,15$ ve $N_m = 1,41$ olarak hesaplandı. Populasyon içindeki genetik varyasyon %85 iken populasyonlar arasında %15'tir. En yüksek genetik uzaklık B ve L populasyonları arasında $D = 0,69$ olarak gözlenirken, en düşük genetik uzaklık B ve M ile M ve N arasında $D = 0,46$ olarak gözlemlendi. Populasyonlar arasındaki genetik uzaklığa göre UPGMA yöntemiyle bir dendrogram oluşturuldu. Dendrogramda populasyonlar iki ana gruba ayrıldı. L populasyonu tek başına bir ana grupta kümelendirken populasyonların geri kalanı ikinci grupta kümelendi. SSR marker sistemi *T. dicoccon* populasyonları arasında genetik çeşitliliği verimli şekilde belirledi ve farklı populasyonları birbirinden başarılı şekilde ayırt etti. Bu çalışmanın sonuçlarına göre SSR marker sisteminin populasyon genetiği analizlerinde genetik çeşitliliği ve populasyon yapısını belirlemede kullanılabileceği önerilmektedir.

Anahtar kelimeler : *Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon*, SSR, genetik çeşitlilik
genetik farklılaşma

**CHARACTERIZATION OF GENETIC DIVERSITY IN EMMER WHEAT
[*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] LANDRACES
POPULATIONS GROWN IN TURKEY BY MOLECULAR MARKERS**

Sevilay DEMİR

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2015

ABSTRACT

Genetic diversity among nine emmer wheat [*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] landraces populations, grown in Turkey was screened by simple sequence repeats (SSR) technique. The seed samples, used in this study were provided by Aegean Agricultural Research Institute Izmir. Nine SSR primers, used in this study, produced 497 alleles, which ranged 57-376 bp and were 100 % polymorphic. The SSR data obtained was analyzed using POPGENE (version 1.32) genetic data analysis software program. Genetic diversity data at locus level, mean number of allele per locus (n_a), effective allele (n_{ea}), value of genetic diversity (H_e) and value of Nei's genetic diversity were determined as 40.89, 13, 0.9 and 0.89 respectively. The mean number of alleles, effective alleles, value of genetic diversity and value of Nei's genetic diversity were calculated as $n_a = 50$ (for X-gwm-186), $n_e = 26.08$ (for X-gwm-312), $H_e = 0.97$ (for X-gwm-312) and Nei's $H_e = 0.96$ (for X-gwm-312) respectively. The lowest mean number of allele, effective allele, value of genetic diversity and value of Nei's genetic diversity were detected as $n_a = 30$ (for X-gwm-408), $n_e = 3.45$ (for X-gwm-577), $H_e = 0.71$ (for X-gwm-577) and Nei's $H_e = 0.71$ (for X-gwm-577) respectively. The highest observed genetic diversity was detected as $He_{ob.} = 0.24$ in population H, while the lowest observed genetic diversity was detected as $He_{ob.} = 0.08$ in population L. The highest expected genetic diversity was observed as $He_{exp.} = 0.92$ in population L, while the lowest observed genetic diversity was observed as $He_{exp.} = 0.76$ in population H. The genetic differentiation and gene flow between populations were calculated as $F_{ST} = 0.15$ and $N_m = 1.41$

respectively. Genetic variation within population and between was %85 and %15 respectively. The highest genetic distance was observed as $D = 0.69$ among populations B and L, while the lowest genetic distance was observed as $D = 0.46$ between populations B and M, and N and M. A dendrogram based on genetic distance between populations was using according to UPGMA (unpaired group mathematical average) method. That, populations separated into two main groups. The populations L were clustered alone in one main group, while the rest of the populations were clustered in the second main group. SSR marker system determined efficiently the genetic diversity among the *T. dicoccon* populations and it was successful to differentiate the different populations from each other. It is concluded that SSR marker system can be successfully used for population genetics analysis to investigate genetic diversity and population structure.

Keywords : *Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon*, emmer wheat, SSR, genetic diversity, genetic differentiation

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, tezimin her aşamasında öneri ve tecrübeleriyle bana destek olan kıymetli danışmanım sayın Doç. Dr. Özlem ÖZBEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan değerli hocam Arş. Gör. Aslı KARA'ya, arkadaşlarım Betül GIDİK, Esra ERDEM ve Asiye Aslı EMNİYET'e çok teşekkür ederim.

Bu tez Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından FEF03.13.001 proje numarası ile desteklendiğinden dolayı BAP birimine ve Rektörlük makamına teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamda kullandığım materyalleri temin etmemde yardımcı olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü çalışanlarına da teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Hayatımın her anında manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan, tüm zor zamanlarımda hep yanımda olan sevgili nişanlım Gökhan ERCAN ve canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
HARİTALAR DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. DNA izolasyon basamakları.....	19
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	24
3.2.2. İzolasyonu yapılan popülasyonlarda DNA miktarları.....	25
3.3. SSR analizi.....	26
3.3.1. PCR koşulları.....	28
3.3.2. Agaroz Jelin Hazırlanışı.....	29
3.3.3. Örnek yükleme ve elektroforez koşulları.....	29
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	33
4.2. Genetik Çeşitlilik Analizleri.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
KAYNAKLAR.....	55
EKLER.....	59
EK-1.....	60
EK-2.....	65
EK-3.....	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Dünya buğday üretimi ve önemli üretici ülkeler (milyon ton).....	3
Çizelge 1.2. Kromozom sayılarına göre buğday türleri.....	4
Çizelge 3.1. Bu çalışmada kullanılan yerel emmer buğday [<i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>dicoccon</i> (Schrank) Thell] popülasyonlarının gen bankası kayıt bilgileri ve popülasyonlara verilen populasyon kodları.....	18
Çizelge 3.2. Bu çalışmada kullanılan 9 SSR primerlerinin adı ve tanıdığı kromozom kolu, taşıdığı floresan işareti, SSR motifi, primer dizisi ve beklenen fragment boyutu bilgileri.....	26
Çizelge 4.1. SSR primerleri tarafından üretilen bantların beklenen ve gözlenen fragment boyutları.....	37
Çizelge 4.2. Popülasyonlardaki polimorfik lokuslarda gözlenen alel sayıları ve yüzdeleri (Nei, 1973)	38
Çizelge 4.3. Popülasyonlara göre lokuslardaki alel frekansları.....	40
Çizelge 4.4. Saptanan SSR lokuslarındaki toplam genetik çeşitlilik, popülasyon içi genetik çeşitlilik, popülasyonlar arası genetik farklılaşma ve gen akış verileri.....	42
Çizelge 4.5. Saptanan SSR lokuslarında gözlenen alel sayıları, etkili alel sayıları, beklenen heterozigotluk değeri, Nei'nin heterozigotluk değeri ve ortalama heterozigotluk değerleri.....	43
Çizelge 4.6. SSR lokuslarında gözlenen popülasyon içi alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), gözlenen genetik çeşitliliği ($H_{e_{ex}}$), beklenen genetik çeşitlilik ($H_{e_{ex}}$), Nei'ye göre genetik çeşitlilik ve ortalama genetik çeşitlilik dağılımları.....	44
Çizelge 4.7. SSR analizi sonuçlarına göre dokuz <i>T. dicoccon</i> popülasyonları arasında Nei'nin (Nei, 1972) formülüne göre bütün lokuslar için hesaplanan genetik uzaklık (D) matrisi.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa
Şekil 3.1. SSR primerlerinin buğday kromozomları üzerinde buldukları lokasyonları gösteren kromozom haritası.....	27
Şekil 3.2. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-312 numaralı primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü.....	31
Şekil 3.3. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-268 primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü.....	31
Şekil 3.4. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-408 numaralı primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü.....	32
Şekil 4.1. Türkiye’de yetişen <i>Triticum T.</i> popülasyonları arasında akrabalık ilişkilerini gösteren dendrogram.....	47

RESİMLER DİZİSİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Çimlenmek üzere cam petri kaplarına hazırlanan tohumlar.....	20
Resim 3.2. Yeni tohumlarda da çimlenme problemi yaşandı.....	20
Resim 3.3. En yüksek çimlenme oranı gösteren populasyonlar seçilmiş ve toprakta çoğaltıma geçildi.....	21
Resim 3.4. Çimlenen tohumlar saksılara aktarıldı.....	21
Resim 3.5. Toprağa aktarılan bitkilerden büyümeyen ve böceklenmeden dolayı kuruyan bitkilerin görüntüsü.....	22
Resim 3.6. Çimlenme başarısı yüksek populasyonlardan DNA izolasyonu için yapraklar toplandı.....	23
Resim 3.7. M populasyonunun bireylerinin DNA miktarları.....	25
Resim 3.8. X-GWM-18 primeri ile elde edilen SSR bant modelleri.....	30
Resim 3.9. X-GWM-312 primeri ile elde edilen SSR bant modelleri.....	30

HARİTALAR DİZİNİ

Harita	Sayfa
Harita 3.1. Bu çalışmada kullanılan Türkiye’de yetişen dokuz [<i>Triticum turgidum</i> L. ssp. <i>dicoccon</i> (Schrank) Thell.] popülasyonunun toplandıkları lokasyonları gösteren Türkiye haritası.....	19



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
bç	Baz çifti
d	Dekar
dNTP	Deoksiribonükleozit trifosfat
g	Santrifüjün dakikadaki dönüş sayısı
kb	Kilobaz
mA	Miliamper
mg	Miligram
mL	Mililitre
MgCl₂	Magnezyum klorür
°C	Derece selsiyus
pH	Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması
Tag	<i>Thermus aquaticus</i>
V	Volt
Kisaltmalar	Açıklama
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AP-PCR	İsteğe Bağlı Primer Kullanılarak Yapılan PCR
cDNA	RNA'dan sentezlenmiş complementer DNA
cpSSR	Kloroplast mikrosatelliti
DAF	DNA parmakizi uygulamaları
DNA	Deoksiribonükleik asit

EST	İfade Edilmiş Dizi Etiketleri
F primer	3'-5' yönünde çoğaltma yapan primer
mtDNA	Mitokondri DNA'sı
mtSSR	Mitokondri mikrosatelliti
ORF	Açık Okuma Bölgeleri
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	Polimorfizm Bilgi İçeriği
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi
R primer	5'-3' yönünde çoğaltma yapan primer
SSR	Basit Tekrarlı Diziler
TAE	Tris asetik asit EDTA
TE	Tris-EDTA
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Dünyada en önemli kalori ve protein kaynağının başında tahıllar gelir. Dünya’da kişi başına alınan günlük kalori miktarının %52’sinin proteinlerden %47’sinin de tahıl ürünlerinden alındığı bilinmektedir. Tahıl ürünlerinin en önemlilerinden olan buğday danesinin uygun beslenme değeri, taşınma, saklanma, kolay yetiştirilmesi ve geniş adaptasyon sınırlarından dolayı uzun yıllardan beri çoğu ülkenin temel besin kaynağını oluşturmaktadır.

Emmer Buğdayının Evrimleşme Süreci

Moleküler genetik ve arkeolojik veriler emmer buğdayının yabani emmer buğdayından verimli hilal bölgesinde 8000 yıl önce evrimleştiğini göstermektedir. Arkeolojik verilere göre kavuzsuz tetraploit buğdayların (durum ve rivet) Yakın Doğu’da ortaya çıktığı ve emmer buğdaydan evrimleştiği düşünülmektedir. Zohary ve Hopf (2000)’un RFLP çalışmalarının verileri durum buğdayının emmer buğdayından türediği hipotezini destekler niteliktedir.

Emmer buğdayının Güney Doğu’da Karacadağ’da evrimleştiği önceki araştırmacılar tarafından rapor edildi (Özkan ve ark., 2005, Huo ve ark. 2007). Emmer buğday kültürü Mezopotamya ve batı Anadolu’da milattan önce 6000 yıllarında başladı. Yakın Doğu’da da tarımı en çok yapılan tahıl buğdaydır. Bugün sadece Etiyopya, İran, İtalya, Transkafkasya, Türkiye ve Balkanlarda yapılmaktadır.

Tetraploit buğdaylardan oluşan bir buğday koleksiyonu Özkan ve arkadaşları (2002) tarafından AFLP marker sistemiyle analiz edildi. Yine, Özkan ve arkadaşları (2005) tetraploit buğdayların evcilleşme coğrafyalarını AFLP marker sistemi ile taradılar. Özkan ve arkadaşları (2002; 2005) bu iki çalışmanın sonuçlarının *Triticum dicoccoides*’in iki tane çok farklı genetik taksasının olduğu hipotezini desteklediğini bildirdiler. Bu taksalardan biri İsrail, Suriye, Lübnan ve Ürdün’ü içeren bölgede ortaya çıkarken diğersinin Türkiye’nin orta ve doğu bölgesi ile İran ve Irak’ı içeren bölgede ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Bu ikinci taksanın büyük ihtimalle evcilleşmiş buğdayların gen kaynağını oluşturduğu belirtilmektedir. Ayrıca ek olarak, Karacadağ popülasyonunun İran-Irak hatlarıyla ortak genomik yapılar

göstermesi Karacadağ popülasyonunun evcil genotiplerin muhtemel atası olabileceği tezini desteklediği açıklanmaktadır.

Buğdayın Dünya ve Türkiye'deki Ekonomik Önemi

Dünyada pek çok iklim ve coğrafya koşullarına uyum sağlaması, üretiminin kolay olması, enerji verici ve doyurucu olması gibi sebeplerle önemli olan buğday, pek çok ülkede en önemli besin kaynağıdır. Tür ve çeşitlerine bağlı olarak ekmek çeşitleri başta olmak üzere makarna, bulgur, erişte, bisküvi, kraker, gofret, kek, simit, poğaça, kahvaltılık gevrekler, çerez gıdalar, nişasta, vital gluten ve nişasta bazlı şekerler gibi birçok tüketim maddesinin üretiminde ham madde olarak kullanılmaktadır.

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde halkın temel besin kaynakları arasında ekmekten sonra gelen en önemli gıda maddesi makarnadır. Makarna yapımında da *Triticum durum* türüne giren buğdaylar ham madde olarak kullanılmaktadır (Başçiftçi ve Kınacı, 2013).

Ülke nüfusumuzun hızla artması sebebiyle beslenme sorunlarının çözümünde, sınırlı olan tarım alanlarımızdaki bitkisel üretimin verimliliğini artırmak büyük önem taşımaktadır. Kuşkusuz ülke insanımızın beslenmesinde en ön sırada gelen bitkilerden en önemlisi buğdaydır. Buğday ürününden elde edilen pek çok besin maddesi insan beslenmesinde; buğday bitkisinin sapları ise kâğıt-karton gibi çeşitli sanayi kollarında ve hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır. Bu sebeple gerek Dünya' da ve gerekse ülkemizde özellikle buğday üretiminde herhangi bir sebeple azalma olduğunda gerek ekmek fiyatları veya gerekse buğdaydan yapılan gıda maddelerinin fiyatları yükseldiğinden herkesi doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle her ülke için buğday üretimi açısından yeterli olmak ve stoklarında yeterince buğday ürünü bulundurmak stratejik bir önem taşımaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2014 verilerine göre ülkemizde de beslenmede yoğun olarak kullanılan buğday, Türkiye'de 79 192 084 dekar (d) ekim alanına, 19 milyon ton'luk üretime ve 240 kg/d civarında verime sahiptir. Birim alandan elde edilen verim dünya ortalamasının altında bulunmaktadır.

Yine 2014 TÜİK verilerine göre buğday tahıllar arasında 79 192 084 dekarlık ekim alanı ve 19 milyon tonluk üretimi ile tahıllar arasında öncelikli ürün olma özelliğini korumaktadır. Buğdayı arpa, mısır, ayçiçeği, pamuk, şekerpancarı gibi ürünler takip etmektedir.

Türkiye 2013 yılı un sanayi sektör raporuna göre dünyada buğday üretim sıralamasında 9. sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.1. Dünya buğday üretimi ve önemli üretici ülkeler (milyon ton)

ÜLKELER	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13
AB(27)	122,7	125,1	118	150,7	138,3	136,8	138	133,6
ÇİN	97,5	108,5	109,3	112,5	115,1	115,2	117,9	593,8
HİNDİSTAN	68,6	69,4	75,8	78,6	80,7	80,78	86,79	94,9
ABD	57,2	49,2	55,8	68	60,4	60,1	54,4	61,7
RUSYA	47,7	44,9	49,4	63,8	61,7	41,5	56,2	37,7
AVUSTRALYA	25,2	10,8	13,6	21,4	21,8	27,9	29,5	22,1
PAKİSTAN	21,7	21,7	23,3	21	24	23,9	24	23,3
KANADA	26,8	25,3	20,1	28,6	26,8	23,2	25,3	27,2
TÜRKİYE	18	17,5	15,5	17	18,5	17,5	18,8	15,5
UKRAYNA	18,7	13,8	13,9	25,9	20,9	16,8	22,3	15,8
ARJANTİN	12,6	14,5	16,3	8,4	8,8	14,7	14	9,5
KAZAKİSTAN	11	12,5	16,5	13	16,5	10	22,7	9,8
DİĞER	111,8	98,1	93,9	102,2	105,8	101,1	107,8	17,10
DÜNYA	620,7	597,5	607,4	685	678,5	652,6	695,5	655,49

Ülkemiz makarnalık buğday gen merkezlerinin olduğu verimli hilal içerisinde yer almaktadır ve dünyada önemli buğday üretici ülkeleri arasındadır. Ekim alanlarının % 54,6'sı Güney Doğu Anadolu, %25,4'ü Orta Anadolu ve % 16,4'ü Kuzey-Batı Geçit Bölgesinde yer alır. İller bazında ise Şanlıurfa % 25,9 ile birinci Konya % 15,9 ikinci ve Mardin %11,7 ile üçüncü sıradadır. Özellikle Güney Doğu Anadolu Bölgemiz, Dünyada artması beklenen makarnalık buğday talebini karşılama potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Buğdayın Genetik Özellikleri

Buğdayda bulunan temel kromozom sayısının 7 olduğu Sakamura ve Sax (1922) tarafından uzun yıllar önce saptanmıştır. Kültürü yapılan ve yabani buğdaylar kromozom sayılarına göre üç ana grup altında toplanabilir.

Çizelge 1.2. Kromozom sayılarına göre buğday türleri

Buğday türleri	Poliploidi düzeyi	Kromozom sayısı (2n)
<i>Triticum aestivum</i> (ekmeklik buğday)	Hekzaploit	42
<i>Triticum durum</i> (makarnalık buğday)	Tetraploit	28
<i>Triticum monococcum</i> (kaplıca buğdayları)	Diploit	14

Buğdayın sistematığı

Buğday (*Triticum turgidum*) bitkisinin taksonomisi;

- Alem : Plantae
- Şube : Magnoliophyta
- Sınıf : Liliopsida
- Takım : Poales
- Familya : Poaceae
- Cins : Triticum

Dünyada ve ülkemizde tarımı yapılan buğday türlerinin tamamına yakını ekmeklik ve makarna üretilen buğdaylar grubuna dâhildir ve az da olsa diploit gruba ait çeşitlerin de tarımı yapılmaktadır. Tüm dünyadaki buğday üretiminin % 80–90'ın ekmeklik buğdaylar oluşturmaktadır. *Triticum aestivum* olarak incelenen asıl ekmeklik buğdaylar en fazla üretilip, *Triticum compactum* adı altında incelenen topbaş ekmeklik buğdayların tarımı ise çok azdır ve giderek de hızlı bir şekilde azalmaktadır. Dünya buğday tarımının % 10-20'i kadarını oluşturan makarnalık buğdaylar, olumsuz şartlara karşı ekmeklik buğdaylardan daha az dayanıklıdır ve kaliteli ürün için özel iklim koşulları isterler.

Moleküler İşaretleyiciler (markörler)

Son 20 -25 yıllık süreçte bitki genomuyla ilgili yapılan yoğun çalışmalar bu alanda bir devrim niteliğindedir. Genom analizinde sıklıkla kullanılan ve faydalı sonuçlar veren moleküler markörler bu devrimin önemli araçları olmuştur. DNA parmak izi terimi genomik DNA parçalarını (fragmentlerini) elektroforezle ayırdıktan sonra çok lokuslu problemlerin yarattığı barkodu gibi DNA parça modellerini tarif etmek için ilk kez Alec Jeffrey tarafından 1985 yılında kullanıldı. Ortaya çıkan modeller analiz edilen bireye özgü özellikleri taşıdığından DNA parmak izi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, genom parmak izinde, genom haritalarının çıkarılmasında, genlerin yerlerinin bulunmasında, genom evriminin analiz edilmesinde, bitki üretimi ve teşhis koyma gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Özbek, 2006).

İdeal bir DNA markörünün taşınması gereken özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

- (a) Polimorfik düzeyi yüksek olmalı
- (b) Kodominant kalıtım göstermeli (diploit organizmalarda homozigot ve heterozigot durumları belirleyebilmek için)
- (c) Genomda sıklıkla bulunmalı
- (d) Seçici nötr davranışları olmalı (Organizmanın DNA sekansının çevre koşullarından veya düzenleme etkinliklerinden etkilenmemesi)
- (d) Kolay elde edilmesi
- (e) Hızlı analiz edilebilir olmalı
- (f) Önemli düzeyde tekrarlanabilir sonuçlar vermeli
- (g) Laboratuvarlar arasında veri aktarımı kolay yapılabilmesi

Bu özelliklerin tamamına sahip bir markör bulmak oldukça zordur. Fakat yapılacak çalışmanın türüne ve amacına uygun bu özelliklerden birkaç tanesini taşıyan herhangi bir markör seçilip verimli sonuçlar alınabilir (Özbek, 2006).

Moleküler markörlerin ortaya çıkmasıyla daha pek çok yeni tip markörler geliştirildi ve son 20 yıl içinde tanınarak biyoloji biliminde önemli çalışmaların yapılmasına olanak sağladı (Joshi ve ark., 2008).

DNA temelli moleküler markörler taksonomi, fizyoloji, embriyoloji, genetik mühendisliği vb. pek çok alanda kullanıldı. Ayrıca bu markörler bazı adli vakalarda, genetik çeşitlilik çalışmalarında, DNA parmak izi çalışmalarında da kullanılarak önemli gelişmelere yol açtı (Joshi ve ark., 2000).

Polimeraz zincir reaksiyonun (PCR) bulunmasından sonra DNA markörleri kullanılarak gen etiketleme, genetik haritalama, harita temelli tarımsal açıdan önemli genlerin belirlenmesi, genetik çeşitlilik çalışmaları, filogenetik analizler, markörler yardımıyla seleksiyon (MAS) çalışmaları kolaylaşmıştır (Joshi ve ark., 2000).

Bitki biyoteknolojisi çalışmalarında yaygın olarak kullanılan moleküler markör teknikleri analiz yöntemlerine göre sınıflandırılarak değerlendirilmiştir. Bu markörler hibridizasyon yöntemleri ile tespit edilebilenler (RFLP) ve PCR'a bağlı olanlar (RAPD, AFLP, SSR) olmak üzere iki temel grupta incelenmektedirler (Staub ve ark., 1996).

Hibridizasyon temelli teknikler

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms)

RFLP ilk keşfedilen ve hibridizasyon temel alınarak kullanılan en yaygın moleküler markör tekniğidir. DNA polimorfizminin tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır. Öncelikle çalışılan bitkinin DNA'sı izole edildikten sonra restriksiyon (endonükleaz) enzimleriyle kesilen DNA parçaları jel elektoroforezinde yürütülür. Bu aşamadan sonrasında nitroselüloz veya naylon (+) membran üzerine transfer edilir, kimyasal etiketli problarla eşleşmeye (hibridizasyona) tabi tutulur ve çalışma sonunda farklı DNA parçaları ortaya çıkarılmış olur. RFLP markörlerinin yüksek polimorfizme sahip, kodominant ve tekrarlanabilirliğin yüksek olması avantajlarını oluştururken, çok fazla DNA'ya ihtiyaç duyulması, pahalı ve uzun zaman alması bu tekniğin dezavantajını oluşturur (Gıdık, 2012).

RFLP, popülasyon ve tür içi genetik çeşitlilik çalışmalarında, filogenetik çalışmalarında, gen haritalamalama çalışmalarında ve gen akışı tespitlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

PCR temelli teknikler

PCR'in keşfedilmesinden sonra moleküler biyoloji çalışmaları hızla artmış ve özellikle de PCR temelli markör çalışmalarına çok fazla yeni fikirler eklenmiştir. Canlı organizma kullanmadan az miktarda DNA ve enzim kullanılarak gerekli kimyasalların (dNTP, tampon çözelti vb.) yardımıyla yapılan DNA çoğaltma işlemine PCR denilmektedir (Filiz ve Koç, 2011).

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)

RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), rastgele nükleotit dizilimine sahip olan primerlerin kullanılarak DNA parçalarının çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Bu markör tekniği kullanılarak oluşan farklı bant profillerine bakarak DNA polimorfizmi incelenebilmektedir (Özşensoy ve Kurar, 2000).

RAPD tekniğinde kullanılan primerler hem ileri (forward) hem de ters (reverse) primer olarak görev yapar ve çoğaltılan parçacıkların büyüklüğü genellikle 0,5–5 kb arasında değişmektedir. Bu teknikle yapılan çalışmalar sonucu gözlenen polimorfizmin sebebi, primerlerin bağlanma bölgelerinin çeşitliliği ve buna bağlı olarak oluşan farklı uzunluktaki DNA parçacıklarıdır (Filiz ve Koç, 2011).

RAPD tekniği dominant özellik gösterir. Yüksek düzeyde polimorfizm gözlenmesi, basit ve kolay anlaşılır olması, primer tasarımının kolay olması, bu tekniğin avantajları arasındadır. Buna karşın tekrarlanabilirliğinin az olması ve bilgilendirme gücünün zayıf olması da dezavantajlarını oluşturmaktadır.

RAPD markör tekniğinin keşfedilmesinden sonra DAF (DNA Amplification Fingerprinting) ve AP-PCR (Arbitrary Primed-Polymerase Chain Reaction) olmak üzere iki çeşit RAPD sistemi yöntemi geliştirilmiştir. AP-PCR'da (Welsh ve McClelland, 1990), 10-15 nükleotit uzunluğunda tek nükleotit çeşidi kullanır ve pek

yaygın olmayan bir sistemdir. DAF ise (Caetano-Anolles ve ark., 1991), 5-8 nükleotit uzunluğunda çeşitli primerlerin kullanılarak oluşan ürünlerin gümüş nitrat boyama yapıldığı ve poliakrilamid jel üzerinde yürütüldüğü bir sistemdir (Filiz ve Koç, 2011).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm) tekniği, RFLP tekniği ile PCR temelli teknikleri birleştiren bir tekniktir ve restriksiyon enzimleriyle (RE) ile kesilmiş genomik DNA parçalarının PCR ile çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Bu teknik DNA'nın enzimle kesilmesi ve oligonükleotit adaptörlerin bağlanması, kesilmiş bölgelerin PCR ile çoğaltılması ve son olarak çoğaltılan bölgelerin poliakrilamid jelde analiz edilmesi esaslarına dayanmaktadır (Özşensoy ve Kurar, 2000). İlk olarak RE ile kesilen DNA'ların uç bölgelerine adaptör adı verilen sentetik DNA dizileri bağlanmaktadır. Bu işlem sonucunda oluşan ürünler seçici nükleotit eklenmiş primerler tarafından çoğaltılır. İlk çoğaltım, adaptöre komplementer bir seçici nükleotit ekli primerler tarafından, son seçici çoğaltımda ise üç seçici nükleotit ekli primerler tarafından gerçekleştirilir. Çoğaltım işlemi sonucunda oluşan AFLP parçacıkları poliakrilamid jel üzerinde gözlenir. Bu teknikte tek reaksiyonla 50–100 parçacık oluşur ve buda polimorfizm oranının oldukça yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Polimorfizm oranının oldukça yüksek çıkması, tekrarlanabilirliğinin yüksek seviyede olması, DNA kaynağından bağımsız bir şekilde genomun tamamındaki polimorfizm oranının belirlenebilmesi, öz dizi bilgi gerektirmemesi, türler arası ve tür içi akrabalık derecelerinin belirlenmesinde etkin rol oynamasından dolayı bitki genetik çeşitlilik çalışmalarında önemli bir yere sahiptir (Filiz ve Koç, 2011).

SSR (Simple Sequence Repeats)

Canlı genomunda belirli sayılarda ve çok sıklıkla tekrarlanan, genomun neresinde bulunduğu ve kaç defa tekrarlandığı türden türe değişiklik gösteren dizilere SSR veya mikrosatellit denir.

Mikrosatellitlerin tekrar motifleri 1–6 bç arasında değişmektedir. Tekrar eden bölgelere özgü özel spesifik primerler geliştirilmekle birlikte bu primerler ile PCR

yapılmaktadır. PCR işlemi sonunda oluşan PCR ürünleri, elektroforez işlemi yapıldıktan sonra gümüş nitrat veya etidyum bromide kullanılarak boyanır ve polimorfizm aranmaktadır. SSR tekniğinin kodominant olması ve tekrarlanabilir özelliğe sahip olması en önemli avantajını oluştururken, dizilim analizi ve genom bilgisine ihtiyaç duyulması dezavantajını oluşturmaktadır (Rangwen ve ark., 1995; Ridout ve Donini, 1999).

Mikrosatellitlerin tekrar sayısının 100'den az olduğu bilinmektedir. Mikrosatellitler hem prokaryot hem de ökaryot genomunun herhangi bir bölgesinde bulunabilmektedir. Basit yapıya sahip hücreler olan prokaryot hücrelerde mikrosatellitlerin pek çok fonksiyona sahip olduğu bilinmesine karşın gelişmiş yapıya sahip ökaryot hücrelerdeki rolü ise tam olarak bilinmemektedir (Bennett, 2000).

SSR markörler genel olarak iki nükleotitli tekrarlardan (CA)_n oluşurken bazı formlarda da farklı şekillerde (AC, AT, AAC, AAT, CCG vb) bulunabilmektedir. Bu yöntem PCR tekniğinin yardımıyla genetik çalışmalarında en çok tercih edilen markör sistemidir. Mikrosatellitlerde tekrar dizilerini kuşatan DNA dizileri bir türün bireylerinde aynıdır fakat tekrar dizilim sayıları bireyler hatta bireylerin homolog kromozomları arasında bile farklılık göstermektedir. Üç nükleotit tekrarlı SSR bölgelerinin polimorfizm oranının %60 olduğu, iki nükleotit tekrarlı SSR bölgelerinin ise polimorfizm oranının %100 olduğu belirtilmektedir. Bu teknik canlı genomlarında yaygın olarak bulunmaları, polimorfizm oranlarının oldukça yüksek seviyede olması ve kolay kullanılabilir olması nedeniyle genetik çalışmalarında tercih ve tavsiye edilen en önemli markör sistemlerinden biridir (Özşensoy ve Kurar, 2000).

Mikrosatellitleri çevreleyen bölgelerin dizileri (flanking region) bilindiği takdirde o bölgelere uygun primerler seçilerek (genelde 20–25 bp uzunluğunda) PCR ile çoğaltım yapılabilmektedir. DNA replikasyonu (DNA'nın kendini eşlemesi) sırasında meydana gelen dizi atlama, baz eşleşmelerinin hatalı olması ve eşit olmayan parça değişimi gibi olaylar mikrosatellit sayılarının farklılığına neden olan temel olaylardır ve jel elektroforeziyle belirlenmektedir. Bu markör sisteminin dezavantajları arasında ise mikrosatellit bölgelerinin mutasyon oranlarının yüksek

olması nedeniyle primer bağlanma bölgelerinde değişmeye neden olmakta ve anlamsız alellerin oluşmasına olanak sağlamaktadır. Böylece genotipik ve alel frekanslarının yanlış yorumlanması bazı tartışmalara sebep olmaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

Organel mikrosatellitleri

Bitki organel genomları (kloroplast DNA-mitokondriyal DNA) popülasyon genetiği çalışmaları ve filogenetik akrabalık ilişkilerinin ortaya çıkarılması çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Organel genomu pek çok bitkide anneye bağlı kalıtım göstermekte, kloroplast ve mitokondri alelleri çekirdek alellere göre farklı bir genetik yapı sergilemektedir. Çekirdek mikrosatellitleri yanısıra, bitki popülasyon genetiği, filogenetik ve evrimsel genetik çalışmalarında kullanılmak amacıyla kloroplast mikrosatellit (cpSSR) ve mitokondri mikrosatellit (mtSSR) temelli markörler geliştirilmektedir. Kloroplast mikrosatellitleri, pek çok bitkide sitoplazmik varyasyonların ortaya çıkarılmasında kullanılan önemli bir tekniktir. Kloroplast mikrosatellitler, üreme sistemleri çalışmaları, türler arası hibridizasyon çalışmalarında, polen ve tohum yoluyla gen akış oranlarının tespiti, genetik çeşitlilik belirleme ile ilgili çalışmalarda, filocoğrafik çalışmalarda etkili olarak kullanılmaktadır. Bitkilerdeki mitokondri DNA'sını (mtDNA) hayvan hücrelerindeki mtDNA ile kıyaslırsak bitki mtDNA'sı daha karmaşık ve büyüktür. Bunun yanında, dairesel kromozom şeklindeki mtDNA moleküler bir heterojenlik göstermekte ve yüksek orandaki reorganizasyon yeteneğinden dolayı bitki filogenetik çalışmalarında çok tercih edilmemektedir. Özellikle açık tohumlu bitki gruplarında popülasyon farklılaşmalarının araştırılmasında heterojen özelliklerinden dolayı çokça kullanılmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Enjalbert ve arkadaşları (1999) buğday popülasyonlarında alel frekanslarını karşılaştırmak için RFLP markörlerini kullandılar. Dört farklı bölgede on yıldır yetiştirilen iki popülasyon ve altı alt popülasyonla çalışılmıştır. Çalışma sonucunda alt popülasyonlar arasındaki farklılığın önemli ölçüde büyük çıktığını açıkladılar. Popülasyonların alel frekanslarındaki çeşitlilik beklediklerinden yüksek çıktı. Çıkan bu sonucun popülasyonların gelişim sürecini de etkilediğini yapılan çalışma sonucunda ortaya koydular.

Gupta ve arkadaşları (1999) moleküler markörlerin buğday yetiştiriciliğindeki uygulama alanları hakkında yaptığı çalışmayla bilim dünyasına önemli katkı sağlamışlardır. Son yıllardaki çeşitlilik çalışmaları için kullanılan moleküler markörlerin gelişmesinin önemini vurgulayarak bu moleküler markörlerin RFLP, RAPD, DAF, AFLP ve SSR olduğunu belirtmişler ve bu markörler sayesinde önemli çalışmalar yapmışlardır. Buğday tohumuna farklı özellikler kazandırılmak ve genom haritasını çıkarmak için bu markörlerin uygun olduğunu düşünen araştırmacılar MP-PCR, ESTs ve SNPs gibi diğer bazı markörlerle çalışmalarını desteklemiştir. Sentetik tahıl genomu, markör destekli seçim, markörlerin ispatı, tahıl yetiştiriciliği ile markörlerin bağlantısı ve tohum yetiştirme gibi konulardaki son bilgilerde bu çalışmayla incelendi.

Lii ve arkadaşları (1999) yabani buğday türü olan *T. dicoccoides*'te DNA farklılaşmasını, uyumu ve mikroklimatik stres faktörlerinin etkilerini ortaya çıkarmak amaçlandı. Genetik çeşitlilik çalışması *T. dicoccoides*'in 118 kayıtlı numunesinde RAPD-PCR yöntemiyle analiz edildi. Çalışmada kullanılan örnekler İsrail'den toplanan örneklerdir. Çalışma alanı olarak Quercus ormanında iklimik yönden uygun iki bölge tercih edildi. Birinci bölge ağaçlar arasındaki güneşlik alanlar, ikinci bölge ise ağaçlar altındaki gölgelik alanlardır. Çalışmada 20 oligonükleotit primer kullanılarak çoğaltma işlemi yapıldı. Çalışma sonucunda gölgelik ve güneşlik bölgede yetişen örnekler arasında genetik olarak tek, ikili ve

çoklu lokuslar bulunmuştur. Çalışma bu DNA polimorfizminin mikroklimatik stres faktörleriyle bağlantılı olduğunu kanıtlandı.

Szucs ve arkadaşları (2000) *T. durum* tohumlarında genetik çeşitliliği moleküler markörler aracılığı ile saptadı. *T. durum* genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği ortaya çıkarmak için RFLP ve RAPD markörleri kullanılmıştır. RAPD analizi farklı orijinli yirmi üç kış *T. durum* genotipleriyle incelendi. Aynı zamanda bunlardan beşi RFLP metodu kullanılarak da incelendi. On altı RAPD primerinin sekizi ve kırk yedi RFLP endonükleaz kombinasyonunun on üçü, beş *T. durum* genotipi arasında polimorfizm gösterdi. RAPD ve RFLP yöntemleriyle 0,04-0,14 arasında değişen benzerlik değerleri elde edilmiştir. Yirmi üç *T.durum* genotipinin RAPD metodu kullanılarak yapılan genetik çeşitlilik analizi sonucunda on altı primerin %87,5'inde polimorfizm gözlemlendi. Yapılan çalışma RFLP problemleri ve RAPD primerleri kullanılarak *T.durum* genotipleri arasında önceki çalışmalara göre daha az genetik akrabalık olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Bu sonuçlardan *T.durum* melezlerine çeşitli tarımsal özelliklerin kazandırılmasında, haritalama çalışmalarında ve yetiştirme programlarının geliştirilmesinde yararlanılabilir. Ayrıca ortaya konulan sonuçlar işlenmiş *T.durum* genotiplerini genetik özelliklerinin dikkat çekici olmasını sağlayabilir.

Röder ve arkadaşları (2000) İsrail ve Amniad'da çeşitli ekolojik bölgelerdeki yabancı buğday türlerinde mikrosatellit (SSR) kaynaklı doğal seçilim çalışmasıyla biyoloji alanında önemli gelişmelere olanak sağlamışlardır. Çalışma alanı olarak *T.dicooccoides*'in doğal yetişme alanı olan İsrail, Galile'nin kuzeyi ve Amniad bölgeleri kullanılmıştır. Bu ekolojik alanlar Kuzey, Valley, Ridge ve Karst olmak üzere dört habitata bölünmüştür. Bu habitatlarda dokuz alt bölgeye ayrılmıştır. Bu bölgeler ekolojik özellikleri açısından önemli farklılıklar göstermektedirler. Bu farklılıklar; taşların varlığı, ekolojik bölgenin yüksekliği veya alçaklığı, toprak yüzeyi, yağmur öncesi veya yağmur sonrası toprağın nemi gibi özelliklerdir. Yapılan çalışma sonucunda dört büyük habitat ve dokuz alt habitatta önemli genetik çeşitliliğin ve varyasyonların var olduğunu göstermiştir. Karst habitatında ve alt habitatlarında habitat özel aleller ve linkaj dengesizliği gözlemlenmiştir. Bu alt

popülasyon oldukça yüksek genetik çeşitlilik göstermiştir. Bu sonuçlar; doğal seçimde çoraklık stresinin önemli rol oynadığını kodlama yapmayan dizilerde sapmaların olmasına sebep olduğunu göstermiştir.

Tsuneo ve arkadaşları (2002) Yakındoğudaki yabani buğday türlerinin genetik çeşitliliğinin AFLP yöntemi ile belirlenmesi çalışmasını yapmışlardır. Çalışmada beş tür kullanılmıştır. Yabani buğday türlerinin genetik çeşitliliğini açıklayabilmek için Yakındoğu' dan orijinlenen *Aegilops* ve *Triticum* türleri AFLP yöntemi ile çoğaltılmıştır. Popülasyon içi çeşitlilik en az yedi bireyle çalışılmıştır. Çoğaltma işlemi için dört primer kullanılmıştır. Çalışma sonucunda gözlenen bantlarda polimorfik olanlar belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan beş tür içerisinde *Aegilops speltoides* popülasyon içi çeşitlilik düzeyinin en yüksek gözlendiği türdür. Aynı zamanda bu türler popülasyonlar arasında genetik çeşitliliğin en fazla gözlendiği türlerdir. *Triticum* türlerinde ise popülasyon içi çeşitlilik seviyesi diploit türlerde (*T. urartu* ve *T. boeoticum*) en düşük seviyede gözlenirken iki tetraploit türde (*T. dicoccoides* ve *T. araraticum*) popülasyon içi çeşitlilik seviyesi yüksekti. Alınan bu sonuçlar diploit *Triticum* türlerinde gözlemlenen genetik çeşitliliğin türler arası çeşitliliğin temelini oluşturduğunu, diğer yandan tetraploit *Triticum* türlerinde gözlenen genetik çeşitliliğin de popülasyon içi çeşitliliğinin temelini oluşturduğunu ortaya koymuştur. Yapılan bu çalışmanın sonucu AFLP yönteminin doğal popülasyonlarda yetişen yabani buğday türlerindeki genetik çeşitliliğin ortaya konması ve gen bankalarındaki genetik çeşitliliği sürdürmesine olanak sağlaması açısından önemlidir.

Karl ve arkadaşları (2005) Umman'da ki yerel hexaploid buğday türlerindeki genetik çeşitliliği mikrosatellit (SSR) markör yöntemiyle belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada kullanılan *Triticum* ssp. türleri Kuzey Umman'da ki dağdan gelen geleneksel sulama sistemi yardımıyla yetiştirilmiştir. Bu çalışmada mikrosatellit yöntemi kullanılarak yerel buğday türlerinin coğrafi olarak orijinlendiği bölge ile genetik çeşitliliği arasında nasıl bir ilişki olduğu bulunmak istenmiştir. Çalışmada kullanılan buğday koleksiyonu yerel buğdayların yetiştiği yer olan Kuzey Umman bölgesini kapsamaktadır. Çalışmada 6 göl bitkisinden total DNA izolasyonu

yapılmıştır. 161 buğdaydan oluşan topluluk 35 mikrosatellit kullanılarak çalışılmıştır. 35 mikrosatellit için toplamda 305 polimorfik bant elde edilmiştir. 0,02'den 0,89'a kadar değişen ve ortalama olarak 0,50 olarak belirlenen 35 mikrosatellit değerlerine PIC yöntemiyle ulaşılmıştır. En yüksek değer Batinah bölgesinde gözlenmesiyle birlikte 35 mikrosatellit için ortalama heterozigotluk değeri 9,09 olarak belirlenmiştir. Ortalama spesifik alel sayısı 1,85 olarak belirlenmiş ve en yüksek değer Dakhilia bölgesinde gözlemlenmiştir. Ortalama alel sayısı her bölge için farklılık göstermiştir. Bu sonuçlar bütün bölgelerdeki alel sayıları ile genetik çeşitlilik arasında korelasyon göstermiştir. 35 mikrosatellit için gözlenen iki değer arasındaki korelasyon 0,657 olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra Batinah, Dahinah, Dakhilia ve Sharguia materyalleri için korelasyon değerleri 0,718, 0,706, 0,657 ve 0,651 olarak belirlenmiştir. Bu değerler bütün yerel buğday türlerinin birbirleriyle akraba olduklarını göstermektedir. Yerel buğday türlerinin çoğu bu küme analizi ile ayırt edildi. Ancak bazı buğday türlerinin ayırt edilmesinde bu çalışma yeterli olmamıştır. Yapılan bu çalışma Omani'deki yerel buğday türlerinin oldukça yüksek genetik çeşitlilik değerlerine sahip olduğunu ve aynı zamanda bu buğday türlerinin tanımlanmasında mikrosatellitlerin oldukça önemli olduğunu gösterdi.

Joshi ve arkadaşları (2000) yılında yaptıkları çalışmada DNA markörlerinin son 20 yıl içinde büyük gelişme gösterdiğini ve bu gelişmeyle birlikte moleküler biyoloji çalışmaları başta olmak üzere, bitki genom analizi çalışmalarında, taksonomi, fizyoloji, ekoloji, genetik ve bitki yetiştirme gibi daha pek çok konularda kullanılarak biyoloji bilimine büyük katkılar sağladığını gösterdi.

Teklu ve arkadaşları (2006) Etiyopya'da yetişen tetraploid yerel buğdaylarda genetik çeşitliliği mikrosatellitlerle analiz ettiler. Araştırmacılar çalışmalarında Etiyopya'da yetişmiş *Triticum durum* Dasf; *T. dicoccon* Schrank ve *T. turgidum* L.'aya ait 141 tetraploid buğdayı 29 mikrosatellit kullanarak analiz ettiler. Her bir türe ait çok sayıda alel ve yüksek düzeyde polimorfizm elde ettiler. *T. dicoccon*) ve *T. turgidum* buğdaylarıyla karşılaştırıldığı *T. durum*'un daha yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe sahip olduğunu gözlediler. (GA)_n motifine sahip mikrosatellitlerin (GT)_n motiflerinden daha çok alele sahip olduğunu tespit ettiler. Türlerin sahip oldukları

ortak aleller analiz edildi ve çok sayıda alelin ortak olduğu gözlemlendi. 29 mikrosatellitin ortalama genetik çeşitliliği *T. durum*, *T. dicoccon* ve *T. turgidum* için sırasıyla 0,684, 0,616 ve 0,688 olarak tespit ettiler. Genetik uzaklık *T. durum* ve *T. turgidum* arasında (0,26) *T. durum* ve *T. dicoccon* arasında (0,34) veya *T. turgidum* ve *T. dicoccon* arasındaki (0,38) uzaklıktan daha büyüktür. Üç türün hepsinde alel sayısı ile genetik çeşitlilik arasında önemli düzeyde korelasyon buldular. Alel frekans varyasyonu en yüksek *T. turgidum* ve *T. dicoccon* (%10,6) ve en düşük *T. durum* ve *T. turgidum* arasında (%6,86) gözlemlendi. *T. durum*, *T. dicoccon* ve *T. turgidum* için genetik benzerlik katsayıları sırasıyla 0,34, 0,46 ve 0,37 olarak hesaplanmıştır. UPGMA algoritmasını kullanarak benzerlik matrisine göre çizilen dendrogramın çalışmadaki gösterilen bütün aksesyonları ayırt ettiğini ifade edildi.

Teklu ve arkadaşları (2007) emmer buğdayında (*T. dicoccon* Schrank) SSR markörleriyle genetik çeşitlilikte farklılaşmayı analiz ettiler. 29 SSR markörü kullanarak 11 farklı coğrafik lokasyondan toplanan 73 emmer buğday aksesyonlarında genetik çeşitliliği araştırdılar. Kullandıkları markörlerden her kromozomu tanıyan en az iki markör kullandılar. SSR primerleri toplam 357 farklı aleli lokus başına ortalama 12,31 ile ürettiriler. Her primer tarafından üretilen fragmentlerin sayısı 6 (Xgwm 1066) ile 21 (Xgwm 268) arasında değişmekteydi. Yirmi dokuz primerle genetik çeşitliliği 0,60 (Xgwm 46) ile 0,9 (Xgwm 655) arasında değişen 0,82 ortalama ile buldular. Lokus sayısı ile genetik çeşitlilik indeksi arasında önemli bir korelasyon ($r = 0,882$; $p < 0,01$) olmasının çeşitliliğin yüksek göstergesi olduğunu ifade ettiler. On bir coğrafik lokasyonun içinde ve aralarındaki genetik çeşitliliğin analizi genetik çeşitliliğin çoğunun bölgelerin içinde ortaya çıktığını gösterdiğini açıkladılar. Genetik farklılaşma ($G_{ST} = 0,27$) on bir bölge içindeki arasındaki genetik varyasyonu gösterdi. Buna göre bölgelerin içindeki genetik varyasyon % 75 olurken bölgeler arasındaki genetik varyasyon %27 olarak tespit edilmiştir. Lokus başına en yüksek alel sayısını (4,80) ile İran bölgesinde buldular. Onu Fas (4,10) ve Ermenistan (4,03) takip etti. Aksine daha düşük ortalama alel sayısı (2,83) Yemen bölgesinde tespit edildi. Bütün bölgelerde ortalama genetik çeşitlilik indeksi 0,60 ortalama ile 0,52 (Slovakya) ve 0,67 (Fas) arasında değişmekteydi. Multivariate teknikler olan temel bileşenler analizi ve kümeleme analizi 73 emmer buğday aksesyonları ve coğrafik bölgelerin koleksiyonları arasında

genetik akrabalığı incelemek için uyguladılar. Bölgelerin muhtemel 55 çiftinin karşılaştırması için genetik uzaklık katsayısı 0,82 ortalama ile 0,63 (İran ve Ermenistan, Gürcistan ve Azerbaycan, Gürcistan ve Slovakya) ve 0,97 (Fas ve Yemen, İspanya ve Gürcistan, Türkiye ve İran) arasında değişmekteydi. PCA sonuçlarına göre ilk iki temel bileşen varyasyonu %27 ile açıkladı ve Kafkasya bölgesinde birkaç aksiyon hariç coğrafik farklılaşma paternini kümeleme analizi de gösterdi. Coğrafik bölgelerin orijinlerin ilişkilerine göre emmer buğday hakkında bilgi sağladı. Bu bilgi bitkinin geliştirilmesinde, germplasm koruma programları ve daha ileri araştırmalarda kullanılabilir.

Salem ve arkadaşları (2008) *T. aestivum* L. Buğdayında genetik çeşitliliği, morfolojik karakterleri ve mikrosatellit markörleri kullanarak analiz ettiler. Araştırmacılar yedi *T. aestivum* L. Varyetesinin genetik çeşitliliğini 48 SSR aleli ve dokuz morfolojik karakter kullanarak DNA düzeyinde değerlendirdiler. Buğday mikrosatellit markörleri kullanarak 15 kromozom üzerinde bulunan 15 lokusu belirlediler ve her lokus için ortalama 3,2 alel ile toplam 48 alel tespit ettiler. Lokus başına 2 ile 7 arasında değişen sayıda alel tespit ettiler ve alelik PIC değeri (polymorphism information content) değeri ortalama 0,548 değeri ile 0,278 (X-gwm- 95) ve 0,816 (X-gwm-437) arasında hesapladılar. Sonuçlar genotiplerin morfolojik karakterler ve SSR markörleri için farklılık gösterdiğini açıkladılar. Morfolojik karakterlere dayalı ortalama genetik varyasyonu 23,49 (8,51-38,46 aralığında) olarak SSR markörlerinde gözlenen genetik çeşitlilikten 0,53 (0,42-0,63) daha yüksek olarak tespit ettiler. Araştırmacıların morfolojik karakterlere ve genetik markörlere dayalı elde ettikleri sonuçlara göre analiz ettikleri genotiplerin buğday ıslahçılarındaki pozitif özelliklerin çaprazlamasını planlarken çok yararlı olacağını ileri sürmektedirler. Mikrosatellit markörlerinin genotipleri ayırt etmede ve genetik çeşitliliği tahmin etmede kullanılabileceğini önermektedir. Genotipler arasındaki genetik benzemezlik (dissimilarity) değerleri WMS ile elde edilen verilerle hesaplayarak dendrogramı üretmede kullandılar.

Pagnotta ve arkadaşları (2009) İtalyan emmer buğdayının (*T. dicoccon*) agronomik, kalite ve moleküler karakterizasyon analizini yaptılar. Arazi deneyleri iki lokasyonda iki yılda (2001/2002-2002/2003) yaptılar. Bu lokasyonlar İtalya'nın merkezinde

bulunan Viterbo ve güneyindeki Faggia idi. Analiz edilen emmer buğdayların agromorfolojik ve moleküler özelliklerin her ikisi için iyi bir oranda genetik çeşitliliğe sahip olduğunu açıklandı.

Salunkhe ve arkadaşları (2013) Hindistan'da emmer buğdayında moleküler genetik çeşitliliği analiz ettiler. Araştırmacılar emmer buğdayının Hindistan'da hala büyük oranda üretildiğini ve geleneksel mutfak ürünlerinin üretiminde kullanıldığını açıkladılar. Araştırmacılar 28 yerel koleksiyon ve CIMMYT Mexico'dan temin edilen 20 Hindistan aksesyonu içeren toplam 48 emmer buğday aksesyonunu 14 kromozomun tamamını tarayan 47 SSR markörü ile analiz ettiler. Lokus başına ortalama 3,87 alel gözlediler. 52 lokus için toplam 201 alel tespit ettiler. Benzerlik katsayısını binary veri matrisine göre hesapladılar. Benzerlik katsayısını 0,15 ile 0,98 aralığında buldular. Ancak sonuçlar benzerlik düzeyinin yüksek olduğunu gösterdi. Kümeleme analizi benzerlik matrisine göre dokuz ayrı aksesyon ve üç kümeyi belirledi. Son zamanlarda geliştirilen ticari varyetelerin belirgin Şekilde ayrı kümelendiğini tespit ettiler. Analizlere dayalı olarak Hindistan emmer buğdaylarının çok çeşitli olmadığını belirlediler. Sonuç olarak araştırmacılar Hindistan emmer buğdayının çeşitliliğinin farklı eko-coğrafik gruplar veya diğer buğday türlerinden genetik aktarımının yapılarak geliştirilmesi gerektiğini ileri sürdüler.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen yerel emmer buğday [*Triticum turgidum* ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] populasyonlarında genetik çeşitlilik SSR moleküler markörleri ile araştırıldı. Çalışma için gerekli olan materyal Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nden temin edildi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan Türkiye’de bulunan emmer buğday [*T.turgidum dicoccon*] popülasyonlarının gen bankası kayıt bilgileri ve popülasyonlara verilen popülasyon kodları (PK)

SN	Kayıt No	Botanik İsmi	İl	PK
1.	TR 39643	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Kars	B
2.	TR 39645	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Kars	D
3.	TR 39632	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Kars	H
4.	TR 39642	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Kars	I
5.	TR 14863	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Samsun	K
6.	TR 55317	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Türkiye	L
7.	TR 55318	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Türkiye	M
8.	TR 57986	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Türkiye	N
9.	TR 61225	<i>Triticum turgidum dicoccon</i>	Kastamonu	P

Bu çalışmada kullanılan ve Türkiye’de yetişen dokuz yerel emmer buğday [*Triticum turgidum* ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell] popülasyonunun toplandıkları lokasyonlar Harita 3.1’de gösterildi.



Harita 3.1. Bu çalışmada kullanılan Türkiye’de yetişen dokuz [*Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell.] popülasyonunun toplandıkları lokasyonları gösteren Türkiye haritası

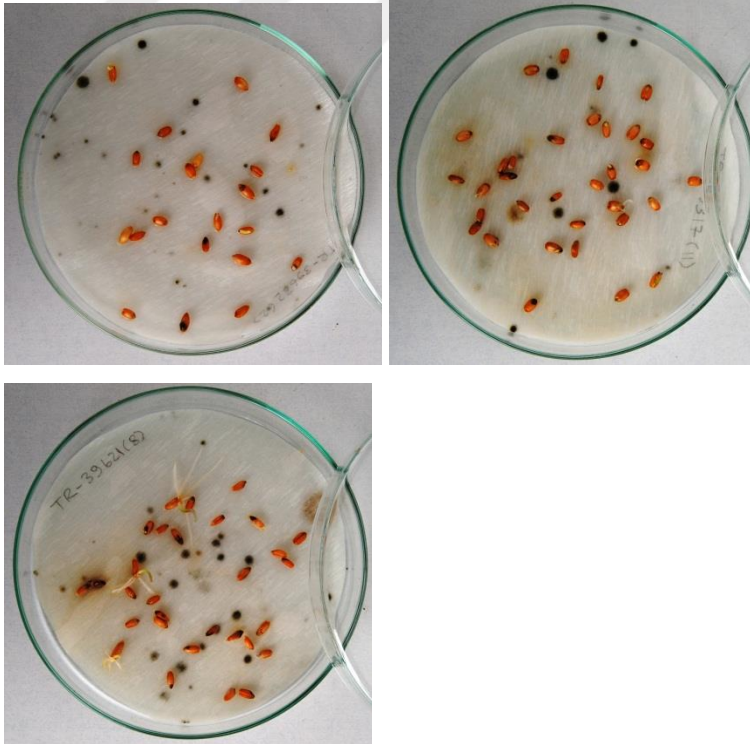
3.2. DNA izolasyon basamakları

Buğday yapraklarının yetiştirilmesi

DNA izolasyonunda kullanılan yaprakları yetiştirmek için buğday tohumları petri kaplarına ekildi. Petri kabının tabanını kaplayacak şekilde 2 adet kurutma kâğıdı yerleştirildi. Yaklaşık 20 adet buğday tohumu kurutma kağıdının üzerine yerleştirildi (Resim 3.1, Resim 3.2). Üzerine buğday tohumlarını ıslatacak miktarda su eklendi ve petri kabının kapağı kapatılarak üzerine popülasyon kodu yazıldı. Buğday serin iklim bitkisi olduğu için +4°C’ta bir hafta bekletildi. Örnekler 2 günde bir kontrol edilerek su ekleme işlemi tekrarlandı. Bu işlem her popülasyon için tekrarlandı. Yaklaşık bir haftada çimlenmenin gerçekleştiği gözlemlendi (Resim 3.3). Yeterli uzunluğa ulaşan çimler küçük plastik saksılara ekilerek büyütülmesi işlemine bu şekilde devam edildi (Resim 3.4, Resim 3.6). Petrilere ekimi yapılan bazı popülasyonlarda çimlenmenin gerçekleşmediği gözlemlendi. Bu tohumlar yeniden ekilerek tekrar çimlenmeye bırakıldı. Çimlenerek yeterli uzunluğa gelen buğday yapraklarından DNA izolasyonu yapıldı.



Resim 3.1. Çimlenmek üzere cam petri kaplarına hazırlanan buğday tohumları.



Resim 3.2. Yeni buğday tohumlarında da çimlenme problemi yaşandı.



Resim 3.3. En yüksek çimlenme oranı gösteren buğday populasyonlar seçilmiş ve toprakta çoğaltıma geçildi



Resim 3.4. Çimlenen buğday tohumlar saksılara aktarıldı



Resim 3.5. Toprağa aktarılan bitkilerden büyümeyen ve böceklenmeden dolayı kuruyan bitkilerin görüntüsü



Resim 3.6. Çimlenme başarısı yüksek popülasyonlardan DNA izolasyonu için yapraklar toplandı.

Buğday yapraklarının öğütülmesi

Buğdaylar 1-2 aylık yetişkinliğe ulaştıklarında yaprakları küçük, metal bir makasla kesilip, alüminyum folyolara sarılarak üzerine kod numaraları yazıldıktan sonra bekletilmeden sıvı azotun içine atıldı. Eğer bekleme olursa hücrelerde enzimlerin etkinliği ile DNA parçalanabilir. Sıvı azotta dondurulan yapraklar – 80° C'ta uzun süre (1 yıl kadar) saklanabilir.

Temiz bir porselen havan alınarak içine ezme işleminde kullanılacak olan havan tokmağı yerleştirildi. Havanın soğuması için havana bir kepçe sıvı azot eklendi. Bu sayede havan ve havan tokmağının soğuması sağlandı. Havan elle dokunulmayacak kadar soğuduğunda metal bir maşa veya pens yardımıyla alüminyum folyoya sarılı

buğday yaprakları sıvı azottan çıkarılıp, yapraklar havanın içerisinde yerleştirildikten sonra üzerine hızlı bir şekilde bir kepçe sıvı azot eklenerek buğday yapraklarının öğütülmesi sağlandı. Öğütme işlemi yapraklar toz haline gelinceye kadar sürdürüldü. Bu arada 2 mL'lik kapaklı temiz eppendorf tüplerinin üzerine öğütülecek olan buğdayın kod numarası yazılarak hazırlandı. Plastik tüp kapağı açılarak sıvı azotun içerisine atıldı ve onun da soğuması sağlandı. Tüp soğuduktan sonra, öğütülerek toz haline getirilen buğday yaprağı tozları tüpün içine aktarıldı ve -20°C 'ta derin dondurucuda izolasyonu yapılmaya kadar saklandı.

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

İzolasyon için kullanılan çözeltilerin hazırlanışı ekler kısmında verildi (EK-3).

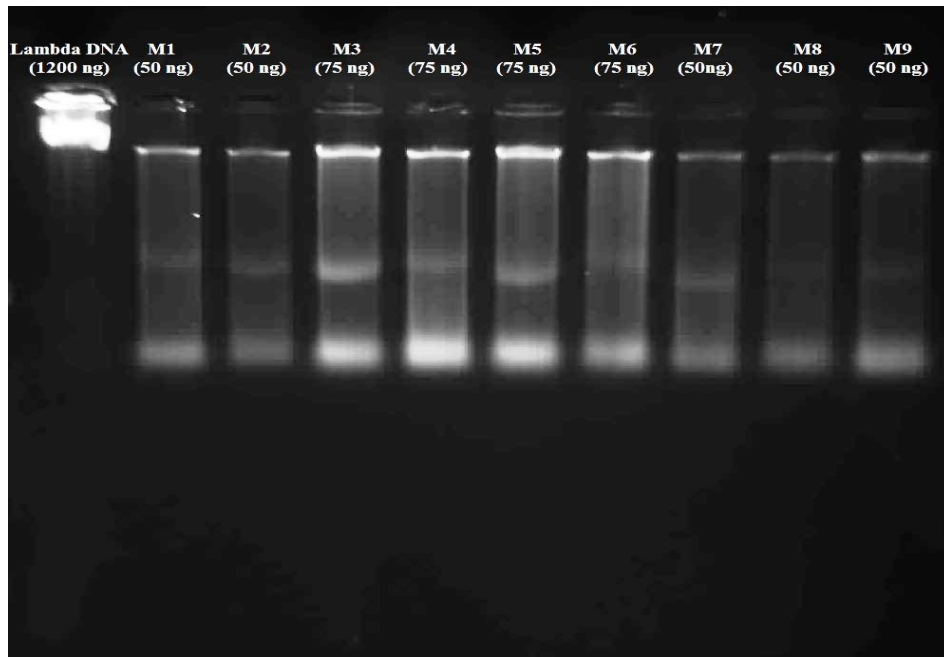
DNA İzolasyon Protokolü

1. Sıvı azot ile ezilerek tüplere alınan bitki örneği yaprakları yaklaşık 2 μL 'lik eppendorf tüpe alındı.
2. 500 μL DNA izolasyon çözeltisi eklendi. Tüpler 10 saniye nazikçe ters-yüz edildi ve 65°C 'ta 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. Tüplere 500 μL kloroform-izoamil alkol (24:1) eklendi. Örnekler 15 dakika ters-yüz edilerek karıştırıldı.
4. Tüpler 15000 g'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'ta 5 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant 2 μL 'lik temiz eppendorf tüplere alındı.
6. DNA örneklerimizin temiz çıkması için DNA izolasyon protokolünün 3, 4 ve 5. aşamalar üç kez tekrar edildi.
7. Süpernatantın hacmine eşit oranda izopropanol eklendi ve -20°C 'ta 30 dakika bekletildi.
8. Tüpler 15000 g'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'ta 5 dakika santrifüj edildi.
9. Süpernatant atıldı. DNA'nın organik maddelerden iyice temizlenmesi için pelletin üzerine 250 μL % 70'lik alkol eklenerek 3-4 saat bekletildi.
10. Tüpler 15000 g'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'ta 5 dakika santrifüj edildi.

11. Süpernatant atıldı ve pellet kurutuldu.
12. Pellete 200 μ L 1X TE eklenerek çözünmesi için 65°C'ta karıştırıcı 55 devir/dakikaya ayarlanarak 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
13. İnkübasyondan sonra oda sıcaklığına gelene kadar tüpler bekletildi. Son olarak tüpler buzun üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra 15000 g'de +4°C'ta 2 dakika satrifüj edildi.
14. Dibe çöken pellet nişasta ve polisakkaritleri içerir. Bu nedenle üstteki süpernatant temiz eppendorf tüplere alındı ve +4°C'ta saklandı (Amani ve ark, 2011).

3.2.2. İzolasyonu yapılan popülasyonlarda DNA miktarları

İzolasyonu yapılan popülasyonların her bireyinden izole edilen DNA agaroz jele yüklenip DNA varlığına ve miktarına bakıldı. DNA tespit edilen popülasyonlarda DNA miktarları miktarı bilinen lamda DNA (300 μ g/ μ l) ile karşılaştırılarak hesaplandı. Popülasyonlar ve her bireyine ait DNA miktarları aşağıdaki şekillerde verilmiştir (Resim 3.7).



Resim 3.7. M popülasyonunun bireylerinin DNA miktarları

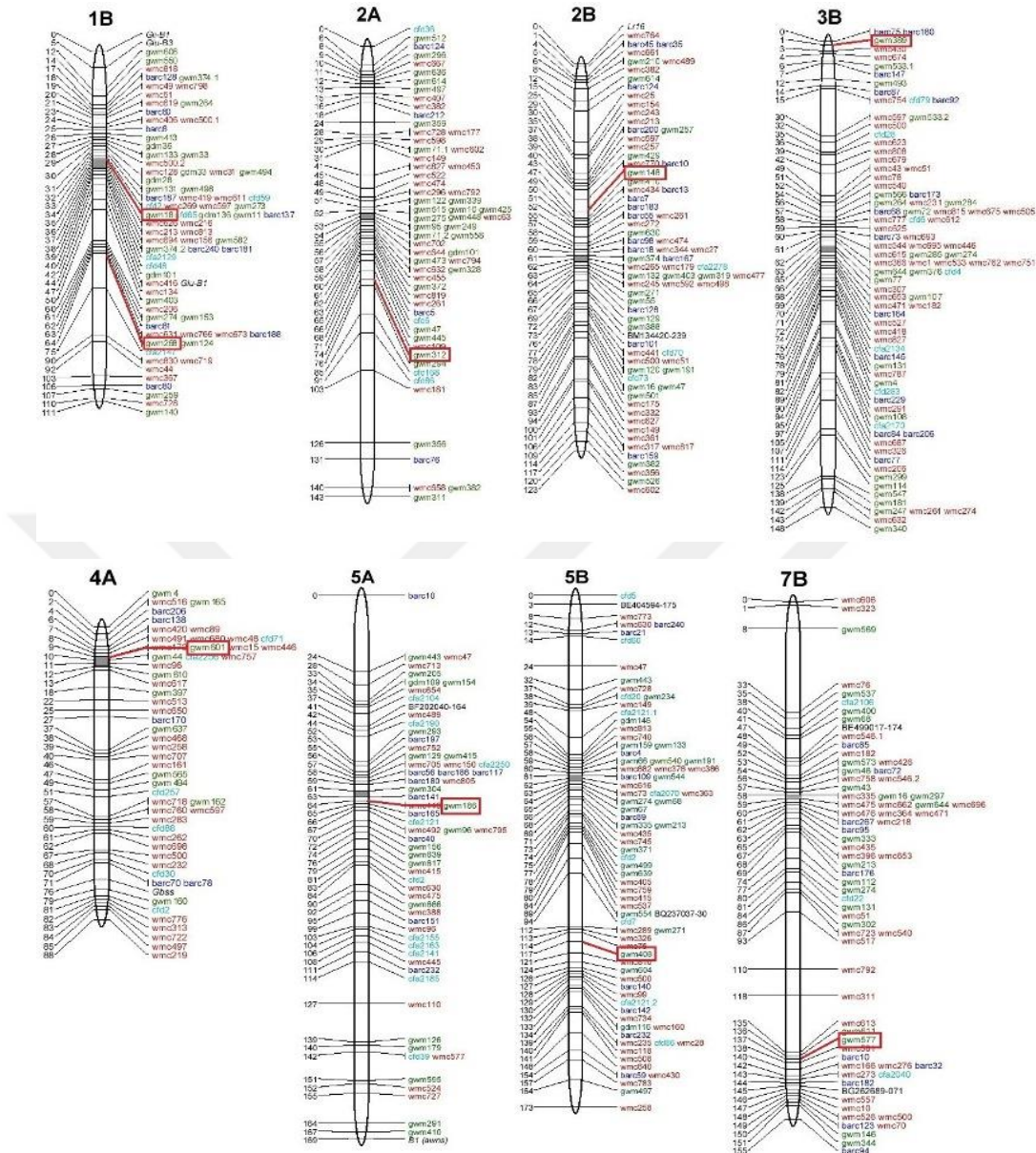
3.3. SSR analizi

Türkiye’de doğal olarak yetişen ve 9 lokasyondan toplanan *Triticum turgidum dicoccon* popülasyonlarının genetik çeşitlilik düzeyini ve genetik yapısını belirlemek üzere SSR yöntemi ile analiz edildi. SSR yöntemi için seçilen 9 primer (Query, Alpha DNA) kullanıldı. Çalışmada kullanılan 9 primere ait dizi bilgileri çizelge 3.2.’de verildi.

Çizelge 3.2. Bu çalışmada kullanılan 9 SSR primerlerinin adı ve tanıdığı kromozom kolu, taşıdığı floresan işareti, SSR motifi, primer dizisi ve beklenen fragment boyutu bilgileri (FD, Floresan Boya, FB, Fragment boyutu, BP, baz çifti)

SN	Primer Adı	FD	SSR motifi	Primer Dizisi	FB (bp)
1	Xgwm577-7B	NED	(CA)14(TA)6	F ATGGCATAATTTGGTCAAATTG R TGTTTCAAGCCCAACTTCTATT	155
2	Xgwm389-3B	HEX	(GA)35imp	F ATCATGTCGATCTCCTTGACG R TGCCATGCACATTAGCAGAT	128
3	Xgwm18-1B	FAM	(CA)17GA(TA)4	F TGGCGCCATGATTGCATTATCTTC R GGTTGCTGAAGAACCCTATTTAGG	182
4	Xgwm186-5A	NED	(GA)26	F GCAGAGCCTGGTTCAAAAAG R CGCCTCTAGCGAGAGCTATG	106
5	Xgwm148-2B	HEX	(CA)22	F GTGAGGCAGCAAGAGAGAAA R CAAAGCTTGACTCAGACCAAA	167
6	Xgwm601-4A	FAM	(CT)17	F ATCGAGGACGACATGAAGGT R TTAAGTTGCTGCCAATGTTCC	142
7	Xgwm408-5B	NED	(GA)26	F TCGATTTATTTGGGCCACTG R GTATAATTCGTTACAGCACGC	106
8	Xgwm268-1B	HEX	(GA)17TA(GA)27	F AGGGGATATGTTGTCCTCCA R TTATGTGATTGCGTACGTACCC	198
9	Xgwm312-2A	FAM	(GA)37	F ATCGCATGATGCACGTAGAG R ACATGCATGCCTACCTAATGG	219

SSR primerlerinin kromozomların farklı bölgelerindeki gösterecekleri varyasyon oranlarını karşılaştırmak açısından SSR primerleri seçilirken primerlerin sentromer, sub-sentromer, sentromer-telomer arası, subtelomer ve telomer bölgelerini tarayan primerler olmasına dikkat edildi. Seçilen primerlerin genel olarak buğdayın tüm kromozomlarını taramasına özen gösterildi. Seçilen primerlerin kromozom haritaları Şekil 3.1’de verildi.



Şekil 3.1. SSR primerlerinin buğday kromozomları üzerinde buldukları lokasyonları gösteren kromozom haritası (“Grain Genes: A database for Triticeae and Avena” web sayfasından alınmıştır.)

3.3.1. PCR koşulları

Çalışmada kullanılan PCR koşulları, standart PCR koşullarının Yrd. Doç. Dr Özlem Özbek tarafından bu çalışma için optimize edilen PCR protokolü uygulandı. Buna göre optimum PCR reaksiyonu için 30 µl master mix reaksiyon hacmi kullanıldı. Her bir master mix (30 µl), MgCl₂ içeren 3 µl 10X Tampon (complete buffer, Thermo), 0,24 µl dNTP (Thermo, 4x25 µmol), 0,15 µl F primer, 0,15 µl R primer, 0,45 µl Taq

DNA polimeraz enzimi (Thermo, 500 units/ μ l), 23,21 μ l ultrasaf su, 1 μ l genomik DNA içermektedir.

SSR analizi işlemlerinde birbirini takip eden her döngü için, optimum sıcaklık koşulları optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Thermo electron thermalcycler marka PCR cihazıyla gerçekleştirilen PCR için optimum döngü sayısı 35 olarak belirlendi. Reaksiyon basamakları ve koşulları aşağıda verildiği gibi gerçekleştirildi.

S.N	Reaksiyon basamağı	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
1	Başlangıç denatürasyonu	95°C	10 dk.	
2	Denatürasyon	94°C	1 dk.,	
3	Primer bağlanması	58°C	1 dk.	
4	Zincir uzaması	72°C	2 dk.	
5	Son döngü, reaksiyon tamamlama	72°C	10 dk.	

35 kez 2. basamağa git

Çoğaltılan tüm PCR ürünleri % 1,3'lük olarak hazırlanan agaroz jellerde yürütüldü.

3.3.2. Agaroz Jelin Hazırlanışı

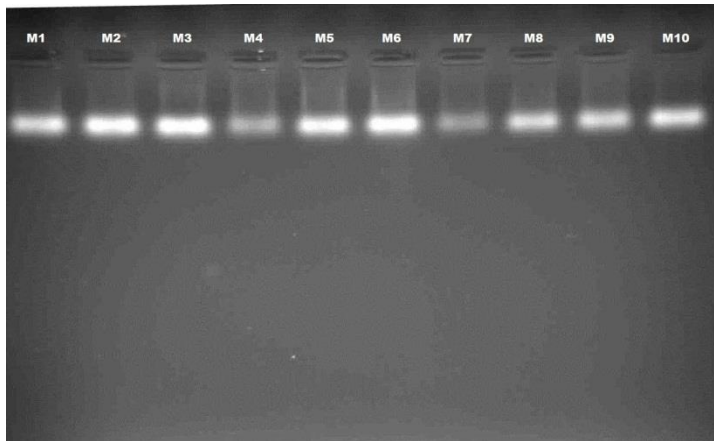
Jel elektroforezinde matriks olarak kullanılan agaroz jeli hazırlamak için 2,6 gram agaroz (sigma) hassas terazide tartıldı ve 200 mL 1X TAE eklenerek 80 °C'ta mikrodalga fırında (Blue line) tamamen çözününceye kadar ısıtıldı. Fırından çıkarılan agaroz jel çözeltisi oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Agaroz jel çözeltisi

yeterince soğuduğunda (elimizi yakmayacak kadar) 4 µl (10mg/mL) etidyum bromür (Sigma) eklendi ve kenarları daha önceden bantla sıkıca kapatılan jel tepsisine döküldü. Oda sıcaklığında agarozun tamamen donması beklendi. Agaroz jel donduğunda jel tepsisindeki bantlar uzaklaştırılarak elektroforez tankına (ATTO, AE8450) yerleştirildi. Tank içerisine jel yüzeyini tamamen örtecek kadar 1X TAE eklendi.

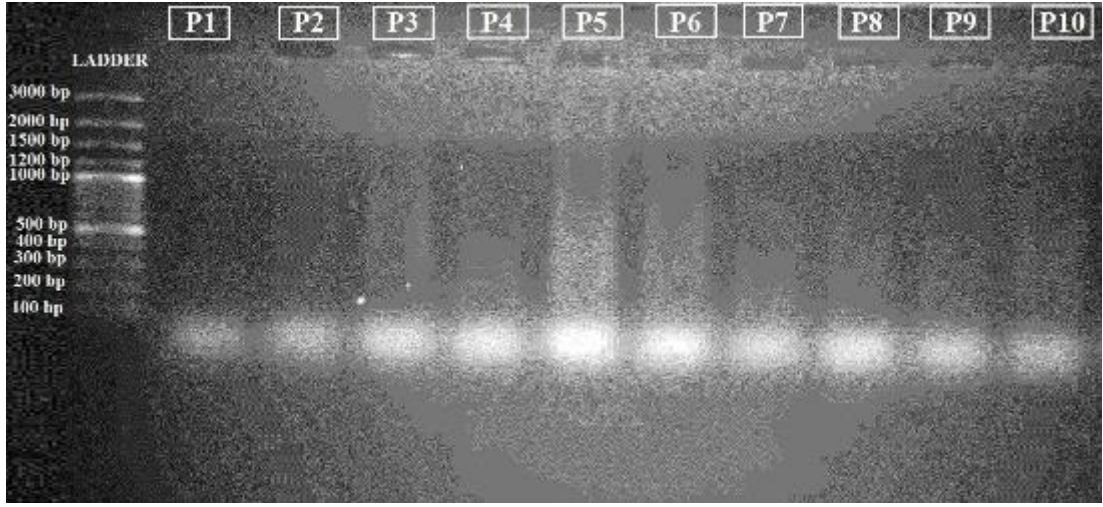
3.3.3. Örnek yükleme ve elektroforez koşulları

Elektroforezde örneklerin yürütülmesi için örneklerin agaroz jeldeki kuyulara yüklenmesi gereklidir. SSR ürünlerinin boyutlarını karşılaştırabilmek için DNA ladder (100 bp, Thermo) kullanıldı. Jeldeki birinci kuyucuğa 10 µl DNA ladder yüklendi. SSR ürünlerinin üretildiği PCR reaksiyonlarının toplam hacmi 30 µl olarak hazırlandığından 10 µl örnekle 4 µl örnek yükleme tamponu iyice karıştırılarak jeldeki ikinci kuyudan itibaren sırasıyla yüklenmeye başlandı. Geriye kalan 20 µl hacimdeki PCR reaksiyonu ise fragment analizi için kullanıldı.

Örnekler yüklendikten sonra elektroforez işleminin gerçekleşmesi için güç kaynağı 70 V, 34 mA akıma ayarlandı ve yaklaşık 4 saat süre yürütüldü. Ladder bantlarının tamamen açıldığı gözlenince yürütülen örneklerin görüntülenebilmesi için jel tepsisinden çıkarılan jel, jel görüntüleme cihazına alınarak cihazın ışık ve zoom ayarları yapıldıktan sonra örnekler fotoğraflandı. (Resim 3.8 ve 3.9)

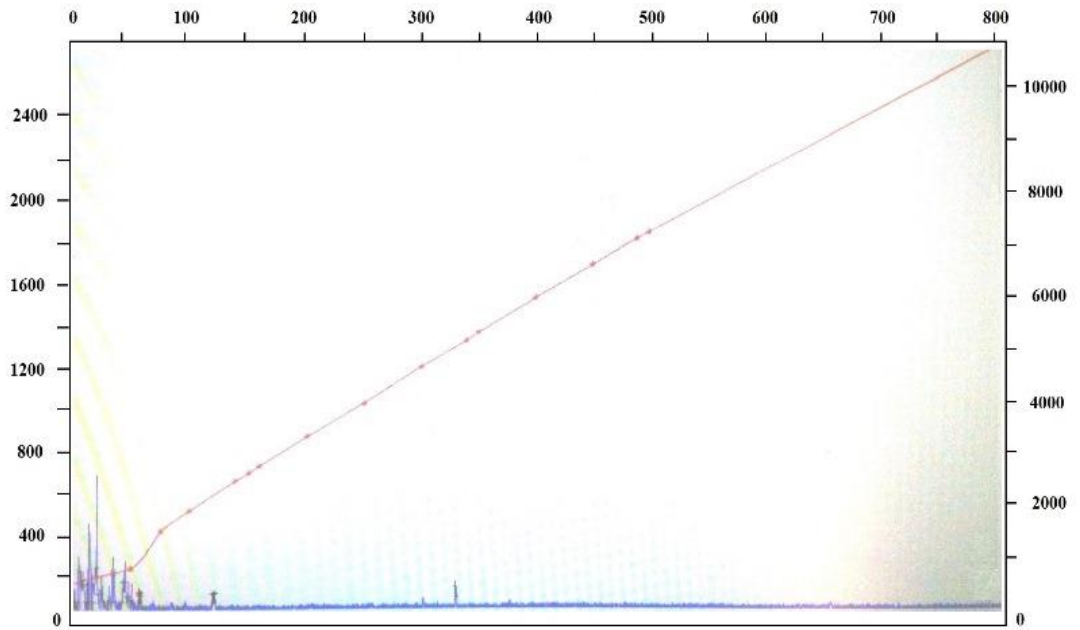


Resim 3.8. X-GWM-18 primeri ile elde edilen SSR bant modelleri (Örnek sırası: 1-10 M popülasyonu)

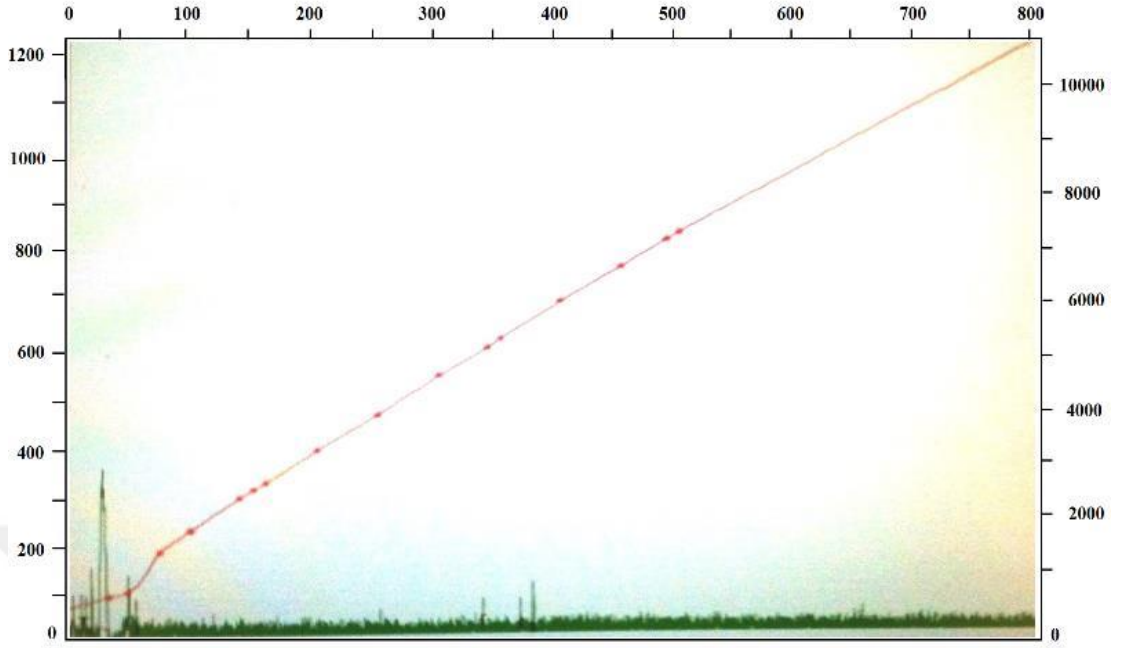


Resim 3.9. X-GWM-312 primeri ile elde edilen SSR bant modelleri (Örnek sırası: 1 DNA ladder, 1-10 P popülasyonu)

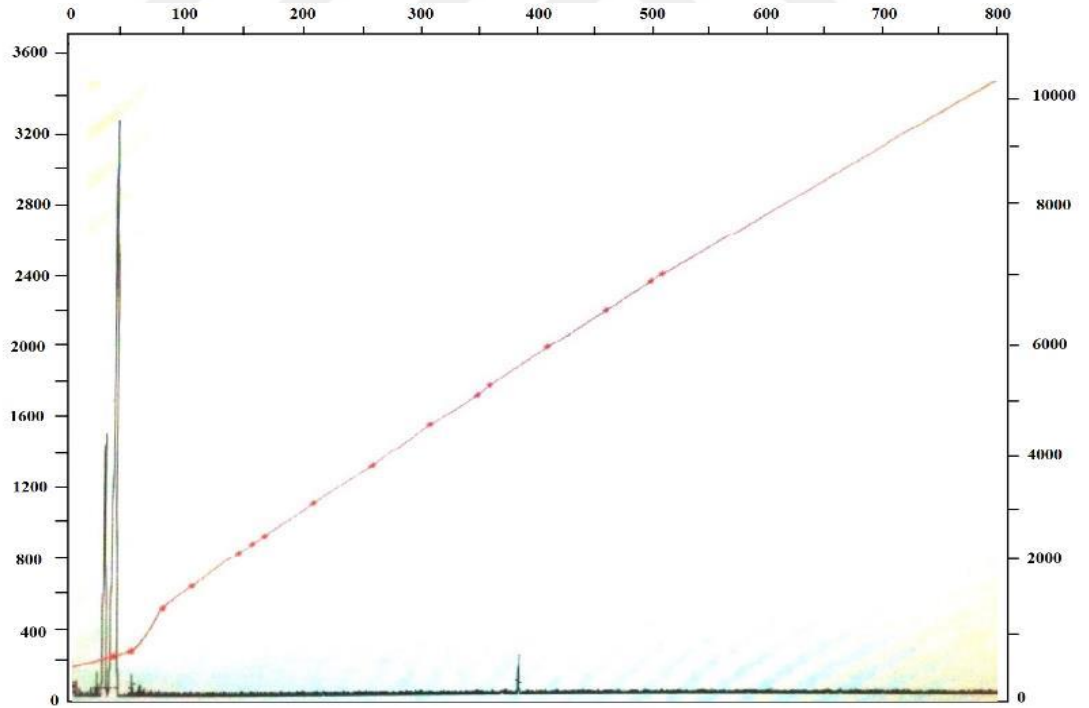
SSR PCR reaksiyonlarının fragment analizi ODTÜ (Orta Doğu Teknik Üniversitesi) Teknokente bulunan RefGen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji merkezi tarafından yapıldı. Fragment analizi sonuçları olan pikler ABI-Peak Scanner v1.0 yazılım programında okunarak fragment boyutları belirlendi (Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4).



Şekil 3.2. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-312 numaralı primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü



Şekil 3.3. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-268 numaralı primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü



Şekil 3.4. B popülasyonunun 4 numaralı bireyinin X-gwm-408 numaralı primeri ile elde edilen piklerinin görüntüsü.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Verilerin İstatistiksel Analizi

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen gernik (kaplıca) buğday (emmer) popülasyonlarında popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik SSR yöntemi ile tespit edildi.

Türkiye’de de yetişen emmer buğdayı çoğunlukla kendi kendine döllen (>%1 çapraz döllenme görülür) bir bitkidir. Sonuç olarak çok düşük oranda heterozigotluk beklenir ve SSR’lar kodominant markörlerdir. Polimorfik lokuslar çok alelidir, bantlar fragment büyüklüklerine göre alel olarak sayılıp kaydedildi (Çizelge 4.2). Veriler genetik ile ilgili istatistiksel analizleri yapmak için kullanılan POPGENE dosya formatına dönüştürüldü. Elde edilen veriler popülasyon genetiği analizi için POPGENE sürüm 1.32 (Yeh ve ark., 1997) yazılım paketi kullanılarak analiz edildi. Çıkan sonuçlar çizelge haline getirilerek yorumlandı.

Analizde popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği değerlendirmek için çeşitli parametreler kullanıldı. Popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği (H_e) hesaplamak için Nei (1973) kullanıldı.

Çalışılan popülasyonlardaki, tüm lokuslara ait alel sayısı (n_a) ve etkili alel sayısı (n_e) hesaplandı. Etkili alel sayısı eşit frekansa sahip alelleri ifade eder (Hart ve Clarck 1989). Bu da araştırmacılara alellerin sayısı ve dağılımındaki farklılığa göre popülasyonları karşılaştırma fırsatı verir. Etkili alel sayısı aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanır.

$$a_e = \frac{1}{r} + \sum_{j=1}^r \frac{1}{1-D_j} \quad \text{ya da daha basit olarak} \quad a_e = \frac{1}{1-H_e}$$

D_j j’nin r kadar lokusunun genetik çeşitliliğini ifade eder.

Ortalama genetik çeşitliliği hesaplamak yerine her lokus için tek tek hesaplanan etkili alel sayılarının ortalaması alınarak popülasyonlardaki etkili alel sayıları hesaplanır. Örneğin iki hipotetik popülasyon olsun ve bunların her ikisi de eşit sayıda toplam

alel sayısına sahip olsun. Bütün aleller eşit frekansa sahip olduğunda genetik çeşitlilikte yüksek olur, tersi durumda ise düşük olur. Heterozigotluk yüksek olduğunda etkili alel sayısı da yüksek olur. Örneğin genetik çeşitlilik değeri 0,85 olduğu zaman etkili alel sayısı 6,7 olur. Eğer bir lokusta toplam 8 alel varsa (H_e 'nin muhtemel maksimum değeri 0,875 olur) genetik çeşitlilik değeri $H_e = 0,6$ olur. Bu durumda etkili alel sayısı 2,5 olur. Bu da bize alel setlerinin frekanslarının çok farklı frekanslara sahip olduğunu gösterir. Alel frekansları ortalama değerden uzak olursa etkili alel sayısına katkıları çok az olur. Etkili alel sayısı gerçek alel sayısına ne zaman eşit olur? Maksimum genetik çeşitlik düzeyine ulaşıldığı zaman olur. Etkili alel sayısı ne zaman minimum olur? Bir alel diğer alellere göre baskın frekansa sahip olduğunda veya diğer aleller nadir olduğunda görülür. Farklı alel sayılarına sahip popülasyonlar aynı etkili alel sayısına sahip olabilirler (Weir, 1990).

F -istatistikleri bir popülasyonda veya meta popülasyonun alt popülasyonlarında kendileşme (aile içi evlilik, inbreeding) katsayılarını hesaplamak için kullanılır. Başka bir ifadeyle F_{IS} alt popülasyonlarda sıklıkla kendileşmeden dolayı Hardy-Weinberg oranlarından sapmayı açıklar. Popülasyon genetiğinde ilk defa Sewall Wright tarafından kullanılmıştır. Wright F -istatistiklerini (inbreeding coefficient) kendileşme katsayısı (soy katsayısı) olarak kullanmıştır ve birleşen iki gamet arasındaki korelasyon olarak tanımlamıştır. O dönemde izoenzim ve diğer moleküler markerler bulunmadığından Wright her bir lokusu bialelik yani iki alelli kabul etmiştir. F_{ST} 'yi hesaplamayı da iki alelli lokuslar üzerine kurdu. Bir bireyin kendileşme katsayısı o bireyin bir lokusunda ortak kökenden gelen iki aynı alelin frekansını aynı popülasyondaki rastgele çiftleşme durumunda beklenen heterozigotların frekansı ile karşılaştırarak ölçer.

Wright F -istatistiklerini üç kategoriye ayırır. Bunlar;

1. F_{IS} : Alt popülasyonların içinde kendileşmeden dolayı bir popülasyon içindeki toplam kendileşme oranını ifade eder.

$$H_I \sum \frac{H_I}{n} \quad : \text{Alt popülasyonların içinde gözlenen heterozigotluk}$$

$$H_I \sum \frac{2p_i q_i}{n} \quad : \text{Rastgele çiftleşmede beklenen heterozigotluk}$$

$H_I \sum \frac{2p\bar{q}}{n}$: Rastgele çiftleşmede ortalama alel frekanslarına dayalı olarak bireylerin beklenen heterozigotluğu

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_I}{H_S}$$

2. F_{IT} : Alt popülasyonlar arasındaki farklılaşma ve popülasyonlar içindeki kendileşmenin her ikisinden dolayı bir popülasyondaki toplam kendileşmeyi ifade eder.

$$F_{IT} = 1 - \frac{H_I}{H_T}$$

3. F_{ST} : Alt popülasyonlar arasında genetik farklılaşmayı ifade eder.

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

F_{ST} 0,0 ve 1,0 arasında değişir. F_{ST} 0,0 olduğu zaman genetik farklılaşma yok anlamına gelirken F_{ST} 1,0 olduğu zaman ise tamamen farklılaşmayı ifade eder.

F_{ST} değerlendirme ölçeği

0,0-0,05 : Genetik farklılaşma çok az

0,05-0,15 : Genetik farklılaşma orta düzeyde

0,15-0,25 : Genetik farklılaşma fazla

>0,25 : Genetik farklılaşma çok fazla

Popülasyonların gen havuzları arasında gen transferinin olması olayına gen akışı denilmektedir. Gen akışı genellikle tohum transferi, polen transferi vb. yöntemlerle veya bireylerin göç etmesiyle gerçekleşmektedir. Gen akışı popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı ölçen G_{ST} veya F_{ST} değerlerine göre hesaplanır. Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki gen akışı (N_m) değeri F_{ST} 'den aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Burada N , etkili popülasyon büyüklüğü ve m değeri popülasyondaki göç eden bireylerin oranını temsil etmektedir.

$$N_m = 0,5 \frac{(1 - F_{ST})}{F_{ST}}$$

Popülasyonlarda SSR analizi için kullanılan dokuz primerin ürettiği lokusların popülasyon düzeyinde ve tüm popülasyonların tamamında gösterdiği polimorfizm %100 olarak tespit edildi. SSR lokuslarının popülasyon içinde (H_s) ve popülasyonların tümünde (H_T) gösterdikleri genetik çeşitlilik değerleri de POPGENE ile hesaplandı.

Organizmalar arasında onların filogenetik ilişkilerini veya genetik benzerliklerinin derecesini gösteren ağaç dallarına benzer şekle dendrogram denir. Düşey ekseninde gösterilen değerler zamanı veya göreceli ilerleme düzeyini gösterir. Çalışmamızda Nei'nin (1972) genetik uzaklığa göre UPGMA (Unweighted Pair-Group Average) yöntemi kullanılarak dendrogram elde edildi.

Tüm istatistiksel analizler Doç. Dr. Özlem ÖZBEK tarafından yapıldı.

4.2. Genetik Çeşitlilik Analizleri

Bu çalışmada Türkiye'de yetişen dokuz *Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell. popülasyonunda genetik çeşitlilik dokuz SSR (Simple Sequence Repeats, basit dizi tekrarları) primeri kullanılarak analiz edildi. Çalışmada kullanılan dokuz SSR primeri toplam 497 alel üretti. Her bir lokus birden fazla bant (alel) ürettiği için lokusların tamamı polimorfik olarak kabul edildi. Bütün lokusların bütün popülasyonlarda polimorfizm gösterdiği ve polimorfizm oranlarının %100 olduğu belirlendi

Primerlerin oluşturduğu bant büyüklüklerine bakıldığında oluşan bantların 57-376 bp arasında değiştiği gözlemlendi. En küçük boyutlu bant 57 bp X-gwm-312 primeri tarafından üretilirken, en büyük boyutlu bant 376 bp X-gwm-577 primeri tarafından üretildi. Ayrıca Xgwm577 primeri 75-376 bp, X-gwm-389 primeri 62-373 bp, X-gwm-18 primeri 61-373 bp aralıklarında en büyük bantları oluştururken, X-gwm-148 primeri 67-180 bp aralığında küçük boyutlu bantlar oluşturdu. Ayrıca primerlerin kaç popülasyonda bant oluşturduğu incelendiğinde bütün primerlerin bütün popülasyonlarda farklı boyutlarda bant oluşturdukları tespit edildi.

Çizelge 4.1. SSR primerleri tarafından üretilen bantların beklenen ve gözlenen fragment boyutları (BFB, Beklenen fragment boyutu, GFA, Gözlenen fragment aralığı)

SN	Primer adı	FD	Tekrar eden motif	BFB (bp)	GFA (bp)
1	Xgwm577-7B	NED	(CA)14(TA)6	155	75-376
2	Xgwm389-3B	HEX	(GA)35imp	128	62-373
3	Xgwm148-2B	HEX	(CA)22	167	67-180
4	Xgwm268-1B	HEX	(GA)17TA(GA)27	198	65-339
5	Xgwm18-1B	FAM	(CA)17GA(TA)4	182	61-373
6	Xgwm186-5A	NED	(GA)26	106	62-327
7	Xgwm408-5B	NED	(CA).22(TA)(CA)7(TA)9	148	59-236
8	Xgwm312-2A	FAM	(GA)37	219	57-354
9	Xgwm601-4A	FAM	(CT)17	142	60-303

Bütün lokusların her bir popülasyonda ürettikleri toplam alel sayılarını incelediğimizde en yüksek toplam alel sayısının (79) L popülasyonunda olduğu ve en düşük toplam alel sayısının (47) ise I popülasyonunda olduğu tespit edildi. Popülasyonlara göre her bir lokusta üretilen alel sayılarına baktığımızda en yüksek alel sayısının (12) X-gwm-577 lokusu tarafından L popülasyonunda üretilirken en düşük alel sayısının (2) X-gwm-408 lokusu tarafından I popülasyonunda üretildiği gözlemlendi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Popülasyonlardaki polimorfik lokuslarda gözlenen alel sayıları ve yüzdeleri (Nei, 1973) (PLY, Polimorfik lokus yüzdesi %, TA toplam alel sayısı).

Lokus/pop	LL	B	D	H	I	K	L	M	N	P	TA
X-gwm-18	S	5	8	5	6	7	10	6	4	8	42
X-gwm-601	S	8	8	7	7	5	10	6	8	8	49
X-gwm-312	SS	5	4	5	4	6	8	6	7	6	41
X-gwm-389	T	7	5	6	6	9	10	7	4	6	42
X-gwm-148	SS	4	6	6	5	6	8	6	7	9	31
X-gwm-268	STA	7	4	3	4	6	6	6	7	7	41
X-gwm-577	ST	3	7	4	6	6	12	4	4	6	42
X-gwm-186	S	7	10	8	7	4	10	7	7	7	50
X-gwm-408	STA	7	3	4	2	5	5	3	7	6	30
Toplam		53	55	48	47	54	79	51	55	63	
PLY (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	

Büyük bir popülasyonda bir lokusta bulunan bir alelin görülme sıklığı alel frekansı olarak ifade edilir. Bir lokusta bulunan alellerin frekansı incelenen tüm popülasyonda bulunma oranına göre hesaplanır. Bu çalışmada analiz edilen popülasyonlarda toplam dokuz lokus tespit edildi. Bunlar; X-gwm-18, X-gwm-601, X-gwm-312, X-gwm-389, X-gwm-148, X-gwm-268, X-gwm-577, X-gwm-186 ve X-gwm-408'dir (Çizelge 4.3). Her popülasyona ait alel frekans değerleri ekler kısmında verilmiştir (EK-1).

Lokus düzeyinde alel frekansı incelendiğinde X-gwm-18 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,11 olarak 34 numaralı alelde gözlenirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 32 alelde gözlenmiştir.

X-gwm-601 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,29 olarak 8 numaralı alelde tespit edilirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 37 alelde tespit edildi.

X-gwm-312 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,09 olarak 1 ve 8 numaralı alellerde belirlenirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 15, 21, 26 ve 27 numaralı alellerde belirlendi.

X-gwm-389 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,33 olarak 9 numaralı alelde gözlenirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 34 alelde gözlemlendi.

X-gwm-148 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,16 olarak 5 numaralı alelde tespit edilirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 15 alelde tespit edildi.

X-gwm-268 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,18 olarak 9 numaralı alelde belirlenirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,02 ile 36 olmak üzere çok sayıda alelde belirlendi.

X-gwm-577 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,53 olarak 9 numaralı alelde gözlenirken, en düşük alel frekansı değeri ise 0,01 ile 38 olmak üzere yine çok sayıda alelde gözlemlendi.

X-gwm-186 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,32 olarak 9 numaralı alelde tespit edilirken, en düşük alel frekansı değeri 0,01 ile 39 alelde tespit edildi.

Son olarak, X-gwm-408 lokusu için en yüksek alel frekansı değeri 0,24 olarak 9 numaralı alelde belirlenirken, en düşük alel frekansı değeri 0,02 ile 22 alelde belirlendi.

Çizelge 4.3. Popülasyonlara göre lokuslardaki alel frekansları

Alel/lokus	X-gwm- 18	X-gwm- 601	X-gwm- 312	X-gwm- 389	X-gwm- 148	X-gwm- 268	X-gwm- 577	X-gwm- 186	X-gwm- 408
1	0,10	0,01	0,09	0,08	0,02	0,02	0,01	0,01	0,07
2	0,06	0,02	0,03	0,02	0,11	0,02	0,01	0,01	0,02
3	0,07	0,02	0,07	0,01	0,03	0,02	0,02	0,01	0,04
4	0,01	0,01	0,02	0,01	0,06	0,02	0,01	0,01	0,02
5	0,01	0,01	0,03	0,01	0,16	0,02	0,01	0,01	0,02
6	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
7	0,01	0,01	0,02	0,02	0,13	0,02	0,02	0,01	0,02
8	0,01	0,29	0,09	0,06	0,01	0,02	0,01	0,01	0,09
9	0,07	0,01	0,02	0,33	0,06	0,18	0,53	0,32	0,24
10	0,01	0,07	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02
11	0,01	0,01	0,05	0,01	0,02	0,11	0,01	0,04	0,04
12	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02	0,04	0,01	0,01	0,02
13	0,01	0,01	0,05	0,07	0,06	0,02	0,01	0,01	0,04
14	0,06	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02
15	0,10	0,02	0,01	0,01	0,07	0,02	0,01	0,01	0,02
16	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02
17	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
18	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,04
19	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
20	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
21	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
22	0,01	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
23	0,03	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02
24	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
25	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
26	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,04
27	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
28	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
29	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
30	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,02
31	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	
32	0,01	0,01	0,02	0,07		0,02	0,01	0,01	
33	0,01	0,01	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	
34	0,11	0,01	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	
35	0,01	0,02	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	
36	0,04	0,01	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	
37	0,02	0,02	0,02	0,01		0,02	0,01	0,02	
38	0,01	0,02	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	
39	0,01	0,02	0,02	0,01		0,02	0,01	0,02	
40	0,01	0,01	0,02	0,01		0,02	0,01	0,01	

Çizelge 4.3. (Devam) Popülasyonlara göre lokuslardaki alel frekansları

Alel/lokus	X-gwm-18	X-gwm-601	X-gwm-312	X-gwm-389	X-gwm-148	X-gwm-268	X-gwm-577	X-gwm-186	X-gwm-408
41	0,01	0,01	0,02	0,01			0,01	0,01	
42	0,01	0,01		0,01			0,01	0,01	
43		0,01						0,01	
44		0,01						0,01	
45		0,01						0,01	
46		0,01						0,02	
47		0,01						0,01	
48		0,01						0,01	
49		0,01						0,01	
50								0,01	

SSR marker sistemi ile analiz edilen emmer buğday popülasyonlarında elde edilen F -istatistik değerlerine göre alt popülasyonların içindeki ortalama kendileşme katsayısı $F_{IS} = 0,98$ olarak hesaplanırken tüm popülasyonlar arasındaki ortalama kendileşme katsayısı $F_{IT} = 0,98$ olarak hesaplandı. Popülasyonlar arasındaki ortalama genetik farklılaşma değeri $F_{ST} = 0,15$ olarak tespit edildi. Buna göre popülasyonların içindeki genetik çeşitlilik %85 olarak gözlenirken, popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin %15 olduğu gözlemlendi. Popülasyonlar arasındaki ortalama gen akış değeri ise $N_m = 1,41$ olarak tespit edildi.

Lokuslara göre popülasyon içi kendileşme katsayısı değerleri incelendiğinde, X-gwm-268 ve X-gwm-408 lokusları en yüksek kendileşme katsayısı değerini ($F_{IS} = 1,00$) gösterirken, X-gwm-389 lokusu en düşük popülasyon içi kendileşme katsayısı ($F_{IS} = 0,93$) gösterdi. Lokuslara göre alt popülasyonlar arasındaki kendileşme katsayısı değerlerine bakıldığında en yüksek kendileşme katsayısı ($F_{IT} = 1,00$) X-gwm-268 ve X-gwm-408 lokuslarında gözlenirken, en düşük kendileşme katsayısı değeri ($F_{IT} = 0,94$) X-GWM-389 lokusunda gözlemlendi. Bununla birlikte, lokuslara göre popülasyonlar arası genetik farklılaşma düzeyine bakıldığında, en yüksek genetik farklılaşma X-gwm-408 lokusunda ($F_{ST} = 0,21$) lokusunda gözlenirken, en düşük genetik farklılaşma X-gwm-601 lokusunda ($F_{ST} = 0,11$) görüldü. Ayrıca lokuslara göre gen akışı incelendiğinde en yüksek gen akışı X-gwm-601 lokusunda

($N_m = 2,08$) tespit edilirken, en düşük gen akışı X-gwm-408 lokusunda ($N_m = 0,97$) tespit edildi. Her popülasyona ait genetik çeşitlilik verileri ekler kısmında verilmiştir (EK-2).

Çizelge 4.4. Saptanan SSR lokuslarındaki toplam genetik çeşitlilik, popülasyon içi genetik çeşitlilik, popülasyonlar arası genetik farklılaşma ve gen akış verileri (N Örnek sayısı)

Lokus	LL	N	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
X-gwm-18	S	90	0,99	0,99	0,18	1,13
X-gwm-601	S	90	0,99	0,99	0,11	2,08
X-gwm-312	SS	58	0,95	0,96	0,18	1,18
X-gwm-389	T	90	0,93	0,94	0,12	1,90
X-gwm-148	SS	90	0,99	0,99	0,17	1,26
X-gwm-268	STA	57	1,00	1,00	0,16	1,31
X-gwm-577	ST	90	0,96	0,97	0,13	1,70
X-gwm-186	S	90	0,99	0,99	0,11	2,08
X-gwm-408	STA	54	1,00	1,00	0,21	0,97
Ortalama		79	0,98	0,98	0,15	1,41

N: Örnek sayısı LL: Lokus lokasyonu S: Sentromer SS: Subsentrömer
T: Telomer ST: Sub-telomer STA: Sentromer ve telomer arası

Çizelge 4.5. Saptanan SSR lokuslarında gözlenen emmer tipi buğday alel sayıları, etkili alel sayıları, beklenen heterozigotluk değeri, Nei'nin heterozigotluk değeri ve ortalama heterozigotluk değerleri (Kısaltmalar: N, örnek sayısı, n_a , alel sayısı, n_e , etkili alel sayısı, H_e beklenen genetik çeşitlilik, Nei'nin (1973) beklenen genetik çeşitlilik değeri, St. sp. Standart sapma)

Lokus	LL	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	S	90	42,00	18,31	0,95	0,95
X-gwm-601	S	90	49,00	10,16	0,91	0,90
X-gwm-312	SS	58	41,00	26,08	0,97	0,96
X-gwm-389	T	90	42,00	7,43	0,87	0,87
X-gwm-148	SS	90	31,00	13,38	0,93	0,93
X-gwm-268	STA	57	41,00	17,95	0,95	0,94
X-gwm-577	ST	90	42,00	3,45	0,71	0,71
X-gwm-186	S	90	50,00	8,66	0,89	0,88
X-gwm-408	STA	90	30,00	11,57	0,92	0,91
Ortalama		79	40,89	13,00	0,90	0,89
Stand. Sap.			6,79	6,85	0,08	0,08

N: Örnek sayısı LL: Lokus lokasyonu S: Sentromer SS: Subsentromer
T: Telomer ST: Sub-telomer STA: Sentromer ve telomer arası

Analiz sonuçlarına göre en düşük alel sayısı değeri 30 ile X-gwm-408 lokusunda gözlenirken, en yüksek alel sayısı değeri ise 50 olarak X-gwm-186 lokusunda gözlemlendi. En düşük etkili alel sayısı değeri 3,45 olarak X-gwm-577 lokusunda hesaplanırken, en yüksek etkili alel sayısı değeri ise 26,08 ile X-gwm-312 lokusunda hesaplandı. Nei'nin beklenen heterozigotluk değerinin en düşük olduğu lokus 0,71 değeri ile X-gwm-577'de tespit edilirken en yüksek olduğu lokus 0,96 değeri ile 312'de tespit edildi. Ortalama heterozigotluk değeri ise 0,62 ile en düşük olarak X-gwm-577 lokusunda gözlenirken en yüksek değer 0,81 olarak X-gwm-601 lokusunda gözlemlendi. Popülasyon düzeyinde genetik varyasyon ortalama değerlere göre belirlendi. Buna göre SSR lokuslarında gözlenen popülasyon içi ortalama en yüksek

alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), beklenen genetik çeşitlilik (He_{ex}), Nei'ye göre genetik çeşitlilik değerleri 8,78, 7,87, 092 ve 0,86 olarak L popülasyonunda gözlenirken en düşük alel sayısı (n_a) ve etkili alel sayısı (n_{ea}), 5,22 ve 3,84 olarak I popülasyonunda ve en düşük beklenen genetik çeşitlilik (He_{ex}) ve Nei'ye göre genetik çeşitlilik değerleri 0,76 ve 0,72 olarak H popülasyonunda gözlemlendi. Gözlenen ortalama en yüksek genetik çeşitlilik ($He_{ob.} = 0,24$) değeri H popülasyonunda tespit edilirken, gözlenen ortalama en düşük genetik çeşitlilik ($He_{ob.} = 0,08$) değeri L popülasyonunda tespit edildi. Ortalama genetik çeşitlilik ($He_{ort.}$) değeri ise 0,76 olarak hesaplandı.

Çizelge 4.6. SSR lokuslarında gözlenen popülasyon içi alel sayısı (n_a), etkili alel sayısı (n_{ea}), gözlenen genetik çeşitliliği (He_{ex}), beklenen genetik çeşitlilik (He_{ex}), Nei'ye göre genetik çeşitlilik ve ortalama genetik çeşitlilik dağılımları.

POP		N	n_a	n_{ea}	$He_{ob.}$	He_{ex}	Nei	$He_{ort.}$
B	Ort.	90	6,00	4,76	0,21	0,79	0,74	0,76
	St. sp.		1,80	1,82	0,17	0,17	0,16	0,06
D	Ort.	80	6,11	5,20	0,16	0,84	0,77	0,76
	St. sp.		2,32	2,39	0,08	0,08	0,09	0,06
H	Ort.	90	5,33	3,97	0,24	0,76	0,72	0,76
	St. sp.		1,58	1,31	0,12	0,12	0,11	0,06
I	Ort.	80	5,22	3,84	0,22	0,78	0,72	0,76
	St. sp.		1,64	0,97	0,10	0,10	0,11	0,06
K	Ort.	90	6,00	4,18	0,22	0,78	0,73	0,76
	St. sp.		1,41	1,33	0,13	0,13	0,12	0,06
L	Ort.	85	8,78	7,87	0,08	0,92	0,86	0,76
	St. sp.		2,22	2,41	0,05	0,05	0,05	0,06
M	Ort.	85	5,67	4,51	0,21	0,79	0,74	0,76
	St. sp.		1,32	1,52	0,13	0,13	0,12	0,06
N	Ort.	90	6,22	4,73	0,22	0,78	0,74	0,76
	St. sp.		1,72	1,97	0,14	0,14	0,13	0,06
P	Ort.	90	7,00	5,76	0,14	0,86	0,81	0,76
	St. sp.		1,12	1,66	0,07	0,07	0,07	0,06

St. sp. : Standart sapma

Genetik uzaklık bir türün popülasyonları arasında ve türler arasındaki genetik uzaklaşmayı ifade eder. Bazı parametreler kullanılarak hesaplanır. Genetik uzaklık

değeri, küçük olursa, bu yakın genetik ilişkiyi, büyük olursa genetik açıdan ilişkinin uzak olduğunu ifade eder. Genetik uzaklık farklı türler arasındaki genetik benzerlikleri karşılaştırmada kullanılabilir, örneğin insanlar ve şempanzelerde olduğu gibi. Bir türün içinde gruplanan farklı alttürler arasındaki uzaklaşmayı ölçmede de kullanılabilir. Genetik uzaklık biyolojik olmayan ve biyolojik olan olmak üzere iki yöntemle hesaplanır.

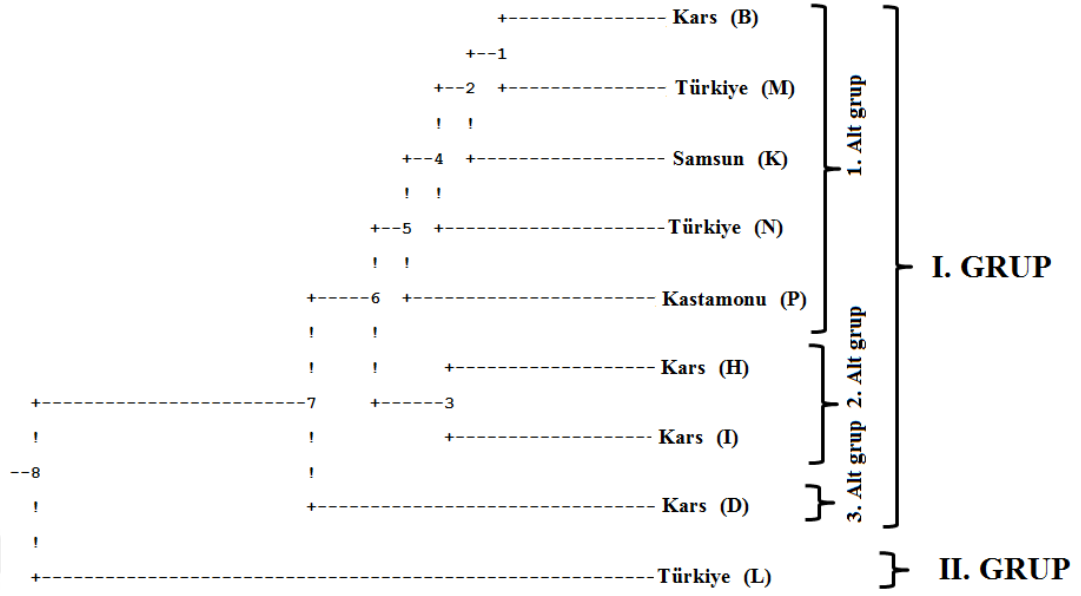
1. Biyolojik olmayan yöntem: Biyolojik bir özellik kullanılmadığından dolayı geometrik uzaklık olarak da bilinir. Rogers ve Cavalli Sforza Chord biyolojik olmayan uzaklık hesaplamasıdır. Bu hesaplamada kullanılan yaklaşımlar PCA (Principal Component Analysis, Temel Bileşenler Analizi), Öklit (Euclidean) uzaklığı veya daha karmaşık olan geometrik mesafelerdir.
2. Biyolojik olan yöntem: Bu yöntemde Reynolds ve Nei'nin yöntemleri kullanılır. Reynold's uzaklığı veya 'coancestry' distance (Reynolds ve ark., 1983; Weir, 1996) ve Nei'nin uzaklığı'dır (Nei, 1972, 1978).

Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık (D) Nei (1972)'nin standart genetik uzaklık hesaplama yöntemine göre hesaplandı. Buna göre 9 popülasyon arasında yapılan genetik uzaklık analizinde, en düşük genetik uzaklık değeri $D = 0,46$ değeri ile B ve M popülasyonları arasında gözlenirken, en yüksek genetik uzaklık değeri $D = 2,69$ değeri ile B ve L popülasyonları arasında gözlemlendi. Genel olarak genetik uzaklık değerleri incelendiğinde uzaklığın dikkate değer oranlarda olduğu gözlemlendi.

Çizelge 4.7. SSR analizi sonuçlarına göre dokuz *T. dicoccon* popülasyonları arasında Nei'nin (Nei, 1972) formülüne göre bütün lokuslar için hesaplanan genetik uzaklık (D) matrisi

POP	B	D	H	I	K	L	M	N	P
B									
D	1,08								
H	0,77	0,73							
I	1,12	1,19	0,59						
K	0,66	0,96	0,60	0,85					
L	2,69	1,20	1,50	1,20	1,97				
M	0,46	0,94	0,54	0,87	0,47	2,50			
N	0,80	1,16	0,72	0,98	0,70	1,90	0,46		
P	0,72	0,98	0,81	1,00	0,68	1,77	0,61	0,83	

Nei'nin (1972) genetik uzaklık hesabına göre UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages, Aritmetik Ortalamaları Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu) yöntemi ile popülasyonların kümelenme analizi yapıldı ve elde edilen dendrogramda popülasyonların genetik uzaklıklarına göre kümelandikleri gözlemlendi. Dendrograma göre 9 popülasyon iki ana gruba ayrıldı. Bunlardan birinci grup üç alt gruba ayrılırken, ikinci grup bir alt gruba ayrıldı. Birinci grubun birinci alt grubunda B, M, K, N ve P popülasyonları, ikinci alt grubunda H ve I popülasyonları, üçüncü alt grubunda ise D popülasyonu kümelendi. İkinci grupta ise L popülasyonu bulunmaktadır. Bu sonuçlar genetik uzaklık değerleri ile örtüşmekte olup genetik uzaklığın en düşük olduğu B ve M popülasyonları birbirine yakın konumlanırken, uzak olan B ve L popülasyonları ise birbirine en uzak konumlanmıştır.



Şekil 4.1. Türkiye’de yetişen *Triticum turgidum ssp. dicoccon* popülasyonları arasındaki akrabalık ilişkilerini SSR analizi sonuçlarına gösteren dendrogram

5. SONUÇLAR

Türkiye’de ıslah edilen ve büyük oranda tarımı yapılan buğday çeşitlerinde genetik varyasyonun saptanması, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Gen Bankası bünyesinde depolanan tohumların genetik kimliği ve daha sonra yapılacak olan ıslah çalışmaları için kılavuz niteliğindedir.

Genetik marker çalışmalarıyla toplanan bilgilerle gen bankalarında birbirine genetik olarak çok benzeyen örneklerin depolanması engellenebildiği gibi, hangi örneklerin korunmasının gerekli olduğu da ortaya konulmuş olur. Polimorfik DNA marker tekniklerinin bitkiden alınan çok az miktarda DNA ile bütün bir genomun analizine olanak sağlaması bu yöntemlerin son zamanlarda yaygın olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. Böylece bitki genetik kaynaklarının doğru ve etkin bir şekilde tanımlanmasına olanak sağlamıştır.

Son zamanlarda kültür çeşitlerinde genetik çeşitliliğin önemli ölçüde azalması yoğun olarak uygulanan ıslah programlarının bir sonucudur. Tahıllar, özellikle buğdaylar, yüksek besin değeri nedeniyle bu ıslah çalışmalarının merkezini oluştururlar. Yapay seçilim istenilen bazı özellikleri ön plana çıkarsa da, sonuç olarak buğdayların yeni hastalıklara, zararlılara ve olumsuz çevre şartlarına karşı duyarlılığını arttırmaktadır (Karcıo, 2006).

Tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ilk önce morfolojik karakterler kullanılmaktaydı. Bilimsel gelişmelerle günümüzde çevre koşullarından etkilenmeyen moleküler işaretleyiciler gelişti. Moleküler işaretleyicileri, biyokimyasal işaretleyiciler, protein ve enzimler onları takip etti. Ancak bu işaretleyiciler çevre koşullarından etkilenmekteydi. Moleküler işaretleyiciler popülasyon genetiğinde çok verimli bir şekilde sıklıkla kullanılmakta ve karşılaşılan bilimsel problemlere güvenilir sonuçlar üretmektedir (Kara, 2012). SSR yöntemi de bu işaretleyici yöntemlerden biridir ve en çok kullanılan yöntemlerdendir. Tekniğin, kodominant yapı göstermesi ve tekrarlanabilir olması en önemli tercih sebeplerindendir. Ayrıca ileri derecede polimorfik DNA işaretleyicileri olup, kanatlılar dahil birçok türde geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Tüm genoma hemen hemen eşit dağılmış olmaları bunların genom haritalama projeleri için

kullanışlı olmalarını sağlamaktadır. Popülasyon genetiği ve akrabalık tayininde sahip oldukları yüksek çeşitlilik onları genetik bir işaretleyici haline getirmiştir. Mikrosatellitler, doğal popülasyonların yapılarının araştırılmasında gün geçtikçe daha çok önemli hale gelmektedir (Devrim ve ark., 2003). Bitkilerde genetik çeşitliliğin ve popülasyon genetik yapılarının belirlenmesi onların daha verimli kullanılması açısından çok önemlidir. Gerek ıslah çalışmaları, gerekse tükenme tehlikesi altında olan türlerin tespit edilmesi ve korunması açısından moleküler markerler geniş çapta kullanılmaktadırlar. Ancak moleküler işaretleyiciler çevre koşullarından etkilenmeseler bile bitkiler çevre şartlarından etkilenmekte ve gerek kalıtsal gerekse kalıtsal olmayan şekillerde varyasyonlar gösterebilmektedirler. Bu nedenle popülasyonların gösterdiği genetik çeşitliliğin ne kadarı bitkinin genotipinde ne kadarı da çevresel etmenlerden kaynaklanmaktadır bunların bilinmesi doğru çalışmaların yapılmasında etkili olacaktır. Dolayısıyla imkânlar ve laboratuvar koşulları düşünüldüğünde SSR yönteminin kullanılabilir bir marker yöntemi olduğu söylenebilir.

Moleküler markör tekniklerinin genetik çeşitlilik analizlerinde etkili bir yöntem olarak kullanıldığı ve buğday genom analizlerinde başarılı bir şekilde uygulandığı birçok çalışmada vurgulanmıştır. Ancak *Triticum turgidum* ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell ile ilgili Türkiye’de SSR yöntemi kullanılarak yapılan moleküler düzeyde kapsamlı bir çalışma bulunmamasından dolayı çalışmanın sonuçları bilimsel açıdan çok önemlidir ve daha sonraki yapılacak çalışmaları önemli katkılar saylayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar SSR yönteminin genetik çeşitliliğin, popülasyon genetik yapısının ve popülasyonlar arasında genetik farklılaşmaların tespit edilmesinde başarılı bir yöntem olduğunu gösterdi.

Dokuz SSR primeri ile yapılan analizler sonucunda yerel emmer buğday popülasyonlarında primerler beklenen fragment boyutu ve literatürdeki fragment aralıklarına göre daha geniş bir aralıkta bulunan fragmentler üretti. Bu da yerel emmer buğday popülasyonlarında ki potansiyel yüksek genetik çeşitliliğin bir göstergesidir. Sentromer bölgesini tarayan primerlerin özellikle X-gwm-601 ve X-gwm-186 en yüksek sayıda sırasıyla 49 ve 50 alel ürettiği gözlenirken diğer bölgeleri tarayan primerlerin daha düşük sayıda alel ürettikleri tespit edildi. Bu sonuçlar

sentromer bölgesinde daha yoğun bulunan basit dizi tekrarlarının diğer bölgelerde bulunanlara göre daha yüksek değişkenliğe sahip olduğunu gösterdi.

Primerlerin popülasyonlarda tespit ettiği genetik farklılaşma değerlerine bakıldığında sentromer, telomer ve sub-telomer bölgelerini tarayan primerlerin sırasıyla X-gwm-601, X-gwm-186, X-gwm-389 ve X-gwm-577'nin daha düşük düzeyde sırasıyla 0,11, 0,11, 0,12 ve 0,13 genetik farklılaşma değerlerine sahip olduğu gözlenirken, sentromer telomer arası ve subsentromer arasındaki bölgeleri tanıyan sırasıyla X-gwm-268, X-gwm-408, X-gwm-148 ve X-gwm-312'nin daha yüksek düzeyde sırasıyla 0,16, 0,21, 0,17 ve 0,18 genetik farklılaşma verilerine sahip olduğu gözlemlendi.

Genetik çeşitlilik verileri incelendiğinde telomer ve sub-telomer bölgesi tanıyan sırasıyla X-gwm-389 ve X-gwm-577 primerleri en düşük düzeyde sırasıyla 0,87 ve 0,71 genetik çeşitlilik değerlerini gösterirken diğer bölgeleri tanıyan primerlerin 0,90'dan daha yüksek genetik çeşitlilik değerlerini gösterdi. Bunun nedeni büyük bir olasılıkla telomer ve sub-telomer bölgelerinin kromozom uçlarında önemli işlevlerinin olmasından dolayı genetik farklılaşmaya esnek gösterilmesi açısından daha muhafazakâr bir tutum sergilemesi ile ilişkili olabilir.

Etkili alel sayısı genetik çeşitliliği ölçmenin yollarından biridir. Yerel emmer buğday popülasyonlarında dokuz SSR primeri ile elde edilen etkili alel sayıları popülasyonlarda yüksek düzeydeki genetik çeşitliliği göstermektedir. Normal toplam alel sayılarının en yüksek bölgelerin sub-sentromer ve sentromer telomer arası bölgeler olduğu tespit edildi. Bu da bize bu bölgelerin genetik çeşitliliğe önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Popülasyon düzeyinde genetik çeşitlilik verilerine bakıldığında toplam alel sayılarının bütün popülasyonlarda birbirine yakın çıktığı gözlenirken, etkili alel sayılarının önemli sayılabilecek farklı bir aralıkta (3,87 ile 7,87 arasında) çıktığını gösterdi. Gözlenen genetik çeşitlilik değerlerine göre H popülasyonunda en yüksek değer (0,24) gözlenirken, en düşük değer L popülasyonunda gözlemlendi. Buna karşın beklenen genetik çeşitlilik değerlerine göre değerlerine göre ise tam tersi bir durum gözlemlendi. L, M ve N popülasyonlarının lokasyon orijinleri gen bankası kayıtlarına

göre belli olmadığından Türkiye olarak kayıt edilmiştir. Büyük bir olasılıkla bu popülasyonlar farklı lokasyonlardan toplanan tohumların bulk haline getirilerek saklanmasıyla oluşturulmuş olabilir. Özellikle L popülasyonunda gözlenen yüksek düzeydeki genetik çeşitliliğin nedenlerinden biri bu olabilir. Aynı şekilde genetik uzaklık matrislerine baktığımızda L, M ve N popülasyonları ile diğer popülasyonlar arasındaki değerlerin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Dendrogramda da benzer bir durum gözlemlendi. L popülasyonu diğer popülasyonlardan ayrı gruplanırken diğerleri genetik uzaklık durumlarında göre gruplandılar.

Genetik çeşitlilik çalışmalarında genetik faktörlerin belirlenmesi, belirli türler için yok olma riskinin ortadan kaldırmasını sağlamaktadır. Buna göre çalışmada belirlediğimiz en önemli faktör, popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin saptanmasıdır. Popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin fazla olması halinde popülasyon seçimi, genetik çeşitliliğin popülasyon içinde fazla olması halinde ise birey ve aile seçimi önemli hale gelmektedir. Her iki durumda da uygun popülasyon ve genotipler seçilerek ıslah çalışmalarında kullanılabilir. Buna göre incelendiğinde çalışılan dokuz popülasyon arasında genetik çeşitliliğin dikkate değer düzeyde olduğu belirlenmiştir. Genetik çeşitliliğin fazla olması, popülasyonun hastalıklara, aşırı iklim değişikliklerine ve diğer çevre şartlarına dayanıklı genotipler bulundurarak neslini devam ettirmesini sağlamaktadır (Velioğlu ve ark., 2002).

Popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik çeşitlilik araştırmalarında kullanılan primer dizileri tespit ettikleri yüksek polimorfizm oranında etkili olarak kullanılabilir. Bu çalışmada kullanılan SSR primerlerinin hepsi %100 polimorfizm göstermiştir. Sonuçlar önceki yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, 15 ülkeden toplanan toplamda 87 İran buğdayıyla yapılan çalışmada polimorfik lokus yüzdesi en yüksek %71 olarak gözlenirken en düşük %15 olarak tespit edilmiştir (Zhuang ve ark., 2011). Sonuçların bu şekilde çıkmasının buğdayın coğrafi yayılış alanının geniş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Wang ve ark., 2007). Çalışmamızla ilgili sonuçlar göz önüne alındığında bu primer dizilerinin bundan sonra buğday veya yakın akrabası olan türlerde yapılacak genetik çeşitlilikle ilgili çalışmalarda verimli bir şekilde kullanılabilirlerini çalışmamızla kanıtlanmış oldu.

Popülasyonların gen havuzlarında paylaştıkları ortak alel sayısı azaldıkça genetik farklılaşma düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Doğal popülasyon formlarının genetik yapılarının tespit edilmesi popülasyon genetiğinin önemli konularından bir tanesidir ve bulunan sonuçların pek çok uygulama alanları vardır. Bunlar bitki ve hayvan ıslahı, evrimsel biyoloji, forensik korumadır. Popülasyonların genetik yapısını araştırma çalışmalarında çoğunlukla kullanılan yöntem F_{ST} (Wright, 1965) dir.

Bu çalışmada popülasyonlar arasındaki genetik uzaklık (D), Nei (1972)'nin standart genetik uzaklık hesaplama yöntemine göre hesaplanmıştır. Çalışmada varılan sonuçlara göre genetik uzaklık değeri en yüksek 2,69 iken en düşük değer 0,46 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Türkiye, Polonya, Gürcistan'ın da içinde bulunduğu toplamda 15 ülkede yetiştirilen İran buğdayları ile ilgili yapılan çalışmayla kıyaslandığında Türkiye de yetişen İran buğdayı ile Polonya da yetişen İran buğdayı arasındaki genetik uzaklık değeri en yüksek (0,8) çıkarken, Türkiye ile Gürcistan'da yetişen İran buğdayları arasındaki genetik uzaklık değeri en düşük (0,059) çıkmıştır (Zhuang ve ark., 2011). Çalışmamız ve daha önceki yapılan çalışmalardan çıkarılan sonuç genetik uzaklık değerinin buğdayların yetiştikleri bölgeler arasındaki mesafeyle doğrudan ilgili olduğudur. Çünkü Zhuang ve arkadaşları (2011) yaptığı çalışmada genetik uzaklık değerinin en fazla çıktığı Türkiye ve Polonya'nın coğrafi olarak birbirine en uzak, genetik uzaklık değerinin en az çıktığı Türkiye ve Gürcistan'ın birbirine en yakın olduğu bu fikri destekler niteliktedir. Ancak Fahima ve arkadaşları (1999, 2000) yabancı buğday tohumlarıyla yaptıkları çalışmayla alloenzim genetik uzaklığının coğrafyadan bağımsız olduğunu belirtmişlerdir. Etiyopya tetraploid buğdayı (Yifru ve ark., 2006) ve diğer farklı *T. dicoccoides* buğday popülasyonlarında (Nevo ve ark., 1982) yapılan çalışmalarda da coğrafi uzaklıkla genetik uzaklık arasında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır. Bu bulgulara rağmen çalışmamızda birbirine uzak olan şehirlerden alınan örnekler arasındaki genetik uzaklık değerinin yüksek olduğu, birbirine yakın şehirlerden alınan örnekler arasındaki genetik uzaklık değerinin ise düşük olduğu bulundu.

Çalışmamızda saptanan genetik çeşitlilik değerlerine bakıldığında bu değerlerin 0,93-1 arasında değişiklik gösterdiği ortalama genetik çeşitlilik değerinin ise 0,98 olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar diğer çalışmalarla kıyaslandığında onlara göre genetik

çeşitlilik değerinin oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. İtalya da yetiştirilen *Triticum turgidum* türlerinde 194 örneğin 15 SSR primeri kullanılarak genetik karakterizasyonun bulunması çalışmasında genetik çeşitlilik değerleri 0,05-0,94 arasında bulunurken ortalama genetik çeşitlilik değeri 0,38 olarak gözlenmiştir (Figliuolo ve Perrino, 2003). Ayrıca beklenen heterozigotluk değerini en yüksek 0,25, en düşük 0,12 ve ortalama 0,21 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan heterozigotluk değerleri ise en yüksek 0,97 en düşük 0,71 ve ortalama 0,90 olarak bulunmuştur.

Genetik akrabalık düzeylerinin incelendiği dendrogram sonuçlarına bakıldığında birbirine yakın olan popülasyonların aynı grupta kümelendikleri uzak olanların ise farklı gruplarda kümelendikleri görülmektedir. Ortaya çıkan sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla kıyaslandığında sonuçların birbirleriyle örtüşükleri gözlenmektedir.

Bu çalışma *Triticum turgidum subsp. dicoccon* türlerinin genetik özelliklerinin ulusal gen bankasında temsil edilmesi açısından önemlidir. Ayrıca Türkiye’de *Triticum turgidum subsp. dicoccon*’un genetiği ile ilgili SSR kullanılarak yapılmış kapsamlı bir çalışma bulunmadığından ve çalışmamız bir ilk niteliği taşıdığından bundan sonra yapılacak çalışmalar için de öncül niteliğindedir. Buğdayın önemli özellikleri ve dünya ekonomisindeki yeri dikkate alındığında bu çalışma kapsamında elde edilen veriler mevcut literatüre önemli katkılar sağlamakla birlikte mevcut gen kaynaklarının daha verimli kullanılmasına olanak sağlayacaktır.

Türkiye’de emmer (kaplıca, gernik) buğdayı ekmeklik ve makarnalık kültür buğdaylarının yetişmediği zorlu çevre koşullarının bulunduğu coğrafik bölgelerde yetişmektedir. Bu nedenle emmer buğdayları çevresel koşullara ve çeşitli zararlılara karşı dayanıklılıkla ilgili önemli genlere sahiptir. Sonuç olarak eko-coğrafik olarak oldukça geniş bir adaptasyon özelliğine sahiptir. Küçük çiftçiler emmer buğdayını uzun yıllardan beri yetiştirdiklerinden kendine özgü bir gen kaynağını oluşturmuşlardır. Çiftçiler bu buğdayları yetiştirdiklerinde bunun bir kısmını tohumluk olarak ayırmakta geri kalanını ise hayvan yemi, yerel gıda ürünleri (bulgur, kuskus vb.) yapmakta kullanmaktadırlar. Çiftçiler bazen kendi tohumları ile komşu çiftçilerden aldıkları tohumları karıştırarak kendi tohumlarını genetik çeşitlilik

bakımından da zenginleştirmektedir. Türkiye’de 8 Kasım 2006 yılında çıkarılan ve 26340 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan 553 sayılı Tohumculuk Kanunu gereği çiftçiler yetiştirdikleri bu buğdayları satamıyorlar. Satışı olduğu takdirde önemli cezai yaptırımlar uygulanmaktadır. Devlet sertifikalı tohumları korumak ve geliştirmek adına çok değerli ve önemli yerel buğdayların gen kaynaklarının yok olmasına neden olmaktadır. Çünkü bu buğdayı üreten çiftçiler dar gelirli aileler olduklarından geçimlerini sağlamak için mevsimlik işçi olarak büyük şehirlere göç etmektedir ve sonuç olarak günümüzde emmer buğday tarımı nerede ise tükenmek üzeredir. Nihai sonuca baktığımızda ise çeşitli sosyal, ekonomik ve kültürel sorunlar ortaya çıkmaktadır.

İtalya’da yerel buğdaylardan üretilen ürünlerden yapılan gıda ürünlerinin satıldığı küçük bir pazar oluşturulmuştur. Emmer buğdayının üretildiği tarım alanları organik tarıma da uygundur. Son zamanlarda popüler hale gelen organik ürünlere olan ilgi yerel emmer buğday ürünlerini de kapsayacak şekilde bir pazar oluşturularak bu çiftçilerin yaşadıkları yerleri terk etmeden geçimlerini sağlayabilecekleri İtalya’dakine benzer bir Pazar oluşturulabilir. Böylece yerel emmer buğdaylarının tarlada üretimi (*on farm conservation*) yapılarak genetik kaynak olarak koruma altına alınmaları ile hem genetik çeşitlilik düzeylerinin hem de evrimsel süreçlerinin devamlılığı sağlanabilir. Yerel emmer buğdayları nerdeyse yok olmak üzeredir. Bu önemli genetik kaynakların hem *on farm* hem de *ex situ* koruma altına alınmaları gerekmektedir. Çünkü buğday kendi kendine tozlaşan bir bitki türü olduğundan zaman içinde kendileşmeden kaynaklı olarak kalite ile ilgili özelliklerini kaybetmektedir. Buğdayın yabani ve yerel akrabalarının sahip oldukları kalite ve diğer özelliklerle ilgili genetik kaynakları kültür formlarının geliştirilmesinde ve ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alkhanjari, S., Röder, M.S., Al-Maskri, A., Hammer, K., Buerkert, A., 2005. Genetic diversity of hexaploid Omani wheat landraces detected by microsatellite markers. Institute of plant genetic and crop plant research.
- Amani, J., Kazemi, R., Abbasi, A.R., Salmanian, A.H., 2011. A simple and rapid leaf genomic DNA extraction method for polymerase chain reaction analysis. Iranian Journal Of Biotechnology, Sayı :9, Sayfa No:7.
- Başçiftçi, Z.B., Kınacı, G., 2013. Makarnalık buğdayın protein içeriğinin makarna kalitesine etkisi. Eskişehir Ticaret Borsası Dergisi. No:7.
- Bennett, P., 2000. Microsatellites. Journal of Clinical Pathology. Mol Pathol, 53: 177-183.
- Bilgin, O., Korkut, K. Z., 2005. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi . Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(3).
- Caetano-Anolles, G., Bassam B.J., Gresshoff P.M., 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. Biotechnol, 9, 553–557.
- Devrim, A.K., Kaya, N., 2004. Genetik polimorfizm ve mikrosatellitler. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi dergisi, 10(2):215-220.
- Enjalbert, J., Goldringer, I., Paillard, S., Brabant, P., 1998. Molecular markers to study genetic drift and selection in wheat populations. Journal of Experimental Botany. 283-290.
- Figliuolo, G., Perrino, P., 2003. Genetic diversity and intra-specific phylogeny of *Triticum turgidum* L. subsp. *dicoccon* (Schrank) Thell. revealed by RFLPs and SSRs. Genetic resources and crop evolution, 51:519-527.
- Filiz, E., Koç, İ., 2011. Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. GAÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(2), 207-214.
- Gıdık, B., 2012. Trakya bölgesinde yetişen kanola (kolza) bitkisinde genetik çeşitliliğin moleküler işaretleyicilerle karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Gupta, P.K., Varshney, R.K., Sharma, P.C., Ramesh, B., 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. Plant Breeding, 118, 369-390.
- Hartl, D., Clark, A.G., 1989. Principals of Population Genetics, Second Edition. Sinauer Sunderland, MA.

- Joshi, S.P., V.S. Gupta, R.K. Aggarwal, P.K. Ranjekar, D.S. Brar, 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics.*, 100, 1311–1320.
- Kara, A., 2012. Türkiye’de Yetişen Kapari (*Capparis spp.*) Bitkisinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Karcıo, M., 2006. Yerel Durum Buğdayı Çeşitlerinde (*Triticum durum* Desf.) RAPD-PCR Tekniği İle Genetik Çeşitlilik Analizi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Li, Y., Fahima, T., Korol, A.B., Peng, J., Röder, M.S., Kirzhner, V., Beiles, A., Nevo, E., 2000. Microsatellite Diversity Correlated with Ecological-Edaphic and Genetic Factors in Three Microsites of Wild Emmer Wheat in North Israel. Institute of Evolution, University of Haifa, Israel; and Institute of Plant Sciences and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany.
- Li, Y.C., Röder, M.S., Fahima, T., Kirzhner, V.M., Beiles, A., Korol, A.B., Nevo, E., 2000. Natural selection causing microsatellite divergence in wild emmer wheat, at the ecologically variable microsite at Ammied, Israel. *Theor Appl Genet*, 100:985-999.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations (population structure / genetic variability/ heterozygosity /gene differentiation). *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 70(12), 3321-3323.
- Nevo, E., Golenberg, E.M., Beiles, A., Brown, A.H.D., Zohary, D., 1982. Genomic diversity and environmental associations of wild wheat *Triticum dicoccoides* in Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 62,241-254.
- Ozbek, O., 2006. Yabani Tetraploid Buğday *Triticum turgidum var.dicoccoides* (Körn.Schwein) Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Markörler (AFLP, RFLP) ile Tespit Edilmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ozbek, O., Millet E., Anikster Y., Feldman M., and Arslan O. 2006. Assessment of genetic diversity in wild tetraploid wheat, *Triticum turgidum ssp. dicoccoides*, revealed by RFLP markers. *National Biology Congree With international participants.*
- Ozkan, H., Brandolini, A., Schafer-Pregl, R., and Salamini, F., 2002. AFLP Analysis of a Collection of Tetraploid Wheats Indicates the Origin of Emmer and Hard Wheat Domestication in Southeast Turkey. *Molecular Biology Evolution*, 24: 1224– 1233.
- Ozşensoy, Y., Kurar, E., 2000. Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2) 11-19.

- Pagnotta, M.A., Mondini, L., Codianni, P., Fares, C., 2009. Agronomical, quality and molecular characterization on twenty Italian emmer wheat (*Triticum dicoccon*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56, 299-310.
- Rangwen, R., Akkaya, M.S., Bhagwar, A.A., Lavi, U., Cregon, P.B., 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 43-48.
- Reynolds, J., Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1983. Estimation of the coancestry coefficient. Basis for a short-term genetic distance. *Genetic*.
- Ridout, C.R., Donini, P., 1999. Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*, 4, 76-79.
- Salem, K.F.M., El-Zanaty, A.M., Esmail, R.M., 2008. Assessing Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genetic Diversity Using Morphological Characters and Microsatellite Markers. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4 (5), 538-544.
- Sakamura, T., 1918. Kurze Mitteilung über die chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhältnisse der *Triticum*-Arten. *Bot.Mag.* 32, 151-154.
- Salunkhe, A., Tamhankar, S., Tetali, S., Zaharieva, M., Bonnett, D., Trethowan, R., Misra, S., 2013. Molecular genetic diversity analysis in emmer wheat (*Triticum dicoccon* Schrank) from India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60:165-174.
- Sasanuma, T., Chabane, K., Endo, T.R., Valkoun, J., 2002. Genetic diversity of wheat wild relatives in the near east detected by AFLP. *Euphytica*, 127,81-93.
- Sax, K., 1922. Sterility in Wheat hybrids. II. Chromosome behaviour in partially sterile hybrids. *Genetics*, 7, 513-552.
- Staub, J.E., Serquen, F.C., Gupta, M., 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, 31, 729-740.
- Szuch, P., Jühasz, A., Karsai, I., Lang, L., Veisz, O., Bedö, Z., 2000. Use of molecular markers for studying genetic diversity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Genetics & Breeding*, 25-33.
- Teklu, Y., Hammer, K., Huang, X.Q., Röder, M.S., 2006. Analysis of microsatellite diversity in Ethiopian tetraploid wheat landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 1115-1126.

- Velioğlu, E., İçgen, Y., Çengel, B., Öztürk, H., Kaya, Z., 2002. Moleküler belirteçler yardımıyla kızılçam (*Pinus brutia ten.*)tohum meşçelerinde, tohum bahçelerinde ve tohum ağaçlandırmalarında bulunan genetik çeşitliliğın karşılaştırılması. T.C. Çevre ve orman bakanlığı orman ağaçları ve tohumları ıslah araştırma müdürlüğü, Orman bakanlığı Yayın no: 189,10, Ankara
- Wang, H.Y., Wei, Y.M., Yan, Z.H., Zheng, Y.L., 2007. EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum L.*) collection. Journal of Applied Genetics, 48: 35-42.
- Weir, B.S., 1990. Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. 1990 pp. xii + 377pp.
- Welsh, J. McClelland M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research. 18, 7213–7218.
- Wright, S., 1951. The Genetical Structure of Populations. Annals of Eugenics, 15, 323-354.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., Ye, Z.H., Mao, J.X., 1997. POPGENE (version 1.32). The 523 user-friendly sharewarefor population genetic analysis. Molecular Biology and 524 Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.
- Zhuang, P., Ren, Q., Li, W., Chen, G.Y., 2011. Genetic diversity of Persian wheat (*Triticum turgidum ssp. carthilicum*) accessions by EST-SSR markers. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 1(2), 223-230.
- Zohary, D., Hopf, M., Weiss, E., 2000. Domestication of plant in the old World. Oxford University Press.



Çizelge E 1.5. K popülasyonunun alel frekansı

Alel/ lokus	X-gwm-								
	18	601	312	389	148	268	577	186	408
1	0.20	0.60	0.14	0.10	0.40	0.29	0.50	0.70	0.33
2	0.10	0.10	0.14	0.40	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
3	0.10	0.10	0.14	0.05	0.20	0.14	0.10	0.10	0.17
4	0.10	0.10	0.14	0.05	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
5	0.30	0.10	0.14	0.10	0.10	0.14	0.10		0.17
6	0.10		0.29	0.10	0.10	0.14	0.10		
7	0.10			0.10					
8				0.05					
9				0.05					

Çizelge E 1.6. L popülasyonunun alel frekansı

Alel/ lokus	X-gwm-								
	18	601	312	389	148	268	577	186	408
1	0.10	0.10	0.17	0.20	0.40	0.17	0.10	0.10	0.33
2	0.10	0.10	0.08	0.10	0.05	0.17	0.10	0.10	0.17
3	0.10	0.20	0.08	0.10	0.10	0.17	0.05	0.10	0.17
4	0.10	0.05	0.17	0.10	0.10	0.17	0.05	0.10	0.17
5	0.10	0.05	0.17	0.10	0.10	0.17	0.10	0.10	0.17
6	0.10	0.10	0.08	0.10	0.10	0.17	0.10	0.10	
7	0.10	0.10	0.08	0.10	0.10		0.10	0.10	
8	0.10	0.10	0.17	0.05	0.05		0.10	0.10	
9	0.10	0.10		0.10			0.10	0.10	
10	0.10	0.10		0.05			0.10	0.10	
11							0.05		
12							0.05		

Çizelge E 1.7. M popülasyonunun alel frekansı

Alel/ lokus	X-gwm-								
	18	601	312	389	148	268	577	186	408
1	0.20	0.40	0.17	0.20	0.30	0.17	0.10	0.40	0.33
2	0.10	0.10	0.17	0.10	0.20	0.17	0.70	0.10	0.50
3	0.10	0.10	0.17	0.10	0.10	0.17	0.10	0.10	0.17
4	0.40	0.10	0.17	0.20	0.20	0.17	0.10	0.10	
5	0.10	0.20	0.17	0.10	0.10	0.17		0.10	
6	0.10	0.10	0.17	0.10	0.10	0.17		0.10	
7				0.20				0.10	

Çizelge E 1.8. N popülasyonunun alel frekansı

Alel/ lokus	X-gwm-								
	18	601	312	389	148	268	577	186	408
1	0.60	0.10	0.33	0.20	0.10	0.22	0.70	0.40	0.13
2	0.20	0.30	0.11	0.30	0.10	0.11	0.10	0.10	0.13
3	0.10	0.10	0.11	0.40	0.40	0.22	0.10	0.10	0.13
4	0.10	0.10	0.11	0.10	0.10	0.11	0.10	0.10	0.13
5		0.10	0.11		0.10	0.11		0.10	0.13
6		0.10	0.11		0.10	0.11		0.10	0.13
7		0.10	0.11		0.10	0.11		0.10	0.13
8		0.10							

Çizelge E 1.9. P popülasyonunun alel frekansı

Alel/ lokus	X-gwm-								
	18	601	312	389	148	268	577	186	408
1	0.30	0.20	0.29	0.10	0.20	0.14	0.50	0.30	0.17
2	0.10	0.20	0.14	0.50	0.10	0.14	0.10	0.20	0.17
3	0.20	0.10	0.14	0.10	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
4	0.10	0.10	0.14	0.10	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
5	0.05	0.10	0.14	0.10	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
6	0.05	0.10	0.14	0.10	0.10	0.14	0.10	0.10	0.17
7	0.10	0.10			0.10	0.14		0.10	
8	0.10	0.10			0.10				
9					0.10				

EK-2. Genetik çeşitlilik

Çizelge E 2.1. B popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	5	3,85	0,78	0,74
X- gwm -601	10	8	6,25	0,88	0,84
X- gwm -312	8	5	4	0,80	0,75
X- gwm -389	10	7	4,26	0,81	0,77
X- gwm -148	10	4	3,33	0,74	0,70
X- gwm -268	7	7	7	0,92	0,86
X- gwm -577	10	3	1,52	0,36	0,34
X- gwm -186	10	8	6,25	0,88	0,84
X- gwm -408	8	7	6,40	0,90	0,84
Ortalama	9	6	4,76	0,79	0,74
Stand.sap		1,80	1,82	0,17	0,16

Çizelge E 2.2. D popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	8	7,14	0,91	0,86
X- gwm -601	10	8	7,14	0,91	0,86
X- gwm -312	4	4	4	0,86	0,75
X- gwm -389	10	5	3,13	0,72	0,68
X- gwm -148	10	6	4,17	0,80	0,76
X- gwm -268	4	4	4	0,86	0,75
X- gwm -577	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -186	10	10	10	0,95	0,90
X- gwm -408	4	3	2,67	0,71	0,63
Ortalama	8	6,11	5,20	0,84	0,77
Stand.sap		2,32	2,39	0,08	0,09

Çizelge E 2.3. I popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	5	3,57	0,76	0,72
X- gwm -601	10	7	5,56	0,86	0,82
X- gwm -312	7	5	4,45	0,84	0,78
X- gwm -389	10	6	3,64	0,76	0,73
X- gwm -148	10	6	5	0,84	0,80
X- gwm -268	7	3	2,58	0,66	0,61
X- gwm -577	10	4	1,92	0,51	0,48
X- gwm -186	10	8	5,71	0,87	0,83
X- gwm -408	7	4	3,27	0,75	0,69
Ortalama	9	5,33	3,97	0,76	0,72
Stand.sap		1,58	1,31	0,12	0,11

Çizelge E 2.4. H popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	6	4,17	0,80	0,76
X- gwm -601	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -312	4	4	4	0,86	0,75
X- gwm -389	10	6	5	0,84	0,80
X- gwm -148	10	5	5	0,72	0,68
X- gwm -268	8	4	4	0,86	0,75
X- gwm -577	10	6	3,33	0,74	0,70
X- gwm -186	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -408	6	2	1,80	0,53	0,44
Ortalama	8	5,22	3,84	0,78	0,72
Stand.sap		1,64	0,96	0,10	0,11

Çizelge E 2.5. K popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	7	5,56	0,86	0,82
X- gwm -601	10	5	2,50	0,63	0,60
X- gwm -312	7	6	5,44	0,88	0,82
X- gwm -389	10	9	4,77	0,83	0,79
X- gwm -148	10	6	4,17	0,80	0,76
X- gwm -268	7	6	5,44	0,88	0,82
X- gwm -577	10	6	3,33	0,74	0,70
X- gwm -186	10	4	1,92	0,51	0,48
X- gwm -408	6	5	4,50	0,85	0,78
Ortalama	9	6	4,18	0,78	0,72
Stand.sap		1,41	1,34	0,13	0,12

Çizelge E 2.6. L popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	10	10	0,95	0,90
X- gwm -601	10	10	8,70	0,93	0,89
X- gwm -312	6	8	7,20	0,94	0,86
X- gwm -389	10	10	8,70	0,93	0,89
X- gwm -148	10	8	4,65	0,83	0,79
X- gwm -268	6	6	6	0,91	0,83
X- gwm -577	10	12	11,11	0,96	0,91
X- gwm -186	10	10	10	0,95	0,90
X- gwm -408	6	5	4,50	0,85	0,78
Ortalama	8,5	8,78	7,88	0,92	0,86
Stand.sap		2,22	2,41	0,05	0,05

Çizelge E 2.7. M popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	6	4,17	0,80	0,76
X- gwm -601	10	6	4,17	0,80	0,76
X- gwm -312	6	6	6	0,91	0,83
X- gwm -389	10	7	6,25	0,88	0,84
X- gwm -148	10	6	5	0,84	0,80
X- gwm -268	6	6	6	0,91	0,83
X- gwm -577	10	4	1,92	0,51	0,48
X- gwm -186	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -408	6	3	2,57	0,67	0,61
Ortalama	8,5	5,67	4,51	0,79	0,74
Stand.sap		1,32	1,52	0,13	0,12

Çizelge E 2.8. N popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	4	2,38	0,61	0,58
X- gwm -601	10	8	6,25	0,88	0,84
X- gwm -312	9	7	5,40	0,86	0,81
X- gwm -389	10	4	3,33	0,74	0,70
X- gwm -148	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -268	9	7	6,23	0,89	0,84
X- gwm -577	10	4	1,92	0,51	0,48
X- gwm -186	10	7	4,55	0,82	0,78
X- gwm -408	8	8	8	0,93	0,88
Ortalama	9,5	6,22	4,73	0,78	0,74
Stand.sap		1,72	1,97	0,14	0,13

Çizelge E 2.9. P popülasyonunun genetik çeşitlilik verileri

Lokus	N	n_a	n_e	H_e	Nei
X-gwm-18	10	8	5,71	0,87	0,83
X- gwm -601	10	8	7,14	0,91	0,86
X- gwm -312	7	6	5,44	0,88	0,82
X- gwm -389	10	6	3,33	0,74	0,70
X- gwm -148	10	9	8,33	0,93	0,88
X- gwm -268	7	7	7,00	0,92	0,86
X- gwm -577	10	6	3,33	0,74	0,70
X- gwm -186	10	7	5,56	0,86	0,82
X- gwm -408	6	6	6	0,91	0,83
Ortalama	9	7	5,76	0,86	0,81
Stand.sap		1,12	1,66	0,07	0,07

EK-3. Kullanılan kimyasal malzeme ve tampon çözeltiler

DNA izolasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

1M Tris-HCl (Tris-hidroklorik asit) Çözeltisinin Hazırlanışı

DNA izolasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılır. 12,11 g tris-base tartılır ve 100 mL'lik bir cam beherin içinde 70 mL saf su ile çözündürülür. Çözeltinin pH'sı plastik bir pastör pipeti kullanılarak HCl ile pH 8'e ayarlanır ve son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlanır. Çözeltinin pH'sı son kez ölçülür ve otoklavda steril edilir. Çözelti stok olarak saklanır.

HACİM	100 mL
Tris-base	12,11 g
dH ₂ O	70 mL

0,5 M EDTA (Ethylenediaminetetra-acetic acid disodium salt) Çözeltisinin Hazırlanışı

DNA izolasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılır. 18,6 g EDTA tartılıp 500 mL'lik bir cam beherin içine konulur. Behere yaklaşık 70 mL saf su eklenir. Beher manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir. Çözeltinin pH değerini 8'e ayarlamak için çözeltilere NaOH tabletleri eklenir. Eğer NaOH eklenmezse EDTA çözünmez ve bulanık beyaz renkli bir süspansiyon gibi görünür. pH 8'e yaklaştığında çözelti berraklaşmaya başlar. pH kağıtları ile değeri arada bir ölçerek pH 8'e ayarlanır. Çözelti tamamen berraklaşınca çözelti 100 mL'lik dereceli silindire boşaltılır ve son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlanır ve pH son kez ölçülür. Çözelti otoklavda sterilize edilir ve stok çözelti olarak saklanır.

HACİM	100 mL
EDTA	18,6 g
dH ₂ O	70 mL

5 M NaCl (Sodyum Klorür) Çözeltisinin Hazırlanışı

DNA izolasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılır. 29,22 g NaCl tartılıp 500 mL'lik bir cam behere konular, üzerine 70 mL saf su eklenir. Manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir ve biraz ısıtılarak çözünmesi sağlanır. Son hacim 100 mL oluncaya kadar saf su eklenir. Çözelti otoklavda sterilize edilir ve stok çözelti olarak saklanır.

HACİM	100 mL
NaCl	29,22 g
dH ₂ O	70 mL

DNA İzolasyon Çözeltisinin Hazırlanışı

HACİM	100 mL
Sorbitol	0,35 M (12,75 g)
1 M Tris-HCl (pH 7,5)	0,1 M (20 mL)
0,5 M EDTA	5 mM (2 mL)
dH ₂ O	150 mL

Kloroform-İzoamil Alkol (24:1) Karışımının Hazırlanışı

DNA izolasyon basamaklarında kullanılır. 1 L kloroform şişesi üzerine 42 mL izoamil alkol eklenerek hazırlanır.

1XTE Çözeltisinin Hazırlanışı

HACİM	100 mL
1 M Tris	100 mM (10 mL)
0,5 M EDTA	10 Mm (2 mL)
dH ₂ O	70 mL

50X TAE Çözeltisinin Hazırlanışı

Hazırlanan bu çözelti elektroforez işleminde elektroforez tamponu olarak kullanılır. 242 g Tris-base tartılır. Cam bir beherin içinde 500 mL dH₂O ile çözülür. Bu çözeltiye 100 mL, 0,5 M EDTA (pH8) ve 57,1 mL glasiyel asetik asit eklenir. Beher manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir ve karışımın tamamen çözünmesi beklenir. Karışım tamamen çözüldükten sonra son hacim 1L'ye dH₂O ile tamamlanır. 1X seyreltilerek kullanılır.

HACİM	1000 mL
Tris	242 g
0,5 M EDTA	100 mL
Glasiyel asetik asit	51,7 mL
dH ₂ O	500 mL

Etidyum Bromidin Hazırlanışı (sigma) (10 mg/mL)

Bu madde DNA'nın UV ışığı altında görüntülenmesini sağlamak için agaroz jel çözeltinin içine eklenir. 100 g etidyum bromid, 100 mL dH₂O içinde çözdürülür. +4°C'ta siyah renkli veya üzeri alüminyum folyo ile kaplı bir şişede saklanır.

Örnek Yükleme Tamponunun hazırlanışı (6X LB)

Bu çözelti DNA örneklerinin agaroz jel üzerinde hareketlerini gözlemek için örnekle karıştırılarak kullanılır. 50 mL'lik bir plastik tüpe 25 mL gliserol, 25 mL 1X TE konulduktan sonra tüpe çok az miktarda bromo fenol mavisini eklenir. Tüpün kapağı kapatılıp hafifçe çalkalanır. Bromofenol mavisinin homojen olarak dağılması sağlanır (% 50 gliserol/1X TE 1:1). +4°C'ta uzun süre saklanır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : DEMİR, Sevilay
 Uyuşu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 28.11.1988 - Çorum
 Medeni hali : Bekar
 e-mail : sevilay_demir_19@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Ankara Mehmetçik Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2012 (Şubat-Haziran)	Osmancık İsmail Karataş Sağlık Meslek Lisesi/ÇORUM	Öğretmen
2013 (Şubat-Haziran)	Aşdağul Şehit Mahsuni Türkmen İ.Ö.O/ÇORUM	Öğretmen
2015 (Şubat-Haziran)	Sungurlu Lisesi/ÇORUM	Öğretmen

Yabancı Dil: İngilizce