



**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ BÖLGESİNE UYGUN EKMEKLİK BUĞDAYLARDA (*Triticum aestivum* L.) D-GENOMUNDAKİ DEĞİŞİMLERİN SSR MARKÖRLERİ YOLUYLA BELİRLENMESİ**

**Volkan Vuslat OKYAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Antakya/HATAY**  
**EYLÜL-2009**

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ BÖLGESİNE UYGUN EKMEKLİK  
BUĞDAYLARDA (*Triticum aestivum* L.) D-GENOMUNDAKİ DEĞİŞİMLERİN  
SSR MARKÖRLERİ YOLUYLA BELİRLENMESİ

Volkan Vuslat OKYAY  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Doç. Dr. Mustafa ERAYMAN danışmanlığında hazırlanan bu tez 17.09.2009 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Mustafa ERAYMAN Doç.Dr. Yüksel BÖLEK Yrd.Doç.Dr. Mehmet ATAK  
Başkan Üye Üye

Bu tez Enstitümüz Tarla Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr.Bünyamin YILDIZ  
Enstitü Müdür V.

Bu çalışma MKÜ BAP tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 08 M 1002

Not : Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**İÇİNDEKİLER**

ÖZET.....	II
ABSTRACT.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Materyal .....	9
3.1.1. Deneme Yeri .....	9
3.1.2. Denemenin Planlanması .....	9
3.1.2.1. Saksı Hazırlığı.....	9
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Primerler.....	12
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması.....	14
3.2.2. DNA Materyalinin Elde Edilmesi.....	15
3.2.3. DNA İzolasyonu ve DNA'nın Elde Edilmesi.....	15
3.2.4. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....	16
3.2.5. PCR Analizi .....	17
3.2.6. Elektroforez İşlemi .....	17
3.2.6.1. Agaroz Jel Hazırlama (200 mL).....	17
3.2.6.2. Elektroforez.....	17
3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi .....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	19
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
6. KAYNAKLAR .....	31
TEŞEKKÜR.....	34
ÖZGEÇMİŞ .....	35

## ÖZET

**AKDENİZ BÖLGESİNE UYGUN EKMEKLİK BUĞDAYLARDA  
(*Triticum aestivum* L.) D-GENOMUNDAKİ DEĞİŞİMLERİN SSR  
MARKÖRLERİ YOLUYLA BELİRLENMESİ**

Buğday dünyada en yaygın ve kültüre alınan en önemli bitkilerden biridir. Akdeniz Bölgesine uygun ekmeklik buğdayların *D*-genomundaki değişimlerin SSR markörleri yoluyla belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada bitki materyali olarak biri mutlak kışlık olmak üzere 33 adet ekmeklik buğday, bir adet makarnalık buğday ile *D*-genomu donörü olan *Ae. tauschii* kullanılmıştır. Buğdayın *D*-genomuna özel 7 adet kromozomu temsilen 14 adet SSR markörünün kullanıldığı popülasyonda SSR'ların tümü en az bir bireyde PCR ürünü üretmiş ve polimorfik bulunmuştur. Bunlardan 42 lokus ve her lokusta 40,93'lük ortalamayla toplam 573 adet bant elde edilmiştir. En fazla bant üreten primer *WMC48* (137 adet) olurken, en az bant üreten primer *BARC98* (7 adet) olmuştur.

Polimorfizm seviyesini gösteren polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri 0,41 ortalamayla 0,217– 0,500 arasında değişkenlik göstermiştir. Kullanılan popülasyon için genetik benzerlik katsayısı 0,31 ile 0,98 arasında değişmiştir. Bu çalışmada, SSR verilerine dayanarak yapılan UPGMA kümeleme analizinde *Ae. tauschii*, makarnalık Bağacak ve kışlık Bayraktar–2000 diğer çeşitlerden genetik olarak ayrı gruplanmıştır. Ekmeklik buğdayın *D*-genom donörü ayrı bir grup oluşturmuş olup diğer çeşitlerden ayrı olarak sınıflandırılmıştır. Diğer çeşitler de 6 alt grupta kümelenecek olup Amik Ovasında adapte olma yeteneğine sahip çeşitler 4 alt grupta toplanmıştır. Bu sonuçlara göre birbirine en yakın çeşitler Nurkent ve Tahirova–2000; Galil, Dariel ve Kaşifbey–95; Yüreğir–89 ve Cumhuriyet–75; İzmir–85 ve Basribey–95 olmuştur. Çalışma sonuçları, buğdayın *D* genomundaki varyasyonun göreceli olarak var olduğu ve bu varyasyonun ekmek kalitesini artırmada kullanılabileceğini göstermiştir.

2009, 41 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Genetik çeşitlilik, buğday, *D*-genomu, dendogram, SSR

## ABSTRACT

**IDENTIFY VIA SSR MARKERS CHANGES IN *D*-GENOME OF APPROPRIATE BREAD WHEATS (*Triticum aestivum* L.) TO MEDITERRANEAN REGION**

Wheat is one of the most widespread and cultivated crop plants. The objective of this study was to determine genetic diversity of *D*-genome of bread wheat adapted to Mediterranean Region of Turkey. The plant population was comprised of 32 alternative or spring wheat cultivars, one winter wheat, one durum wheat and *Aegilops tauschii* *D*-genome donor of bread wheat. The population was screened with 14 group *D* specific SSR markers, representing 7 chromosomes. All the primers produced bands at least on one sample and therefore all the primers were polymorphic. Fourteen primers produced Forty-two loci and a total of 573 bands were observed with average of 40.93 per locus. Most bands were produced by *WMC48* while the least was by *BARC98*.

Polymorphism information content (PIC) values were ranged from 0.217- 0.500 with an average of 0.41. Genetic similarity value for the population used in this study was ranged from 0.31- 0.98. Based on SSR results, UPGMA Cluster Analysis drastically discriminated *Ae. tauschii*, Bagacak and Bayraktar-2000 from other bread wheat cultivars. *D*-genome donor of bread wheat was separated from other cultivars. Other cultivars were classified under 6 groups of which 4 involved those possible to adapt to Amik Plain. According to *D*-genome SSR analysis, the closest cultivars were Nurkent and Tahirova-2000, Galil and Kaşifbey-95, Yüreğir-89 and Cumhuriyet-75, İzmir-85 and Basribey-95. The results suggested that wheat population used in this study was relatively diverse and it is possible to utilize them to increase the quality of bread wheat.

2009, 41 pages

Key words: Genetic diversity, wheat, *D*-genome, dendogram, SSR

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik (Random Amplified Polymorphic DNA)
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
PCR	Polimeraz Zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
SSR	Basit Dizi Tekrarı (Simple Sequence Repeat)
MAS	Markör destekli seleksiyon (Marker Assisted Selection)
QTL	Nicelik Özellikli Bölge (Quantitative Trait Locus)
CIMMYT	Uluslararası Mısır ve Buğday İyileştirme Merkezi
GS	Genetik benzerlik (Genetic similarity)
GD	Genetik mesafe (Genetic Distance)
MI	Markör indeksi
PIC	Polimorfik bilgi içeriği (Polymorphic Information Content)
UPGMA	Aritmetik Ortalamayla Tartılmamış Eş Gruplama Metodu
T.A.E	Tarımsal Araştırma Enstitüsü
TİGEM	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
EtOH	Etil Alkol
NaCl	Sodyum Klorür
M	Molar
mM	Milimolar
dNTP	Di Nükleotid Tri Fosfat
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
HCl	Hidrojen Klorür

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

	Sayfa
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan ve Akdeniz Bölgesinde yetiştirmeye uygun ekmeklik buğdayların çeşit isimleri, tescil kurumları ve ekmeklik kalite değerleri ve pedigrileri .....	10
Çizelge 3.2. Ekmeklik buğdayın <i>D</i> -genomuna ait SSR Primerleri ve buldukları kromozom kolları.....	11
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan çeşit ve türlere ait toplam ve ortalama bant sayıları .....	20
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan primerlere ait kromozom lokasyonları, bant sayıları ve PIC değerleri.....	22
Çizelge 4.3. Ondört Mikrosatellit lokusuna dayanarak 35 buğday çeşidi için genetik çeşitlilik tahminleri (POPGENE32 programı ile hesaplanmıştır).....	23
Çizelge 4.4. Nei'nin genetik benzerliği.....	26

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

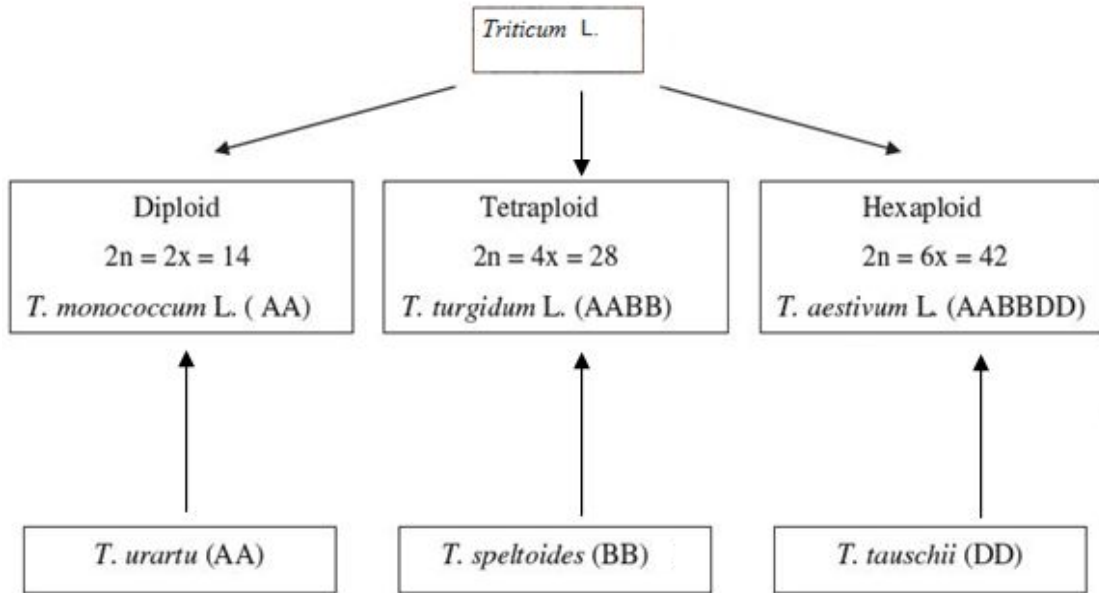
	Sayfa
Şekil 1.1. Buğdayın oluşum şeması.....	1
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin buğdayın <i>D</i> -genomu üzerindeki yerleri.....	12
Şekil 4.1. <i>Xwmc48</i> primer (A), <i>Xcfd5</i> primeri (B), <i>Xbarc96</i> primeri (C), <i>Xbarc130</i> primeri (D), <i>Xgwm161</i> primeri (E), <i>Xgwm469</i> primeri (F) ile çoğaltılan buğday genotiplerine ait jel görüntüleri.....	23
Şekil 4.2. SSR-Genetik benzerlik dendogramı.....	24



## 1. GİRİŞ

Buğday dünyada en yaygın olarak bulunan önemli kültür bitkilerinden biridir. Pirinç ve mısırdan sonra üretimde üçüncü olan buğdayın küresel tüketimi geçtiğimiz yıllarda sürekli artmıştır (Foreign Agricultural Service, 2002). Buğday dünya nüfusunun % 35'e yakınının temel besin kaynağını oluşturmaktadır. Besleyici, depolaması ve taşınması kolay olup birçok gıda maddesinin de temel kaynağını oluşturmaktadır. Gelişen teknolojiyle birlikte biyoteknolojik yöntemlerinde kullanılmasıyla buğdayda ürün sınırlarının artacağı düşünülmektedir (Dreisigacker ve ark. 2004).

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.,  $2n=6x=42$ , AABBDD) alloheksaploid bir tür olup üç farklı diploid genomun bir araya gelmesiyle meydana gelmiştir (Şekil 1.1). Bunlardan A-genomu donörü *Triticum urartu* (AA,  $2n=14$ , Dvorak ve ark. 1988, 1993), B-genomu donörü *Aegilops speltoides* (BB,  $2n=14$ ; Dvorak ve Zhang, 1990), ve D-genomu donörü *Aegilops tauschii* (DD,  $2n=14$ , Dvorak ark. 1998) olarak belirlenmiştir. *Ae. tauschii*, hastalık, nematod, böceğe dayanıklılık ve ekmeklik kalitesini artıran genlerin önemli bir kaynağıdır (Naghavi ve ark. 2009).



Şekil 1.1. Buğdayın genom yapısı (Heyns, 2005)'ten değiştirilmiştir.

Ekmeklik buğdayın orijinindeki "darboğaz" etkisi ve uzun bir ıslah süreci bu türün dar bir genetik zemine oturmasına yol açmıştır (Talbert ve ark. 1998; Bryan ve

ark. 1999). İlave olarak, yaygın bir şekilde kullanılan iyi kombine olma yeteneğine sahip dölleyicilerle çeşit geliştirme, modern kültürlerde azalmış bir genetik varyasyona yol açmaktadır (Rodgers ve ark. 1983). Dar bir genetik havuzdan seçilme olasılığı bu nedenle azalmakta, buna karşın ürüne karşı gelişen risk faktörleri artmaktadır. Bazı endemik çeşitler genetik tekdüzeliğinden dolayı hastalık ve zararlılar gibi risk faktörlerinden olumsuz olarak etkilenmektedir. Bu durum, bilim adamlarının ekonomik öneme sahip bitkilerin genetik zeminlerini geliştirmeye zorlanmaktadır. Türler içindeki varyetelerin benzerlik veya farklılık tahminleri morfolojik ve biyokimyasal genetik markörlere, nicelik özelliklerine veya soy ağacı analizine dayandırılabilir (El-Kassaby, 1982). Soy ağacı analizleri soy ağacı bilindiğinde kendine döllen bitkilere kolaylıkla uygulanabilir. Buğdayın genetiği üzerine birçok ülkede çalışma yapılmıştır. Ülkemizde de buna benzer çalışmalar vardır. Buğday çeşitlerinin genetik sicilinin daha iyi anlaşılması gelecek melezleme programını planlamaya ve çevresel faktörlerden dolayı riski azaltmaya yardım edecektir (Zencirci, 1998).

Islah çalışmalarında temel amaç, bitkilerin genetik yapılarında gerçekleştirilecek değişiklik ile ortaya çıkacak varyasyondan yararlanarak yapılacak seleksiyon yoluyla daha kaliteli, yüksek verimli, hastalık ve zararlılara dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan yeni çeşitlerin mümkün olduğunca kısa sürede elde edilmesidir. Bitki ıslahında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerin ve seleksiyonun etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır. Bunlar çok uzun zaman alan, zahmetli ve yüksek maliyet isteyen işlemlerdir. Bitkilerin genetik potansiyellerinin amaca uygun biçimde yönlendirilmesi açısından son yıllarda protein ve DNA markörleri gibi moleküler markörlerin gerek araştırma gerekse uygulamada kullanımı büyük önem kazanmakta ve bitki ıslahında bunlardan yararlanma olanakları araştırılmaktadır. Moleküler markörlerden genel olarak kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslahında süreyi kısaltarak maliyetleri düşürmekte ve seleksiyonda, genetik ve bağlılık haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası uzaklığın belirlenmesinde de yararlanılmaktadır (Bilgin ve Korkut, 2005). Bununla birlikte, Dünya’da ve ülkemizde yapılan ıslah çalışmalarlarıyla geliştirilen çeşitlerin üreticiye aktarılmasında ve üreticinin çeşit seçiminde zorluklar yaşanmaktadır. Çeşit tescil ve sertifikasyonunda, stabil yüksek verimli ve kaliteli çeşitlerin belirlenmesinde tarla denemeleri ve laboratuvar testleri yanında moleküler markörler

özellikle DNA markörlerinin kullanılması ile bu sorunları aşmak olasıdır (Bilgin ve Korkut, 2005).

Genetik çeşitliliğin tahmini için gereken unsurlar; pedigrî kayıtları, morfolojik özellikler veya moleküler markörler şeklinde farklılaşabilir. Buğdayla çalışan pek çok bilim adamı farklı moleküler markör sistemlerinden Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) ve DNA dizisinin polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism=SNP) kullanarak buğdayın genetik çeşitliliğini araştırmışlar, ancak bu sistemler özellikle kültür hatları veya çeşitleri arasındaki polimorfizmi düşük seviyelerde göstermiş veya tekrarlanabilirlikleri az bulunmuştur (Salem ve ark. 2008; Naghavi ve ark. 2009). Fakat mikrosatellitler olarak da adlandırılmakta olan basit dizi tekrarları (SSR= Simple Sequence Repeat) kromozomlarda yaygın bulunuşundan, kromozoma özel oluşlarından ve çok alleli (multiallel) olmalarından dolayı buğday çeşit veya hatları arasındaki genetik varyasyon ve çeşitliliğin belirlenmesi için en uygun markörlerden biri olarak ortaya çıkmaktadır (Röder ve ark. 1998 a, b). Mikrosatellit markörler buğdayda markör destekli seleksiyon (Marker Assisted Selection= MAS), nicelik özellikli bölgeler (Quantitative Trait Locus= QTL)'in belirlenmesi ve dayanıklılık genlerinin etiketlenmesi için kullanılmaktadır. Bu markörler aynı zamanda hekzaploid buğday çeşitlerindeki kadar ekmeklik buğdayın *D*- genomunun donörü olan *Aegilops tauschii* (Pestsova ve ark. 2000) ve tetraploid yabani buğday *Triticum dicoccoides*'in kalıtımında ve diploid türler arasındaki polimorfizmi yüksek derecelerde göstermektedir (Huang ve ark. 2002).

Amik ovasında yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitleri birçok ıslah programlarında yer almasına rağmen bu çeşitler arasında genomik benzerliğe moleküler seviyede ışık tutacak çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Buğday genomuna ait SSR markörlerin tarafından tespit edilmesiyle artık bu tür çalışmaların hekzaploid buğdayda da yapılması mümkün olabilmektedir (Röder ve ark. 1998b). Buğday delesyon hatlarında (Endo ve Gill, 1996) SSR markörlerinin haritalanması sonucunda birçok SSR markörünün fiziki lokasyonu belirlenmiştir (Song ve ark. 2005). Bu çalışmamızda, Amik Ovasında yaygın olarak yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitlerinin, *D*-genomundaki benzerlikler veya farklılıklar buğday *D*-genomunda fiziki konumu belirli SSR markörleri kullanılarak ortaya konulacaktır. Çalışmada ayrıca diploid donör *A. tauschii*, tetraploid durum buğdayı olarak Bağacak çeşidi ve kışlık olarak yetiştirilen Bayraktar-

2000 eşidi de kullanılarak türler arası benzerlikler de araştırılmıştır. Böylece muhtemelen ekmeklik kalitesini geliştirebilecek varyasyonların gözlenmesi mümkün olabilecektir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Naghavi ve ark. (2009)'da SSR markörlerini kullanarak 52 *T. aestivum* ve İran'ın çeşitli bölgelerinden topladıkları 13 *Aegilops* türü arasındaki D-genomunun genetik ilişkisini belirlemeye çalışmışlardır. Bu çalışmalarında 7 D-genomu kromozomu üzerindeki çeşitli lokasyonlardan elde ettikleri 21 SSR primeri ile polimorfizmi belirlemişlerdir. Toplam 273 adet allel belirlenmiş ve en yüksek genetik çeşitlilik *Ae. crassa* ile *Ae. tauschii* arasında elde edilmiştir. En düşük genetik mesafe *Ae. tauschii* ile *Ae. cylindrica*'da olmuştur.

ZhongFu ve ark. (2003), buğdayda SSR markörleriyle belirlenen D-genomunun genetik çeşitliliği üzerine olan çalışmalarında 17 kışlık ve 6 yazlık buğday kültürü veya hattı kullanılmıştır. D-genomuna özel 23 SSR primeri seçilmiştir. Her lokusta 2.9 allel ortalamasıyla 65 allel belirlenmiştir. Kışlık buğday kültürlerindeki ortalama genetik mesafe (0,4504) ve belirlenen allellerin (60) sayısı yazlık buğday kültürlerinininkinden (48 ve 0,3449) daha yüksek olmuştur. D-genomunun genetik tabanı özellikle 1D kromozomundaki çok kısıtlı olduğu belirlenmiştir.

CIMMYT' ten elde edilen hekzaploid buğdaydaki SSR markörleriyle belirlenen D-genomunun genetik çeşitliliği üzerine yapılan başka bir çalışmada ZhongFu ve ark. (2002) 26 hekzaploid buğdaydaki D-genomunun genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. D-genomuna özel 23 primer seçilmiş ve bunların 22'si polimorfik bant üretmiştir. Her lokusta 4 allel, 23 lokusta toplam 92 allel belirlenmiştir. Bulunan 92 allel Nei (1972)'nin benzerlik indeksi ve genetik mesafesini hesaplamakta kullanılmıştır. Ekmeklik 26 buğday arasındaki genetik mesafe ortalama 0,496 olmuştur.

Lelley ve ark. (2000), tarafından üretilen mikrosatellitler kullanarak buğdayın D-genomu ve *Ae. tauschii* arasındaki ilişkinin belirlenmesini amaçladıkları çalışmalarında; 60 *Ae. tauschii* ve 60 hekzaploid buğday çeşidi ve 14 buğday SSR primeri kullanmışlardır. *Ae. tauschii* ve buğdayda sırasıyla her lokusta 6,5 ve 4,0'lık ortalamalarla allel sayıları belirlenmiştir.

Bilgin ve Korkut (2005), bazı ekmeklik buğday çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmalarında; 10 baz uzunluğunda 10 RAPD primerinden en iyi sonucu veren 5'ini değerlendirmişlerdir. Primerler genel

olarak 2-11 adet arasında bant üretmiştir. Ekmeklik buğday çeşitleri arasında en düşük benzerlik oranı 0,365 olurken, en yüksek benzerlik oranı 0,946 olmuştur. Meydana gelen dendograma göre Sana ve Flamura-80, Miryana ve ISWYN-29, ME-2 (51) ve IBWSN-58, Prostar ve Pehlivan, IBWSN-69 ve Mv-17 ve ISWYN-24 ve Saraybosna birbirine yakın akraba; Kate A-I ve IBWSN-62 en uzak akraba genotipler olmuşlardır.

Hırvatistan orijinli 14 ekmeklik buğday hattında RAPD tekniği kullanılarak morfolojik özellikler ve pedigri kayıtlarını kullanarak, iki farklı buğday ıslah merkezinde geliştirilen çeşitlerin arasındaki genetik farklılığın ortaya çıkarılması amacıyla Maric ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada 36 RAPD primeri denenmiştir. Bu primerlerin polimorfik bulunanlarından 14'ü toplam 341 polimorfik bant üretmiştir.

Gen bankalarında yanlış sınıflandırılmış materyalin tespiti için yapılan bir çalışmada; RAPD markörleri kullanılmış ve teşhis edilemeyen 12 *T. macha* veya *T. spelta* genotipi ile kontrol olarak birer adet *T. dicoccoides*, *T. monococcum* ve *T. timopheevii*'yi kullanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre 5 genotipin *T. dicoccoides* grubunda, 1 genotipin *T. timopheevii* grubunda ve 6 genotipinde *T. monococum* grubunda olduğu belirlenmiştir. Yine bu çalışmada 1 RAPD işaretleyicisinin *D*-genomuna spesifik olarak bulunduğu ve RAPD moleküler işaretleyicilerinin *Triticum*'un alt türlerini birbirlerinden ayırt etmede kullanılabileceği rapor edilmiştir (Cao ve ark. 1999).

Kohpayegani ve Behbahani (2008), tarafından SSR markörleri kullanılarak İran kavununun bazı popülasyonlarının genetik çeşitliliği araştırılmış ve bu amaçla 15 SSR primeri kullanılmıştır. Bu SSR primerleri yüksek düzeyde polimorfizm (%87) göstermiştir. Altmış üç allel belirlenmiş ve polimorfik bölgelerdeki etkili allellerin sayısı 1,25-8,19 arasında değişkenlik göstermiştir. Bunların ortalaması ise 2,80 olmuştur.

Medini ve ark. (2005), 34 Tunus durum buğdayı ve buğdayın akrabası 7 yabancı çeşit kullanarak SSR ve AFLP markörleriyle genetik çeşitlilik çalışması yapmışlardır. 15 SSR markörü tüm genotiplerde yüksek derecede polimorfizm göstermiştir. Bu çalışmada, 156 adet AFLP primeri kullanılmış ve 10,4'lük ortalamayla 3-24 arasında değişen alleller meydana getirmiştir. SSR markörlerinin 2'si 34 durum buğday çeşitlerini göstermede yeterli olduğu bulunmuştur. AFLP primerlerinin 5 tanesi 293

bant üretmiş ve polimorfizm oranı %31 olmuştur. En yüksek markör indeks (MI) değeri AFLP için 7,16 olurken, SSR için PIC (polimorfik bilgi içeriği) değeri 0,68 olarak gözlemlenmiştir. Durum buğdayları için genetik benzerlik değerleri AFLP’de 31,3 ile %81 arasında olurken, SSR’da bu değer 3,6 ile % 72,7 arasında değişkenlik göstermektedir. UPGMA Cluster analizine dayanarak AFLP ve SSR verileri yabancı buğday türlerini durum buğday kültürlerinden ayırmıştır.

Buğday genomuna özel SSR markörleri kullanarak Polonya orijinli ekmeklik buğdaylarının genetik çeşitliliği üzerine yapılan çalışmada 53 yazlık ve kışlık buğday kültürü ve kontrol olarak Chinese Spring kullanılmıştır. Bu amaçla 24 SSR markörü genetik çeşitliliği belirlemede kullanılmıştır. Markör verisine göre genetik benzerlikler hesaplanmış ve dendogram elde edilmiştir (Stepien ve ark. 2007).

Röder ve ark. (2002), SSR markörleri ile ekmeklik buğdayın germplazmasının genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 24 SSR markörü -her bir kromozomu temsil eden en az bir markör- beş kıtanın 68 ülkesinden elde edilen 998 heksaploid ekmeklik buğday çeşidi kullanılmıştır. Her lokus için 18,1 allel ortalamasıyla 470 allel belirlenmiştir. Her lokus allellerinin en yüksek sayısı A ve D-genomlarıyla karşılaştırıldığında sırasıyla 17,4 ve 16,5 olurken B-genomunda 19,9’la olmuştur. Yedi homolog grup arasında her lokus için en düşük allel sayısı 4.grupta gözlemlenmiştir. En mükemmel çeşitlilik kromozomların sentromerik bölgelerine kıyasla sentromerik olmayan bölgelerde olmuştur. Allel sayısı mikrosatellit tekrar sayısı ile arttığı ve gen çeşitliliği allellerin sayısı ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Pestsova ve ark. (2000), *Ae. tauschii*’nin germplazmasının mikrosatellit analizi üzerine yaptıkları çalışmada ise gen bankasından elde ettikleri *Ae. tuschii*’nin farklı 113 çeşit ve 18 mikrosatellit markörü kullanmışlardır. Her lokus için allellerin sayısı 11 ile 25 arasında değişmiş ve toplam 338 allel belirlenmiştir. Mikrosatellit markörleri için en yüksek genetik çeşitlilik Kafkas ülkelerinden elde edilen çeşitlerde bulunmuştur. En düşükleri ise Orta Asya ülkelerinden elde edilenlerde bulunmuştur.

Morfolojik karakterler ve mikrosatellitler kullanarak buğdayın genetik çeşitliliğinin belirlendiği çalışmada; Salem ve ark. (2008) 48 SSR markörü ve 7 buğday çeşidi kullanılmıştır. Buğday SSR markörleri 15 kromozom üzerinde yerleşik 15 bölge belirlemiştir. Her lokus için 3,2 allel ortalamasıyla 48 allel meydana gelmiştir. Her

lokus için allellerin sayısı 2 ila 7 arasında ve PIC değeri 0,548'lik ortalamaıyla *Xgwm95* ve *Xgwm437* için 0,278 ve 0,816 arasında değişkenlik göstermiştir.

Ben Amer ve ark. (2001), Mikrosatellit markörlerini kullanarak Libya buğday genotiplerindeki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla yaptıkları araştırmanın sonuçlarına göre 15 Libya buğday genotipi ve 24 buğday mikrosatelliti kullanılmıştır. Buğday mikrosatellitleri ile 20 farklı kromozom üzerine yerleşen 26 lokus belirlenmiştir. Her lokus için 4,5'lik ortalamaıyla 116 allel ortaya çıkmıştır. 2DS ve 4DL üzerindeki 2 markör monomorfik olmuştur. *B*-genomu (5,9 allel) *A* ve *D*-genomlarına (4,1 ve 2,7 allel) göre daha değişken çıkmıştır.

Buğdaydaki DNA polimorfizmi, genotip belirleme ve genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla mikrosatellitlerin kullanımı üzerine yapılan çalışmada Prasad ve ark. (2000) altı kıtanın 29 ülkesinden elde edilen 55 elit buğday ve 20 mikrosatellit markörü kullanmıştır. Mikrosatellit markörleriyle 21 lokusta 155 allel belirlenmiştir. Allellerin sayısı her lokusta 1-13 arasında değişkenlik göstermiş ve 7,4'lük allel ortalamasına sahip olmuştur. PIC ve MI 0,71 ve 0,70 olarak tahmin edilmiştir. Genetik benzerlik 0,23'lük ortalamaıyla 0,05 ila 0,88 arasında değişmiştir.

Alamerew ve ark. (2004), yaptıkları çalışmalarına mikrosatellit markörleriyle belirlenmiş Etiyopya hekzaploid ve tetraploid buğday germplasmındaki genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Araştırmada 22 buğday mikrosatelliti ile 69 *T.aestivum*, 54 *T.aethiopicum*, 12 *T. durum* Desf. kullanılmıştır. Toplamda 286 allel tespit edilmiştir. Her lokus allelleri için *T. aestivum*=9,9, *T. aethiopicum*=7,9 ve *T. durum*=7,9'lük allel ortalamalarına sahiptir. Her lokus için ortalama PIC değerleri analiz edilen 3 tür için karşılaştırılabilir. Genomlara göre her lokus için allel sayısı sırasıyla *A*-genomuda 10,1, *B*-genomunda 18,4 ve *D*-genomuda 8,2 olmuştur. Türler arasındaki genetik farklılık değerleriyle dendrogram elde edilmiştir.



### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

Araştırmada, Akdeniz Bölgesinde yetiştirmeye uygun 32 adet alternatif buğday çeşidi, ekmeklik buğdayın *D*-genomunun donörü *Ae. tauschii*, bir adet kışlık Bayraktar-2000 ve bir adet makarnalık buğday (Bağacak) çeşidi olmak üzere toplam 35 adet bitki materyali kullanılmıştır. Materyal olarak kullanılan çeşitlerin isimleri, tescil kurumları, Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

##### **3.1.1. Deneme Yeri**

Araştırma Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü seralarında ve laboratuvarlarında yürütülmüştür. Sera tel kafes olup dış ortamla bağlantısı bulunmaktadır.

##### **3.1.2. Denemenin Planlanması**

Denemede kullanılan bitkiler 3 L'lik saksılarda yetiştirilmiştir.

###### **3.1.2.1. Saksı Hazırlığı**

Denemede 2-1-1 oranında toprak-kum-torf karışımı yapılarak saksılara topraklar bırakılmıştır. Başlangıçta yaklaşık her bir saksıya 4 g NPK (18-18-18) gübresi ilave edilmiştir.

###### **3.1.2.2. Ekim ve Sulama İşlemleri**

Her bir saksıya bir çeşit ve her çeşitten de 4 bitki gelecek şekilde ekilip, başlangıç sulaması yapılmıştır. Periyodik olarak saksıların sulama işlemi yapılmıştır. Saksılarda meydana gelen yabancı otlar elle temizlenerek uzaklaştırılmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan ve Akdeniz Bölgesinde yetiştirmeye uygun ekmeklik buğdayların çeşit isimleri, tescil kurumları ve ekmeklik kalite değerleri ve pedigrileri.

Çeşit Adı	Getirildiği Kuruluş	Ekmeklik Kalitesi*	Pedigri**
<b>ADANA-99</b>	ÇUKUROVA T.A.E.	İyi	PFAU/SERI-82//SIB)BOBWHITE[2400][2850]
<b>BASRİBEY-95</b>	EGE T.A.E.	İyi	JUPATECO-73/SIB)BLUEJAY//URES-81[1610][2850]
<b>BAYRAKTAR-2000</b>	TARLA BİTKİLERİ MERKEZ ARAŞT. ENST.	Orta İyi	
<b>CEYHAN-99</b>	ÇUKUROVA T.A.E.		BLUEJAY(SIB)/JUPATECO-73[144]BLUEJAY(SIB)COCORAQUE-75[2400][2850]
<b>COLFIORITO</b>	ÖZBUĞDAY TARIM İŞLETMELERİ VE TOHUM. A.Ş.	İyi	(S)AC-19-11[1665][1764]
<b>CUMHURİYET-75</b>	EGE T.A.E.	Orta	SONORA-64*2//TEZANOS-PINTOS-PRECOZ/YAQUI-54/3/ANDES-64-A/4/2*FROCOR//YAQUI/KENTANA[667][114][144][2406]
<b>DARIEL</b>	TOROS GÜBRE VE KİMYA ENDÜSTRİSİ A.Ş.		HORK/YAMHILL//KALYANSONA/BLUEBIRD[1281]
<b>ESPERIA</b>	TASACO TARIM SANAYİ VE TİCARET A.Ş.	İyi	
<b>GALIL</b>	TOROS GÜBRE VE KİMYA ENDÜSTRİSİ A.Ş.		
<b>GOLIA</b>	TİGEM		MANITAL/ORSO[1558][1619][1624][1764][2676]
<b>GÖNEN-98</b>	EGE T.A.E.	İyi	II-8156-R/MARA//BLUEBIRD[2850]
<b>GUADALUPE</b>	TİGEM		
<b>İZMİR-85</b>	EGE T.A.E.	İyi	UNKNOW-SEL.FROM-ISWYN[1281]
<b>KAŞİFBEY-95</b>	EGE T.A.E.		HORK(SIB)/YAMHILL//KALYANSONA/BLUEBIRD[1610]
<b>KATE A-1</b>	TRAKYA T.A.E.		
<b>NEGEV</b>	TOROS GÜBRE VE KİMYA ENDÜSTRİSİ A.Ş.		
<b>PANDAS</b>	ÇUKUROVA T.A.E.	İyi	ORSO//BEZOSTAYA-1/S-1/3/GENEROSO-7/CONTO-MARZOTTO[1558][1764]
<b>PEHLİVAN</b>	TRAKYA T.A.E.	Yüksek	BEZOSTAYA-1/TEVERE/5/CENTRIFEN/BEZOSTAYA-1//SUWEON-92/CI-13645/3/NAINARI-60/4/(SIB)EMU[1967]

Çizelge 3.1. (Devamı) Araştırmada kullanılan ve Akdeniz Bölgesinde yetiştirmeye uygun ekmeklik buğdayların çeşit isimleri, tescil kurumları ve ekmeklik kalite değerleri ve pedigrileri.

Çeşit Adı	Getirildiği Kuruluş	Ekmeklik Kalitesi*	Pedigri**
<b>SAGITTARIO</b>	TASACO TARIM SANAYİ VE TİCARET A.Ş.	İyi	ADAM/Z-282[1665][1764]
<b>TAHİROVA-2000</b>	SAKARYA T.A.E.	İyi	
<b>YUNAK</b>	TRAKYA TARIM VE VETERİNERLİK TİC. LTD.ŞTİ.	Yüksek	
<b>ZİYABEY-98</b>	EGE T.A.E.	Çok İyi	ND/VG-9144//KALYANSONA/BLUEBIRD/3/YACO/4/VEERY-5[2400]
<b>DOĞANKENT</b>	ÇUKUROVA T.A.E.	İyi	4777*2//FKN/GABO/3/VEERY-5/4/BUCKBUCK/(SIB)PAVON-76[144]
<b>BANDIRMA-97</b>	SAKARYA T.A.E.	Yüksek	BOBWHITE/PARULA[1857]
<b>PAMUKOVA-97</b>	SAKARYA T.A.E.		VEERY/PAJONAL[706][1857]
<b>SEYHAN-95</b>	ÇUKUROVA T.A.E.	İyi	JUPATECO-73/(SIB)BLUEJAY//URES-81[1610];
<b>GENÇ-99</b>	ÇUKUROVA ÜNİV.		KATHADIN(SIB)/NACUZARI-76[2400]
<b>KARACABEY-97</b>	SAKARYA T.A.E.		VEERY-5/PAVON-76/3/GOLDEN-VALLEY/AZTECA-67//MUSALA[1857];
<b>NURKENT</b>	GÜNEYDOĞU ANADOLU T.A.E.		
<b>OSMANİYEM</b>	ÇUKUROVA T.A.E.		
<b>MOMTCHIL</b>	SAKARYA T.A.E.	İyi	
<b>SERİ-82</b>	ÇUKUROVA T.A.E.		KAVKAZ/(SIB)BUHO//KALYANSONA/BLUEBIRD[114][144]
<b>YÜREĞİR-89</b>	ÇUKUROVA T.A.E.	Orta	
<b>BAĞACAK</b>	YEREL ÇEŞİT (GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ)		

*Ae.tauschii*

\*Ekmeklik kalite ölçütleri TİGEM'den alınmıştır (Anonim, 2009).

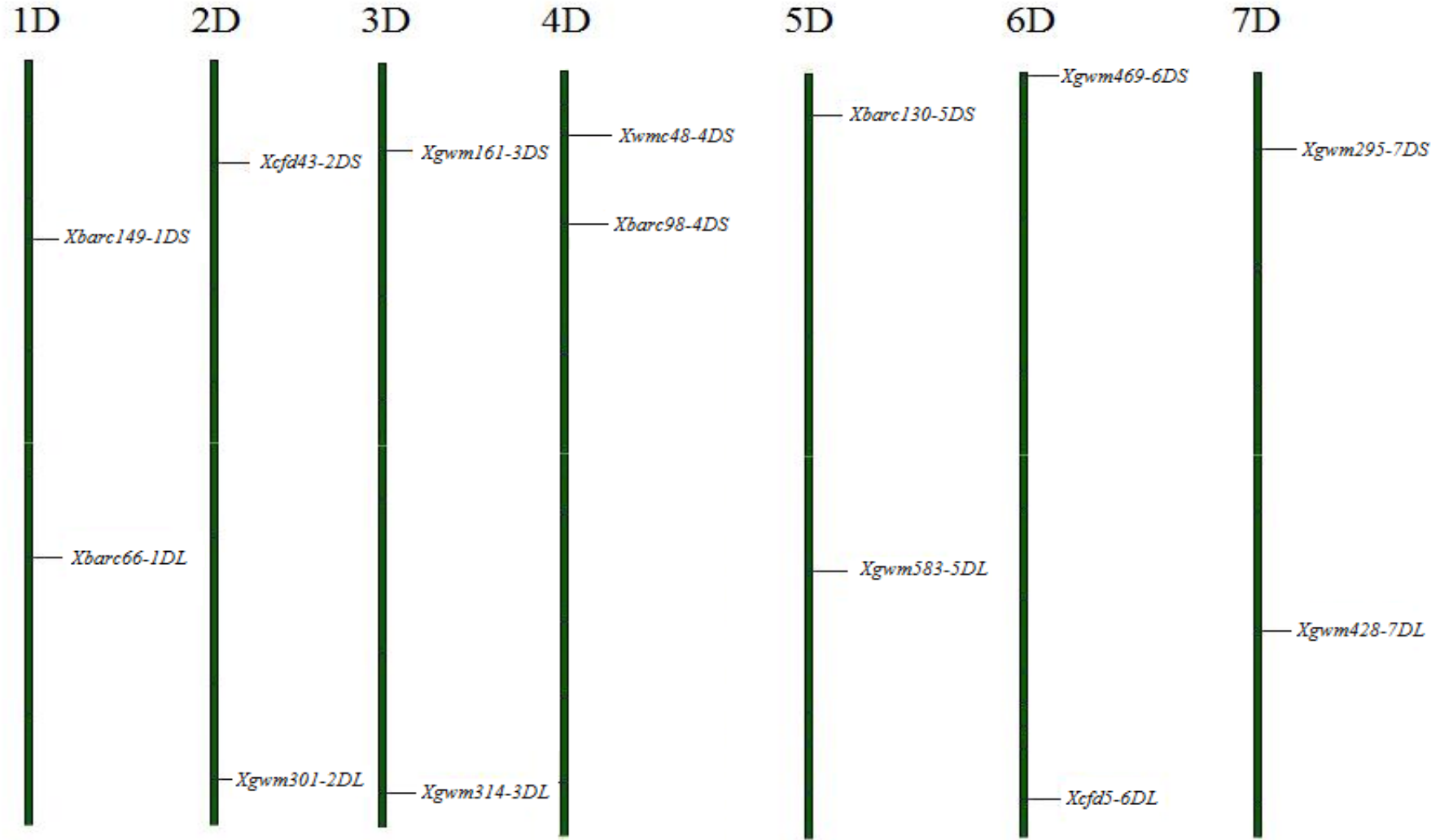
\*\*Anonymous, 2009

### 3.1.3. Çalışmada Kullanılan Primerler

Çalışmada Röder ve ark. (1998b) tarafından geliştirilen ve ekmeklik buğdayın *D*-genomuna ait 7 kromozomun kollarını temsil eden 14 SSR primeri kullanılmıştır. Primerler özel olarak BioGen şirketine sentezlettirilmiştir.

Çizelge 3.2. Ekmeklik buğdayın *D*-genomuna ait SSR Primerleri ve buldukları kromozom kolları

PRIMER ADI	İLERİ PRIMER	GERİ PRIMER	KROMOZOM KOLU
<i>Xbarc149</i>	ATTCACCTGCCCCTTTAAACTCT	GAGCCGTAGGAAGGACATCTAGTG	1DS
<i>Xbarc66</i>	CGCGATCGATCTCCCGTTTGCT	GGGAAGAGGACCAAGGCCACTA	1DL
<i>Xcfd43</i>	AACAAAAGTCGGTGCAGTCC	CCAAAAACATGGTTAAAGGGG	2DS
<i>Xgwm301</i>	GAGGAGTAAGACACATGCCC	GTGGCTGGAGATTCAGGTTC	2DL
<i>Xgwm161</i>	GATCGAGTGATGGCAGATGG	TGTGAATTACTTGGACGTGG	3DS
<i>Xgwm314</i>	AGGAGCTCCTCTGTGCCAC	TTCGGGACTCTCTCCCTG	3DL
<i>Xbarc98</i>	CCGTCCTATTCGCAAACCAGATT	GCGGATATGTTCTCTAACTCAAGCAATG	4DS
<i>Xwmc48</i>	GCGACATGACCATTTGTGG	GATATTAATCTCTCTATGTGTG	4DS
<i>Xbarc130</i>	CGGCTAGTAGTTGGAGTGTGG	ACCGCTCTAGTTATTGCTCTC	5DS
<i>Xgwm583</i>	TTCACACCCAACCAATAGCA	TCTAGGCAGACACATGCCTG	5DL
<i>Xcfd5</i>	TGCCCTGTCCACAGTGAAG	TTGCCAGTTCCAAGGAGAAT	6DL
<i>Xgwm469</i>	CAACTCAGTGCTCACACAACG	CGATAACCACTCATCCACACC	6DS
<i>Xgwm295</i>	GTGAAGCAGACCCACAACAC	GACGGCTGCGACGTAGAG	7DS
<i>Xgwm428</i>	CGAGGCAGCGAGGATTT	TTCTCCACTAGCCCCGC	7DL



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin buğdayın D-genomu üzerindeki yerleri (Anonymous, 2009)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması

#### EDTA Hazırlanması (0.5 M, 200 mL)

EDTA [Merck ®] 37,22 g tartıldı ve manyetik karıştırıcı üzerinde 200 mL saf su içerisinde çözdürüldü. pH:8,0'a ayarlandıktan sonra üzeri 200 mL ye tamamlandı. Sıvının tam olarak berraklaşması için NaOH kristalleri kullanılmıştır.

#### 20X TBE Buffer Hazırlama (400 mL)

Tris [Merck ®] 43,2 g  
Borik asit [Merck ®] 22,0 g  
0.5 M pH:8,0 EDTA 8,0 mL

Borik asit ve TRIS tartılarak 200 mL manyetik karıştırıcı üzerinde saf su içerisinde çözdürüldü. 8 mL EDTA ölçüldü ve son olarak pH:8,0'a ayarlanarak 400 mL'ye tamamlandı.

#### Tris Hazırlama (0.5 M, 200 mL)

Tris 12,11 g tartılarak manyetik karıştırıcı üzerinde 100 mL saf su içerisinde çözdürüldü. pH: 8,0'a ayarlandıktan sonra üzeri 200 mL'ye tamamlandı.

#### TE Buffer Hazırlama (1 M, 200 mL)

2 M pH:8,0 Tris 0,5 mL  
0.5 M pH:8,0 EDTA 0,2 mL

Toplam hacim 200 mL'ye saf su ile tamamlandı.

#### NaCl Hazırlama (5 M, 1 L)

NaCl [Merck ®] 'den 292,2 g tartılarak manyetik karıştırıcı üzerinde 800 mL sıvı içerisinde çözdürüldü ve saf su ile toplam hacim 1 L'ye tamamlandı. Yukarıdaki solüsyonlar hazırlandıktan sonra otoklavlama yapıldı.

### 24:1 Kloroform:İzoamilalkol Hazırlama

Fenol [Merck ®] 240 mL

İzoamilalkol [Merck ®] 10 mL

Çeker ocak içerisinde toplam hacim 250 mL çözelti elde edildi ve otoklavlama yapılmadı.

### DNA İzolasyon Çözeltisi (50 mL)

CTAB [Merck ®] 10 mL

1,4 M NaCl 14 mL

20 mM EDTA 2,0 mL

2 M TRIS (pH:8,0) 2,5 mL

%2 PVP-10 18,5 mL (% 5.4 stok) ve direk olarak 10 g

### CTAB Solüsyonu Hazırlama

CTAB 10 g

NaCl 4,1 g

Katı halde olan kimyasalları 70 ml saf su içerisinde ısıtmalı manyetik karıştırıcı üzerinde 55 °C' ye kadar ısıtılır ve çözdürülür. Berraklaşma olduğunda toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

### PVP-10 (polyvinyl pyrrolidone) Hazırlama (%5.4)

PVP-10 [Merck ®]'dan 5,4 g tartıldı ve 70 mL saf su ile manyetik karıştırıcı üzerinde çözdürüldü. Saf su ile toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

## 3.2.2. DNA Materyalinin Elde Edilmesi

Serada saksıya ekilen buğday çeşitleri 3-4 kardeş seviyesine geldikten sonra bunlardan her bir saksıda yetişen bitkilerin tümünden eden 7-10 genç yaprak alınarak buz içerisinde muhafaza edilmiş ve -80°C' de tutularak DNA analizleri başlayıncaya kadar saklanmıştır.

## 3.2.3. DNA İzolasyonu ve DNA'nın Elde Edilmesi

DNA izolasyonu Shagai-Marooft ve ark. (1984) protokolündeki bazı değişikliklerle aşağıda belirtilen aşamalar halinde takip edilmiştir İzolasyon tamponu 50

mL hazırlandı ve 65°C ye kadar su banyosunda ısıtılarak içerisine 100 µL β-Mercaptoethanol [Merck ®] eklendi. Örneklerin dokularından 0,05 g tartılarak 2,0 mL'lik eppendorfa bırakıldı. Sıvı azot kullanılarak tüplerin içinde bulunan yapraklar 1 mL'lik pipet ucu yardımıyla ezilerek öğütüldü. Öğütülmüş örnekler 600µ l izolasyon tampon çözeltisi eklendi ve su banyosuna bırakıldı. Yaklaşık 60-80 dakika inkübasyona tabi tutulan örnekler, her 15 dakika da bir alt üst edilerek karıştırıldı. Daha sonra örneklerin üzerine 600 µL kloroform: izoamilalkol (24:1) eklendi ve hafifçe alt üst edilerek karıştırıldı. Karışımı yapılan örnekler 10 dakika 5700 RPM'de santrifüj edildi. Oluşan üç katmanın en üstteki katmanı (süpernatant) pipet yardımıyla alındı ve yeni bir eppendorf tüpüne bırakıldı. Süpernatanta 600µL isopropanol (-20 °C) ilave edildi ve hafifçe alt üst edilip DNA peletinin oluşumu gözlemlendi. 10 dakika 5700 RPM'de santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve kâğıt havlu üzerinde kurumaya bırakıldı. Kuruyan örnekler 500µL %70 EtOH eklen di. Sekiz dakika 5700 RPM'de santrifüj edilip temizlenen DNA çökeltildi. Etanolün (EtOH) tüplerden DNA'dan tamamen uzaklaştırılması için tüpler temiz bir kâğıt havlu üzerine ters döndürülerek, 20 dakika süre bekletildi. Sonra 300 µL TE tamponu eklenip ve +4 °C' de 1 gece bekletildi. 5700 RPM'de 5 dakika santrifüj edildi. Kirli olan DNA' yı temizlemek için her tüpe 20µL 5M NaCl ve toplam hacim kadar %100 saf Etanol eklenip, tampon çözeltisi alt üst edildi. 6000 RPM' de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılarak hava kurutması yapıldı. 200 µL steril saf su bra kıldı ve +4 °C' de 1 gün bekletildi. Peletler saf su içerisinde tamamen eridikten sonra -20 °C' de depolandı.

#### **3.2.4. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

DNA konsantrasyonu belirlemek amacıyla 5 µL stok DNA, 3 µL DNA boyası (Fermantas ®) ve 2 µL ddH<sub>2</sub>O bir tüpe koyularak vorteks yapılmıştır. Hazırlanan karışımdan 5 µL çekilerek %1'lik agaroz jele yüklenmiştir.

Hazırlanan örnekler %1'lik agarozda 90 voltta 1 saat yürütülmüştür. Daha sonra PCR analizinde kullanılmak üzere DNA konsantrasyonları 10 ng/ug olacak şekilde hazırlanmış kullanma aşamasına kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.



### 3.2.5. PCR Analizi

Bu çalışmada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Röder ve ark. (1998) baz alınarak yapılmıştır. Her PCR karışımı 200 µl'lik steril PCR tüpü içinde yapılmış, 1 unite Taq polimeraz enzimi, 200 mM dNTP bazları, 1-2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1X PCR tamponu (100mM Tris HCl (pH 8.0), 500mM KCl, 1% Triton X-100) ve 30-50 ng genomik DNA kullanılmıştır. Toplam olarak 20 µL PCR karışımı hazırlanmıştır. PCR reaksiyon şartları tipik olarak 5 dk. 94 °C de 1 döngü, daha sonra 35 döngüde; ayırma (denaturasyon) için 94 °C de 1 dk, eşleşme (annealing) için 50-55 °C de 30 sn dk, uzama (extention) için 72 °C de 1 dk ve 35 döngü bitiminde son olarak 72 °C de 5 dk inkubasyon periyoduna tabi tutulmuştur. PCR reaksiyonları thermal cycler (Corbett Research) ile yapılmıştır.

### 3.2.6. Elektroforez İşlemi

#### 3.2.6.1. Agaroz Jel Hazırlama (200 mL)

Agaroz jel 6 g tartıldı ve 1X TBE tampon çözeltisine bırakıldı. Yaklaşık olarak 5 dakika mikrodalga fırın içerisinde ısıtılarak kaynatıldı. Tam bir homojenlik elde edilince fırından çıkarıldı. Soğutularak jel tankına boşaltıldı.

#### 3.2.6.2. Elektroforez

Elde edilen PCR ürünlerinden 20 µL alınarak 3 µL DNA boyası (Fermantas ®) ve 7 µL seyreltilmiş DNA ladder (Fermantas ®) jel üzerine eklenmiştir. % 3'lük agaroz jel (Sigma ®) üzerinde 130 voltta 1,5-2 saat süreyle 1X TBE tampon çözeltisi içerisinde ve daha sonra jel 15 dakika 0,2 ng L<sup>-1</sup> etidyum bromid çözeltisinde boyandıktan sonra jel görüntülemesi yapılmıştır. Jel görüntüleme cihazı ile bilgisayar kayıtları alınmıştır.

### 3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Jelde görüntülenen bantlar polimorfik olup olmasına göre 1 (var) veya (0) yok olarak sınıflandırılıp matris oluşturularak genetik uzaklık ve yakınlık Nei (1972)'ye göre hesaplanmıştır. Aynı zamanda çoğaltılan her SSR primeri için polimorfizm bilgi içeriği (PIC) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

PIC:  $1 - \sum P(i)^2$  (Anderson ve ark. 1993).

Kümeleme analizi NTSYS-PC paket programını (Rohlf, 1998), allelerin gözlem sayısı ( $n_a$ ), allelerin etkinlik sayısı ( $n_e$ ), Nei'nin gen çeşitliliği ( $h$ ) ve Shannon'un bilgi indeksi ( $I$ ) POPGEN32 programı (v3.2 Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetics Analysis) (Yeh ve ark. 1999) kullanılarak yapılmış ve daha sonra bunların dendogramları çizilmiştir. Toplam bant sayısı; çalışmada kullanılan her bir çeşitte 14 primerden tarafından oluşturulan bantların sayısının primer sayısına oranı ile elde edilmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

DNA analizleri sonucunda buğday çeşitlerinde polimorfizmi saptamak amacıyla 32 alternatif veya yazlık ekmeklik buğday, bir kışlık ekmeklik buğday, bir makarnalık buğday ve ekmeklik buğdayın *D*-genomu donörü olan *Ae. Tauschii*, 14 adet *D* genomuna özel SSR primeri ile PCR işlemine tabi tutulmuş olup, oluşan jel görüntüleri değerlendirildiğinde; çeşitlere ait allel sayıları ve çeşit başına düşen ortalamaları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çalışmada araştırılan 35 adet genotipten toplam olarak 573 adet elde edilmiş ve bütün çeşitlerde amplifikasyon görülmüştür. En fazla bandın üretildiği Seyhan-95 çeşidi olup, en az bandın üretildiği çeşit ise Bağacak makarnalık buğdayı olmuştur. Buna karşılık ekmeklik buğdayın *D*-genomunun donöründe toplamda 17 adet allel gözlenmiştir. Çeşit başına düşen ortalama allel sayılarına bakıldığında 0,43 ile makarnalık buğday ve 1,43 ile Seyhan-95 arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 4.1.’de çalışmada kullanılan SSR primerleri, *D*-genomu üzerinde buldukları lokasyonlar, meydana getirdikleri polimorfik bant sayıları görülmektedir. Çalışmada kullanılan bütün SSR primerleri bant üretmiştir.

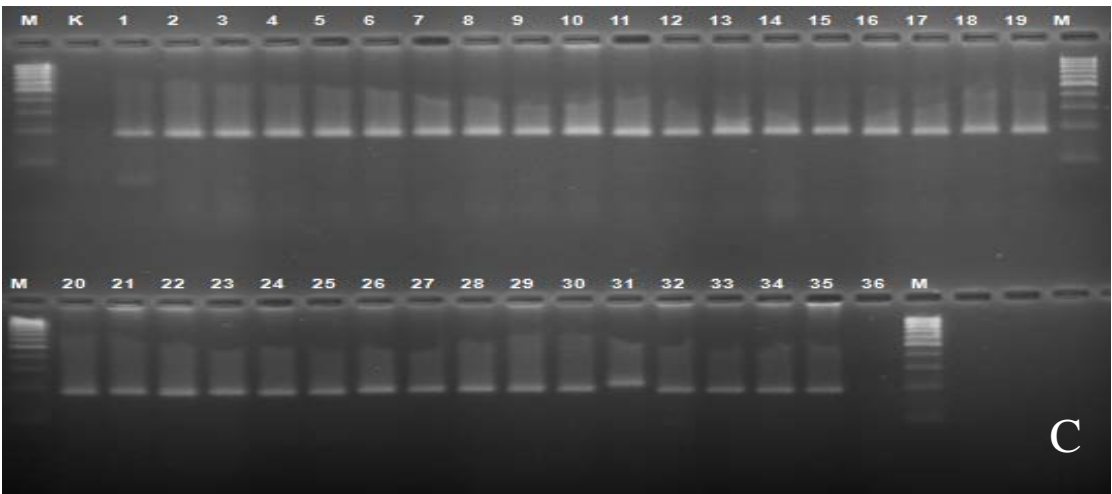
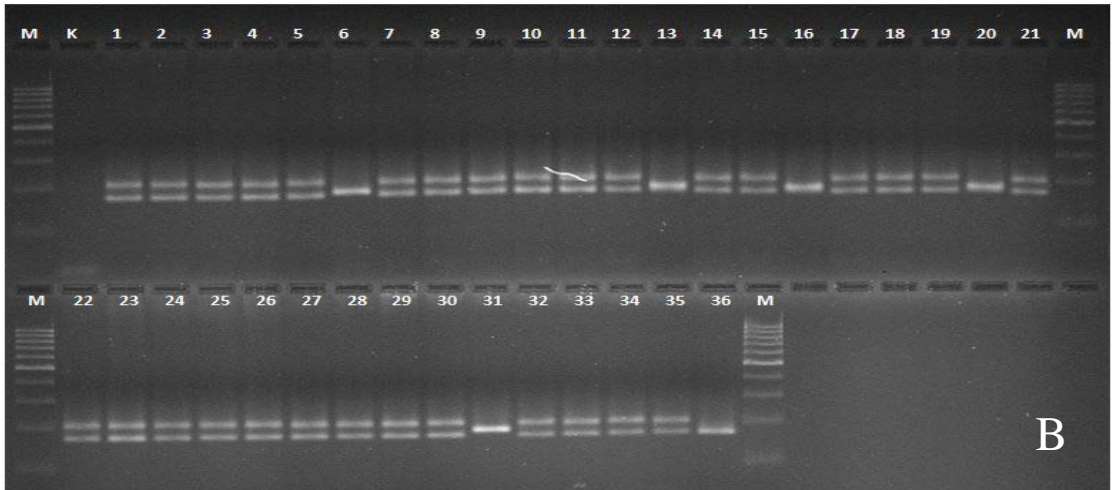
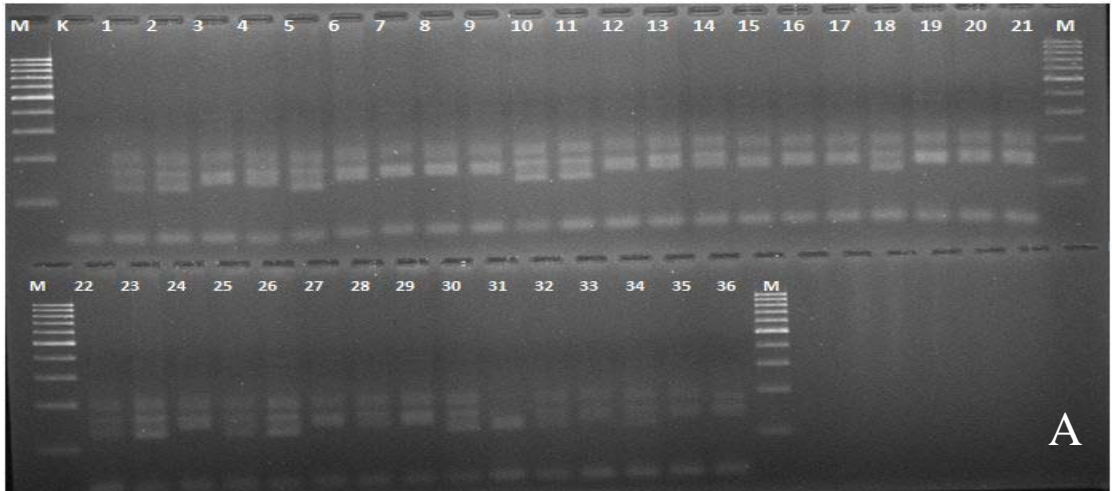
Çizelge 4.2.’de ortalama olarak her bir lokusa düşen bant sayısı 40,93 olup, toplamda 14 primer 573 adet bant üretmiştir. 137 adetle en yüksek bant üreten primer *Xwmc48* olup, en düşük bant üreten primer ise 7 bantla *Xbarc98* olmuştur. Bu iki primer *D*-genomunun 4.kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır ve toplamda 144 adet bant üretmişlerdir. Polimorfik bilgi içeriğine bakıldığında ortalama PIC değerinin 0,40 olduğu görülmektedir. PIC değerinin en yüksek olduğu primerler 0,500 değerleri ile *xbarc130* ve *Xgwm428* olmuştur. En düşük değer ise 13 bant üreten ve 1DL’de bulunan *Xbarc66* primeri 0,217 değeri ile olmaktadır. Bazı primerlere ait bant görüntüleri bulunmaktadır (Şekil 4.1.).

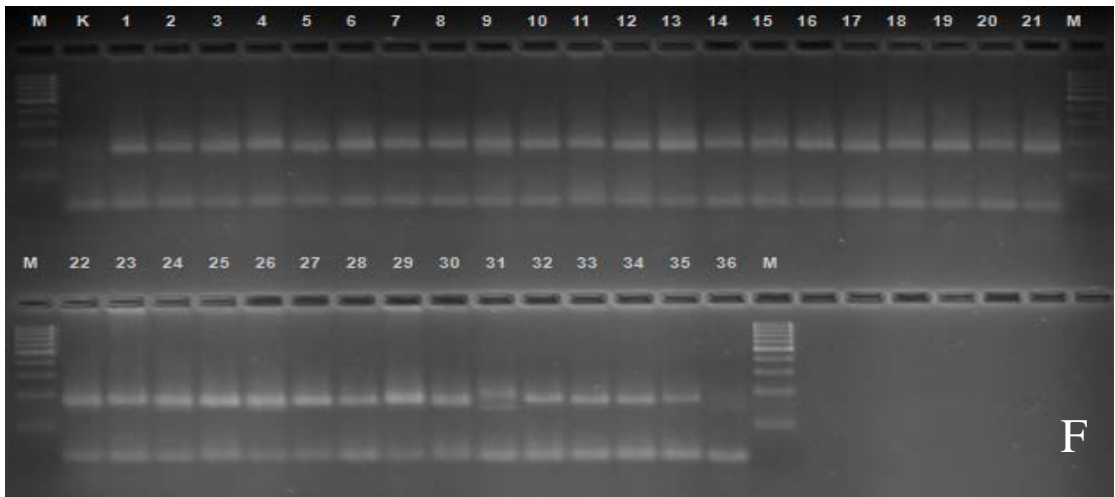
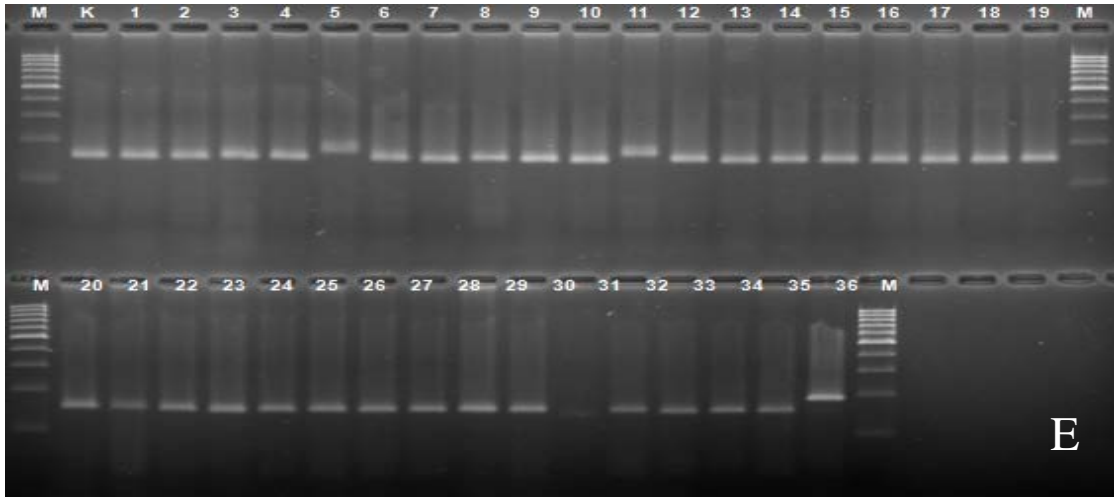
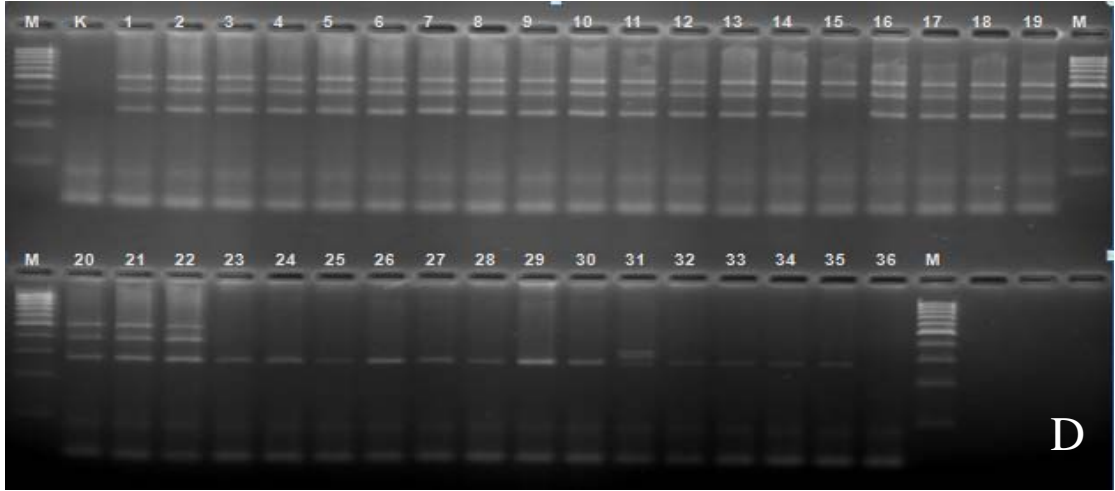
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan çeşit ve türlere ait toplam ve ortalama bant sayıları

ÇEŞİTLER	Toplam Bant Sayısı	Bant Ortalaması
ZİYABEY-98	18	1,29
NURKENT	16	1,14
GOLIA	17	1,21
KATE A-I	18	1,29
ADANA-99	18	1,29
GUADALUPE	15	1,07
PAMUKOVA-97	17	1,21
OSMANİYE-2005	19	1,36
PANDAS	18	1,29
DOĞANKENT	16	1,14
SAGITTARIO	13	0,93
BAYRAKTAR-2000	18	1,29
SEYHAN-95	20	1,43
ESPERIA	16	1,14
YUNAK	18	1,29
CEYHAN-99	14	1,00
DARIEL	16	1,14
YÜREGİR-89	15	1,07
PEHLİVAN	18	1,29
İZMİR-85	18	1,29
SERİ-82	18	1,29
GALİL	17	1,21
COLFIORITA	17	1,21
GENÇ-99	16	1,14
KARACADAĞ-98	16	1,14
CUMHURİYET-75	16	1,14
NEGEV	15	1,07
BASRİBEY-95	17	1,21
GÖNEN-98	16	1,14
<i>A.tauschii</i>	17	1,21
MOMTCHİL	16	1,14
KAŞİFBEY-95	17	1,21
TAHİROVA-2000	15	1,07
BANDIRMA-97	15	1,07
BAĞACAK	6	0,43
<b>TOPLAM</b>	<b>573</b>	

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan primerlere ait kromozom lokasyonları, bant sayıları ve PIC değerleri

Tüm Çeşitler				
Mikrosatellit	Kromozom Lokasyonları	Polimorfik Bant Sayısı	PIC	
<i>Xbarc66</i>	1DL	13	<b>0,188</b>	
<i>Xbarc149</i>	1DS	28	0,320	
<i>Xgwm301</i>	2DL	16	0,258	
<i>Xcfd43</i>	2DS	30	0,490	
<i>Xgwm314</i>	3DL	69	0,442	
<i>Xgwm161</i>	3DS	34	0,438	
<i>Xbarc98</i>	4DS	7	0,320	
<i>Xwmc48</i>	4DS	<b>137</b>	0,454	
<i>Xgwm583</i>	5DL	65	0,497	
<i>Xbarc130</i>	5DS	34	<b>0,500</b>	
<i>Xcfd5</i>	6DL	64	0,496	
<i>Xgwm469</i>	6DS	20	0,309	
<i>Xgwm428</i>	7DL	35	<b>0,500</b>	
<i>Xgwm295</i>	7DS	23	0,442	
<b>Ortalama</b>		<b>40,93</b>	<b>0,40</b>	





Şekil 4.1. *Xwmc48* primer (A), *Xcfd5* primeri (B), *Xbarc96* primeri (C), *Xbarc130* primeri (D), *Xgwm161* primeri (E), *Xgwm469* primeri (F) ile çoğaltılan buğday genotiplerine ait jel görüntüleri. M: Markör (1 kb=1000 bç) [Fermantas ®], 1-36 buğday genotipleri, K: Kontrol.

Şekil 4.1. A ve B’de görüldüğü gibi *Xcfd5* ve *Xwmc48* primerlerinin jel görüntülerinde oluşan ürünler bulunmaktadır. PCR ürünleri *xcfd5* primerinde 3 bant üretmiş ve %100 polimorfik olan bu bantlar yaklaşık olarak 100–300 bp uzunluğunda, *Xwmc48* primerinde ise üretilen 6 bandın tümü polimorfik olup büyüklükleri 100–300 bp uzunluğunda olmaktadır.

Çizelge 4.3. Ondört Mikrosatellit lokusuna dayanarak 35 buğday çeşidi için genetik çeşitlilik tahminleri (POPGENE32 programı ile hesaplanmıştır).

Çeşitler	na*	ne*	h*	I*
ADANA-99	2	1,960	0,490	0,683
<i>A.tauschii</i>	2	1,930	0,482	0,675
BAĞACAK	2	<b>1,324</b>	<b>0,245</b>	<b>0,410</b>
BANDIRMA-97	2	1,849	0,459	0,652
BASRİBEY-95	2	1,930	0,482	0,675
BAYRAKTAR-2000	2	1,960	0,490	0,683
CEYHAN-99	2	1,800	0,444	0,637
COLFİORİTO	2	1,930	0,482	0,675
CUMHURİYET-75	2	1,893	0,472	0,665
DARİEL	2	1,893	0,472	0,665
DOĞANKENT	2	1,893	0,472	0,665
ESPERİA	2	1,893	0,472	0,665
GALİL	2	1,930	0,482	0,675
GENÇ-99	2	1,893	0,472	0,665
GOLÍA	2	1,930	0,482	0,675
GÖNEN-98	2	1,893	0,472	0,665
GUADALUPE	2	1,849	0,459	0,652
İZMİR-85	2	1,960	0,490	0,683
KARACADAĞ-98	2	1,893	0,472	0,665
KAŞİFBEY-95	2	1,930	0,482	0,675
KATE A-I	2	1,960	0,490	0,683
MOMTCHİL	2	1,893	0,472	0,665
NEGEV	2	1,849	0,459	0,652
NURKENT	2	1,893	0,472	0,665
OSMANİYE-2005	2	1,982	0,496	0,689
PAMUKOVA-97	2	1,930	0,482	0,675
PANDAS	2	1,960	0,490	0,683
PEHLİVAN	2	1,960	0,490	0,683
SAGİTTARİO	2	1,747	0,427	0,619
SERİ-82	2	1,960	0,490	0,683
SEYHAN-95	2	<b>1,996</b>	<b>0,499</b>	<b>0,692</b>
TAHİROVA-2000	2	1,849	0,459	0,652
YUNAK	2	1,960	0,490	0,683
YÜREGİR-89	2	1,849	0,459	0,652
ZİYABEY-98	2	1,960	0,490	0,683
ORTALAMA	2	<b>1,895</b>	<b>0,470</b>	<b>0,662</b>
STD.SAPMA	0	0,113	0,042	0,047

\*n<sub>a</sub> = Allellerin gözlem sayısı

\*n<sub>e</sub> = Allellerin etkinlik sayısı

\*h = Nei'nin gen çeşitliliği

\*I = Shannon'un bilgi indeksi

Polimorfik lokus sayısı = 42

Polimorfik lokus oranı = %100

Çizelge 4.3.'de on dört mikrosatellit lokusuna dayanarak oluşturulan 35 çeşidin genetik çeşitlilik tahminlerinde allellerin gözlem sayısı ortalama olarak 2 bulunmuştur. Yine allellerin etkinlik sayısı ortalama olarak **1,895** bulunup, en yüksek değer Seyhan-95'te **1,996** ve en düşük değer Bağacak'ta **1,324** olmuştur. Nei (1972)'nin gen çeşitliliğine bakılırsa ortalaması **0,470** bulunmuş ve en düşük değer **0,245** ile Bağacak makarnalık buğday çeşidinde, en yüksek değer ise **0,499**'lik değer ile Seyhan-95 ekmeklik buğday çeşidinde bulunmuştur. Shannon'un bilgi indeksi değeri ise **0,662**'lük ortalama ile en düşük Bağacak'da **0,410** ve en yüksek Seyhan-95'de **0,692** ile değişkenlik göstermektedir.

Çeşitler arasında yapılan Nei (1972)'ye göre hesaplanan genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Ekmeklik buğdaylar içinde genetik benzerlik katsayısı 0,31 ile 0,98 arasında değişmektedir. Kullanmış olduğumuz primerlere göre ekmeklik buğdayın *D*-genomu bazında *Ae. tauschii* ile Bayraktar-2000 ve Seyhan-95 çeşitleri 0,31 oranında benzer bulunmuştur (Çizelge 4.4). Buna karşılık Nurkent ve Tahirova-2000; Galil, Kaşifbey-95 ve Dariel; Yüreğir-89 ve Cumhuriyet-75; İzmir-85 ve Basribey-95 arasındaki genetik benzerlik 0,98 oranında olup benzerlik oranları yüksek bulunmuştur. Çeşitlerin pedigrileri incelendiğinde Kaşifbey-95 ve Dariel'in hemen hemen aynı ataları paylaştığı görülmekte aynı zamanda kullanılan primerlere göre %98 oranında birbirine benzedikleri bulunmuştur (Çizelge 3.1). Bu da çalışmadaki primerlerin çeşitlerin benzerliklerini belirlemede yeterli olabileceğini göstermektedir.



Çizelge 4.4. Nei (1972)'nin genetik benzerliği

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1	****	0,857	0,786	0,810	0,905	0,643	0,786	0,786	0,762	0,833	0,857	0,738	0,667	0,762	0,667	0,667	0,762	0,810	0,786	0,714	0,714	0,810	0,833	0,786	0,762	0,857	0,762	0,786	0,738	0,857	0,405	0,857	0,881	0,714	0,619
2		****	0,691	0,857	0,905	0,643	0,786	0,786	0,762	0,929	0,810	0,786	0,667	0,714	0,762	0,714	0,810	0,905	0,833	0,714	0,857	0,952	0,929	0,833	0,905	0,952	0,810	0,881	0,881	0,952	0,452	0,952	0,976	0,857	0,667
3			****	0,691	0,738	0,667	0,762	0,810	0,786	0,667	0,786	0,762	0,595	0,786	0,691	0,691	0,738	0,643	0,810	0,691	0,738	0,643	0,667	0,810	0,595	0,691	0,786	0,714	0,762	0,691	0,381	0,691	0,714	0,738	0,738
4				****	0,810	0,738	0,929	0,833	0,857	0,881	0,810	0,786	0,714	0,810	0,810	0,762	0,810	0,857	0,881	0,810	0,857	0,905	0,881	0,833	0,810	0,857	0,857	0,833	0,881	0,810	0,405	0,857	0,833	0,857	0,667
5					****	0,643	0,786	0,881	0,762	0,929	0,762	0,738	0,714	0,810	0,762	0,714	0,762	0,905	0,833	0,714	0,810	0,905	0,929	0,833	0,857	0,952	0,810	0,833	0,833	0,905	0,357	0,905	0,929	0,762	0,619
6						****	0,810	0,762	0,833	0,714	0,643	0,857	0,691	0,595	0,786	0,881	0,738	0,691	0,810	0,881	0,738	0,691	0,714	0,810	0,643	0,691	0,786	0,667	0,762	0,643	0,476	0,691	0,667	0,738	0,738
7							****	0,905	0,929	0,857	0,786	0,857	0,691	0,786	0,881	0,833	0,881	0,833	0,952	0,881	0,881	0,833	0,857	0,905	0,738	0,833	0,929	0,810	0,905	0,786	0,381	0,833	0,810	0,881	0,738
8								****	0,881	0,857	0,691	0,810	0,691	0,833	0,881	0,833	0,833	0,833	0,905	0,833	0,881	0,833	0,857	0,905	0,738	0,833	0,881	0,810	0,905	0,786	0,333	0,833	0,810	0,881	0,691
9									****	0,833	0,762	0,833	0,667	0,714	0,905	0,857	0,810	0,810	0,929	0,857	0,857	0,810	0,833	0,929	0,714	0,810	0,905	0,786	0,881	0,762	0,452	0,810	0,786	0,857	0,714
10										****	0,833	0,762	0,691	0,786	0,833	0,786	0,786	0,976	0,857	0,786	0,833	0,976	1,000	0,857	0,881	0,976	0,833	0,857	0,857	0,929	0,381	0,976	0,952	0,833	0,643
11											****	0,691	0,571	0,810	0,667	0,667	0,714	0,810	0,738	0,714	0,667	0,810	0,833	0,738	0,714	0,810	0,714	0,738	0,691	0,810	0,405	0,857	0,833	0,714	0,667
12												****	0,643	0,643	0,833	0,738	0,881	0,738	0,905	0,738	0,833	0,738	0,762	0,857	0,738	0,786	0,881	0,810	0,857	0,786	0,476	0,786	0,810	0,833	0,833
13													****	0,619	0,619	0,762	0,667	0,714	0,738	0,714	0,714	0,667	0,691	0,691	0,714	0,714	0,762	0,786	0,691	0,714	0,310	0,667	0,691	0,667	0,619
14														****	0,714	0,667	0,714	0,762	0,738	0,714	0,714	0,762	0,786	0,738	0,667	0,762	0,714	0,738	0,738	0,714	0,310	0,762	0,738	0,714	0,619
15															****	0,810	0,857	0,810	0,881	0,810	0,857	0,810	0,833	0,881	0,762	0,810	0,857	0,786	0,881	0,762	0,405	0,810	0,786	0,857	0,762
16																****	0,762	0,762	0,833	0,952	0,857	0,762	0,786	0,881	0,714	0,762	0,810	0,786	0,833	0,762	0,405	0,762	0,738	0,810	0,667
17																	****	0,810	0,881	0,810	0,857	0,762	0,786	0,881	0,810	0,810	0,857	0,881	0,881	0,810	0,405	0,810	0,833	0,905	0,810
18																		****	0,833	0,762	0,810	0,952	0,976	0,833	0,905	0,952	0,810	0,881	0,833	0,905	0,357	0,952	0,929	0,857	0,667
19																			****	0,833	0,929	0,833	0,857	0,952	0,786	0,881	0,976	0,857	0,952	0,833	0,429	0,833	0,857	0,881	0,786
20																				****	0,810	0,762	0,786	0,881	0,667	0,762	0,810	0,738	0,833	0,714	0,405	0,762	0,738	0,810	0,667
21																					****	0,857	0,833	0,929	0,857	0,857	0,905	0,881	0,976	0,857	0,405	0,810	0,833	0,905	0,714
22																						****	0,857	0,881	0,976	0,833	0,857	0,857	0,929	0,381	0,976	0,952	0,833	0,643	
23																							****	0,857	0,881	0,976	0,833	0,857	0,857	0,929	0,381	0,976	0,952	0,833	0,643
24																								****	0,786	0,881	0,929	0,857	0,952	0,833	0,429	0,833	0,857	0,881	0,738
25																									****	0,905	0,762	0,881	0,833	0,905	0,405	0,857	0,881	0,810	0,667
26																										****	0,857	0,881	0,881	0,952	0,405	0,952	0,976	0,810	0,667
27																											****	0,833	0,929	0,810	0,405	0,810	0,833	0,857	0,762
28																												****	0,857	0,929	0,381	0,881	0,905	0,881	0,738
29																													****	0,833	0,429	0,833	0,857	0,929	0,738
30																														****	0,405	0,952	0,976	0,810	0,667
31																															****	0,405	0,429	0,405	0,500
32																																****	0,976	0,857	0,667
33																																	****	0,833	0,691
34																																		****	0,762
35																																			****

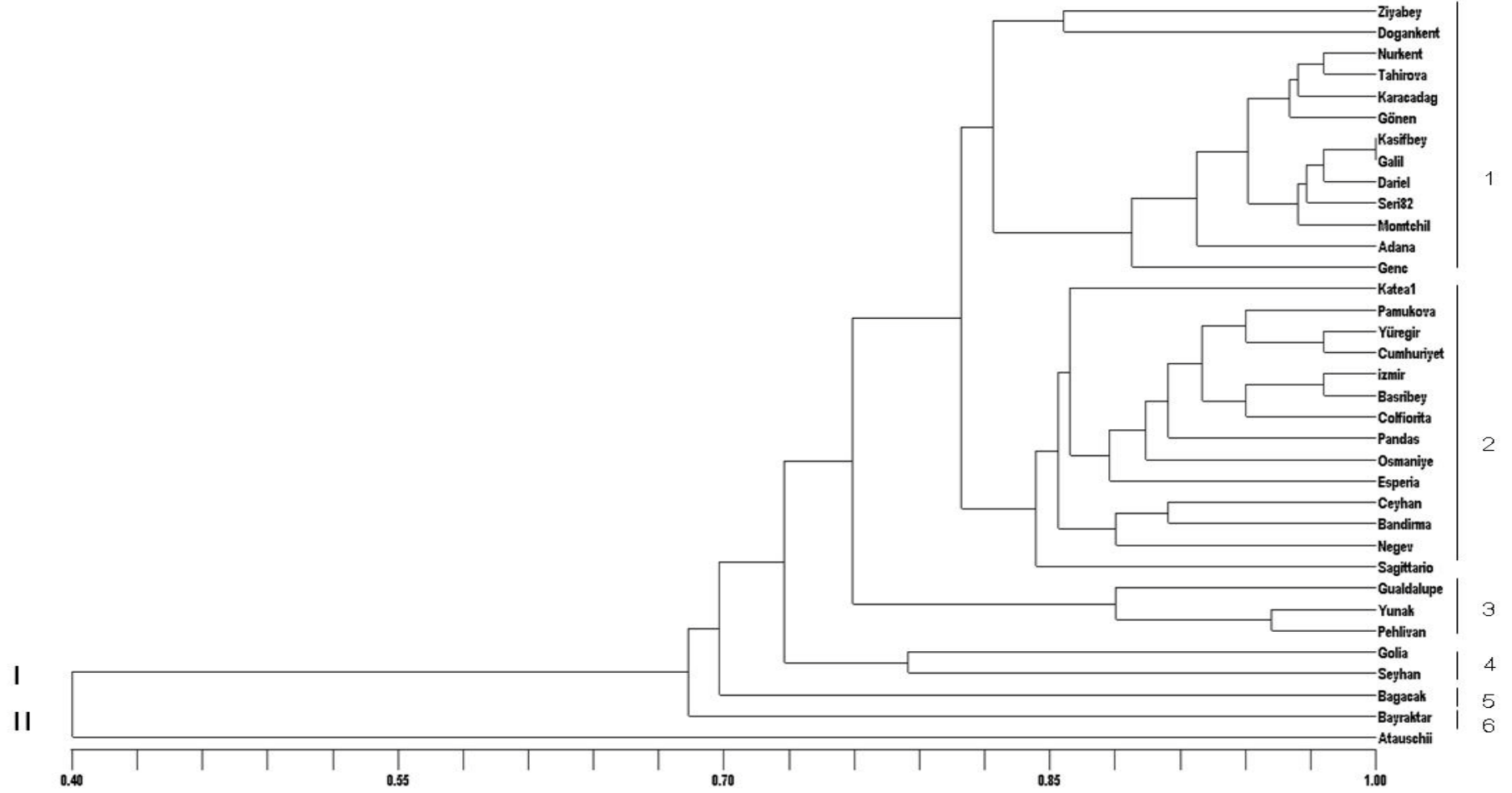
SSR verileri ile elde edilen bilgilere dayanarak NTSYS-PC paket programıyla oluşturulan ve Nei (1972)'ye göre yapılan UPGMA kümeleme analizi sonucu (Şekli 4.2.) 2 ana grup meydana gelmiş ve bu 2 ana grubun bir kolunda *Ae. tauschii* ve diğer kolunda makarnalık buğdayında bulunduğu 34 ekmeklik buğday oluşturmaktadır. Ekmeklik buğdaylar ise kendi aralarında 6 alt gruba ayrılmaktadır.

#### I.Ana grupta oluşan alt gruplar;

1. Grup: Ziyabey ve Doğankent, Nurkent, Tahirova-2000, Gönen-98, Momtchil, Dariel, Galil, Karacadağ-98, Seri-82, Adana-99, Genç-99, Kaşifbey-95
2. Grup: Negev ve Kate A-1, Pamukova-97, Yüreğir-89, Cumhuriyet-75, İzmir-85, Basribey-95, Colfiorito, Pandas, Osmaniye-2005, Esperia, Sagittario, Ceyhan-99, Bandırma-97,
3. Grup: Guadalupe, Yunak ve Pehlivan,
4. Grup: Golia ve Seyhan 95,
5. Grup: Makarnalık buğday Bağacak,
6. Grup: Kışlık ekmeklik buğday çeşidi olan Bayraktar-2000 bulunmaktadır.

#### II.Ana grupta ise yalnız *Ae. tauschii* ile oluşturmaktadır.

*Xgwm428* (1 bant), *Xgwm314* (1 bant), *Xcfd5* (1 bant) ve *Xwmc48* (3 bant) SSR primerleri Bağacak makarnalık çeşidinde toplam 6 adet bant meydana getirmiştir. Normalde seçilen buğday SSR primerleri *D*-genomuna özel olmasına rağmen makarnalık buğday çeşidinde PCR ürünü ürettiği için *A* ve *B*-genomunda da bulunması muhtemeldir. Yapılan araştırmalar neticesinde *Xgwm428* hariç bu primerlere ait allellerin buğdayın *A* ve *B*-genomu üzerinde buldukları anlaşılmıştır (Anonymous, 2009).



Şekil 4.2. PCR-SSR yöntemine göre buğday genotiplerinin genetik benzerlik dendogramı

Salem ve ark. (2008), yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri sonuçlara göre tüm genotipler arasındaki genetik çeşitliliğin geniş bir aralığını gözlemlemişler ve cluster analizleriyle gösterdikleri gibi SSR markörlerini kullanarak en yüksek genetik çeşitlilik için hem genotipleri veya kültürleri seçmek hem de elit genotiplerin genetik çeşitliliklerini sınıflandırmanın mümkün olacağını rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada SSR markörlerinin genomik çeşitlilik analizinde etkinliğinin, yararının ve güvenilirliğinin olduğunu da göstermişlerdir. SSR markörleri diğer markör sistemlerinden daha polimorfik olup heksaploid buğdayda daha fazla bilgi vermektedir (Röder ve ark. 1995; Bryan ve ark. 1997; Plaschke ve ark. 1995).

Bu çalışmada 42 lokus için 14 mikrosatellit markörü buğdayın *D*-genomu yönünden genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla kullanılmış olup lokus için 40,93'lük ortalama ile toplam 573 adet bant elde edilmiştir. 137 adetle en fazla bant üreten primer *Xwmc48* olup, 7 bantla en düşük bant üreten primer ise *Xbarc98* olmuştur. Bu iki primer *D*-genomu 4. kromozomunun kısa kolunda bulunmaktadır ve toplamda 144 adet bant üretmişlerdir. Polimorfik bilgi içeriğine bakıldığında ortalama PIC değerinin 0,40 olduğu görülmektedir. PIC değerinin en yüksek olduğu primerler 0,500 değerleri ile *Xbarc130* ve *Xgwm428* olmuştur. En düşük değer ise 13 bant üreten ve 1DL'de bulunan *BARC66* primeri olmaktadır. Prasad ve ark. (2000)'de yaptıkları çalışmada 0,71'lik ortalama ile 0,21–0,90 arasında değişen PIC değerleri elde etmişlerdir. Genetik çeşitlilik yönünden elde edilen değer ortalama olarak 0,470 bulunmuş ve en düşük değer 0,245 ile Bağacak'da, en yüksek değer ise 0,499 ile Seyhan-95 çeşitlerinde bulunmuştur. Plaschke ve ark. (1995)'te yaptıkları çalışmalarında 0,71'lik ortalama ile 0,21–0,90 arasında değişmektedir. Buna benzer çalışmalar olarak Bohn ve ark. (1999)'da PIC ortalama değeri 0,36 olurken, genetik çeşitlilik değeri 0,29–0,79 arasında değişmiştir. Lelley ve ark. (2000)'de yaptıkları çalışmalarında farklı bölgelerden elde edilen *Ae. tauschii* popülasyonlarındaki 14 mikrosatellit primeri için 90 farklı allel gözlemlemiştir ve PIC değeri olarak 0,68 bulmuş olup, bu çalışmada bulunan PIC değerinden daha fazla olmuştur. Medini ve ark. (2005), 34 Tunus durum buğdayı ve buğdayın akrabası 7 yabani çeşit kullanarak SSR ve AFLP markörleriyle genetik çeşitlilik çalışması yapmışlardır. Onbeş SSR markörü tüm genotiplerde yüksek derecede polimorfizm göstermiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen PIC değeri (0,68) tarafımızdan yapılan çalışmadaki PIC değerinden daha fazla olmuştur. ZhongFu ve ark. (2003), buğdayda

SSR markörleriyle belirlenen *D*-genomunun genetik çeşitliliği üzerine olan çalışmalarında 17 kışlık ve 6 yazlık buğday kültürü veya hattı kullanılmıştır. *D*-genomuna özel 23 SSR primeri seçilmiştir. Her lokusta 2,9 allel ortalamasıyla 65 allel belirlenmiştir. Bilgin ve Korkut (2005)'te RAPD markörüyle bazı ekmeklik buğday çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmalarında Kate A-I ile Pehlivan çeşitleri arasındaki genetik mesafeyi yaklaşık olarak 0,150 bulmuşlardır. Buğday SSR markörleri kullanılarak yapılan bu çalışmada ise *D*-genomu baz alınarak oluşturulan dendograma göre Kate A-1 ile pehlivan arasındaki genetik mesafe 0,13 olarak bulunmuştur.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitlerinin *D*-genomu yönünden incelemesi DNA seviyesinde SSR markörleri kullanılarak saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- *D*-genomu yönünde ekmeklik buğday çeşitlerinin incelenmesi amacıyla *D*-genomunda bulunan 14 SSR markörü kullanılmıştır. Bu SSR primerlerinin hepsinden PCR ürünü elde edilmiştir.
- Kullanılan 14 SSR markörünün tümü kullanılan popülasyon üzerinde polimorfik bulunmuştur.
- Toplamda 14 SSR markörü ile 573 adet bant üretilmiştir.
- *D*-genomunun donörü olan *Ae. tauschii* baz alınarak yapılan genetik benzerliğe göre *Ae. tauschii* ile Bayraktar–2000 ve Seyhan–95 çeşitleri birbirine daha uzak (0,31 oranında benzerlik), Nurkent ve Tahirova–2000, Galil, Dariel ve Kaşıfbey–95, Yüreğir–89 ve Cumhuriyet–75, İzmir–85 ve Basribey–95 çeşitleri ise birbirlerine genetik olarak daha yakın (0,98 oranında benzerlik) bulunmuştur.
- SSR markörleri kullanılarak yapılan kümeleme analizlerinde 2 ana grup elde edilmiş olup, bunlardan biri 6 alt gruba ayrılmıştır.
- SSR markörleri genetik çeşitliliği belirlemede kullanılabilecek en etkin polimorfik DNA markör sistemlerinden biridir.
- PCR temeline dayalı SSR markörleri kullanılarak ekmeklik kalitesini geliştirebilecek muhtemel varyasyonların sağlanması mümkün olabilecektir.
- Ekmeklik buğdayla daha sonraki yapılacak olan ışlah çalışmalarına ve ekmeklik kalitesini belirlenmesinde yol gösterebilecek bir niteliktedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Alamerew S., Chebotar S., Huang X., Röder M. and Borner A., 2004. Genetic diversity in Ethiopian hexaploid and tetraploid wheat germplasm assessed by microsatellite markers. **Genet. Resour. Crop Evol.** **51: 559–567.**
- Anderson, J.A., Churchill, J.E. Autrique, Tanksley, S., Sorrels, M.E., 1993. Optimizing Parental Selection for Genetic Linkage Maps. *Genome* 36: 181-188.
- Anonim, 2009. [www.tigem.gov.tr/images/editor\\_dosyalar/brosur/sertitohvedamizliklar.pdf](http://www.tigem.gov.tr/images/editor_dosyalar/brosur/sertitohvedamizliklar.pdf). 10.09.2009
- Anonymous, 2009. <http://genbank.vurv.cz/wheat/pedigree/default.htm>. 08.10.2009.
- Anonymous, 2009. <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>. 10.09.2009
- Ben Amer, I. M., Borner, A., Röder, M.S., 2001. Detection of genetic diversity in Libyan wheat genotypes using wheat microsatellite markers. **Genet. Resour. Crop Evol.** **48: 579–585.**
- Bilgin O., Korkut, K. Z., 2005. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi** **2(3)**
- Bohn, M., Friedrich, H., Melchinger, A.E., 1999. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance. **Crop Sci.** **39: 228–237.**
- Bryan, G.J., Collins, A.J., Stephenson, P., Orry, A., Smith, J.B., Gale, M.D., 1997. Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid wheat. **Theor Appl Genet** **94: 557–563.**
- Bryan, G.J., P. Stephenson, A. Collins, J. Kirby, J.B. Smith, and M.D.Gale. 1999. Low levels of DNA sequence variation among adapted genotypes. of hexaploid wheat. **Theor. Appl. Genet.** **99:192–198**
- Cao, W., Scoles, G., Hucl, P., Chibbar, R.N. 1999. The Use of RAPD Analysis to Classify Triticum Accessions. **Theor. Appl. Genet.** **98: 602–607.**
- Dreisigacker, S., 2004. Genetic Diversity in Elite Lines And Landraces Of CIMMYT Spring Bread Wheat And Hybrid Performance Of Crosses Among Elite Germplasm Stuttgart-Hohenheim
- Dvorak, J., di Terlizzi, P., Zhang, H.B., Resta, P., 1993. The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. **Genome**, **36: 21–31.**
- Dvorak, J., Luo, M. C., Yang, Z.-L., Zhang, H.B., 1998. The structure of the *Aegilops tauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. **Theor. Appl. Genet.**, **97: 657-670.**
- Dvorak, J., McGuire, P.E., Cassidy, B., 1988. Apparent sources of the A genomes of wheat inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences. **Genome**, **30: 680-689.**
- Dvorak, J., Zhang, H.B., 1990. Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **87: 9640-9644.**
- El-Kassaby, 1982. Y., associations between allozyme genotypes and quantitative traits in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). **Genetics** **101:103–115.**
- Endo, T.R., Gill, B.S., 1996. The deletion stocks of common wheat. *J Hered*, 87:295–307

- Foreign Agricultural Service, 2002. Foreign Agricultural Service Circular Series, FG 11- 02, November 2002, FAS online: <http://www.fas.usda.gov/grain/circular/2002/11-02/graintoc.htm>
- Heyns, I. C., 2005. **Mapping of chromosome arm /DL of *Triticum aestivum* L.** Thesis of master. University of Stellenbosch, South Africa.
- Huang X.Q., Börner A., Röder, M.S. and Ganal, M.W., 2002. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. **Theor. Appl. Genet.** **105: 699–707.**
- Kohpayegani, J.,A., Behbahani, M., 2008. Genetic Diversity of Some Populations of Iranian Melon Using SSR Markers. **Biotechnology**, **7:19-26.**
- Lelley, T., Stachel, M., Grausgruber, H., Vollmann, J., 2000. Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D-genome of wheat utilizing microsatellites. **Genome** **43:661–668.**
- Maric, S., Bolaric, S., Martincic, J., Pejic, I. and Kozumplik, V., 2004. Genetic Diversity of Hexaploid Wheat Cultivars Estimated by RAPD Markers, morphological Traits and Coefficients of Parentage. **Plant Breeding** **123: 366-369**
- Medini, M., Hamza, S., Rebai, A. and Baum.M., 2005. Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, **52: 21–31.**
- Naghavi, M. R., Aghaei, M. J., Taleei, A. R., Omidi, M., Mozafari, J., Hassani, M. E., 2009. Genetic diversity of the D-genome in *T. aestivum* and *Aegilops* species using SSR markers. **Genet Resour Crop Evol**, **56:499–506.**
- Nei, M., 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*. 106:
- Pestsova, E., Korzun, V., Goncharov, N.P., Hammer, K., Ganal, M.W., Röder, M.S., 2000. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. **Theor Appl Genet** **101:100–106**
- Plaschke, J., Ganal, M.W., Röder, M.S., 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. **Theor. Appl. Genet.** **91: 1001–1007.**
- Prasad, M., Varshney, R.K., Roy J.K., Balyan, H.S., Gupta, P.K., 2000. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. **Theor. Appl. Genet.** **100: 584–592.**
- Rodgers, D.M., Murphy, J.M., and Frey, K.J., 1983. Impact of Plant Breeding on The Grain Yield And Genetic Diversity of Spring Oats. **Crop Sci.** **23: 737–740**
- Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.02. Exeter Publications Setauket, New York
- Röder, M.S., J. Plaschke, S.U., Konig, A., Borner, M.E., Sorells, S.D., Tanksley, M.W., 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. **Mol Gen Genet** **246: 327–333.**
- Röder, M.S., Korzun, V., Gill, B.S., Ganal, M.W., 1998a. The physical mapping of microsatellite markers in wheat. **Genome** **41:278–283**
- Röder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.H., Leroy, P., Ganal, M.W., 1998b. A microsatellite map of wheat. **Genetics** **149:2007–2023**
- Röder, M.S., Wendehake, K., Korzun, V., Bredemeijer, G., Laborie, D., Bertrand, L., Isaac, P., Rendell, S., Jackson, J., Cooke, R.J., Vosmann, B., Ganal, M.W., 2002. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat cultivars. **Theor Appl Genet**, **106:67–73**



- Salem, K.F.M., El-Zanaty, A.M. and 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**.
- Shanghai Maroof, M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A. and Allard R.W.. 1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **81 pp. 8014–8018**.
- Song, Q.J., Shi, J.R., Singh, S., Fickus, E.W., Costa, J.M., Lewis, J., Gill, B.S., Ward, R., Cregan, P.B., 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. **TAG. Theoretical and applied genetics**. **110(3):550-60**
- Stepien, L., Mohler, V., Bocianowski, J., Koczyk, G., 2007. Assessing genetic diversity of Polish wheat (*Triticum aestivum*) varieties using microsatellite markers. **Genet Resour Crop Evol**, **54:1499–1506**.
- Talbert, L.E., Smith, L.Y., Blake, N.K., 1998. More than one origin of hexaploid wheat is indicated by sequence comparison of lowcopy DNA. **Genome** **41:402–407**
- Yeh, C.F., Yang, R. and Boyle, T., 1999. POPGENE: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetic Analysis.
- Zencirci, N., 1998. Türkiye Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Genetik İlişkileri. *Tr.J. of Agriculture and forestry*. **22: 333-340**.
- Zhongfu, N., Yirong, Z., Rongqi, L., Guangtian, L., Qixin, S., 2003. Genetic Diversity of D-genome Revealed by SSR Markers in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Acta Agronomica Sinica**, **29(01):145-151**.
- Zhongfu, N., Zhang, Y. R., Liang, Y. Q., 2002. Genetic diversity of D-genome revealed by SSR markers in synthesized hexaploid wheat introduced from CIMMYT, **Acta Genetica Sinica** (in. Chinese with English abstract), **29(6): 542—548**.

**TEŞEKKÜR**

Danışmanlığımı üstlenerek bu konu üzerinde çalışma gerekliliği fikrini veren bilgi ve önerileri ile yol göstererek tecrübelerini esirgmeden paylaşan saygıdeğer danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa ERAYMAN' a,

Çalışmamın her aşamasında değerli katkı ve enerjisini esirgemeyen fedakâr, yaptığı bu fedakârlıktan feragat edebilme sevgisini gösteren dostum, doktora öğrencisi Sayın Emre İLHAN' a,

Tez çalışmasını yürütmekte olduğum Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi ve Tarla Bitkileri Bölümü hocalarına,

Tohum örneklerinin gönderilmesinde emeği geçen tüm Tarımsal Araştırma Enstitü'sü yetkililerine,

Eğitim ve öğretimim süresince maddi ve manevi destek sağlayan ve saygıyı hak eden aileme sonsuz teşekkür ederim.

Volkan Vuslat OKYAY

Eylül, 2009

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Hatay'ın Kırıkhan ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Kırıkhan'da tamamladım. 2000 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Kahramanmaraş Meslek Yüksek Okulu İnşaat Bölümünden mezun oldum.2001 yılında Mustafa Kemal üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Bitki Koruma alt programından Bölüm 1. si, Fakülte 2.si olarak mezun oldum. 2006 yılında Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetin'de askerlik görevini tamamladım. 2006 yılında Özbuğday Tohumculuk A.Ş, Progen Tarım Teknoloji Tic. Ltd. Şti.'inde Ar&Ge Departmanında Tarla Bitkileri ıslahında Ar&Ge Mühendisi olarak çalıştım. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalında Yüksek Lisansa başladım. 2007 yılında Bayer CropScience BioScience Bölümünde Ziraat Mühendisi olarak çalışmaya devam etmekte olup evliyim.