

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN BAZI BUĞDAY
ÇEŞİTLERİNDE GENETİK FARKLILIKLARIN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

ESRA AYDOĞAN ÇİFCİ

Prof. Dr. KÖKSAL YAĞDI
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA-2010

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN BAZI BUĞDAY
ÇEŞİTLERİNDE GENETİK FARKLILIKLARIN
RAPD-PCR YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

ESRA AYDOĞAN ÇİFCİ

DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 23 / 03 / 2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oybirliği**/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Köksal YAĞDI
Danışman

Prof. Dr. Z. Metin TURAN

Prof. Dr. Muzaffer TOSUN

Prof. Dr. A.Tanju GÖKSOY

Doç. Dr. Ümran ERTÜRK

ÖZET

Bu çalışma, yurdumuzda tescil edilmiş ve tarımı yapılan makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği RAPD-PCR yöntemi ile incelemek amacıyla Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tohumluk Laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmada 14 adet makarnalık (*Triticum durum* Desf.) ve 16 adet ekmeklik (*Triticum aestivum* L.) buğday çeşidi kullanılmıştır. RAPD-PCR sonucuna göre, kullanılan 45 primerden makarnalık buğdaylarda 28 tane, ekmeklik buğdaylarda ise 17 tane primer polimorfik bant vermiştir. Çalışılan makarnalık ve ekmeklik buğdaylarda polimorfizm oranları sırasıyla % 66.7 ve % 74.9 olarak saptanmıştır. Polimorfik primerlerden; makarnalık buğdaylarda toplam 200 PCR ürününden 129 (% 64.5) tanesi polimorfik, ekmeklik buğdaylarda ise 142 adet PCR ürününden 110 (% 77.4)'u polimorfik olarak belirlenmiştir. Elde edilen DNA bantlarının büyüklükleri, makarnalık buğdaylar için 300-4000 bç, ekmeklik buğdaylar için ise 300-2800 bç arasında saptanmıştır. Makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik benzerlik indeksi 0.434 - 0.874 arasında, ekmeklik buğday çeşitlerinde ise 0.316-0.860 arasında değişim göstermiştir. UPGMA (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu) metodu kullanılarak çizilen fenogramda makarnalık buğdayların 6, ekmeklik buğdayların ise 2 grupta toplandığı gözlenmiştir. Bu analiz sonucuna göre, makarnalık buğday çeşitlerinde birbirine en yakın çeşitlerin Çakmak-79 ve Kızıltan-91, birbirine en uzak çeşitlerin ise Ege-88 ve Ankara-98, ekmeklik buğday çeşitlerinde ise birbirine en yakın çeşitlerin Gerek-79 ve Basribey-95, en uzak çeşitlerin ise Sagittario ve Gönen-98 olduğunu saptanmıştır.

Buğday çeşitleri arasındaki genetik varyasyonun tespit edilmesi amacıyla kullanılan Temel Bileşenler Analizi (PCA) sonucunda ise makarnalık buğdayların 8, ekmeklik buğdayların ise 5 grup oluşturduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma ile, ülkemizde tescil edilmiş buğday çeşitleri arasında göreceli olarak dar bir genetik farklılığın bulunduğu ve bitki ıslahı programlarında uygun anaçların seçiminde genotiplerin benzerliklerinin saptanmasında RAPD markörlerinden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: makarnalık ve ekmeklik buğday, RAPD-PCR, genetik farklılık, polimorfizm

ABSTRACT

This study was carried out at the Seed Laboratory of the Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, University of Uludag in order to determine the genetic diversity of durum (*Triticum durum* Desf.) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat varieties developed and cultivated in our country.

In this research 14 durum and 16 bread wheats were used. On the basis of RAPD-PCR analysis, out of 45 primers 28 primers for durum wheat and 17 primers for bread wheat were found polymorphic. The polymorphism were determined 66.7 % and 74.9 % for durum and bread wheat, respectively. For durum wheats, polymorphic primers detected 200 bands and 192 (% 64.5) of them polymorphic while total of 142 bands which were amplified with 17 primers out of 110 (% 77.4) were polymorphic for bread wheat. DNA fragment size ranged from 300-4000 bp and 300-2800 bp in respect of durum and bread wheats. Genetic similarity matrix changed into 0.434 to 0.874 (durum wheat) and 0.316 to 0.860 (bread wheat). Using UPGMA (The unweighted pair groupin gmethod of arithmetic averages) to cluster data it was seen that durum wheat varieties were grouped into six cluster while bread wheats were into 2 group. The result of this analysis indicated that for durum wheats the highest similarity was between Çakmak-79 and Kızıltan-91 whereas the genetic disatnce between Ege-88 and Ankara-98 was the lowest and the highest similarity between Gerek-79 and Basribey-95 while Sagittario and Gönen-98 varieties were the lowest similiar genotypes for bread wheat.

At the result of Principal Component Anlysis (PCA), used for detecting the genetic variation between wheat varieties, 8 groups for durum and 5 groups for bread wheat were determined.

The result of the study indicated that the registered varieties in our country, possessed relatively narrow genetic background and concluded that to determine the genetic similarity of genotypes for selecting proper parents in breeding programmes RAPD technique can be used as a molecular genetic marker.

Key Words: durum and bread wheat, RAPD-PCR, genetic diversity, polymorphism.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	
2.1. Buğdayın Kültüre Alınması, Kökeni, Taksonomisi	4
2.2. Buğday Genom Analizinde Kullanılan Moleküler Yöntemler	6
2.2.1. Pre-DNA markörler	7
2.2.2. DNA markörler	8
2.3. Genetiksel Farklılıklar ve RAPD-PCR Tekniği Üzerinde Yapılan Çalışmalar	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	
3.1 Bitki Materyali	34
3.2. Genomik DNA İzolasyonu	43
3.3. RAPD-PCR Aşaması	51
3.4. RAPD Polimorfizmi ve Genetik Mesafenin Belirlenmesi	53
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	
4.1 Makarnalık Buğdaylara Ait RAPD Markörlerinin Elektroforez Sonuçları ...	55
4.2. Makarnalık Buğdaylara Ait Kümeleme Analizi Sonuçları	67
4.3. Makarnalık Buğdaylara Ait Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuçları	71
4.4. Ekmeklik Buğdaylara Ait RAPD Markörlerinin Elektroforez Sonuçları	72
4.5. Ekmeklik Buğdaylara Ait Kümeleme Analizi Sonuçları	81
4.6. Ekmeklik Buğdaylara Ait Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuçları	85
5. SONUÇ	87
KAYNAKLAR	90
EKLER	
EK-1 Makarnalık Buğdaylara Ait Fenogram Çiziminde Kullanılan Bant Matriksleri	99
EK-2 Makarnalık Buğdayların Eigen Değerleri	103
EK-3 Ekmeklik Buğdaylara Ait Fenogram Çiziminde Kullanılan Bant Matriksleri	104
EK-4 Ekmeklik Buğdayların Eigen Değerleri	107
ÖZGEÇMİŞ	108
TEŞEKKÜR	109

KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
bç	Baz çifti
C	Sitozin
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Çoğaltılmış kesilmiş polimorfik dizi)
cm	Santimetre
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilen daimin tetra asetik asit
EST	Expressed Sequence Tags (İfade edilen dizi etiketi)
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
G	Guanin
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats
M	Molar
m	Metre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System
PCA	Principal Component Analysis (Temel Bileşenler Analizi)
PCR	Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi)
rpm	Rotation per minute (dakikadaki devir)
SAHN	Sequential, Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering
SCARs	Sequence Characterized Amplified Regions (Dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler)
SI	Similarity index (Benzerlik indeksi)
sn	Saniye
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotit polimorfizmi)
SSR	Single Sequence Repeat (Basit dizi tekrarları)
STS	Sequence Tagged Sites (Dizisi etiketlenmiş bölge)
T	Timin
TBE	Tris-Borat- EDTA
UPGMA	The unweighted pair grouping method of arithmetic averages (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu)

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1	Araştırmada kullanılan buğday çeşitleri ve pedigrileri 34
Çizelge 3.2	Çalışmada kullanılan çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edilen kuruluşlar 35
Çizelge 3.3	Çalışmada kullanılan DNA izolasyon kiti ve içeriği 43
Çizelge 3.4	DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçüm değerleri 50
Çizelge 3.5	RAPD-PCR reaksiyon hacmi 51
Çizelge 3.6	RAPD-PCR döngüsü 51
Çizelge 3.7	RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerler ve % GC oranları 52
Çizelge 3.8	10 x TBE stok çözeltisinin hazırlanışı (1 litre) 53
Çizelge 4.1	Makarnalık buğday çeşitlerinde primerlerden elde edilen bantların özellikleri 55
Çizelge 4.2	Makarnalık buğday çeşitlerinde DICE eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri 68
Çizelge 4.3	Makarnalık buğday çeşitlerinin agronomik özellikleri 70
Çizelge 4.4	Ekmeklik buğday çeşitlerinde primerlerden elde edilen bantların özellikleri 72
Çizelge 4.5.	Ekmeklik buğday çeşitlerinde DICE eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri 81
Çizelge 4.6	Ekmeklik buğday çeşitlerinin verim ve kalite özellikleri..... 84

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Verimli Hilâl Bölgesi 4
Şekil 2.2	Buğday çeşitlerinin kökeni 6
Şekil 2.3	DNA Polimeraz zincir reaksiyonu 9
Şekil 2.4	Elektroforez 10
Şekil 2.5	RAPD reaksiyonunun şematik gösterimi 14
Şekil 3.1	Çimlenen materyal ve sıvı azotla toz haline getirilmesi 44
Şekil 3.2	Mikrofuj tüplerine aktarılan toz halindeki dokular 44
Şekil 3.3	Mikrofuj tüplerinde bulunan bitki materyaline PCL solusyonunun eklenmesi 44
Şekil 3.4	Tüplerin vortexlenmesi ve su banyosunda bekletilmesi 45
Şekil 3.5	PP solusyonu eklendikten sonra buz içinde materyalin bekletilmesi 45
Şekil 3.6	Tüplerin santrifüjlenmesi ve temiz tüplere aktarılması 45
Şekil 3.7	PB bufferin eklenmesi ve santrifüjleme 46
Şekil 3.8	Tüplere yıkama solusyonunun eklenmesi ve santrifüjleme işlemi 46
Şekil 3.9	Yıkama solusyonunun uzaklaştırılması amacıyla santrifüjleme 46
Şekil 3.10	DNA'ların -20 °C'de saklanması 47
Şekil 3.11	% 1'lik jelin hazırlanması 47
Şekil 3.12	Jele etidyumbromürün eklenmesi ve elektroforez tankına dökümü 47
Şekil 3.13	Yükleme yapılacak tankın hazırlanması 48
Şekil 3.14	Yükleme işlemi..... 48
Şekil 3.15	Jelin yürütülmesi 48
Şekil 3.16	Jelin görüntülenmesi 49
Şekil 3.17	Makarnalık buğday çeşitlerine ait genomik DNA'ların jel elektroforez görüntüsü 50
Şekil 3.18	Ekmeklik buğday çeşitlerine ait genomik DNA'ların jel elektroforez görüntüsü 50
Şekil 4.1	S 21 primerine ait jel görüntüsü 56
Şekil 4.2	S 22 primerine ait jel görüntüsü 56
Şekil 4.3	S 32 primerine ait jel görüntüsü 57
Şekil 4.4	S 34 primerine ait jel görüntüsü 57
Şekil 4.5	S 35 primerine ait jel görüntüsü 57
Şekil 4.6	S 56 primerine ait jel görüntüsü 58
Şekil 4.7	S 120 primerine ait jel görüntüsü 58
Şekil 4.8	S 122 primerine ait jel görüntüsü 58
Şekil 4.9	S 125 primerine ait jel görüntüsü 59
Şekil 4.10	S 126 primerine ait jel görüntüsü 59
Şekil 4.11	S 127 primerine ait jel görüntüsü 59
Şekil 4.12	S 128 primerine ait jel görüntüsü 60
Şekil 4.13	S 129 primerine ait jel görüntüsü 60
Şekil 4.14	S 130 primerine ait jel görüntüsü 60

Şekil 4.15	S 132 primerine ait jel görüntüsü	61
Şekil 4.16	S 134 primerine ait jel görüntüsü	61
Şekil 4.17	S 135 primerine ait jel görüntüsü	61
Şekil 4.18	S 138 primerine ait jel görüntüsü	62
Şekil 4.19	S 151 primerine ait jel görüntüsü	62
Şekil 4.20	S 156 primerine ait jel görüntüsü	62
Şekil 4.21	S 161 primerine ait jel görüntüsü	63
Şekil 4.22	S 169 primerine ait jel görüntüsü	63
Şekil 4.23	S 248 primerine ait jel görüntüsü	63
Şekil 4.24	S 271 primerine ait jel görüntüsü	64
Şekil 4.25	S 280 primerine ait jel görüntüsü	64
Şekil 4.26	S 418 primerine ait jel görüntüsü	64
Şekil 4.27	S 443 primerine ait jel görüntüsü	65
Şekil 4.28	S 461 primerine ait jel görüntüsü	65
Şekil 4.29	UPGMA metoduyla oluşturulan makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram	69
Şekil 4.30	Makarnalık buğday çeşitlerine ait temel bileşenler analizi	71
Şekil 4.31	S 22 primerine ait jel görüntüsü	73
Şekil 4.32	S 32 primerine ait jel görüntüsü	73
Şekil 4.33	S 34 primerine ait jel görüntüsü	74
Şekil 4.34	S 98 primerine ait jel görüntüsü	74
Şekil 4.35	S 126 primerine ait jel görüntüsü	74
Şekil 4.36	S 127 primerine ait jel görüntüsü	75
Şekil 4.37	S 129 primerine ait jel görüntüsü	75
Şekil 4.38	S 130 primerine ait jel görüntüsü	75
Şekil 4.39	S 132 primerine ait jel görüntüsü	76
Şekil 4.40	S 133 primerine ait jel görüntüsü	76
Şekil 4.41	S 135 primerine ait jel görüntüsü	76
Şekil 4.42	S 138 primerine ait jel görüntüsü	77
Şekil 4.43	S 156 primerine ait jel görüntüsü	77
Şekil 4.44	S 418 primerine ait jel görüntüsü	77
Şekil 4.45	S 443 primerine ait jel görüntüsü	78
Şekil 4.46	S 444 primerine ait jel görüntüsü	78
Şekil 4.47	S 461 primerine ait jel görüntüsü	78
Şekil 4.48	UPGMA metoduyla oluşturulan ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram	83
Şekil 4.49	Ekmeklik buğday çeşitlerine ait temel bileşenler analizi.....	85

1. GİRİŞ

Günümüzde tüm dünya ülkelerinin önemle üzerinde durduğu konuların başında yetersiz ve dengesiz beslenme gelmektedir. Özellikle az gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerdeki insan ölümleriyle veya bedensel ya da zihinsel hastalıklara yakalanmalarının başlıca nedenlerinden biri de bu ülkelerdeki beslenme sorunudur. Ülkemizde de nüfusumuzun hızlı bir artışla 2008 yılında 70 milyonun üzerine çıkması var olan beslenme sorununu daha da büyük boyutlara taşımıştır. Beslenme sorununun çözülmesi amacıyla artan nüfusa bağlı olarak farklı görüşler ileri sürülse de en etkili çözüm bitkisel üretimin artırılması, yeterli miktar ve kalitede üretilmesidir. Hayvansal kaynaklı gıdaların pahalı olması ve uzun süre depolanmalarının zorluğu nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tahıl ve tahıla dayalı ürünler insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. İnsan beslenmesinde kullanılan proteinin dünyada % 52'si, ülkemizde ise % 80'i, karbonhidrat ve enerjinin ise dünyada % 50'si, ülkemizde ise % 60'ı tahıllardan kaynaklanmaktadır (Atak 2004). Bu nedenle tahıllar dünyada ve ülkemizde geniş olarak ekimi ve üretimi yapılan ürün grubudur. Buğday, tarımının kolay ve tamamen makineye dayalı oluşu, insan beslenmesinde önemli yer tutması ve dünyanın hemen hemen her yerinde tarımı yapılan bir bitki olma özelliğini taşımasından dolayı günümüzde dünyada ve ülkemizde büyük önemi olan bir bitkidir. Dünya'da buğday FAO 2007 yılı verilerine göre 217.432.668 ha ekim alanına, 27.918 ton verim ve 607.045.683 ton üretime sahipken, Türkiye'de 8.600.000 ha ekim alanına, 20.555 ton verim ve 17.678.000 ton üretim miktarları sahip olmuştur (Anonim 2007). Kuzey yarımkürede 67⁰ kuzey enleminde yer alan Finlandiya, Norveç ve Rusya'dan; güney yarımkürede 45⁰ güney enleminde yer alan Arjantin'e kadar geniş bir alanda buğday tarımı yapılabilmektedir. Kültür buğdayları, sahip oldukları % 60-80 nişasta miktarının yanı sıra % 8-15 oranında protein içerirler ve sahip oldukları besin değeri bakımından 40'dan fazla ülkede ve dünya nüfusunun yaklaşık % 35'inin ana besinini oluştururlar (Karcicio 2006).

Artan nüfusun beslenme ihtiyacı tarımın hızla gelişmesinde bir güç kaynağı olmuştur. Bu amaçla, ıslah çalışmaları ile bitkilerin genetik yapıları değiştirilerek daha kaliteli, yüksek verimli, hastalıklara ve zararlılara dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan çeşitler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda bir

yönden günümüzde bitki ıslahçıları tarafından tarımsal özellikleri üstün genotipler elde edilmesine karşın diğer yandan da çalışmalar hızla devam etmektedir. Bugüne kadar klasik ıslah yöntemleri ile önemli gelişmeler sağlanmasına karşın klasik ıslah yöntemlerinin a) sonuca ulaşmada uzun bir sürece ihtiyaç duyması, b) doğal gen kaynaklarından yararlanma olanaklarının sınırlı olması, c) türler ve özellikle cinsler arasındaki melezlemelerde kısırılık ve uyumsuzluk gibi sorunlar ve d) istenmeyen genlerin, özelliğin kombine edileceği bitkiye geçişi gibi olumsuzluklar nedeniyle çoğu zaman ihtiyacı tam olarak karşılayamamışlardır (Kurt ve Şavşatlı 2005). Bunun sonucu olarak ıslahçılar daima yeni arayışlar içinde olmuşlar ve daha kısa sürede sonuç alma şansını artıracak yeni teknolojik yöntemleri araştırmışlardır.

Bitkilerin genetik yapılarındaki değişiklikler doğal seleksiyonla uzun sürede ortaya çıktığından bitki ıslahında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerinin ve seleksiyonun etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır, fakat bu işlemler çok zaman alan, zahmetli ve maliyeti yüksek olan işlemlerdir. Buğday ıslahında morfolojik, fizyolojik ve fenotipik özellikler, seleksiyon kriteri olarak ele alınmaktadır. Karakterlerin oluşumunda genotip kadar çevre şartlarının da etkisi bulunmaktadır. Fenotipik özellikler çoğu kez kantitatif karakterler taşımaktadır. Bu nedenle, çevre şartlarından etkilenmeyen seleksiyon kriterlerinin bulunması genetik ilerlemeyi ve iyileştirmeyi hızlandıracaktır (Bilgin 2001).

Genetik ilerleme ve iyileştirmeyi hızlandırmak amacıyla bitkilerde üstün bireylerin belirlenmesinde, morfolojik özellikleri yansıtan agronomik verilerin yanında, daha kesin tanımlara dayanan yöntemler hızla kullanıma girmiştir. Bu yöntemler, birçok bitki türünde tanımlama amacıyla kullanılan, abiyotik (sıcaklık, vb.) ve biyotik (virüs, vb.) koşullardan etkilenmeyen ve direkt olarak karakterlerin orjinini temel moleküler markörlerin (protein ve DNA markörleri) kullanıldığı yöntemlerdir. Genetik markörler, kalıtım şekilleri morfolojik (çiçek rengi gibi), biyokimyasal (izoenzimler gibi) ve DNA düzeyinde (moleküler markörler) izlenilebilen karakterlerdir (Atak 2004). Bu karakterlerin markör olarak isimlendirilmesinin sebebi, çalışılan organizmadaki ilgilenilen diğer özelliklerin genetiği hakkında dolaylı olarak da olsa bilgi verebilmeleridir.

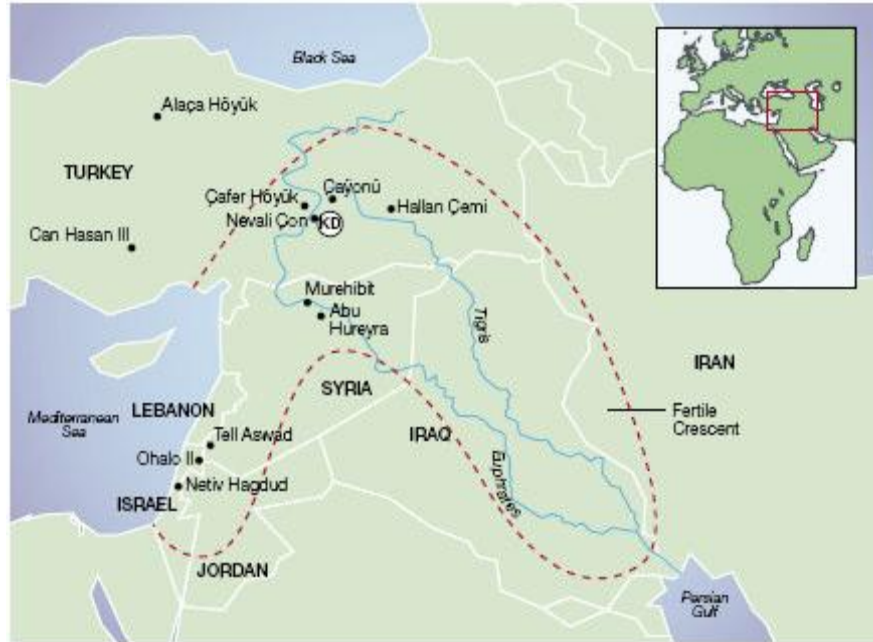
Moleküler markörler, bitki organizmalarında detaylı fiziksel ve genetik kromozom haritalarının hazırlanmasında, bitkilerde istenilen özelliklerde seleksiyon yolu ile seçilmesinde ve klasik ıslah çalışmalarının başarı şansını artırmada, bitkilerde gen kaynaklarının özelliklerinin belirlenmesinde, genetik incelemelerde, transgenik bitkilerin belirlenmesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Gupta ve ark. 1999, Atak 2004). Son yıllara kadar bu amaçla bitki enzimlerinin farklı elektroforetik özelliklerine dayalı izoenzimler gibi biyokimyasal markör teknikleri kullanılmıştır (Bilgin 2001). Hızlı ve maliyeti düşük olmasına rağmen bu teknikler sınırlı sayıda polimorfizmi tespit edebildiğinden yerini DNA markörlerine bırakmaktadırlar.

Bu tez çalışmasında da DNA düzeyinde markör kullanılarak RAPD-PCR yöntemi ile yurdumuzda tescil edilmiş ve tarımı yapılan makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği incelemek amaçlanmıştır.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Buğdayın Kültüre Alınması, Kökeni, Taksonomisi

Serin iklim tahıllarından buğday birçok ülkenin beslenmesinde ön sırada yer alır ve arkeolojik kayıtlar günümüzden 9.000-10.000 yıl önce Uzakdoğu'da, Verimli Hilal Bölgesi'nde (bugünkü İran, Irak, Türkiye, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i içine alan yay şeklindeki bölge) (Şekil 2.1), Orta Amerika'da ve Güney Çin'de birbirinden bağımsız olarak farklı tahılların kültüre alındığını göstermektedir. Tarım tarihinde ilk kültüre alınan tahıl bitkilerinin buğday, arpa ve mısır olduğu bilinmektedir. Özellikle buğdaylar en eski ve en yaygın kullanımı olan tahıl cinsidir. Buğday kullanımı ile ilgili kanıtlar 19.000 yıl öncesine (Ohalo II/İsrail) dayanmaktadır. Yakın Doğu'da buğdayın Neolitik Çağ'da (Yeni Taş Devri) kültüre alındığını gösteren bilgiler mevcuttur. Modern buğdayın genetik materyalinin yabani akrabaları ile karşılaştırılmasından elde edilen bilgiler, einkorn buğdayı olarak bilinen *Triticum monococcum*'un ilk olarak Türkiye'nin güneydoğusundaki Karacadağ bölgesinde ıslah edildiğini göstermektedir (Karcicio 2006) ve buğday tanesinin fındık gibi kabuklu olduğu, yapılan klasik ıslah çalışmalarıyla günümüzdeki halini aldığı (fındıksı yapının kaybolduğu) bilinmektedir (Ulukan 2007).



Şekil 2.1. Verimli Hilâl Bölgesi (Salamini ve ark. 2002)

Buğday *triticum* genusu, Graminea familyasının, Poaidea alt familyasından Triticeae oymağının, Triticinae alt oymağına bağlıdır. Buğdayın kökeni üzerinde ilk çalışmayı De Candolle yapmıştır. Bu araştırmacıya göre buğday ilk olarak Asya'da spelta buğdayı ise Avrupa ve Anadolu'da tespit edilmiştir (Yürür 1998). Değişik araştırmacıların yaptıkları araştırmaların ışığında buğdayın gen merkezi olarak Anadolu, Batı İnan ve Kafkasya kabul edilmektedir. Sınıflandırmada ilk ele alınan bitki buğdaydır. Sınıflandırmada önce başak özellikleri dikkate alınmış, daha sonra başak sıklığı buğdayın sınıflandırılmasında rol oynamıştır.

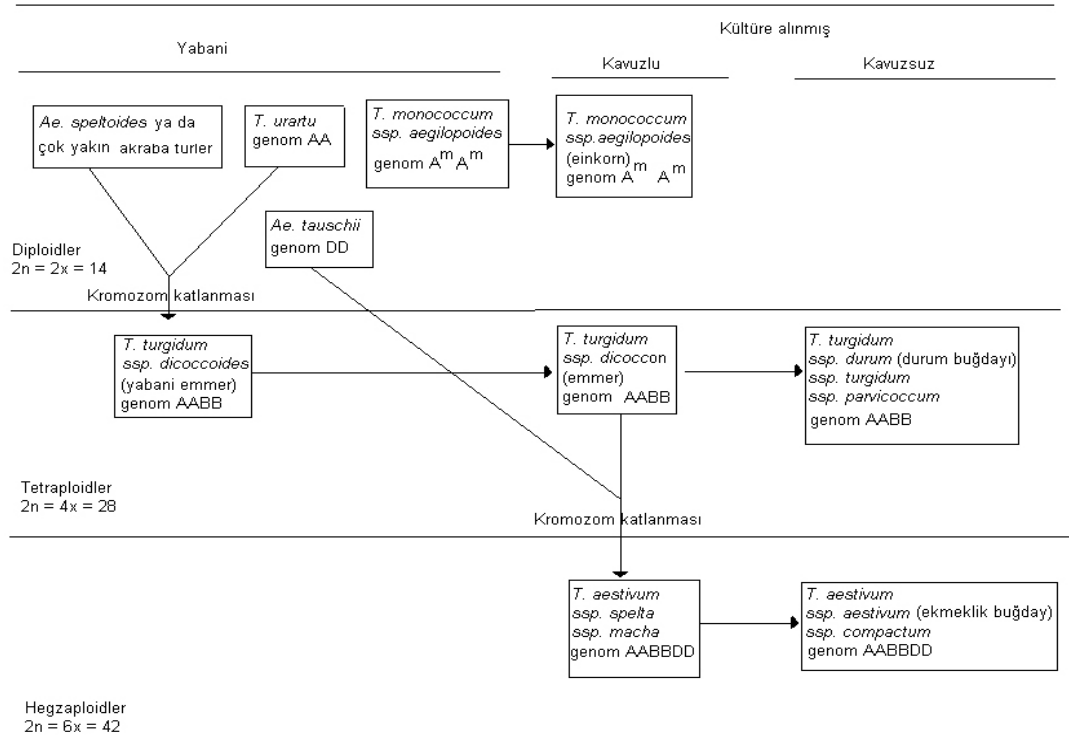
Sitoloji alanındaki ilerlemeler sonucu, buğdayların sınıflandırılması kromozom sayılarına göre yapılmaya başlanmıştır. Kromozom sayıları sonucu buğdayların genom sayıları ve genom formülleri üzerinde durulmuştur. Genom formüllerinden yararlanılarak buğdayların orjinleri ve kültür formlarının ortaya çıkışı ile teoriler geliştirilmiştir (Yürür 1998).

Kromozom sayıları ve genom formüllerine göre yapılan ilk sınıflamalarda buğdaylar üç gruba ayrılmıştır.

1. Diploid grup (AA)
2. Tetraploid grup (AABB)
3. Hekzaploid grup (AABBDD)

Yapılan ilk sitogenetik çalışmalarda diploid grubundaki A genomunun *Triticum monococcum*'dan geldiği saptanmıştır (Kihara 1954), fakat daha sonraki yıllarda *Triticum urartu*'nun bulunması poliploid buğdaylardaki A genomu kaynağı konusunda yeni çalışmaların yapılması zorunlu hale getirmiş ve Chapman ve ark. (1976) tarafından yapılan bir çalışma sonucu A genomu kaynağının *Triticum urartu* olduğu tespit edilmiştir. Konarev ve ark. (1979) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Triticum turgidum*'daki A genomunun *Triticum urartu*'dan, *Triticum timopheevi*'deki A genomunun ise *Triticum monococcum*'dan köken aldığı sonucuna varılmış ancak Nishikawa (1984) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise her iki tetraploid buğdaydaki A genomu kaynağının *Triticum urartu* olduğu belirlenmiştir. Bu fikir sonraki yıllarda Dvorak ve ark. (1988 ve 1993) tarafından buğdaylarda tekrarlanan nükleotid dizilerindeki varyasyonların araştırıldığı çalışmada desteklenmiş ve tetraploid buğdayların da içinde bulunduğu poliploid serideki A genomu kaynağının *Triticum*

urartu olduğu saptanmıştır. Tetraploid grubu oluşturan B genomunun kaynağı konusunda ise uzun bir süre görüş birliğine varılamamış ancak yapılan morfolojik, coğrafik ve sitolojik çalışmalar sonucu *Aegilops speltoides*'in B genomu vericiliğine en yakın tür olduğu belirlenmiştir (Tavale 2001, Karcicio 2006). Kihara 1944 ile Jones ve ark. (1982), hegzaploid grupta bulunan D genomunun *Aegilops squarrosa*'dan kaynaklandığını bildirmektedirler. Feldman (2001) ise A genomunun *Triticum urartu*'dan, B genomunun ise *Aegilops speltoides* yada çok yakın akraba türlerinden ve D genomunun da *Aegilops tauschii*'den kaynaklandığını bildirmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Buğdayın kökeni (Feldman 2001).

2.2. Buğday Genom Analizinde Kullanılan Moleküler Yöntemler

16×10^9 bç /1C'lik büyük genom boyutu (Bennett ve Smith 1976) ve geniş kullanım olanakları sayesinde, buğday diğer tahıl türlerine göre dünyada agronomik ve beslenme yönünden önemli bir yer tutmakta ve bu nedenle bitki ıslahçıları tarafından yürütülen çalışmalar ile çok sayıda farklı buğday çeşitleri geliştirilmiştir. Ancak, günümüze kadar bitki ıslahçıları tarafından uygulanan klasik ıslah yöntemleri ile elde edilen bitkilerde, genetik çeşitlilik azalmış ve değişik etmenlere karşı hassasiyet artmıştır. Bu yüzden günümüzde yetiştiği bölgelerin her türlü koşullarına uzun zaman

diliminde uyum sağlamış yabancı akrabalar, yerli türler ve çeşitler, zengin gen kaynakları olarak büyük önem taşımaktadır. Bitki ıslahı programlarında ebeveynlerin benzerliği hakkındaki genetik bilgi, uniform ya da çok benzer olan bireylerin melezlemede kullanılmasını ve uzun süreli seleksiyon sonucu elde edilen kazançların tehlikeye girmesini önlemekte ve genetik kaynakları korumaktadır. Bu amaçla günümüzde bitki genom analizlerinde moleküler yöntemler yoğun olarak kullanılmaktadır. Bunların başlıcaları şunlardır;

2.2.1. Pre-DNA markörler

İlk genomik çalışmalar gözle görülebilen özelliklerin değerlendirilmesi ve yorumlanması üzerine odaklanmıştır. Son yıllara kadar genomik çalışmaların büyük kısmında, Mendel tipi kalıtım gösteren, bitki morfolojisini etkileyen, cücelik, albinizm ve yaprak morfolojisi ile ilgili genler çalışılmıştır. Morfolojik karakterler bazı özgül genlerin takibini kolaylaştırır ve çoğunlukla dominant ya da resesif özelliklerle kalıtılırlar. Ancak morfolojik markörlerin genom analizinde kullanımları sınırlıdır. Bunlar 1) fenotip üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilmektedirler, 2) istenilen bazı özellikleri taşıyan genleri maskeleyebilmektedirler, 3) sayıları sınırlı olabilmektedir, 4) çevresel koşullardan yüksek oranda etkilenebilmektedirler (Farooq ve Azam 2002).

Sistematik problemlerin aşılmasında kullanılan ilk biyokimyasal markörler proteinlerdir. Protein markörleri, depo proteinleri ve enzim proteinleri olarak iki ana gruba ayrılırlar. Depo proteinleri jel üzerinde hareket ettirip boyandıklarında farklı genotiplerde ortaya çıkan yapı farklılıkları genetik markör olarak kullanılabilir. Buğday tohumunda bulunan iki depo protein grubu olan gliadin ve glutenin bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır. En önemli avantajları, analizleri çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir olmasıdır. Sayıca çok az olmaları ise en büyük dezavantajlarıdır. (Yıldırım ve Kandemir 2001).

İzoenzimler ise, farklı genler tarafından üretilen, ancak birbirine çok benzeyen enzimleri ifade etmektedir ve en fazla kullanılan protein markörleridir. İzoenzimlerin metabolizmadaki rolünün iyi bilinmesi, kullanılan yöntemin hızlı ve ucuz olması, izoenzim markörlerinin temel avantajlarıdır. Fakat izoenzim lokus sayısının az olması, bazı izoenzimlerin belirli dokularda ve belirli gelişme dönemlerinde bulunması, post-

translokasyonel modifikasyonlara uğramaları bu markörlerin kullanımını kısıtlamaktadır (Yıldırım ve Kandemir 2001, Karcicio 2006).

2.2.2. DNA markörler

Son yıllarda büyük ilerleme gösteren DNA temelli yöntemler, bitki ıslahı çalışmalarında moleküler biyolojinin başvurduğu önemli araçlardandır. Son zamanlarda DNA bazlı birçok moleküler teknik geliştirilmiştir. Uygulanan bu yöntemlerde ideal DNA markörlerinin istenen özellikleri;

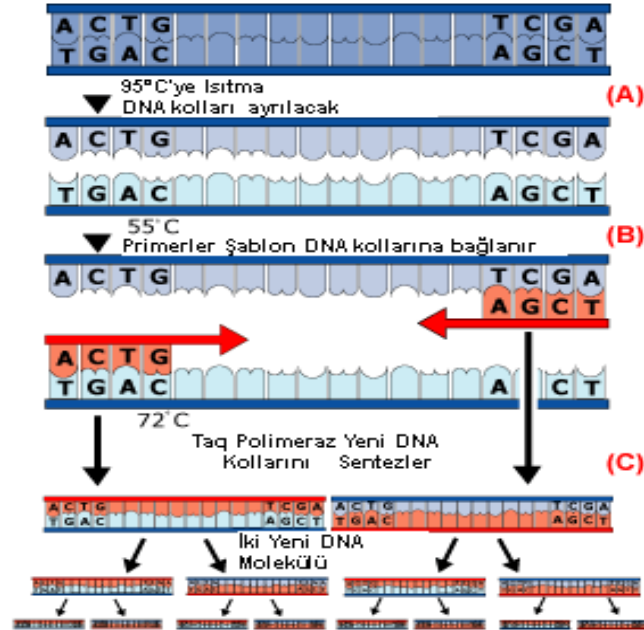
- Kolaylıkla bulunan
- Denenmesi kolay ve hızlı
- Yüksek oranda polimorfik ve üretilebilen
- Kodominant kalıtım ve genomda tekrarlanabilen
- Çevre koşullarından etkilenmeyen
- Farklı laboratuvarlar arasında veri değişimi kolay olmalarıdır (Sharma ve ark. 2008).

Genel olarak DNA'yı temel alan markör sistemleri, diğer markör sistemlerinden (özellikle morfolojik markörlerden) daha etkilidirler. Bunun nedenleri şu şekilde özetlenebilmektedir:

- Birçok morfolojik markör bitkinin bütününde fenotipik olarak gözlenirken, moleküler markörler tüm bitkide, doku ve hücresele düzeyde saptanabilmektedir.
- Morfolojik markörler ile karşılaştırıldığında moleküler lokusların allel frekansları daha yüksektir.
- Morfolojik mutantlar fenotipik olarak istenmeyen sonuçlar oluşturabilmektedir.
- Morfolojik markörlerin, heterozigot genotiplerin tanımlanmasında yetersiz olup, dominant-resesif durum sergilemesine karşın, moleküler markörler çoğunlukla kodominant kalıtım gösterirler (Karcicio 2006).

DNA markörler, melezlemeye dayalı (RLFP), PCR'a dayalı (RAPD, SSR, AFLP, STS vb.) ve dizi analizleri olmak üzere 3 grupta incelenebilmektedir (Gupta ve ark. 1999). PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) DNA polimeraz enziminin kullanılmasıyla

yapay şartlarda DNA üretilmesini ifade etmektedir. Diğer bir ifade ile seçilmiş DNA parçasının çok sayıda kopyasını yapan enzimatik bir metottur. Bu teknik 1980'li yılların ortalarında geliştirilmiş ve genetik çalışmalarda devrim etkisi yapmıştır. Çünkü bu teknik hedef dizilimin birkaç saat içinde isabetli biçimde milyonlarca kopyasını üretmektedir. Ayrıca milyonlarca diğer dizilimlerle karışık bir karışım içinde, bir hedef dizilimin başarılı bir şekilde çoğalmasını da mümkün kılmaktadır. Bu metot, hücrenin DNA kopyalama sürecinin aynısını taklit etmektedir. Reaksiyonun en önemli unsuru kısa başlatıcı dizilimlerdir. Bu yapay üretim için genelde 6-25 nükleotid uzunluğunda başlatıcı DNA'lar (primerler) kullanılmakta, DNA üretim işlemi birbirini izleyen bir seri ve çok özel işlemler sonucu sağlanmaktadır. *Thermophylus aquaticus* isimli bakterilerden elde edilen Taq polimeraze isimli DNA polimeraz özel enzimi ve dört DNA bazına gerek duyulmakta ve sonra 95°C civarında bir sıcaklık kullanımıyla DNA iplikçiklerinin açılması sonucu DNA tek iplikçik haline gelmekte (A), sonra 30-60°C civarında bir sıcaklıkta başlatıcı DNA kalıbın DNA'ya bağlanması (B), daha sonra da 72°C'de DNA üretimi sağlanmış olmaktadır (C) (Şekil 2.3). Bu devrelerin her biri 1-2 dakika kadar sürmekte, bu 3 devre istenildiği kadar tekrarlanarak istenilen miktarda DNA üretimi yapılabilir (Maniatis ve ark.1982, Kumar 1989, Soysal 2002).

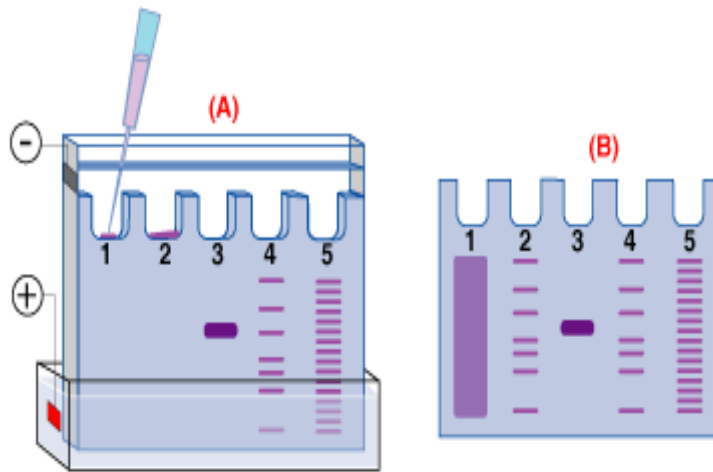


Şekil 2.3. DNA polimeraz zincir reaksiyonu

PCR'in kullanım alanları;

- Genetik haritalama çalışmaları
- Türler arasındaki polimorfizmin hesaplanması,
- Evrim çalışmaları,
- Bitkilerde tohum saflığının belirlenmesi,
- Adli tıp çalışmaları (Analık-babalık tayini- kimlik belirlenmesi vb.),
- Rekombinant DNA teknolojisi,
- Çeşitli kalıtsal hastalıkların doğum öncesi belirlenmesi,
- Mutant genlerin popülasyondaki devamlılığın izlenmesi,
- Genetik olarak değiştirilmiş organizmaların belirlenmesi,
- Toprak, su, gıda maddelerinde mikroorganizmaların belirlenmesi olarak sayılabilir (Eriş ve Gülen 2004).

DNA Polimeraz Zincir Reaksiyonundan sonra uygulanan elektroforez, uzunlukları değişken DNA parçalarını ayırmaya yarayan tekniklerdir. Ayırma işlemi için agaroz veya akrilamid kullanılarak oluşturulan jel kullanılmaktadır. Agaroz veya akrilamid ile hazırlanan jel özel kalıplara dökülmekte ve bir ucuna örneklerin konulacağı açıklıklar oluşturulmaktadır. Belli bir süre sonra hafifçe sertleşmiş olan jelle örnekler konulur. Şekil 2.4'de 1,2,3,4,5 ile gösterilen açıklıklara DNA örnekleri konmuştur. Bu açıklıklardan birine niteliğini bildiğimiz, diğerlerine buna göre değerlendireceğimiz kontrol örneği konulur. Şekil 2.4' de (5) nolu örnek dizilim ebadı bilinen farklı parçacıkların yerini göstermektedir.



Şekil 2.4. Elektroforez.

DNA örneği konduktan sonra jel buffer solüsyonuna daldırılmakta, sonra bu jeller sürekli elektrik akımına maruz kalmaktadır. DNA molekülü genel olarak negatif elektrik yüklüdür. Bu nedenle pozitif kimyasal yapısı nedeniyle katod çekilmektedir (Şekil 2.4-A). Tipik olarak birkaç saat içinde elektroforez bitirilir. İşlem bittiğinde jel içinde tutulmuş DNA Etidium Bromid ile boyandığından ultraviyole ışığı altında kolayca görülmektedir. Eğer DNA'da her hatta yapışma olmuş (Şekil 2.4-B, örnek 1) veya PCR örneği söz konusu ise DNA'nın çoğu bir uzunluk olduğundan bir bant şeklinde görülür. (Şekil 2.4-B, örnek 3) (Soysal 2002).

Moleküler DNA markörleri olarak en yaygın kullanılan yöntemlerin bazıları ile ilgili açıklamalar aşağıda verilmiştir.

(A) RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism/Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RFLP markörleri ilk kullanılan hibridizasyon temelli bir markör sistemidir ve genetik analizlerde yaygın şekilde kullanılmaktadır. RFLP analizi, dokulardan izole edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince spesifik olarak kesilmesi ve prob DNA'nın melezlendiği DNA etrafındaki farklı kesim yapılarının saptanması esasına dayanır. RFLP markörlerinin türler, cinsler ve hatta familyalar arasında transferleri mümkün kılması ve böylece, bir bitki türünde bir RFLP markörünün bir kez haritalanması ile akraba pek çok bitki sistemi için o haritalama bölgesinde potansiyel bir markör bulunabilmektedir. Tahıl cinsleri arasında bu şekilde RFLP markörü transfer etmek çok rutin bir işlem olmuştur. RFLP markörleri ile farklı laboratuarlarda çalışan araştırmacıların birbirleriyle tamamen aynı sonuçlar elde edilebilmesi olasıdır. RFLP markörleri eşbaskın (ko-dominat) özelliktedir. Böylece heterozigot bireylerin de karakterize edilmesi mümkün olmaktadır. RFLP markörlerinin analizlerinin pahalı olması, fazlaca zaman ve işgücü gerektirmesi en önemli dezavantajdır. Ayrıca bu yöntemde yaygın olarak radyoaktif etiketleme yapılması bir risk oluşturmaktadır. Bunların dışında RFLP analizi için fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA gerekli olması ve genomlarda az kopya olan dizilişlerin belli noktalarda kümelenmesi nedeniyle RFLP markörlerinin genom üzerinde rasgele dağılışı göstermemeleri de diğer dezavantajlarıdır. Bu yüzden bu markörlere dayalı haritalarda yaygın olarak büyük boşluklar görülebilmektedir.(Eriş ve Gülen 2004).

(B) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı)

AFLP markörleri, genomun bütününde DNA polimorfizmini tespit için kullanılan bir markör sistemidir. RFLP ve PCR metodunun bir kombinasyonudur. Bu teknikte genomik DNA önce birisi altı, diğeri dört taban tanıyan iki kesim enzimi tarafından kesilir. Kesilen parçaların uçlarına nükleotid dizilişi sentetik olan DNA'lar eklenir. Eklenen sentetik DNA'nın nükleotid dizilişini de taşıyan başlatıcı DNA'lar kullanımıyla nispeten spesifik DNA çoğaltımı yapılır. Üretilen parçacıklar bir baz uzunluğu farklarını dahi ayırt edebilen poliakrilamid jel üzerinde hareket ettirilerek farklı genotiplere ait farklılık gösteren parçacıklar tespit edilir (Yıldırım ve Kandemir 2001, Eriş ve Gülen 2004).

Haritalamada kullanılabilmesi, tüm genomun taranmasına olanak vermesi, parmak izi analizine izin vermesi, fazla lokus üretmesi gibi avantajlarının yanı sıra, teknik optimizasyonunun zaman alması ve pahalı oluşu, fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması, radyoaktif izotopların kullanılması ve çoğunlukla dominant kalıtım göstermesi bu yöntemin dezavantajları arasında sayılabilir (Karcicio 2006, Sharma ve ark. 2008).

(C) SSRs (Single Sequence Repeats/ Basit Dizi Tekrarları)

Basit dizi tekrarları veya mikro satelitler ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Bu gruplar örneği (AT)_n, (GT)_n veya (GACA)_n şeklinde gösterilmekte ve n ardışık tekrar sayısını belirtmektedir (Eriş ve Gülen 2004).

Mikro satelitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olmakla birlikte, ardışık SSR tekrar sayıdaki farklılık nedeniyle PCR sonucunda farklı uzunlukta DNA parçaları ortaya çıkar. Bu tekrarlar, çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir. SSR'leri çevreleyen DNA dizileri primer olarak kullanılarak, PCR yöntemi ile bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir. Amplifikasyon sonucunda elde edilen farklı uzunluktaki SSR alleller, jel elektroforezi ile ayrılabilir, gümüş boyama ve otoradyografi gibi yöntemlerle görüntülenebilir (Yeşbek 2007).

SSR tekniği genetik haritalama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek oranda polimorfik olduklarından bitkilerde oldukça fazla bilgi verici bir özellik gösterirler. En önemli dezavantajları poliakrilamid jel elektroforezi gerektirmesi, markör geliştirmenin oldukça fazla iş gücü ve zaman isteyen zor ve pahalı bir işlem olmasıdır. Günümüzde buğday, mısır, arpa, soya fasulyesi ve ayeği gibi birçok bitki türü için SSR markörleri geliştirilmiş bulunmaktadır (Yıldırım ve Kandemir 2001, Eriş ve Gülen 2004).

(D) RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/ Rasgele oğaltılmış Polimorfik DNA)

İlk defa 1990 yılında rasgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı ve polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır. Aynı yıllarda diğer bir çalışma grubu tarafından uygulanmış ve AP-PCR (Arbitrarily Primed PCR) olarak isimlendirilmiştir. 1991 tarihinde ise bu metotla aynı temele dayanan fakat farklı olarak 10 nükleotitten daha kısa primerlerle daha kompleks DNA parmak izi profili elde edilen DAF (DNA Amplification Fingerprinting) olarak isimlendirilen diğer benzer bir metot yayımlanmıştır (zaydın 2004).

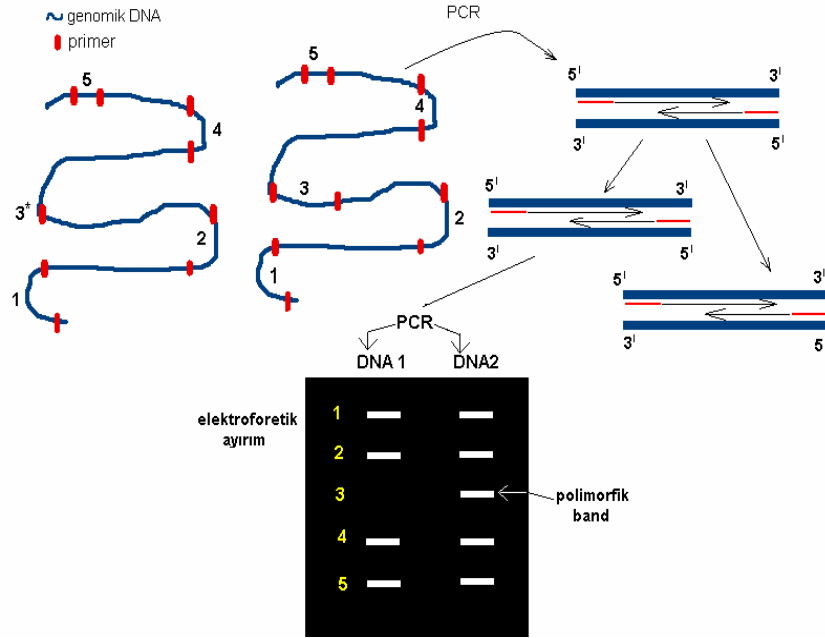
RAPD yöntemi sekans bilgisine gereksinim duymayan ve DNA'yı temel alan modifiye bir PCR tekniğidir. Tekniğin popularitesi bulunuşundan itibaren hızlı bir şekilde artmıştır. Bakterilerden bitkilere ve insanlara kadar birçok organizmanın genomu RAPD markörlerini oluşturabilecek komplementer DNA dizisine sahiptir.

RAPD tekniğinin temel ilkesi; ilgili türe ait genomik DNA üzerinde rastgele seçilmiş, tek bir 9-10 b oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Tekniğin devamında elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve çalışılan organizmalar oluşturdukları bant modellerine göre ayırt edilirler.

RAPD markörleri dominant özellik taşırlar. Görülen bantlar dominant alleli (A), görülmeyen bantlar ise resesif alleli (a) karakterize eder. Bu nedenle, homozigot (AA) ve heterozigot (Aa) bireyler birbirinden ayırt edilemez.

RAPD metodunun güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini etkileyen pek çok farklı çoğaltma değişkeni vardır (Welsh ve ark. 1990, Williams ve ark.1990, Rafalski ve ark. 1994). En önemli değişkenlerden birisi hedef DNA'dır. MgCl₂ konsantrasyonu, *Tag*

DNA polimeraz konsantrasyonu, primer konsantrasyonu, dNTP konsantrasyonu, primer bağlanması, başlangıç denaturasyonu, primer karışımları RAPD tekniğini etkileyen diğer temel değişkenlerdir. Ayrıca PCR'da oluşan çelişkili sonuçlardan, yabancı DNA tarafından oluşturulan kontaminasyona ek olarak DNA izolasyon tekniğindeki varyasyonlar, kullanılan doku kaynağı, PCR koşulları ve PCR cihazının tipi de sorumlu olabilmektedir (Özaydın 2004).



Şekil 2.5. RAPD reaksiyonunun şematik gösterimi

RAPD tekniğinin kullanım alanları; genetik çeşitliliğin belirlenmesi, genetik bağlantı haritalarının oluşturulması, filogenetik ilişkilerin araştırılması, populasyon genetik yapısının analizi, bireysel parmak izi analizi, somatik hibritlerin tanımlanması, çeşitlerin tanımlanması, tür içi ve türler arası genetik değişkenliğin tespit edilmesi, hastalık ve zararlılara karşı dirençlik genlerinin işaretlenmesi, atasal türlerin saptanması, germplazm koleksiyonlarının genetik yapılarının ortaya çıkarılması ve bu konulardaki bazı ikilemlerin giderilmesi, genetik erozyonun izlenmesi ve cinsiyet tespitidir (Özaydın 2004).

RAPD yönteminin en büyük avantajları arasında, ucuz olması, çabuk sonuç vermesi, az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması, yüksek kalitede DNA gerektirmemesi, çok az ekipmana gereksinim olması, radyoaktiviteye, Southern transferlere veya DNA hibridizasyonuna gerek duyulmaması sayılabilir (Williams ve ark.1990, Özaydın 2004). Bununla beraber; belirteçlerinin dominant olması ve heterozigotları teşhis etmenin güç

olması, çalışmalar sonucu elde edilen verilerin tekrarlanabilirliğinin düşük olması gibi bazı dezavantajları da vardır (Tingey ve ark. 1993, Gupta ve ark. 1999, Özyayın 2004).

Yukarıda tanımı yapılan bu metotların yanı sıra PCR'a dayalı moleküler DNA yöntemleri arasında; STS (Sequence Tagged Sites/ Dizisi Etiketlenmiş Bölge), EST (Expressed Sequence Tags/ İfade Edilen Dizi Etiketleri), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), SCARs (Sequence Characterized Amplified Regions/ Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence/ Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi), SNP (Single Nucleotide Polymorphism/ Tek Nükleotit Polimorfizmi) gibi yöntemlerde kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kullanım alanları ise aşağıda verilmiştir.

- **STS (Sequence Tagged Sites/ Dizisi Etiketlenmiş Bölge):**

Rasgele amplifikasyon profili ortaya çıkan yöntemlerin aksine STS markör sisteminde hedef alınan özgül bölgelerin çoğaltılması söz konusudur. STS'ler kromozomal yerleşimi ve nükleotid dizi bilinen 60-1.000 bp uzunluğunda genom bölgeleridir. Bu bölgelerin çoğaltımında kullanılan primerler (16-24 baz), genomda az sayıda bulunan, fakat genomlar arasında yüksek oranda korunmuş dizilere özgü seçilmektedir. Amplifikasyon ürünleri uzunluk olarak farklı olmasa da, uygun restriksiyon enzimleriyle yapılan kesim sonucunda farklı genotipler arasında mevcut nükleotid değişiklikleri tanımlanabilmektedir. (Yıldırım ve Kandemir 2001, Karcicio 2006).

- **EST (Expressed Sequence Tags/ İfade Edilen Dizi Etiketleri):**

cDNA klonlarının rasgele dizi analizi olarak da bilinir. EST yöntemi haritalama ve dizileme çalışmaları için uygun bir yöntemdir. cDNA'lar ve mRNA'lardan elde edildikleri için belirli şartlarda ya da gelişimin farklı aşamalarında ifade edilen genlerin incelenmesine olanak sağlar (Yeşbek 2007). Bu yöntemle örneğin mısır bitkisinde LD geninin genomik klonu elde edilmiştir.

- **ISSR (Inter Simple Sequence Repeats):**

Hedef dizilerinin arasındaki bölgeleri çoğaltmak için SSR primerlerini kullanan, PCR tekniğine dayanan bir yöntemdir. Birbirine yakın bulunan SSR'ler arasındaki DNA dizileri çoğaltılır ve ortaya çıkan fragmentlerin uzunlukları karşılaştırılır. Çoğunlukla

dominant markörlerdir. Yüksek polimorfizm göstermeleri, güvenilir olmaları ve otomasyona uygunlukları nedeniyle oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Yeşbek 2007).

- **SCARs (Sequence Characterized Amplified Regions/ Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler):**

Özgül oligonükleotit çiftleri ile çoğaltılabilen ve genetik açıdan tek bir lokus olarak tanımlanan genomik DNA fragmentlerini karakterize eder. SCAR markörleri kodominant olarak kalıtılırlar. 1993 yılında RAPD markörleri SCAR markörlerine dönüştürülmüş ve RAPD markör sisteminin etkinliği biraz daha artırılmıştır. Bu işlemin yapılabilmesi için amplifikasyon ürünleri kodlanır ve dizisi belirlenir. SCAR markörleri restriksiyon enzimleri ile kesilerek kodominant markörlere dönüştürülebilmektedir (Tavale 2001, Karcicio 2006).

- **CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence/ Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi):**

PCR-RFLP olarak da bilinir ve PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerindeki polimorfizmlerini yansıtır. Primer dizaynı için gerekli olan dizi bilgisi gen bankası, genomik DNA, cDNA yâda klonlanmış PCR ürünlerinden sağlanır. Kesim ürünlerinin boyutları karşılaştırılarak polimorfizmler ortaya çıkarılabilir. Bu markör sistemi kodominant özellik gösterir (Tavale 2001, Karcicio 2006).

- **SNP (Single Nucleotide Polymorphism/ Tek Nükleotit Polimorfizmi):**

Özellikle son yıllarda genom taramalarında sıkça kullanılmaktadır. SNP'ler genetik bir lokusta farklı alleller oluşturacak biçimde baz/bazlarda meydana gelen nokta mutasyonların sebep olduğu polimorfizmlerdir. Teorik olarak, bir lokustaki SNP dört bazdan birini bulunduracak şekilde, dört allel oluşturabilir. SNP'ler hem kodlayıcı hem de kodlayıcı olmayan DNA bölgelerinde meydana gelebilir (Gupta ve ark. 1999, Karcicio 2006).

2.3. Genetiksel Farklılıklar ve RAPD-PCR Tekniği Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Araştırmada materyal olarak incelenen makarnalık ve ekmeklik buğday genotiplerinin genetiksel farklılıklarını belirlemek için kullanılan RAPD tekniğine ilişkin daha önce yurt içi ve dışında yapılmış çalışmaların özetleri aşağıda verilmiştir.

Welsh ve McClelland (1990) ve Williams ve ark. (1990), günümüzde yaygın olarak kullanılan, prensip olarak aynı fakat farklı adlandırılan RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ve AP-PCR (Arbitrarily-Primed PCR) tekniklerini geliştirmişler ve PCR yöntemi ile tek bir primer kullanarak özgül nükleotid dizi bilgisine gereksinim olmadan polimorfizmin ortaya konabileceğini belirtmişlerdir.

Devos ve Gale (1992), buğdayda genetik markör sistemi olarak RAPD markörlerinin kullanımını değerlendirmişler ve RAPD tekniğinde en önemli faktörlerin DNA, Mg⁺² ve polimeraz konsantrasyonu ve denaturasyon sıcaklığı olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar, RAPD tekniğinin buğdayda kullanılmasında ilk önceleri az düzeydeki çoğalma ve düşük polimorfizmden dolayı sorunlarla karşılaştıklarını bildirmişlerdir. Bu sorunun buğdayın geniş genomik yapıya ve yüksek oranda tekrarlanan DNA karakteristiğine sahip olmasından kaynaklandığını vurgulamışlar ve RAPD tekniği ile bazı diğer teknikleri birleştirerek bu sorunun ortadan kaldırıldığını bildirmişlerdir.

He ve ark.(1992), buğday varyetelerinde DNA polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, 65 primer kombinasyonu kullanmışlar ve % 38 oranında yeniden üretilebilir DNA polimorfizmi bulmuşlardır. Ayrıca ticari ve ışlah hatları arasında yüksek seviyede polimorfizm gözlendiğini belirtmişlerdir.

Skroch ve ark.(1992), iki genotipin RAPD markörleri ile karşılaştırılmasının, her genotip için RAPD markörlerinin var olduğu (1) veya olmadığına (0) göre yapıldığını ve markör çoğalımlarının varlığı veya yokluğu için genotip karşılaştırması yapılırken sonuçların karşılaştırma türüne göre değişebileceğini belirtmişlerdir. Her iki genotipte de RAPD markörlerinin olmasının, bu lokusta yüksek düzeyde baz dizilişi (sekans) benzerliğinin olduğunu, bir genotipte markör olup da diğerinde olmaması durumunun ise genotiplerde baz dizilişi farkı olduğuna işaret ettiğini vurgulamışlardır.

Vierling ve ark. (1992), diploid buğday (*Triticum monococcum* ve *Triticum urartu*) genotipinde genetik farklılığı belirlemek amacıyla RAPD yöntemini kullanmışlardır.

Araştırmacılar, her iki genotip açısından yüksek oranda polimorfizm belirlemişler ve benzerlik oranını oldukça yüksek bulmuşlar ve çalışma sonunda RAPD analizlerinin genotipler arası genetik ilişkileri belirlemede rahatlıkla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Joshi ve Nguyen (1993 a), RAPD yöntemi ile 15 adet ekmeklik buğday çeşidinde genetik ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, elde ettikleri 109 PCR ürününden 71 (%65) tanesinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Jaccard'ın katsayısına dayalı dendogramda birçok yazlık ve kışlık buğday bir araya toplanmıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre, buğdayda agronomik olarak önemli özelliklerin belirlenmesi için uygun anaçların haritalanmasında RAPD yönteminin kullanımının yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Joshi ve Nguyen (1993 b), İsrail, Türkiye, Ürdün, Amerika ve Suriye orijinli yabancı ve kültürü yapılan tetraploid buğdaylar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 40 RAPD primeri ile çalışmışlar ve İsrail, Türkiye ve Ürdün'den topladıkları yabancı tetraploid buğdaylardan Amerika, Türkiye ve Suriye orijinli kültürü yapılan tetraploid çeşitlerden daha yüksek seviyede polimorfizm elde etmişlerdir. Kümeleme analizi sonucu oluşturdukları fenogramda birbirine çok az benzeyen genotipler bulduklarını bildirmişlerdir.

Tinker ve ark.(1993), RAPD markörlerinin, pedigri bilgilerinde açık olmayan genetik benzerlik ya da farklılıklar hakkında bilgi edinmek için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Chen ve ark. (1994), 45 adet kırmızı-sert yazlık buğday arasındaki genetik farklılıkları belirlemeye çalıştıkları araştırmalarında, genetik benzerlik oranını 0.65-0.99 arasında tahminlemişler ve ortalama genetik benzerlik oranını 0.81 olarak bulduklarını ifade etmişlerdir. Deneme sonucunda heksaploid kırmızı-sert yazlık buğdaylar için, ıslah havuzunun genetik farklılığının, göreceli olarak dar olduğunu bildirmişlerdir.

Castagna ve ark. (1997), yabancı diploid buğday genotiplerinde RFLP ve RAPD markörleri ile genetik varyabiliteyi araştırdıkları çalışmalarında 155 polimorfik bant elde etmişler ve RAPD için benzerlik indeksini 0.423-0.982 arasında, ortalama genetik benzerlik değerini 0.718 olarak bulmuşlardır.

Mayer ve ark. (1997), RAPD yöntemi sayesinde genlerin belirlenmesi, genom haritaları, genetik parmak izi, genetik varyasyon ve hibritlerin tanımlanması işlemlerinin kolaylaşacağını belirtmişlerdir.

Nagaoka ve Ogihara (1997), farklı DNA markör yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında 45 döngülük PCR reaksiyonu için, 94 °C'de 3 dakika ön uzatma, 94°C'de 1 dakika uzatma, 36°C'de 1 dakika bağlanma, 72°C'de 2 dakika uzama ve 72°C'de 7 dakika son uzama sıcaklıklarını ve sürelerini kullanmışlardır.

Cao ve ark. (1998), 69 spelta ve 32 macha buğdayını RAPD analizi ile değerlendirmişlerdir. Benzerlik katsayılarını spelta buğdayları için 1.00-0.58, macha buğdayları için ise 1.00-0.42 arasında bulmuşlardır. Spelta buğdaylarında 48 adet, macha buğdaylarında ise 26 adet polimorfik bant elde etmişler ve RAPD analizlerinin buğday germplazm koleksiyonlarında genetik farklılıkları teşhis etmede kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

De Bustos ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada 25 µl PCR reaksiyon hacmi için; uygun ekonomik DNA yoğunluğunu 12.5 ng ve primer yoğunluğunu ise 7.5 ng olarak tespit etmişlerdir. Test ettikleri 10 baz dizilimli 64 primerden 10 tanesinin polimorfizm verdiğini ve toplam 250 RAPD ürünü elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Paul ve ark.(1998), Avustralya orjinli buğday varyeteleri ve ıslah materyali üzerinde yaptıkları genetik farklılık çalışması sonucunda genetik benzerlik oranını 0.004-0.409 arasında bulmuşlardır. Genetik benzerlik baz alınarak yapılan kümeleme analizine göre inceledikleri genotiplerin 4 grupta toplandığını saptamışlardır.

Sun ve ark. (1998 a), çalışmalarında Kuzey Çin'den 38 kışlık ve Kanada'dan 2 yazlık buğday genotipini RAPD analizlerinde kullanmışlardır. 40 genotipte 10 baz dizilimli 59 primer test etmişler ve 29 tanesinde % 49 oranında polimorfizm elde etmişlerdir. 29 primerden toplam 168 adet ürün çoğaltmışlar ve bunlardan 78'inin polimorfik olduğunu ve her primer için çoğaltılan polimorfik ürünün 1-6 bant arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Ortalama genetik uzaklığı 0.256 (0.103-0.519 arasında değişen) tespit etmişlerdir. Araştırmaları sonucunda, RAPD markörlerinin, genetik farklılıkların ve heterotik buğday gruplarının belirlenmesi ile parmak izi saptanmasında yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Sun ve ark. (1998 b), genetik farklılık ve ilişkileri belirlemek amacıyla Tibet'te bulunan 7 endemik hekzaploid buğday (*Triticum aestivum ssp. tibetarum*), 22 buğday çeşidi ve 17 kaplıca buğday hattını RAPD analizlerine tabi tutmuşlardır. Kaplıca ve Tibet endemik buğday gruplarında polimorfizm oranını (% 57.6- % 50.9) diğerlerine göre daha yüksek bulmuşlardır. Genetik uzaklıklarda Tibet ve buğday çeşitleri arasındaki uzaklığın Tibet ve kaplıca buğdayları arasındaki uzaklıktan daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu 46 genotipte 279 ürün elde etmişler ve 182 tanesini polimorfik olarak bulmuşlardır. Sonuçta kaplıca ve Tibet buğdaylarının genel buğday çeşitlerine göre daha fazla genetik farklılık taşıdıklarını ve buğday çeşit ıslahında kullanılabileceklerini bildirmişlerdir.

Akkaya ve ark. (1999), Türkiye makarnalık buğday çeşitlerinde DNA belirleyicileri kullanarak genetik çeşitliliği araştırdıkları çalışmalarında, Türkiye makarnalık buğday çeşitlerinin genetik bakımdan birbirlerine yakın olduğunu ve dar bir genetik temele dayandıklarını saptadıklarını belirtmişlerdir.

Cao ve ark. (1999), RAPD markörleri kullanarak *Triticum* türlerini sınıflamak amacıyla yaptıkları çalışmaları sonucunda hekzaploid buğdaydaki D genomunun özel bir RAPD primeri ile belirlendiğini bildirmişler ve primer başına ortalama 8.4 polimorfizm belirlemişlerdir.

Fahima ve ark. (1999), İsrail'de RAPD tekniği ile DNA'lardaki genetik çeşitliliği 110 adet tetraploid buğdayların genitörü olan yabancı buğdaylarda (*Triticum dicoccoides*) test etmişler ve İsrail'den toplanan buğdaylardaki yüksek oranda genetik çeşitliliği RAPD markörleri ile ortaya koymuşlardır. Kullandıkları 10 primerde toplam 59 RAPD ürünü elde etmişler, bunların 48'ini polimorfik ve 11'ini ise monomorfik olarak belirlemişlerdir. Genetik uzaklığı 0.017-0.165 olarak belirledikleri çalışmalarında genetik farklılığı 0.524-0.188 değerleri arasında saptamışlardır. Araştırmacılar, RAPD analizinin Türkiye ve İsrail'in değişik coğrafik bölgelerinden toplanan *Triticum dicoccoides* genotiplerinin ayrılmasında oldukça etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Li ve ark. (1999), İsrail'de 118 tescilli yabancı emmer buğdayı (*Triticum dicoccoides*) bireylerinde genetik çeşitliliği RAPD-PCR tekniği ile araştırdıkları çalışmalarında DNA polimorfizmi bulmuşlar ve bu polimorfizmin mikro iklimik streşten kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Liu ve ark. (1999), RAPD markörleri ile ebeveynler ve hibridleri arasındaki genetik farklılığı inceledikleri çalışmalarında, 10 baz dizilimli 60 primerden 9'unu polimorfik bulmuşlar ve her primer için 6-12 arasında RAPD ürünü elde etmişlerdir. Yapmış oldukları kümeleme analizi sonucuna göre ise 20 buğday hattının 4 ana grupta toplandığını belirlemişlerdir. Bu sonuçlara göre RAPD markörleri ile farklı performanslara sahip buğday hatlarının belirlenmesinin ve sınıflandırılmasının mümkün olduğu bildirmişlerdir.

Pujar ve ark. (1999), tetraploid buğday genotipleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, toplam 206 adet bant elde etmişler ve bunların 162 adetinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. En yüksek polimorfizmi % 68.9 oranı ile yaygın olarak ekimi yapılmayan yabancı tetraploid türlerde bulmuşlardır. Kültürü yapılan durum buğdaylarında % 50.6, yerel populasyonlarda % 44.8, dicoccum çeşitlerinde % 23.6 polimorfizm elde etmişler ve kümeleme analizi sonucunda 3 grubun oluştuğunu belirlemişlerdir.

Yıldırım (1999), genetik haritaların tahıl ıslahındaki önemi ve kullanımı konulu çalışmasında, RAPD tekniğinin az miktarda ve düşük kalitede DNA ihtiyacı duyan oldukça hızlı, ucuz ve az işgücü gerektiren bir teknik olmasına rağmen sadece dominant markör vermesi, güvenilirliğinin az olması ve tekrarlanan DNA dizilimlerinin çoğaltılması gibi ciddi dezavantajlara sahip olduğunu belirtmiştir.

Bedö ve ark. (2000), RFLP ve RAPD markörleri kullanarak farklı orjinli 23 kışlık makarnalık buğday varyetesinin genetik farklılıklarını inceledikleri çalışmalarında, polimorfizm oranını 0.875 ve benzerlik katsayısını 0.03-0.74 arasında saptamışlardır.

Czaplicki ve ark. (2000), buğday çeşitlerinin tanımlanmasında RAPD moleküler metodunun çeşitler arasında benzerliğin belirlenmesi için yararlı olduğunu belirtmişlerdir.

Doğrar ve ark. (2000), durum buğdayları üzerinde yaptıkları bir çalışmada polimorfizm oranını en düşük 0.609, en yüksek 0.872 olarak hesaplamışlardır. Kümeleme analizi sonucunda fenogramda iki sınıf oluştuğunu bildirmişler ve bu bulgu sonucunda Türkiye'de durum buğdayları arasında dar bir genetik havuzun bulunduğunu vurgulamışlardır.

Freitas ve ark. (2000), 14 Brezilya ekmeçlik buğday çeşidindeki genetik varyasyonu belirlemek amacıyla 10 baz dizinlik rasgele 50 RAPD primeri taradıkları çalışmaları sonucunda, 48 primerden toplam 256 tekrarlanabilir DNA amplifikasyon ürünü elde etmişler, bunun % 33'ünün ise polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan genetik yakınlık hesapları ve fenogramlara göre düşük farklılıklara karşın (ortalama genetik yakınlık % 27) anaçlarını yansıtan iki grup çeşidin tanımlandığını tespit etmişlerdir.

Selbach ve Molina (2000), arpa'da 18 adet RAPD primeri kullanarak yürüttükleri çalışmalarında, toplam 313 DNA fragmenti elde etmişler ve bu bantlardan 221 tanesini analize tabi tutmuşlardır. Analize tabi tutulan 221 bantın 206 tanesinin polimorfik olduğunu ve polimorfizm oranında % 93 olduğunu bulmuşlardır. Elde ettikleri DNA fragmentlerinin moleküler büyüklüklerinin 160-2500 bç arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Szucs ve ark. (2000), farklı kökenlere sahip 23 makarnalık buğday çeşidinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla RAPD ve RFLP analiz sistemlerini kullandıkları çalışmalarında, 16 RAPD primerinin 8'inde polimorfizm oranının %50 olduğunu, benzerlik değerinin 0.03-0.18 arasında bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarıyla araştırmacılar, makarnalık çeşitlerin oransal olarak genetik tabanlarının dar da olsa polimorfizm ortaya koyduklarını bildirmişlerdir.

Tavale (2001), ISSR ve RAPD markörleri kullanarak 13 buğday genotipinde yaptığı moleküler analiz çalışması sonucunda, 12 RAPD primerinden toplam 87 bant elde ettiğini ve bunun 67'sinin polimorfik olduğunu belirtmiştir. Ürünlerin ağırlıklarının 450 bç-1800 bç arasında değiştiğini bildirmiştir. Polimorfizm oranını % 60-% 90 arasında hesaplamıştır. Yaptığı kümeleme analizi sonucu ise fenogramda 2 ana küme oluştuğunu saptamıştır.

Akar (2002), Türkiye'de yetiştirilen yerel makarnalık buğday (*Triticum durum* L.) çeşitlerinde genetik farklılığın polimorfik DNA analizi ile belirlenmesi konulu çalışmasında, 10 tane yerel ve 3 tane tescilli çeşidi, 15 adet 10 baz dizinlik primer ile taramış ve 92 adet RAPD lokusu saptamıştır. Bu lokuslardan 12 tanesi monomorfik, kullanılan primerlerden 12 tanesinin polimorfik bant ürettiğini belirlemiştir. Araştırmacı, RAPD belirteçlerine dayalı hat ve çeşitler arası genetik mesafeyi 0.74 ile 0.99 arasında değiştiğini saptamıştır. Çalışmada morfolojik ve RAPD belirteçleri yönünden yerel

çeşitlerde yüksek farklılıkların bulunması nedeniyle bu materyallerden kaliteli ve daha yüksek verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesinin olanaklı olduğunu gösterdiğini belirtmiştir.

Amiour ve ark. (2002), Avrupa'da yetiştirilen tritikale çeşitlerinin depo proteinleri üzerine yaptıkları bir çalışmada PCR reaksiyonu için, 94 °C'de 5 dakika ön uzatma, 94°C'de 30 sn 30 döngü ve 72°C'de 5 dakika son uzatma süreleri ile primerlere göre değişen Tm ısılarını kullanmışlardır.

Barcaccia ve ark. (2002), İtalyan yerel emmer buğdayları üzerinde yaptıkları moleküler karakterizasyon çalışmalarında, genetik farklılığı % 48 oranında bulmuşlardır. RAPD-PCR'da 40 döngü için, 95°C 5 dk, 94°C 45 s, 36°C 30 s, 72°C 1 dk, 72°C 10 dk sıcaklıkları ile süreleri kullanmışlar ve elde edilen ürünleri %1.5'lik agaroz jelde 1x TBE çözeltisi kullanarak yürütmüşlerdir.

Cao ve ark. (2002), 29 adet ekmeklik buğday çeşidini RAPD analizi ile değerlendirmişler ve 21 primerden toplam 214 DNA fragmenti üretmişlerdir. Her primerden 3-12 arasında, ortalama 6.9 bant elde edildiğini belirtmişlerdir. DNA fragmentlerinin moleküler boyutlarının 280-2800 bç arasında değiştiğini bildiren araştırmacılar çoğalan 214 üründen % 54.7'sinin monomorfik, % 45.3'ünün ise polimorfik bant olduğunu vurgulamışlardır. Primer başına ortalama % 3.1 polimorfizm elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Fernandez ve ark. (2002), farklı ülkelerden gelen 16 arpa çeşidinde 125 RAPD markörü elde etmişlerdir. Primer başına ortalama 12.5 bant oluştuğunu belirtmişler ve moleküler ağırlıkların 250-1450 bç arasında değiştiğini saptamışlardır. Çalışmada % 63 oranında polimorfizm elde edilmiş ve yaptıkları kümeleme analiz sonucunda da arpa çeşitlerinin 2 ana grupta toplandıkları belirtilmiştir.

Gawel ve ark. (2002), buğday ve tritikale çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği araştırdıkları çalışmalarında 20 µl PCR reaksiyon hacmi için; 20 ng genomik DNA, 1.0-1.2 µM primer, 200 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 2mM MgCl₂ ve 1.0 ünite Tag polimeraz kullanmışlardır. Çalıştıkları 24 primerden primer başına 6-28 DNA fragmenti çoğaltıldığını bildirmişlerdir.

Mukhtar ve ark. (2002), 20 buğday genotipini inceledikleri çalışmalarında, 50 primerden 445 DNA fragmenti elde etmişler ve polimorfizm oranını % 64.38 olarak

hesaplamışlardır. Genotipler arasındaki genetik benzerlik katsayılarının % 75.60 - % 92.74 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları kümeleme analizi sonucunda fenogramda genotiplerin 1 büyük ve 2 küçük alt grupta toplandıklarını tespit etmişlerdir.

Pujar ve ark. (2002), farklı buğday varyetelerinde genetik çeşitliliği belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarında, primer başına ortalama 9.81 adet bant elde etmişler ve bunların ortalama 7.71 tanesini polimorfik bulmuşlardır. Buğday varyeteleri arasında genetik uzaklığı ise, tetraploidlerde 0.492 (% 68), yerel durum çeşitlerinde 0.313 (% 44.8), durum çeşitlerinde 0.322 (% 50.6) ve dicoccum çeşitlerinde ise 0.417 (% 23.6) polimorfizm olarak belirlemişlerdir.

Soleimani ve ark. (2002), 13 makarnalık buğday çeşidinde genetik farklılığı inceledikleri araştırmalarında akrabalık katsayısını 0.76, genetik uzaklığı 0.40 olarak bulmuşlardır. Kümeleme analizi sonucuna göre çeşitlerin ıslah orjinlerine göre 3 ana grupta toplandıklarını ve genetik varyasyon seviyesinin oldukça zengin olduğunu belirtmişlerdir.

Abdolahie ve ark. (2003), İran buğday çeşitleri ile yaptıkları çalışma sonucunda 8 RAPD primerinden % 58 oranında polimorfizm elde etmişlerdir.

Sun ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada, RAPD markörlerini *Fusarium* (solgunluk)'a dayanıklılık yönünden çeşitlilik gösteren 35 yazlık buğday çeşidi ve hattında genetik farklılığı ortaya koymak amacıyla kullanmışlardır. Çalışmada 160 primer denemişler ve 17 tanesinin tekrarlanabilen, polimorfik bantlar verdiğini tespit etmişlerdir. RAPD verilerine göre hesaplanan genetik benzerlik oranının 0.64-0.98 arasında değiştiğini saptamışlardır.

Taghian ve Abo-Elwafa (2003), yazlık ekmeklik buğday çeşitleri üzerinde kuraklık toleransı üzerine yaptıkları bir çalışmada, RAPD-PCR analizleri sonucu 43 adet bant elde etmişler ve % 41.86 oranında polimorfizm hesaplamışlardır. Elde edilen bantların moleküler ağırlıklarının 408-1506 bç arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda test edilen genotipler arasında yüksek oranda benzerlik (% 89.66) ve düşük oranda genetik uzaklık (0.109) bulmuşlardır.

Teshale ve ark. (2003), Hindistan orjinli 27 buğday hattı (17 heksaploid ve 10 tetraploid) ile çalıştıkları araştırmada, PCR ürünlerinin 0.03-3.0 kb arasında değiştiğini

belirtmişlerdir. Çalışmada 82'si (% 79.6) polimorfik olan toplam 103 RAPD bandı çoğaltmışlardır. Hekzaploid türlerde toplam 98 banttan 64'ü (% 65.3) polimorfik olarak bulunurken, tetraploidlerde 103 banttan 78'i (% 75.7) polimorfik bulunmuştur. Araştırmacılar, hekzaploid ve tetraploidler arasındaki benzerlik katsayısını sırasıyla 0.630-0.952 ve 0.400-0.966 arasında saptamışlardır. Çalışma sonucunda benzerlik matrisi hesaplamalarına göre tetraploid türlerin hekzaploid genotiplere oranla daha geniş genetik uzaklığa sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Todorovska ve ark. (2003), RFLP ve RAPD markörleri kullanarak Bulgar arpa varyeteleri arasındaki genetik farklılıkları inceledikleri çalışmalarında, test edilen çeşitler arasında yüksek oranda genetik benzerlik saptamış ve genetik benzerlik oranını RAPD markörlerinde 0.888-0.997 arasında bulmuşlardır. Çalışma sonunda Bulgaristan'da arpa çeşitleri arasında dar bir genetik havuz bulunduğunu ve ıslahçıların melezleme programlarına yeni genetik kaynakları almaları gerektiğini belirtmişlerdir.

Akkaya ve Büyükünel-Bal (2004), 11 ekmeklik buğday çeşidinde genetik varyasyonu belirlemek amacıyla yürüttükleri araştırmalarında polimorfizm oranını 0.36-0.87 arasında, ortalama olarak 0.68 olarak saptamışlardır.

Atak (2004), farklı triticale hatlarının morfolojik ve DNA markörleriyle genetik karakterizasyonunu belirlediği çalışmasında, RAPD-PCR sonuçlarına göre kullandığı primerlerden 15 tanesinin amplifikasyon gösterdiğini ve % 61.6 oranında polimorfizm elde edildiğini bildirmiştir. Primer başına 4 adet RAPD ürünü oluşturduğunu, bunlardan 2.46'sının polimorfik bulunduğunu belirtmiştir. Tritikale hatları arasındaki genetik uzaklıkların 0.034 ile 0.457 arasında değiştiğini göstermiş ve RAPD-PCR yönteminin tritikale genotiplerinin karakterizasyonunda kullanılabileceğini ifade etmiştir.

Khan ve ark. (2004), bitkilerde ekonomik ve hızlı bir şekilde DNA izolasyonu yapılmasını araştırdıkları çalışmalarında, 25 µl PCR reaksiyon hacmi için; 10 ng DNA, 2.5 µl 10x Buffer, 3 µl 25 mM MgCl₂, 4 µl 2.5 mM dNTP, 15 ng primer, 1U Tag polimeraz ve 8.3 µl su kullanmışlardır. Araştırmacılar 40 döngülük PCR reaksiyonu için, 94 °C'de 5 dakika ön uzatma, 94°C'de 1dakika uzatma, 36°C'de 1 dakika bağlanma, 72°C'de 2 dakika uzama ve 72°C'de 10 dakika son uzama ısılarını kullanmışlardır. Elde ettikleri PCR ürünlerini % 1.2'lik agaroz jelde yürütmüşlerdir.

Kuleung ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada, DNA'ya dayalı moleküler markörlerin, genomik haritaların çıkartılmasında, DNA parmak izi analizlerinin yapılmasında, populasyon yapısının belirlenmesinde ve genetik çeşitliliğin ortaya konmasında oldukça güçlü bir araç olduğunu bildirmişlerdir.

Maric ve ark. (2004), toplam 14 buğday çeşidi ve ıslah hattı üzerinde 36 primer denemişler ve 14 adet primerin polimorfizm verdiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında toplam 341 polimorfik bant elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çoğaltılan bantların moleküler ağırlıklarının 400-1900 bp arasında değiştiğini bulmuşlardır. Primer başına polimorfik bant sayısını 24.35 olarak hesaplamışlar ve iki grup arasında ortalama genetik uzaklığı 0.45 olarak bulmuşlardır. Farklı ıslah programlarına göre elde edilen modern kışlık buğday çeşitlerinde dar bir genetik farklılığın olduğunu bildirmişlerdir.

Naghavi ve ark. (2004), ekmeklik buğdayda genetik farklılıkları belirlemek amacıyla 2 farklı DNA temelli teknik (RAPD-SSR) denemişlerdir. RAPD analizleri sonucunda çalıştıkları 17 primerden toplam 188 adet açık ve tekrarlanabilen bant elde etmişlerdir. Araştırmada polimorfizm oranı % 88 ve ortalama genetik benzerliği 0.88 olarak bulunmuştur.

Özaydın (2004), "RAPD (Rasgele Arttırılmış Polimorfik DNA) belirleyicileri ve bitki sistematiği" konulu çalışmasında, RAPD yönteminin genetik polimorfizmi belirleyen PCR temelli bir teknik olduğunu belirtirken, tekniğin en büyük avantajlarının genom dizisi hakkında ön bilgiye, yüksek saflıktaki DNA'dan çok miktarlara, Southern blot veya radyoaktif kimyasallara ihtiyaç duymaması olduğunu bildirmiştir. Ayrıca hızlı ve düşük maliyeti olduğunu belirtmiştir. RAPD tekniğinin değişik bitki türlerinin değişkenliğinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde başarıyla uygulandığını belirtmiştir.

Tams ve ark. (2004), Avrupa'da yetiştirilen 128 adet tritikale genotipi arasında genetik çeşitliliği araştırdıkları çalışmaları sonucunda, ortalama polimorfizm oranını 0.54, ortalama genetik uzaklığı ise 0.33 olarak bulmuşlardır.

Bilgin ve Korkut (2005), bazı ekmeklik çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarını belirledikleri çalışmalarında, kullanılan primerlerde genotiplerin amplifikasyon bant sayılarının 2-11 adet arasında değiştiğini saptamışlardır. Ekmeklik buğday genotiplerinde en düşük benzerlik oranını 0.365, en yüksek benzerlik oranını ise 0.946 olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri fenograma göre genotiplerin 2 ana gruba ayrıldığını

saptamışlardır. RAPD tekniğinin çok az bitki örneği ile yapılabilmesi, bütün işlemin yaklaşık 6-8 saat sürmesi ve moleküler tanımlamalarda yöntemin hızlı, güvenilir ve etkili olması araştırmalarda bu yöntemin yaygın olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Hou ve ark. (2005), RAPD markörleri ile yaptıkları çalışmalarında yüksek düzeyde polimorfizm (0.574) bulmuşlardır. RAPD analizlerinde elde ettikleri 109 banttan 84'ünün (% 77.06) polimorfik olduğunu belirtmişlerdir. Primer başına ortalama 4.19 oranında 2-8 arasında değişen allel sayıları elde etmişlerdir. Genetik benzerliğin, 0.753-0.980 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Gülşen ve Mutlu (2005), bitki biliminde kullanılan genetik markörler ve kullanım alanları konulu çalışmalarında, RAPD tekniğinin genetik kaynaklar arasındaki çeşitlilik, bitki populasyonunda kullanılan bireyler arasındaki ilişkilerin tespitinde ve genetik haritalama çalışmalarında en fazla kullanılan yöntemlerden birisi olduğunu belirtmişlerdir.

Khan ve ark. (2005), 20 buğday genotipini inceledikleri çalışmalarında 42 primer kullanarak toplam 452 bant elde etmişlerdir. Bu bantlardan 184 tanesinin polimorfik olduğunu ve primer başına ortalama 11 bant elde edildiğini saptamışlardır.

Montzavinou ve ark. (2005), RAPD markörleri ile durum buğdaylarında genetik farklılıkları belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında 10 baz dizimli 87 adet primer değerlendirmişler ve gösterdikleri polimorfizm oranı bakımından 15 adet primeri çalışmada kullanmışlardır. Çalışmada 123 (% 83.3) tanesi polimorfik olan 150 DNA bandı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Primer başına, 8.3'ü polimorfik olan 10 DNA bandı çoğaldığını saptamışlardır. Genotipler arasındaki benzerliğin 0.153-0.973 arasında değiştiğini belirtmiş ve kümeleme analizini UPGMA ve Njoin metoduna göre yaparak 2 küme oluştuğunu saptamışlardır.

Ramshini ve ark. (2005), 21 ekmeklik buğday çeşidinde RAPD markörleri ile genetik farklılığı belirlemeye çalıştıkları çalışmalarında, toplam 213 bant elde etmişler ve bunların 188 tanesinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada primer başına ortalama 12.5 bant elde edildiği ifade edilmiştir.

Sud ve ark. (2005), 20 adet elit buğday genotipi kullanarak yürüttükleri çalışmalarında toplam 93 adet polimorfik bant elde etmişler ve genotipler arası

benzerliklerin 0.47-0.91 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Genotiplerin kümeleme analizi sonucunda 2 ayrı grupta toplandığını bildirmişlerdir.

Bhutta (2006), RAPD yöntemi ile buğday genotiplerinde biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu incelediği çalışmasında, 40 primer ile toplam 413 fragment çoğaltmış ve % 46.97 oranında polimorfizm elde etmiştir. Farklı orijinli 16 buğday çeşitinde 194 polimorfik bant belirlemiştir. Araştırmada bitki materyali olarak kullandığı çeşitler arasında RAPD varyasyonunu düşük olarak gözlemiştir. Kümeleme analizi sonucu fenogramda 1 büyük ve 2 küçük grup oluştuğunu belirtmiştir.

Bhutta ve ark. (2006), 10 ekmeklik buğday genotipinde RAPD markörleri kullanarak genetik varyasyon ve ilişkileri belirlemeye çalıştıkları çalışmalarında, 25 primerden toplam 190 DNA fragmenti elde etmişlerdir. Bunların 84 (% 44.64) tanesinin polimorfik olduğunu saptamışlardır. Bütün primerlerin ağırlıkları 0.17-2.6 kb arasında değişen, 3-10 adet bant verdiklerini, genetik varyasyonun ise % 83-% 93 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. 10 genotip arasında dar bir genetik varyasyon olmasına rağmen, RAPD analiz yönteminin buğday genotipleri arasında genetik varyasyonu belirlemede oldukça etkili olduğunu ve çeşitlerin DNA parmak izinin tanımlanmasında kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Karcicio (2006), yerel durum buğday eşitlerinde (*Triticum durum* Desf.) RAPD-PCR tekniği ile genetik çeşitliliği araştırdığı çalışmasında rasgele seçilmiş 42 primerden 26'sını informatif bulmuştur. Polimorfik primerlerden elde ettiği toplam 176 PCR ürününden 81'inin polimorfik olduğunu bildirmiş ve çalışılan durum buğdayı çeşitlerinde polimorfizm oranını % 46 olarak saptamıştır. Araştırıcı, ayrıca durum eşitleri arasındaki genetik varyasyonun tespit edilmesi amacıyla Temel Bileşenler Analiz (PCA) kullanmış ve sonuçta çalışmada kullandığı çeşitlerin genetik varyasyon bakımından dört ana grup oluşturduğunu tespit etmiştir.

Migdadi ve ark. (2006), 59 RAPD Primeri kullanarak yürüttükleri çalışmalarında toplam 47 farklı boyutta, 52 tanesi polimorfik olan DNA fragmenti çoğaltmışlardır. alışmalarında polimorfizm oranının % 31.7-% 43.7, benzerlik oranının ise 0.24-0.94 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Kümeleme analizi sonucunda fenogramda çalıştıkları genotiplerin 2 ayrı kümede toplandıklarını belirlemişlerdir.

Naz ve ark. (2006), 10 adet Pakistan buğday varyetesi arasındaki genetik çeşitliliği RAPD markörleri ile analiz ettiği çalışmalarında, çoğalan parçaların bant büyüklüklerinin 250-1000 bç arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Genotipler arasındaki genetik uzaklığı 0.00-0.63 olarak belirlemişlerdir. Kümeleme analizi sonucunda buğday varyetelerinin 3 grupta toplandığını gözlemlemişlerdir.

Shoaib ve Arabi (2006), ekmeklik ve makarnalık buğdaylarla gerçekleştirdikleri bir araştırmada, % 46.67 oranında polimorfizm elde etmişler ve kümeleme analizi sonucunda çeşitlerin 2 grupta toplandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar ortalama genetik benzerlik oranını 0.884 olarak bulmuşlar, belirledikleri bu dar genetik farklılığın genotiplerin aynı orijinden kaynaklanmasına dayanabileceğini bildirmişlerdir.

Thomas ve ark.(2006), *Triticum aestivum*, *T.durum*, *T.dicoccum* ve *Triticale* türlerine ait 96 adet buğday varyetesi üzerinde RAPD markörleri kullanarak yürüttükleri çalışmalarında 312 adet bant elde etmişler ve 246 (% 78.8) tanesinin polimorfik olduğunu belirlemişlerdir. Elde ettikleri bantların ağırlıklarının 200 bç – 2800 bç arasında değiştiğini saptamışlardır. Kümeleme analizi sonucu hekzaploid varyetelerin büyük bir tane grup oluştururken, tetraploid varyetelerde 2 ayrı grup oluştuğunu belirtmişlerdir.

Aliyev ve ark. (2007), diploid ve tetraploid buğday türlerinin RAPD markörler ile genetik tanımlamasını yaptıkları çalışmalarında, RAPD fenogramına göre yapılan karşılaştırmada çalıştıkları genotiplerde genetik ve fenotipik benzerlikler arasında farklılıklar bulmuşlardır. Saptadıkları sonuçlara göre genetik olarak benzer genotiplerin, fenotipik olarak farklı olabileceğini belirtmişlerdir.

Cenkci ve ark. (2007), çalışmalarında 12 yabani ve 10 kültür buğdayı arasındaki genetik ilişkileri belirlemek amacıyla RAPD-PCR tekniğini kullanmışlardır. Kullandıkları 16 primerden toplam 262 polimorfik bant elde ettiklerini bildirmişlerdir. Genetik benzerlik katsayılarını kültür formları için 0.714-0.388, yabani formlar için ise 0.526-0.076 arasında bulmuşlardır. Çalışma sonunda yabani ve kültür formları arasında genetik benzerliğin düşük (0.288-0.000) olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak, RAPD tekniği ile başarılı bir şekilde kültür ve yabani buğday türleri arasındaki genetik ilişkinin belirlenebildiğini vurgulamışlardır.

Grewal ve ark. (2007), RAPD markörleri ile yaptıkları bir çalışmada, toplam 372 bant oluşturmuşlar ve bunların 323 (%86.8) adetinin polimorfik olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada primer başına oluşan bant sayılarının 5-30 arasında, PCR ürünlerinin ağırlıklarının ise 162 bç-2529 bç arasında değiştiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, 0.52- 0.82 arasında değişen benzerlik katsayısı bularak buğday genotipleri arasında yüksek genetik varyabilite belirlemişlerdir. Yapılan kümeleme analizi sonucu ise 2 ana grup oluşmuştur.

Iqbal ve ark. (2007), buğday genotipleri arasında genetik çeşitliliği 7 buğday genotipini (6 yerel olmayan ve 1 yerel genotip) kullanarak inceledikleri çalışmalarında, 15 primerden toplam 112 DNA fragmenti elde etmişler ve 112 banttan 50 tanesinin polimorfizm gösterdiğini bildirmişlerdir. Genotipler arasındaki benzerlik indeksinin ise % 86.2-% 93 arasında değiştiğini ve bu sonuca göre genotipler arasında dar bir genetik farklılık görüldüğünü tespit etmişlerdir. Sonuçta RAPD metodu ile buğday genotiplerinin karakterizasyonu ve gruplandırılmasının yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Motawei ve ark. (2007), 12 adet ekmeklik buğday hattı ve 2 adet ekmeklik buğday çeşidi üzerinde RAPD ve ISSR markörleri ile çalışmışlar ve RAPD analizleri sonucunda % 71 oranında, ISSR analizleri sonucunda ise % 67.8 oranında polimorfizm saptamışlardır. Kümeleme analizi sonucunda çalışılan buğday genotiplerinin 2 ana grupta toplandığını belirtmişlerdir.

Wang ve ark. (2007), 9 mutant buğday hattında genetik farklılıkları RAPD ve SSR yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında, tüm deneme materyalinde 733 fragment elde etmişler ve bunlardan 170 adedinin RAPD markörü olduğunu belirtmişlerdir. Yapmış oldukları RAPD analizleri sonucu % 16.5 oranında polimorfizm elde ederken, genetik uzaklığın da 0.010-0.107 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Kümeleme analizi sonucuna göre ise buğday hatlarının 2 grupta toplandıklarını saptamışlardır.

Abbas ve ark.(2008 a), Pakistan'ın farklı bölgelerinde yetiştirilen 15 buğday genotipinin moleküler genetik farklılıklarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, RAPD primerleri kullanarak ortalama 21.6 allel çoğaltmışlardır. Genotipler arasında genetik uzaklıkları % 25 - % 81 arasında tahminleyen araştırmacılar elde edilen fragmentlerin 250-3000 bç arasında olduğunu vurgulamışlardır. Çalışma sonucunda 15 genotipte yüksek seviyede genetik farklılık bulunduğunu ve yapılan kümeleme analizi

sonucunda 5 ana grup oluştuğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların, Pakistan'ın farklı bölgelerinde yetiştirilen 8 buğday varyetesinde genetik farklılıkları belirlemek amacıyla yaptıkları diğer bir araştırma sonucunda ise genetik uzaklıklar % 2-% 56 arasında tespit edilmiştir. Fragmentlerin moleküler ağırlıklarının ise 250-1000 bç arasında olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan kümeleme analizine göre 8 varyetenin 4 ana grupta toplandığını ve yüksek düzeyde farklılık bulunduğunu bildirmişlerdir.(Abbas ve ark., 2008 b).

Altıntaş ve ark. (2008), Türkiye'de kültürü yapılan 12 durum ve 22 ekmeklik buğday genotipi kullanarak yürüttükleri çalışmalarında toplam 334 bant çoğaltmışlar ve bunların 214 (% 62)'ünün polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Polimorfizm oranını durum buğdaylarında % 26- % 58 arasında, ekmeklik buğdaylarda ise % 35-% 58 arasında polimorfizm hesaplamışlardır. Genetik uzaklık değerlerinin ise, durum buğdaylarında 0.072-0.216, ekmeklik buğdaylarda 0.066-0.214 değerleri arasında bulmuşlardır. Çalışmada Türkiye'de kullanılan durum ve ekmeklik buğday çeşitleri arasında dar bir genetik farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Cenkci ve ark. (2008), Türkiye'de bazı yabancı *Triticum* ve *Aegilops* türleri ile buğday çeşitleri üzerinde yaptıkları RAPD analizlerinde, 14 RAPD primeri kullanmışlar ve farklı veya aynı genoma sahip 22 buğday tür / çeşidinde 328 polimorfik bant elde etmişlerdir. Çalışmada saptadıkları DNA moleküler ağırlıkları; 290-2570 bç arasında değişmiştir. Yabancı buğday ve *Aegilops* türleri arasındaki genetik uzaklığın (0.463-0.949), ekmeklik (0.444-0.724) ve makarnalık (0.420-0.618) buğday çeşitleri arasındaki genetik uzaklıktan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Tonk ve ark. (2008), Bazı makarnalık buğday çeşitleri ile yeni geliştirilen hatlarda genetik ilişkilerin RAPD markörleriyle incelenmesi konulu çalışmalarında toplam 46 adet bant elde etmişler ve elde edilen bantların 21 adedinin polimorfik, 25 adedinin monomorfik bantlar olduğu gözlemlemişlerdir. Ortalamaları incelendiklerinde; ortalama polimorfik bant sayısını 3.5, ortalama monomorfik bant sayısını 4.2 ve birey başına düşen RAPD bant sayısını 6.6 olarak hesaplamışlardır. Genotiplere ait ortalama benzerlik oranı 0.86 olarak saptamışlardır. Jaccard'ın benzerlik indeks katsayısına göre oluşturulan makarnalık buğday genotiplerine ait fenograma göre makarnalık buğday çeşit ve hatlarının iki ana grup altında toplandığını belirtmişlerdir.

Malaki ve ark. (2008), RAPD ve AFLP markör sistemleri ile yabancı diploid buğday genotipleri üzerinde genetik çeşitliliği inceledikleri çalışmalarında, seçtikleri 14 RAPD primerinden 224 adet RAPD ürünü elde etmişler ve polimorfizm oranını % 60 olarak hesaplamışlardır. RAPD ürünleri kullanarak hesapladıkları genetik benzerlik oranlarının 0.26-0.96 arasında (ortalama olarak 0.67) değiştiğini belirten araştırmacılar yaptıkları kümeleme analizi sonucu çalışmada kullandıkları 36 genotipin 3 farklı grupta dağılım gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Rashed ve ark. (2008), RAPD markörleri kullanarak farklı genetik özelliklere sahip 30 ekmeklik buğday üzerinde yürüttükleri bir araştırmada, 200-1800 bç arasında moleküler ağırlıkları değişen 76 adet DNA fragmenti elde etmişlerdir. Çalışmada % 19.7 oranında monomorfizm elde edilirken, % 80.32 oranında polimorfizm elde etmişlerdir. Çeşitler arasındaki genetik benzerlik oranını % 32-97 arasında, ortalama % 64.5 olarak hesaplamışlardır. Kümeleme analizi sonucunda çalışılan çeşitlerin 2 farklı küme içinde toplandıkları belirlenmiştir.

Sawalha ve ark. (2008), RAPD markörlerini kullanarak yürüttükleri çalışmalarında, % 65 civarında polimorfizm elde etmişlerdir. Yaptıkları kümeleme analizine göre çalışmada kullandıkları 2 yerel çeşidin % 100 benzer olduğunu, ancak yabancı ve kültür formlarının büyük bir varyasyon gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında Suriye ICARDA'dan elde ettikleri genotiplerin kendi aralarında % 97 oranında benzerlik saptamışlardır.

Sofalian ve ark. (2008), 39 ekmeklik buğday çeşidi üzerinde yaptıkları genetik çeşitlilik analizleri sonucunda, 106 tanesi polimorfik olan 129 bant çoğaltmışlar ve polimorfizm oranını % 82.2 olarak hesaplamışlardır. Çoğalan ürünlerin moleküler ağırlıklarının 450-2500 bç arasında değiştiğini saptamışlardır. Çalışma sonucunda elde ettikleri fenogramda buğday genotiplerinin 6 farklı grupta dağılım gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Tahir (2008), 11 adet durum ve ekmeklik buğday kullanarak yürüttüğü genetik çeşitlilik çalışmasında, ekmeklik buğday için % 40, durum buğdaylarında % 35.7 oranında polimorfizm belirlemiştir. Genetik benzerliğin ekmeklik buğdaylarda 0.5-0.952 arasında, durum buğdaylarında ise 0.102-0.917 arasında değiştiğini saptamıştır. Kümeleme analizi sonucu hem ekmeklik buğdayların hem de durum buğdaylarının 2

grup altında toplandığını ve çalıştığı birçok buğday genotipinde dar bir genetik farklılık olduğunu bildirmiştir.

Abd-El Haleem ve ark. (2009), 3 adet Meksika ve 2 adet Mısır orijinli makarnalık buğday genotipini melezleyerek yürüttükleri genetik analiz çalışmalarında, 8 RAPD primerinden 91 tanesi polimorfik olan 129 fragment belirlemişlerdir. Anaçlarda 0.67-0.77 değerleri arasında değişen genetik benzerlik saptadıkları araştırmalarında, kümeleme analizi sonucu fenogramda elde ettikleri melezlerin 2 küme oluşturduklarını bildirmişlerdir.

Bıbı ve ark. (2009), 12 adet buğday genotipi üzerinde RAPD markörleri kullanarak yürüttükleri genetik çeşitlilik çalışmalarında 14 primer kullanmışlar ve % 89.2 oranında polimorfizm % 10.8 oranında da monomorfizm saptamışlardır. Elde ettikleri bantların ağırlıklarını 5.3 kb – 142 bp arasında belirlemişler ve primer başına 1-11 arasında bant oluştuğunu belirtmişlerdir. Oluşturdukları fenogramda çalışılan buğday genotiplerinin 3 grup altında toplandığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Bitki Materyali

Çalışmada yurdumuzun farklı bölgelerinde bulunan Tarımsal Araştırma Enstitüleri ile Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen toplam 14 adet makarnalık buğday ve 16 adet ekmeklik buğday çeşitleri kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan buğday çeşitleri ve pedigrileri Çizelge 3.1'de, çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edildiği kuruluşlar ise Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan buğday çeşitleri ve pedigrileri.

ÇEŞİTLER	PEDİGREE	
<u>Makarnalık Buğday</u>		
Altıntaş-95	KND//68111/WARD YE0313-18E-3E-2E-OE	(Karcicio 2006)
Amanos- 97	OST'Ş'//CTA'Ş'/YAV'S"	(Karcicio 2006)
Ankara- 98	BAK2916/LDS//6783/3/BERK469/7/CR"S"/GS"S"//A PULICUM/3DF17-72/4/DII65137/GEDİZ75/5/ AA "S" /6/ CPE/G2// TC*2/TC	(Karcicio 2006)
Çeşit-1252	61-130//414-44/377-2	(Karcicio 2006)
Çakmak- 79	ÜVY 162/61-130	(Karcicio 2006)
Ege- 88	JORİ/ANHİNGA//FLAMİNGO(BİTTEREN//")S")cm9 799-126M-1M-4Y-0M	(Karcicio 2006)
Fuatbey -2000	-	-
Gediz- 75	LD357E- TC*2 X JORİ 27354-1M-1Y-OY	(Karcicio 2006)
Kızıltan- 91	ÜVY 162/61-130//BY2E/TC	(Karcicio 2006)
Kunduru- 1149	SILV-TUR	(Karcicio 2006)
Meram- 2002	-	-
Pınar- 2001	GÖKGÖL /AMASYA	(Karcicio 2006)
Selçuklu-97	073-44*2/OVİ3/DF21-72//61-130/ÜVY 162	(Altıntaş ve ark. 2008)
Yelken	-	-
<u>Ekmeklik Buğday</u>		
Basribey-95	JUPATECO -73 / (sib) BLUEJAY//URES-81	(Cenkci ve ark. 2008)
Flamura-85	RANNYAYA-12 / NADADORES-63 // LOVRIN-12	(Evigez 1995)
Gerek-79	MENK "S"/MY 48// 4-11/3/ YAYLA 305	(Altıntaş ve ark. 2008)
Golia	MANİTAL / ORSO	(Altıntaş ve ark. 2008)
Gönen	II-8156-R / MARA // BLUBIRD	(Braun ve ark. 2001)
Harmankaya-99	FUNDULEA-29 / 2* LOVRIN-32	(Saulescu 2001)
Kaşifbey-95	PFAU "S" CM38212- I- 7Y- 2M- 1Y- 3M-2Y- OM	(Altıntaş ve ark. 2008)
Katea I	CHEBROS / BEZ	(Altıntaş ve ark. 2008)
Kıraç-66	YAYLA 305/ FLORANSA 71	(Altıntaş ve ark. 2008)
Köksal-2000	KATEA-I / MOMTCHILL	
Marmara-86	BOBWHITE "S"	(Cenkci ve ark. 2008)
Momtchill	-	-
Pehlivan	BEZ/ TUR/5/ CFN/BEZ	(Altıntaş ve ark. 2008)
Sagittario	ADAM / Z-282	(Perenzin ve ark. 1995)
Saraybosna	-	-
Sultan-95	AGRI / NACUZARI-76	(Braun ve ark. 2001)

Çizelge 3.2.Çalışmada kullanılan çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edilen kuruluşlar

<u>CESİTLER</u>	<u>ISLAHCICI KURULUS</u>	<u>TEMİN EDİLEN KURULUS</u>
<u>Makarnalık Buğday</u>		
Altıntaş-95	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir
Amanos 97	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü Adana	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü Adana
Ankara 98	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ankara	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Çeşit-1252	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ankara	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Çakmak -79	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ankara	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Ege- 88	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Fuatbey- 2000	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü Adana	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü Adana
Gediz -75	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Kızıltan -91	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ankara	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Kunduru- 1149	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir
Meram -2002	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya
Pınar -2001	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bursa	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bursa
Selçuklu-97	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya
Yelken	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Konya
<u>Ekmeklik Buğday</u>		
Basribey-95	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen / İzmir
Flamura-85	Romanya orijinlidir	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi /Bursa
Gerek-79	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir
Golia	İtalya orjinli olup TİGEM tarafından üretilmektedir	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi /Bursa
Gönen	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Harmankaya-99	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir
Kaşifbey-95	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen / İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen / İzmir
Katea I	Bulgaristan orjinlidir	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne
Kıraç-66	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir
Köksal-2000	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa
Marmara-86	-	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa
Momtchill	Bulgaristan orjinlidir	
Pehlivan	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne
Sağittario	Tasaco Tarım AŞ. tarafından üretilmektedir	Tasaco Tarım AŞ. / Antalya
Saraybosna	-	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa
Sultan-95	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Eskişehir	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara

Çalışma kapsamında kullanılan çeşitlerin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

A- Makarnalık Buğdaylar

Altıntaş-95: Bitki boyu 110-120 cm. civarında ve yatmaya dayanıklı olan kışlık bir çeşittir. Başakları kılçıklı, kahverengi kavuzlu ve camsı daneye sahiptir. Yatmaya ve kurağa dayanıklıdır. 1000 tane ağırlığı ve hektolitresi yüksek, makarnalık kalitesi iyidir. Tarla koşullarında sarı pas, kara pas, sürme ve راستیға dayanıklı, kahverengi pasa ise orta dayanıklıdır. Kunduru 1149'un ekildiği alanlara önerilmektedir. Orta Anadolu ve Batı geçit Bölgesi kışlarına dayanıklıdır (Anonim 2009 a).

Amanos-97: Hatay, Kahramanmaraş ve Gaziantep illerinin bulunduğu bölgeye önerilmektedir. 85-100 cm boyunda, sık başaklı ve beyaz tanelidir. Orta erkenci, kışa, kurağa ve yatmaya orta derecede dayanıklıdır. Tane dökmeyen bir çeşit olup harman olma kabiliyeti iyidir. Dekara 600-760 kg verim vermektedir. Hektolitre ağırlığı 79 kg/hl; sedimantasyon değeri 14; protein oranı %13; camsılık oranı %98 olup makarnalık kalitesi iyidir. Sarı pas ve septoriaya dayanıklı, kahverengi pasa orta derecede dayanıklıdır (Anonim 2009 a).

Ankara-98: Çeşit taban ve yarı taban alanlarla, makarnalık buğday yetiştirilen yüksek bölgelere tavsiye edilmektedir. Kılçıklı ve kahverengi kavuzludur. Kışa ve soğuğa dayanıklıdır. Dane dökmeyen çeşidin verimi 400-500 kg/da arasındadır (Anonim 2009 a).

Cesit 1252: Çeşidin bitki boyu orta, yaprakları yeşil renkte ve dik bir yapıdadır. Başaklar orta sık ve eğik bir yapıya sahiptir. Başak kılçıklı ve kahverengi kavuzludur. Taneler uzun elips şeklinde ve kırmızıdır. 1000 tane ağırlığı 37-42 gr'dır. Alternatif özellikli olan çeşidin gübreye reaksiyonu ve harman olma kabiliyeti oldukça iyidir. Yarı taban, taban ve sulanan alanlarda verim potansiyeli oldukça yüksektir. Yapay ve doğal koşullarda, sarı pasa orta hassas, راستیға ve sürmeye dayanıklıdır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgelerinin yarı taban, taban ve geç ilkbahar donlarının görüldüğü kışı sert geçen soğuk alanlara tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Cakmak-79: Kısa normal saplı, yeşil, orta ve orta uzun ve tüsüz yapraklıdır. Başakları kılçıklı, çıplak kırmızı kavuzlu, kısa, çok sık ve diktir. Tane renklidir. Alternatif gelişme tabiatlıdır. Kışa ve kurağa dayanımı iyi, orta erkenci, yüksek verimli ve sağlam saplıdır. Gübreye reaksiyonu iyi olup, tane dökmez ve harman olma kabiliyeti iyidir.

Sarı pasa hassas, kahverengi pasa orta dayanıklı, kara pasa orta hassastır. Sürmeye dayanıklı, rastığa ise hassastır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgeleri'ne önerilmektedir (Anonim 2009 a).

Ege-88: Sap uzunluğu 90-100 cm, yaprakları yeşil renkli, tüysüz ve dar yapılı dik duruşludur. Kısa kılçıklı, dış kavuz rengi beyaz ve tüylüdür. Başak yoğunluğu sık ve uzunluğu ise 6,5-7 cm'dir. Kılçıkları siyah olup uç kısımlarda renk beyazdır. Hasat olgunluğuna gelindiğinde kılçıklar dökülmez. Tane amber renkli, eliptik şekilde, 7-8 mm uzunluğundadır. 1000 tane ağırlığı 45-48 gr'dır. Kışa ve kurağa mukavemeti orta, yatmaya karşı mukavim olup, erkenci bir çeşittir. Gübreye reaksiyonu iyi olup, tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyidir. Yazlık karakterli olan çeşidin verimi yüksektir. Sürmeye karşı mukavim olup, rastık, sarı pas, kara pas ve kahverengi paslara orta hassastır. Sarı ve kahverengi paslara fide devresinde dayanıklıdır. Sahil kuşağı ve Güneydoğu Anadolu Bölgesine tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Fuatbey-2000: Hatay, Kahramanmaraş ve Gaziantep illerinin kapladığı bölgeye tavsiye edilen bir çeşittir. Orta erkenci, kışa ve kurağa orta derecede dayanıklı, yatmaya dayanıklı, dane dökmeyen bir çeşit olup harman olma kabiliyeti iyidir. 80-90 cm boyunda, sık başaklı olup beyaz tanelidir. 600-800 kg/da verim kapasitesine sahiptir. Hektolitre ağırlığı 77-81 kg/hl, sedimantasyon değeri 38, protein oranı %10-11, camsılık oranı %100 olup makarnalık kalitesi iyidir (Anonim 2009 a).

Gediz-75: Sap uzunluğu orta, başakları kılçıklı, beyaz tüylü, orta uzun, başak yoğunluğu sık ve başakları dik duruşludur. Tane sert yapıda, kehribar renkli, oval ve uzun orta genişliktedir. Karın çizgisi orta derin ve yuvarlak olup 1000 tane ağırlığı 42-45 gr'dır. Yazlık gelişme tabiatlıdır. Kurağa dayanıklılığı orta, orta erkenci, sapı sağlam ve yatmaya dayanıklıdır. Gübreye reaksiyonu iyi, tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyi, verimli bir çeşittir. Sarı ve Kahverengi pasa dayanıklı, kara pasa ve septoria'ya karşı orta dayanıklıdır. Akdeniz Bölgesi (Amik ovası ve Gaziantep Yöresi) ile Ege Bölgesi'ne tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Kızıltan-91: Çeşitte saplar 90-95 cm uzunluğunda, yaprakları yeşil renkli, tüysüz ve yaprak duruşu yarı yatıktır. Başakları dik duruşlu, 7-8 cm uzunluğunda, yoğunluğu orta siktir. Tane kehribar renkli, oval yapıda, 8-9 mm uzunluğundadır. 1000 tane ağırlığı 46-48 gr olup, camsı görünümlü sert bir yapıya sahiptir. Karın çizgisi dar, derinliği sathi ve

yanak şekli yuvarlaktır. Kışa dayanması iyi, kuraklığa dayanması orta düzeydedir. Erkenciliği orta, verim potansiyeli iyidir. Yatmaya dayanması ve harman olma kabiliyeti iyidir. Sürmeye ve rastığa dayanıklı, sarı pasa toleranslıdır. Kahverengi pasa ise orta dayanıklıdır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgelerine önerilmektedir (Anonim 2009 a).

Kunduru 1149: Çeşitte saplar 110-120 cm uzunluğunda, yaprakları orta geniş ve tüysüzdür. Başak yoğunluğu orta sık ve eğimlidir. Tanesi sert ve amber renkli, iri ve gösterişlidir. 1000 tane ağırlığı 57-62 gr'dır. Kışa ve kurağa mukavemeti iyi, orta erkenci, yatmaya orta dayanıklıdır. Yüksek yağışlı yerlerde ve kuvvetli taban arazilerde yatar. Tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyi, kardeşlenmesi azdır. Gübreye reaksiyonu iyi olup, başakları iridir. Sarı pasa orta dayanıklı, kara ve kahverengi pasa hassas olup, sürmeye dayanıklı, rastığa orta hassastır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgeleri, Trakya'nın sert buğday yetiştirilen yarı taban topraklarına tavsiye edilir (Anonim 2009 a).

Meram-2002: Başakları beyaz, uzun ve kılçıklıdır. Bitki boyu 80-100 cm uzunluğundadır. Yatmaya dayanıklıdır. Makarnalık kalitesi yüksektir. Tane verimi 400-750 kg/da arasında olup taban alanlar için uygundur. Kurağa dayanıklılık bakımından hassas, soğuğa orta dayanıklıdır. Teknolojik özelliklerinden protein oranı % 12-15, bin tane ağırlığı 37-48 g, hektolitre ağırlığı 76-81 kg, SDS-mini 7.5-10'dur. Paslara, rastığa, sürmeye ve kök çürüklüğüne orta dayanıklıdır. Çeşit sulama ve gübrelemeye iyi karşılık verir (Anonim 2009 b).

Pınar-2001: Çeşitin sapları orta uzunlukta, yapraklar yarı yatık yapıdadır. Başaklar kılçıklı, orta uzunlukta, sarı renkte ve oblong şeklindedir. Başakçıklar sık yoğunluktadır. Tane rengi açık sarı, 1000 tane ağırlığı 38-44 g arasındadır. Kışlık bir çeşittir. Soğuğa, kurağa ve yatmaya dayanıklıdır. Teknolojik özelliklerinden hektolitre ağırlığı 80.4-83.0 kg/hl, protein oranı % 12, sedimantasyon değeri 12, camsılık oranı % 80, renk değeri 10'dur. Makarnalık kalitesi iyidir. Çeşidin tescil denemelerindeki ortalama verimi 581.6 kg/da olup verim potansiyeli 603.0 kg/da'a kadar çıkmaktadır. Sarı ve kahverengi pas ile külemeye toleranslıdır. Trakya - Marmara ve Sakarya-Marmara Bölgeleri için tavsiye edilmektedir (Anonim 2001).

Selcuklu-97: Bitki boyu orta olan çeşitte, yapraklar yeşil renkte ve dik yapıdadır. Başaklar sık, kılçıklı, dik yapıdadır. Kılçık rengi sarıdır. Taneler orta elips şeklinde, uzun ve amber rengindedir. 1000 tane ağırlığı 38-40 gr'dır. Yazlık olan çeşidin harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Soğuğa, kurağa ve yatmaya dayanıklı olup, orta erkencidir. Yapay ve doğal koşullarda kara ve kahverengi pasa dayanıklıdır. Orta Anadolu Geçit Bölgelerinin sulanan alanları ile taban arazileri için tavsiye edilmektedir. Tarla koşullarında sarı pas, kahverengi pas, rastık ve sürmeye dayanıklı, kara pasa karşı ise orta dayanıklıdır (Anonim 2009 b).

Yelken: Çeşitte başak tipi beyaz, dane görünümü amber ve camısı, bitki boyu 90-95 cm'dir. Orta geççi, kışlık tabiatlı ve Batı Geçit Bölgesinde geniş ekim alanına sahip makarnalık bir buğdaydır. Gübrelenmeye karşı tepkisi iyi olan bir çeşit kısa boylu olduğu için yatmaya dayanıklıdır. Stres koşullarına dayanıklılığı nedeniyle verim stabilitesi yüksek, kardeşlenmesi iyidir. 1000 dane ağırlığı 40-46 g, hektolitre ağırlığı 81-84 kg, protein %12.5-14.5, mikro SDS Sedimentasyonu <8 ml ve karoten miktarı 7-9 ppm. olup, makarnalık kalitesi Kunduru-1149 ve Altıntaş-95-95'ten daha düşüktür. Tarla koşullarında sarı pas, kahverengi pas, rastık ve sürmeye dayanıklı, kara pasa karşı ise orta dayanıklıdır (Anonim 2009 b).

B- Ekmeklik Buğdaylar

Basribey-95: Sap orta boylu (85 cm), yapraklar açık yeşil renkli, tüysüz ve yaprak şekli dardır. Başaklar dik duruşlu ve sık yapıdadır. Kılçıklı olup, kılçık rengi beyazdır. Taneleri beyaz renkli, orta uzunlukta, 1000 tane ağırlığı 36-39 gr'dır. Sulu alanlar için geliştirilmiş bir çeşittir. Kurağa ve soğuğa hassastır. Yatmaya dayanıklı, su ve gübreye reaksiyonu çok iyidir. Verim potansiyeli yüksektir. Sarı ve kara paslara dayanıklı, kahverengi pasa hassastır. Ege Bölgesi ve sahil kuşağına tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Flamura-85: Bitki boyu 80-90 cm.'dir. Başakları kılçıklıdır. Taneleri kırmızı-sert ve iridir. 1000 tane ağırlığı 40-42 gr, hektolitre ağırlığı 80-82 gr.'dır. Ekmeklik kalitesi iyi kışlık bir çeşittir. Soğuğa mukavemetli ve yatmaya dayanıklıdır. Kahverengi pasa dayanıklıdır. Trakya'nın taban-yarı taban alanlarında ekilmesi tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Gerek-79: Çeşitte sap orta uzun boylu, yaprakları tüsüz ve orta büyüklüktedir. Sap sağlamlığı iyidir. Kılçıklı, başak ve kavuzları kahverengidir. Başak orta uzun, orta sıklıkta ve dik duruşludur. Yumuşak beyaz taneli olup, 1000 tane ağırlığı 32-36 gram, hektolitre ağırlığı 68-72 kg. arasındadır. Kışlık olan çeşit, soğuğa ve kurağa dayanıklı olup kardeşlenmesi yüksektir. Orta-erkenci ve adaptasyon sınırı çok geniştir. Verim potansiyeli kuru tarım alanlarında ve uygun şartlarda 500-600 kg/da'ya kadar ulaşır. Bu verim düzeyinin üzerinde yatma eğilimi gösterdiğinden gübreye reaksiyonu azalır. Tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyidir. Yetiştirme şartlarının kısıtlı olduğu durumlarda diğer çeşitlere oranla yüksek verimlidir. Sarı ve kahverengi pasalara toleranslı, kara pasa orta hassas, راستیға oldukça hassas, sürmeye dayanıklıdır. Orta Anadolu, Kuzey ve Batı Geçit ile Doğu Anadolu'nun kışları nispeten ılık geçen yöreleri için tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Golia: Bitki boyu kısa olan çeşidin yaprakları yeşil renkte ve yarı dik yapıdadır. Başak orta yoğunlukta, kılçıklı ve beyaz renktedir. Taneler yumurta şeklinde küçük ve koyu kırmızı renkte olup, camsı özellikte, yarı sert tanelere sahiptir. Ekmeklik kalitesi iyidir. 1000 tane ağırlığı 34-36 gr'dır. Harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Yapay ve doğal koşullarda sarı pasa, kahverengi pasa ve septoria'ya dayanıklıdır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Çukurova ve Trakya için tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Gönen: Bitki boyu orta uzunlukta olan çeşitte, yapraklar yeşil renkte ve düz bir yapıdadır. Başaklar paralel kenarlı, beyaz, yoğun yapıda ve kılçıklıdır. Taneler yuvarlak sert ve beyaz olup renk özelliği ve camsılığı açısından makarnalık buğdayla karıştırılabilir. 1000 tane ağırlığı 30-32 gr'dır. Yazlık olan çeşidin harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Yapay ve doğal koşullarda, sarı pasa orta hassas, sürme ve راستیға hassas, kara pasa ise orta dayanıklıdır. Ege Bölgesi ve Sahil Kuşağındaki alanlar için tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Harmankaya 99: Başak tipi beyaz ve kılçıklı, tane görünümü kırmızı orta sert, bitki boyu 85-95 cm'dir. Orta erkenci olup, kışlık tabiatlı ve kuru tarım alanları için önerilen bir çeşittir. Takviye sulama ile yüksek verim verir. Yatmaya dayanıklıdır ve kardeşlenme düzeyi ortadır. Dane dökmez. Verim düzeyi kuruda 200 kg/da iken sulama ile 700 kg/da'a ulaşmaktadır. Gübrelemeye karşı tepkisi oldukça yüksektir. 1000 dane

ağırlığı 38-44 g, hektolitre ağırlığı 79-83 kg, protein %12-14, mikro SDS Sedimentasyonu 13-16 ml, stabilite 4-8 dak., gelişme süresi 2-5 dak. ve yumuşama derecesi 90-120 BU olup, ekmeklik kalitesi iyidir. Doğal epidemiy şartlarında önemli hastalıklardan sürmeye dayanıklı, rastık ve paslara karşı orta duyarlıdır (Anonim 2009 a).

Kaşifbey-95: Dik sap olan çeşidin başakları kılçıklıdır ve olgunlukta başak rengi beyazdır. Beyaz sert tanelidir. Taneleri toparlak ve küçük olup ekmeklik kalitesi iyidir. Yazlık olup, yatma ve tane dökmeye mukavemeti iyidir. 1000 tane ağırlığı 35-38 gr'dır. Verimi yüksektir. Sarı pasa hassas, kahverengi ve kara pasa orta dayanıklıdır. Ege Bölgesi'ne tavsiye edilen bir çeşittir (Anonim 2009 a).

Katea-I: Sap orta-uzun, yapraklar gri yeşil renkte ve orta genişliktedir. Sap uzunluğu 95-100 cm arasındadır. Başakları kılçiksız, orta uzunlukta, başak yoğunluğu orta sıktır. Başaklar hafif eğimli vaziyette dururlar. Kırmızı, yarı sert ve orta uzun taneli olup, ekmeklik kalitesi ortadır. 1000 tane ağırlığı 36-40 gr arasındadır. Kurağa dayanıklı, orta erkenci, verim potansiyeli yüksek bir çeşittir. -15 C'nin altındaki soğuklardan etkilenir. Tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyidir. Sürme ve rastığa dayanıklı, paslara karşı toleranslıdır. Trakya ile Güney Marmara Bölgelerine tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Kırac-66: Sap uzunluğu orta (80-90 cm), yeşil, tüysüz, orta genişlik ve uzunlukta yapraklıdır. Başakları kılçıklı, çıplak beyaz-krem kavuzlu, orta uzun, orta sık ve hafif eğiktir. Tanesi yarı sert beyaz, oval, orta uzunlukta, orta geniş, yuvarlak yanaklı, 1000 tane ağırlığı 40,3 gr'dır. Kışlık gelişme tabiatlıdır. Kışa dayanması çok iyi, kurağa dayanması ise iyidir. Yatmaya dayanması orta olan çeşidin gübreye reaksiyonu iyidir. Tane dökmez ve harman olma kabiliyeti çok iyidir. Sürmeye dayanıklı, paslara orta hassastır. Kır bayır yerlere iyi intibak etmesi ve çok geniş bir adaptasyon kabiliyeti göstermesi nedeniyle Orta Anadolu'nun bu tip topraklarına tavsiye edilir (Anonim 2009 a).

Köksal-2000: Saplar orta boylu, yapraklar yatık yapıdadır. Başak orta uzunlukta, sarı renkte, kılçiksız ve oblong şeklindedir. Başakçıklar orta sık yoğunluktadır. Taneler kehribar (kırmızımsı) renkte ve 1000 tane ağırlığı 29-35.6 g'dır. Hektolitre ağırlığı 75.0-80.3 kg/hl, protein oranı %11.5-12.9, sedimentasyon değeri 28-35.9, W(enerji) değeri

112-264, yumuşama değeri 50-110, absorpsiyon değeri % 62.0-64.5 ve un verimi %71 'dir. Ekmeklik kalitesi iyidir. Tescil denemelerindeki ortalama verimi Sakarya-Marmara Bölgesi'nde 519.7 kg/da, Trakya-Marmara Bölgesi'nde 604.0 kg/da olup verim potansiyeli 892.9 kg/da'a kadar çıkmaktadır. Sarı pasa dayanıklı, kahverengi pasa hassas, kara pasa ve küllemeye toleranslıdır. Trakya ve Sakarya- Marmara Bölgeleri için tavsiye edilmektedir (Anonim 2001).

Marmara-86: Saplara orta boylu, yazlık karakterli, kılçıklı, yarı sert kırmızı tanelidir.

Momtchill: Bitki boyu 90-100 cm. olup, koyu yeşil, tüysüz ve geniş yapraklara sahiptir. Beyaz renkli ve kılçıksız başaklıdır. Başaklar orta boyda, orta sıklıkta ve dik duruşludur. Büyük, kırmızı ve yarı sert tanelidir. 1000 tane ağırlığı 42-45 gr., hektolitre ağırlığı 68-74 kg'dır. Kışa dayanıklılığı çok iyi, kurağa dayanıklılığı iyi ve yatmaya dayanıklılığı ortadır. Tane dökmez, harman olma kabiliyeti iyi ve orta geççi, yüksek verimlidir. Gübreye reaksiyonu iyidir. Küllemeye orta hassas sarı pasa dayanıklılığı iyi, kahverengi pasa hassastır. Marmara, Trakya, Karadeniz, Akdeniz Bölgelerine tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Pehlivan: Çeşidin sapsarı orta uzunlukta, yaprakların rengi yeşil ve bayrak yaprağı kıvrık yapıdadır. Başaklar çıkıntılı, paralel kenarlı, beyaz ve orta yoğunlukta bir yapıya sahiptir. Tane, dış görünüş olarak Bezostajaya benzer fakat rengi daha koyu kırmızı olup taneleri daha iricedir. Ekmeklik kalitesi iyidir. 1000 tane ağırlığı 36-37 gr'dır. Kışık olan çeşidin harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Yapay ve doğal koşullarda sarı pasa dayanıklı, sürmeye hassas, kahverengi pasa toleranslıdır. Trakya Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ne tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Sagittario: Sapsı sağlam ve yatmaya dayanıklıdır. Başakları kılçıklıdır. Taneleri kırmızı yarı sert yapılıdır. 1000 tane ağırlığı 40-44 gr'dır. Erkenci, soğuğa dayanıklı, kardeşlenmesi normaldir. Pas ve Septoria'ya dayanıklı olan çeşit sahil ve geçit bölgelerine önerilmektedir (Anonim 2009 a).

Saraybosna: Sap 70-75 cm uzunluğunda, yapraklar tüysüz ve diktir. Başakları kılçıksız, beyaz kavuzlu, orta sıklıktadır. Başak boyu küçük olup, bazı durumlarda başaklar üstten basık görünümlü de olabilirler. Taneleri küçük, mat kırmızı renkli, yarı sert yapıdadır. 1000 tane ağırlığı 36-38 gr'dır. Soğuğa toleranslı olup, kurağa hassastır.

Gübreye reaksiyonu iyi, yatmaya karşı dayanıklı, tane dökmez. Verim potansiyeli orta, harman olma kabiliyeti iyidir. Orta erkenci ve kışlıktır. Kahverengi pasa hassas olup, kara pas ve sarı pas ile kök ve kök boğazı hastalıklarına dayanıklıdır. Küllenmeye karşı toleranslıdır. Trakya-Marmara Bölgesi ve diğer sulanan alanlarda tavsiye edilmektedir (Anonim 2009 a).

Sultan-95: Sap 100-110 cm boyunda, yaprakları koyu yeşil, tüysüz ve dik duruşludur. Başakları beyaz renkte, kılçıklıdır. Sık ve dik başaklı olan çeşidin başak uzunluğu 10-11 cm'dir. Taneleri beyaz renkli, yumuşak yapıdadır. 1000 tane ağırlığı 33-37 gr'dır. Doğu Anadolu Bölgesinin sert kışları hariç, kışlık buğday yetiştirilen bölgelerin kışlarına dayanır. Kurağa dayanıklı olmayıp, orta erkencidir. Gübreye reaksiyonu iyi, yatmaya dayanıklıdır. Harman olma kabiliyeti iyi, verim potansiyeli 900-1.000 kg/da'dır. Sarı pas, kara pas, sürme ve rastığa dayanıklı, kahverengi pasa orta derecede hassastır. Toprak menşeli buğday mozaik virüsüne dayanıklıdır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgelerinin sulu alanları ile yağışı yüksek taban araziler için önerilmektedir (Anonim 2009 a).

3.2. Genomik DNA İzolasyonu

Araştırmada kullanılan makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitleri laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında, küçük plastik bardaklar içerisine 10'ar tohum ekilerek çimlendirilmiş ve örnekler günde iki kez sulanmıştır. Genomik DNA izolasyonu için bitkiler ekimden 14 gün sonra 15 cm boyunda ve üç yapraklı döneme geldiğinde kullanılmıştır. DNA izolasyonu için EZ-10 Spin Column DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Çizelge 3.3'de DNA izolasyonu için kullanılan kit içeriği gösterilmektedir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan DNA izolasyon kiti ve içeriği

<u>KOMPONENTLER</u>	<u>BS246 100 hazırlamalık</u>
RNase A (10mg/ml)	300 µl
PCL Solüsyon	30 ml
PP Solüsyon	2x2 ml
PB Solüsyon	40 ml
Yıkama Solüsyonu	24 ml
Elution Buffer	10 ml
EZ-10 Column	100 adet
2.0 ml Koleksiyon Tüpleri	100 adet

Araştırmada DNA izolasyonu aşağıda açıklandığı şekilde yapılmıştır.

1.Çimlenen materyalde bitkiler belli bir boya geldikten sonra kesilerek bir havan ve havan eli yardımıyla sıvı azotla toz haline getirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çimlenen materyal ve sıvı azotla toz haline getirilmesi

2.Toz halindeki dokular 1.5 µl mikrofuj tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Mikrofuj tüplerine aktarılan toz halindeki dokular

3. Mikrofuj tüplerine aktarılan bitki materyalinin hacmi kadar PCL solüsyonu eklenmiştir (Çalışmada 150 g bitki örneği kullanılmış olup aynı miktar PCL solüsyonu (150 µl) mikrofuj tüplerine aktarılmıştır) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Mikrofuj tüplerinde bulunan bitki materyaline PCL solüsyonunun eklenmesi

4. Birkaç kez tüpler sallandıktan sonra vortexlenmiş ve 65°C 'de 20 dakika su banyosunda bekletilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Tüplerin vortexlenmesi ve su banyosunda bekletilmesi

5. 25 μl PP solüsyonu eklenmiş ve 15 dakika buz içinde bekletilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. PP solüsyonu eklendikten sonra buz içinde materyalin bekletilmesi.

6. Soğutmalı santrifüjde 4°C 'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir ve temiz sıvı kısım yeni tüplere aktarılmıştır (Resim 3.6).



Şekil 3.6. Tüplerin santrifüjlenmesi ve temiz tüplere aktarılması

7. 300 µl PB Buffer eklenen tüpler ters yüz edilerek karıştırılmış ve 4⁰C’de 4000 rpm’de 2 dakika santrifüjlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. PB bufferın eklenmesi ve santrifüjleme

8. Tüplerdeki fazla sıvı atılarak yıkama solüsyonu eklenmiştir ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenmiştir (2 kez) (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Tüplere yıkama solusyonunun eklenmesi ve santrifüjleme işlemi

9. Tüplerdeki sıvı atılıp kalan yıkama solusyonunu uzaklaştırmak için 10.000 rpm’de 3 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Yıkama solusyonunun uzaklaştırılması amacıyla santrifüjleme

10. Geri kalan materyal temiz 1,5µl 'lik tüplere yerleştirilmiştir. Üzerine 30-50 µl Elution Buffer membranın tam orta kısmına gelecek şekilde eklenmiştir.

11. 10.000 rpm'de 1 dakika DNA'nın ayrılması için santrifüjlenmiştir.

12. Elde edilen DNA'lar % 1'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmek üzere hemen kullanılmayacak olanlar -20°C sıcaklıkta derin dondurucuda saklanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. DNA'ların -20°C'de saklanması

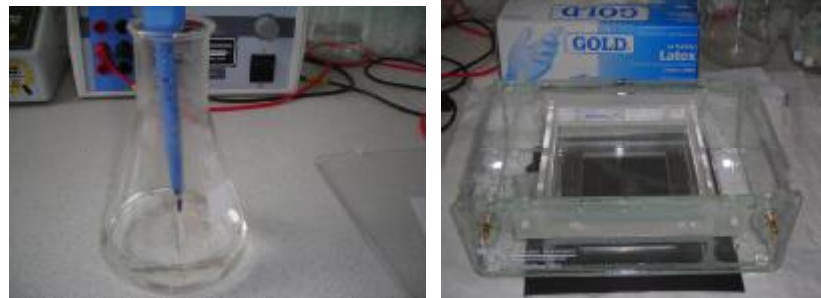
13. % 1'lik jel hazırlamak için; 1 gr agaroz tartılmış ve üzerine 100 ml TBE çözeltisi eklenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. %1'lik jelin hazırlanması

14. TBE içerisinde agarozun çözünmesini sağlamak için mikrodalga fırından yararlanılmıştır.

15. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra biraz soğutulan jelin içine 1 µl Etidyumbromür eklenmiş ve donması için elektroforez tankına dökülmüştür (Şekil 3.12).



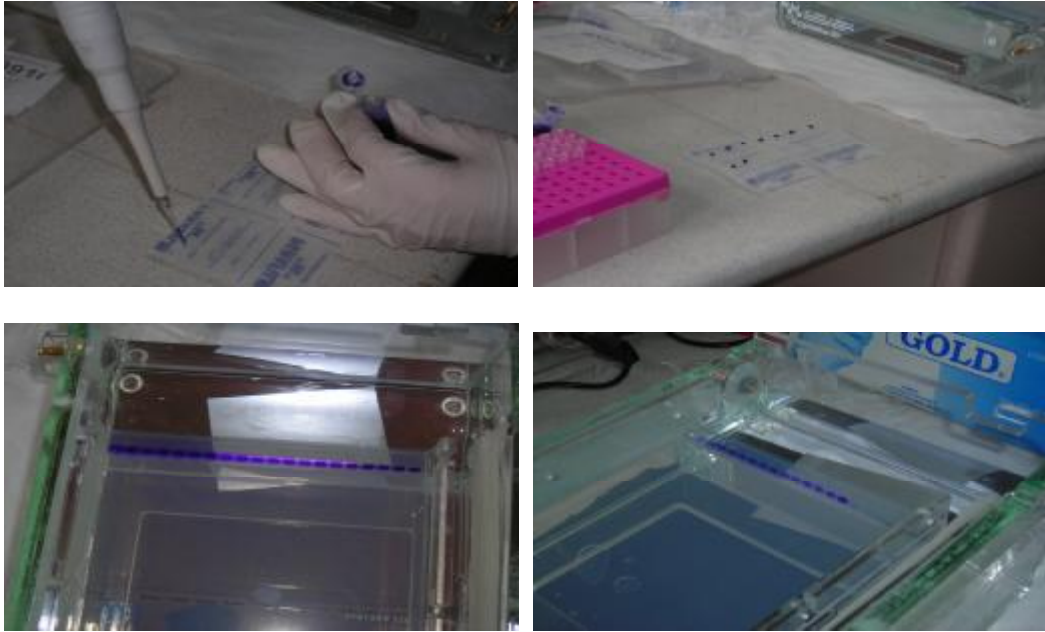
Şekil 3.12. Jele etidyumbromürün eklenmesi ve elektroforez tankına dökümü

16. Jel donduktan sonra yükleme yapılacak kuyucukları oluşturan taraklar çıkarılmış ve jelin üzerini kapatacak şekilde tanka TBE çözeltisi dökülmüştür (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Yükleme yapılacak tankın hazırlanması

17.Yükleme işlemi için; DNA'ları boyamak üzere 1 μ l Bromfenol Blue alınmış ve üzerine 5 μ l DNA eklenerek karıştırılmış ve jele yükleme yapılmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Yükleme işlemi

18.Yüklenmesi tamamlan jel 100 voltta en az yarım saat yürütülmüştür (Şekil 3.15).



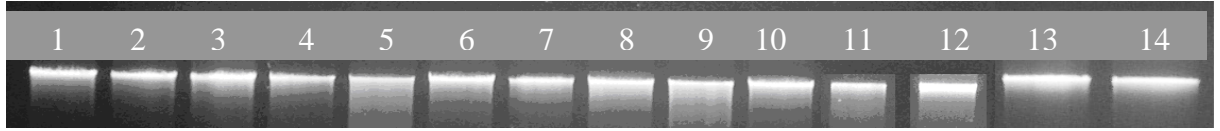
Şekil 3.15. Jelin yürütülmesi

19.Yürütülen jel daha sonra Jel Görüntüleme Sisteminde görüntülenmiştir (Şekil 3.16).



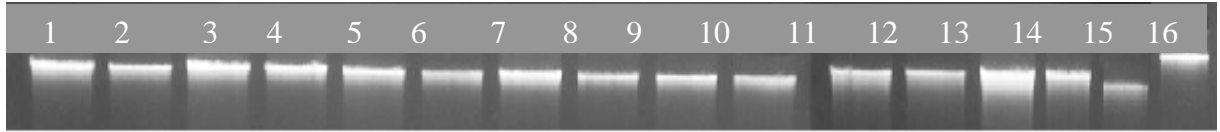
Şekil 3.16. Jelin görüntülenmesi

İzole edilen makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerine ait genomik DNA'ların jel elektroforez görüntüsü Şekil 3.17 ve Şekil 3.18'de verilmiştir.



Şekil 3.17. Makarnalık buğday çeşitlerine ait genomik DNA'ların jel elektroforez görüntüsü.

1:Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Çakmak-79, **4:** Kızıltan, **5:** Amamos-97, **6:** Kunduru-1149, **7:** Altıntaş-95, **8:** Meram-2002, **9:** Ankara-98, **10:** Pınar-2001, **11:** Selçuklu-97, **12:** Gediz-75, **13:** Ege-88, **14:** Fuatbey-2000.



Şekil 3.18. Ekmeklik buğday çeşitlerine ait genomik DNA'ların jel elektroforez görüntüsü.

1:Sultan, **2:**Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Gönen, **5:** Basribey, **6:** Kaşifbey, **7:** Marmara-86, **8:**Flamura, **9:**Pehlivan, **10:** Harmankaya, **11:** Golia, **12:** Saraybosna, **13:** Gerek-79, **14:** Kıraç-66, **15:** Momtchill, **16:** Köksal-2000.

PCR' a başlamadan önce izole edilen DNA'ların miktarları spektrofotometrik olarak 260/280 nm dalga boyunda ölçülmüş, protein ve RNA kontaminasyonu olup olmadığı incelenmiştir. Çizelge 3.4'de DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçüm değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.4. DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçüm değerleri

Ekmeklik Buğday Çeşitleri	DNA (µg/ml)	260/280 nm	Makarnalık Buğday Çeşitleri	DNA (µg/ml)	260/280 nm
Basribey-95	2076	1.70	Altıntaş-95	601	1.82
Flamura-85	1820	1.58	Amamos-97	2044	1.57
Gerek -79	2308	1.84	Ankara-98	1048	1.69
Golia	1889	1.42	Çeşit-1252	2081	1.74
Gönen	1520	1.60	Çakmak-79	1832	1.63
Harmankaya-99	1039	1.74	Ege-88	2108	1.61
Kaşifbey-95	1663	1.67	Fuatbey-2000	781	1.77
Katea-I	394	1.72	Gediz	440	2.00
Kıraç-66	967	1.66	Kızıltan-91	1950	1.63
Köksal-2000	7892	1.60	Kunduru1149	716	1.47
Marmara-86	1579	1.56	Meram-2002	219	1.82
Momtchill	888	1.79	Pınar-2001	1152	1.63
Pehlivan	1703	1.69	Selçuklu-97	2916	1.60
Sagittario	2902	1.46	Yelken	2241	1.64
Saraybosna	2607	1.52			
Sultan	984	1.63			

3.3. RAPD-PCR Aşaması

PCR koşullarının standardizasyonu için uygun genomik DNA, primer, MgCl₂, dNTP, Taq DNA polimeraz ve 10X PCR buffer miktarları, ön deneyler sonucunda saptanmıştır. RAPD-PCR sırasında Bio Basic firmasına ait S serisinden 10 baz dizilimli 45 adet rasgele RAPD primeri kullanılmıştır. İzole edilen DNA'lardan rasgele biri seçilerek araştırmada kullanılan primerlerin çalışıp çalışmadığı RAPD-PCR reaksiyonu uygulanarak kontrol edilmiştir. Primerler için en uygun bağlanma (T_m) derecelerini saptamak için ön denemeler yapılmış ve en uygun olan bağlanma (T_m) derecesi belirlenmiştir. RAPD-PCR döngüsü için hazırlanan PCR tüpleri Creacon T-CY versiyon 1.2 marka thermocycler'a yerleştirilmiş ve farklı sıcaklık derecelerinde belirli sürelerde tutulmuşlardır. RAPD-PCR reaksiyonları en az iki kez tekrar edilmiştir. Herhangi bir kirlenmenin olup olmadığını belirlemek üzere tüm PCR reaksiyonları için genomik DNA hariç diğer bileşenleri içeren negatif kontrol kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan RAPD-PCR reaksiyon hacmi, RAPD-PCR döngüsü ve primerlerin nükleotit dizileri ve GC içerikleri, sırasıyla Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7 'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. RAPD-PCR reaksiyon hacmi

Genomik DNA	: 20 ng
Primer	: 10 µM
MgCl ₂	: 2,5 mM
dNTP	: 25 µM
Taq DNA	: 1 ünite
10Xbuffer	: 1.25 µl
Reaksiyon hacmi	: 20µl

Çizelge 3.6. RAPD-PCR döngüsü

<u>İşlem</u>	<u>Sıcaklık</u>	<u>Süre</u>	
Ön denatürasyon	94 °C	3 dk	
Denatürasyon	94 °C	30 sn	} 40 döngü
Bağlanma	36 °C	1 dk	
Uzama	72 °C	2 dk	
Son uzama	72 °C	10 dk	(Karcicio 2006, Yeşbek 2007)

Çizelge 3.7. RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerler ve % GC oranları

Primer Adı	Primer Sekansları (5→3)	%GC
S 21	CAG GCC CTT C	70
S 22	TGC CGA GCT G	70
S 32	TCG GCG ATA G	60
S 34	TCT GTG CTG G	60
S 35	TTC CGA ACC C	60
S 38	AGG TGA CCG T	60
S 56	AGG GCG TAA G	60
S 81	CTA CGG AGG A	60
S 98	GGC TCA TGT G	60
S 101	GGT CGG AGA A	60
S 120	GGG AGA CAT C	60
S 122	GAG GAT CCC T	60
S 123	CCT GAT CAC C	60
S 124	GGT GAT CAG G	60
S 125	CCG AAT TCC C	60
S 126	GGG AAT TCG G	60
S 127	CCG ATA TCC C	60
S 128	GGG ATA TCG G	60
S 129	CCA AGC TTC C	60
S 130	GGA AGC TTG G	60
S 132	ACG GTA CCA G	60
S 133	GGC TGC AGA A	60
S 134	TGC TGG AGG T	60
S 135	CCA GTA CTC C	60
S 138	TTC CCG GGT T	60
S 139	CCT CTA GAC C	60
S 143	CCA GAT GCA C	60
S 151	GAG TCT CAG G	60
S 156	GGT GAC TGT G	60
S 161	ACC TGG ACA C	60
S 165	TGT TCC ACG G	60
S 169	TGG AGA GCA G	60
S 177	GGT GGT GAT G	60
S 186	GAT ACC TCG G	60
S 188	TTC AGG GTG G	60
S 218	GAT GCC AGA C	60
S 222	AGT CAC TCC C	60
S 244	ACC TTC GGA C	60
S 248	GGC GAA GGT T	60
S 271	CTG ATG CGT G	60
S 280	TGT GGC AGC A	60
S 418	CAC CAT CCG T	60
S 443	CTG TTG CTA C	50
S 444	AAG TCC GCT C	60
S 461	GTA GCA CTC C	60

PCR tamamlandıktan sonra çoğalan DNA'ların elektroforez işlemine geçilmiştir. Jel ve elektrot tampon çözeltisi olarak önce 10 x TBE stok çözeltisi hazırlanmış (Çizelge 3.8), daha sonra bu çözelti elektroforezde kullanılmak üzere 1x TBE (900 ml saf su, 100 ml 10xTBE/1 l) olacak şekilde seyreltilmiştir. Elektroforez işleminde 11 µl PCR ürününe 2.5 µl yükleme boyası ilave edilmiş, ürünlerin bant ağırlıklarını belirlemek için 100 bç-10 kb'lik Bio Basic firmasına ait DNA yükleme markörü kullanılmıştır. PCR ürünleri %1.2'lik EEO agaroz jelde, 100 V'da, 2.5 saat yürütülmüştür. PCR sonrası görüntüleri elde etmek için Kodak 1D jel görüntüleme sistemi kullanılmıştır.

Çizelge 3.8. 10x TBE stok çözeltisinin hazırlanışı (1 litre)

Tris	108.99 g.
EDTA	18.61 g.
Borik Asit	55.62 g.
pH	8.0

3.4. RAPD Polimorfizmi ve Genetik Mesafenin Belirlenmesi

Fenogramın elde edilmesi için incelenen jelde bant desenlerine bakılarak bantların olup olmaması durumuna göre "1" veya "0" şeklinde değerlendirilmeler yapılmıştır. İlk olarak NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versiyon 2.2 (Rohlf 2005) bilgisayar programı kullanılarak belirlenen polimorfik bantların büyüklükleri bilgisayara 1(var) ya da 0 (yok) şekilde girilmiş ve daha sonra kullanılacak olan bant matrisleri oluşturulmuştur. Bir sonraki aşamada Similarity for Qualitative Data alt programında DICE eşitliğini temel alan benzerlik matrisleri kullanılmıştır. En son aşamada SAHN (Sequential, Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering) kümeleme alt programı ve bu program içinde benzerlik matrislerini kullanan UPGMA (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu) algoritması kullanılarak çeşitlere ait fenogram çizilmiştir (Bilgin ve Korkut 2005, Karcicio 2006, Yeşbek 2007).

$$\text{Benzerlik indeksi (SI)} = \frac{2N_{ab}}{N_a + N_b}$$

N_{ab} = a çeşidi ve b çeşidi arasındaki ortak fragmentlerin sayısı

N_a = a çeşidindeki değerlendirilen bant sayısı

N_b = b çeşidindeki değerlendirilen bant sayısı

Çeşitler arasındaki mevcut genetik varyasyonu incelemek amacıyla temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır. Bu amaçla da NTSYS-PC programında Ordination alt programının Eigen alt programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Makarnalık Buğdaylara Ait RAPD Markörlerinin Elektroforez Sonuçları

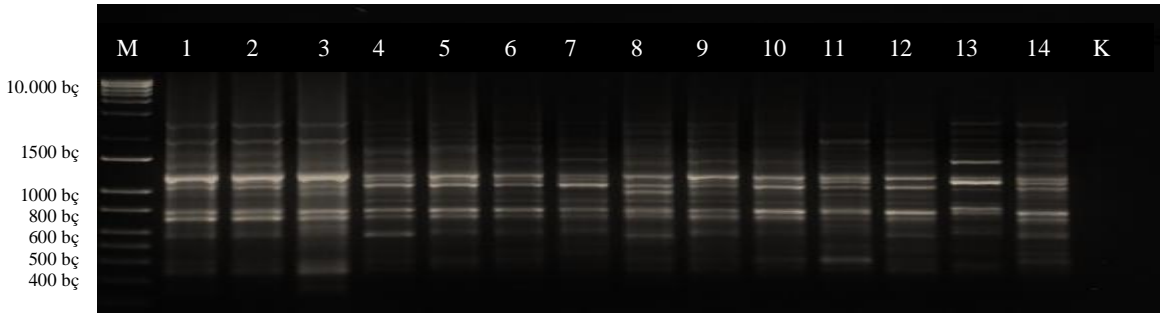
Çalışmada 45 farklı RAPD markörü ile 14 makarnalık buğday çeşidi taranmış ancak kullanılan bu primerlerden hepsi amplifikasyon göstermemiş olup, 27 tanesi tekrarlanabilir ve güvenilir polimorfik RAPD-PCR ürünleri verirken, 1 tanesi monomorfik bantlar oluşturmuştur. Diğer primerlerden ise ya hiçbir PCR ürünü elde edilememiş yada çalışılan genotiplerin büyük bir bölümünden PCR ürünü elde edilememiştir. Analizler sonucunda amplifikasyon gösteren primerlerin bant özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Makarnalık buğday çeşitlerinde primerlerden elde edilen bantların özellikleri

Primer Adı	Bant Büyüklüğü	Polimorfik Bant Sayısı	Monomorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı
S 21	800-2500 bç	6	6	12	% 50.0
S 22	590-2050 bç	8	1	9	% 88.8
S 32	300-1300 bç	3	3	6	% 50.0
S 34	1000-2500 bç	3	1	4	% 75.0
S 35	700-900 bç	1	1	2	% 50.0
S 56	500-2950 bç	12	-	12	% 100
S 120	800-2500 bç	-	7	7	-
S 122	950-2000 bç	6	-	6	% 100
S 125	400-4000 bç	9	2	11	% 81.0
S 126	400- 3000 bç	6	2	8	% 75.0
S 127	600-1500 bç	9	1	10	% 90.0
S 128	800-2100 bç	3	2	5	% 60.0
S 129	300-2000 bç	9	2	11	% 81.0
S 130	900-1500 bç	2	4	6	% 33.3
S 132	450-2000 bç	8	1	9	% 88.8
S 134	1000-1500 bç	1	2	3	% 33.3
S 135	650-1500 bç	4	1	5	% 80.0
S 138	400-1700 bç	2	2	4	% 50.0
S 151	850 2200 bç	2	10	12	% 83.3
S 156	800-3000 bç	6	3	9	% 66.6
S 161	1300-2800 bç	7	-	7	% 100
S 169	800-1600 bç	2	5	7	% 28.5
S 248	900-3000 bç	3	4	7	% 42.9
S 271	400-3000 bç	3	2	5	% 60.0
S 280	300-1500 bç	2	3	5	% 40.0
S 418	795-3000 bç	7	2	9	% 77.7
S 443	500-1400 bç	2	3	5	% 40.
S 461	600-2000 bç	3	1	4	% 75.0
Toplam		129	71	200	
Polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı				193	

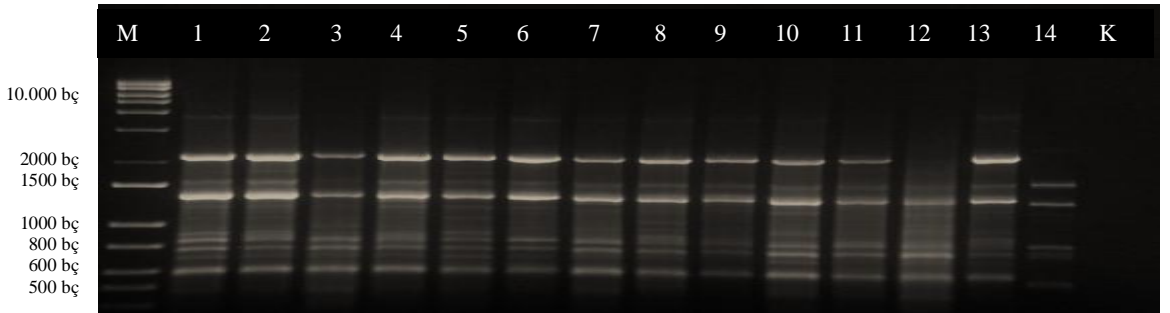
RAPD-PCR yöntemi ile çalışan; De Bustos ve ark. (1998) 64 primer ile çalışmışlar ancak 10 tanesini polimorfik olarak saptamışlardır. Benzer şekilde Liu ve ark. (1999) 60 primerden 9'unu, Pujar ve ark. (1999) 80 primerden 21'ini, Sun ve ark. (1998 a) 59 primerden 29'unu, Tavale (2001) 100 primerden 21'ini, Karcicio (2006) ise 42 primerden 26 adedini polimorfik olarak belirlemişlerdir.

PCR sonucu oluşan RAPD-DNA bantlarının okunması ve değerlendirilmesinde ise gözle görülebilecek netlikte oluşan tüm bantlar değerlendirilmeye alınmış, çok net görülmeyen ya da kırık bantlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Atak (2004), yaptığı çalışmada çalışmamızdaki gibi PCR sonucunda oluşan bantların okunmasında ve değerlendirilmesinde silik ya da kırık bantların değerlendirme dışı bırakıldığını bildirmiştir. Analizler sonucu elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.1 – Şekil 4.28'de, fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri ise Ek-1'de gösterilmiştir.



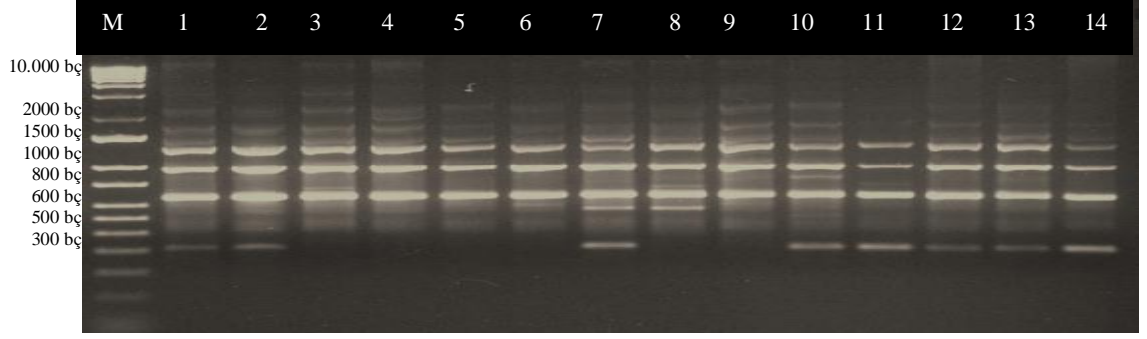
Şekil 4.1. S 21 primerine primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:**Amanos-97, **8:**Kunduru-1149, **9:**Altıntaş-95, **10:**Meram-2002, **11:**Ankara-98, **12:**Gediz-75, **13:**Fuatbey-200, **14:**Pınar-2001, **K:**Kontrol



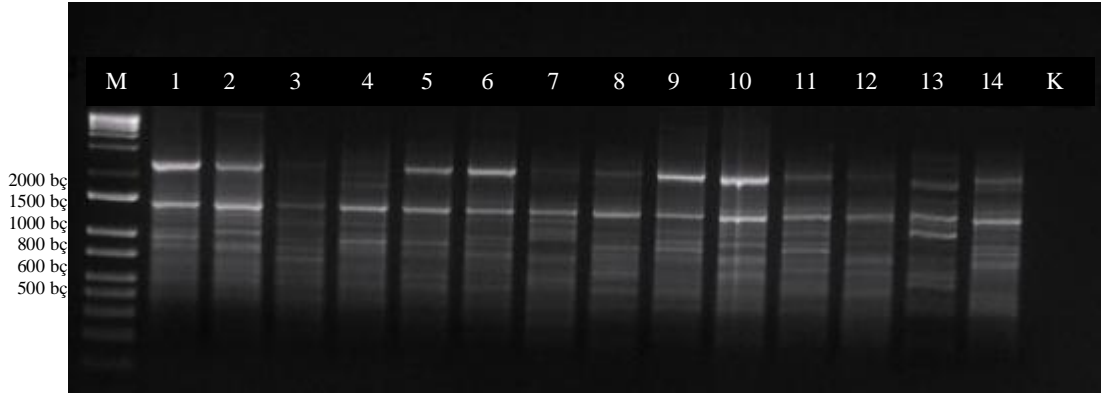
Şekil 4.2. S 22 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:** Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



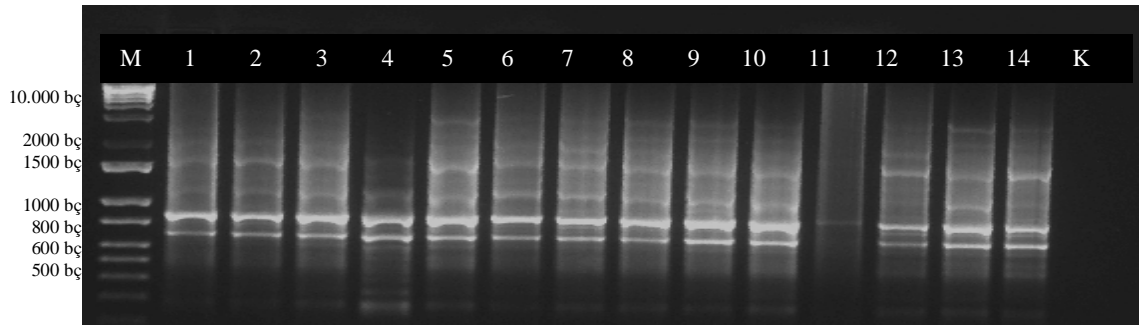
Şekil 4.3. S 32 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



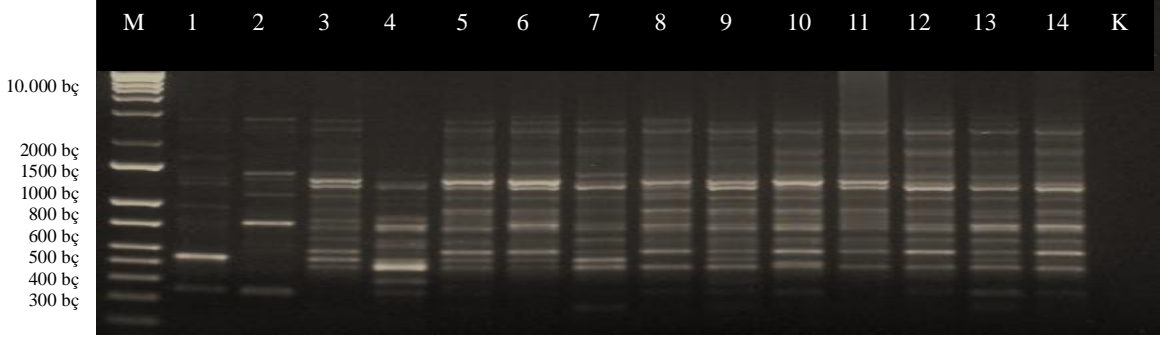
Şekil 4.4. S 34 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



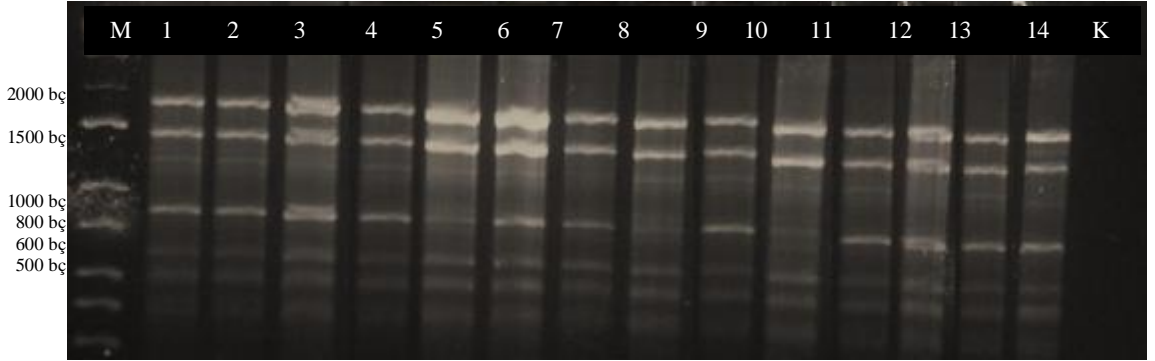
Şekil 4.5. S 35 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:** Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



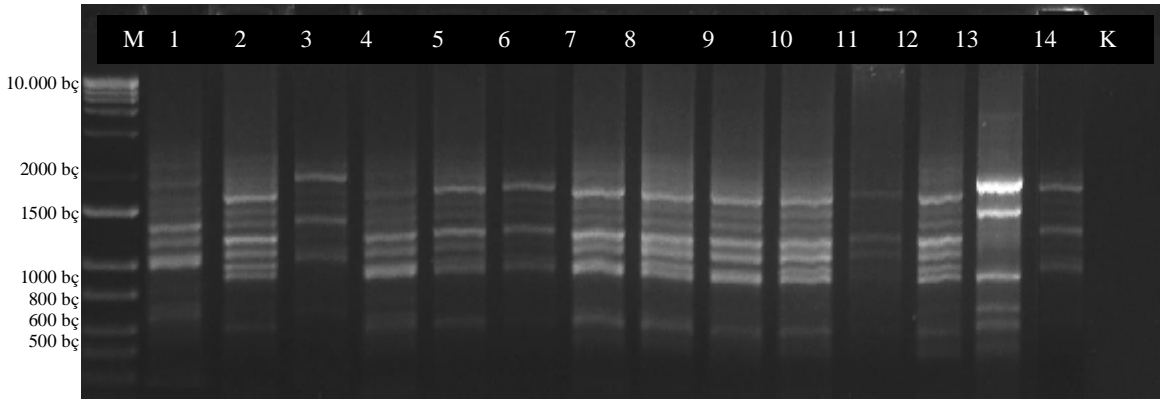
Şekil 4.6. S 56 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:**Amanos-97, **8:**Kunduru-1149, **9:**Altıntaş-95, **10:**Meram-2002, **11:**Ankara-98, **12:**Gediz-75, **13:**Fuatbey-200, **14:**Pınar-2001, **K:**Kontrol



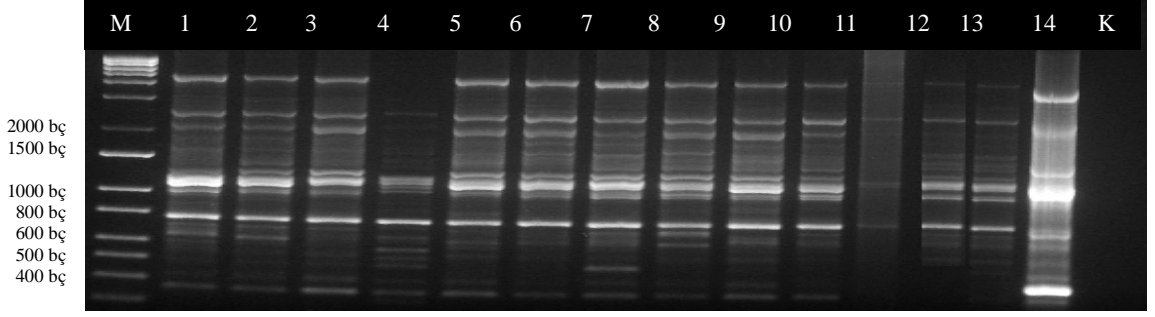
Şekil 4.7. S 120 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:**Amanos-97, **8:**Kunduru-1149, **9:**Altıntaş-95, **10:**Meram-2002, **11:**Ankara-98, **12:**Gediz-75, **13:**Fuatbey-200, **14:**Pınar-2001, **K:**Kontrol



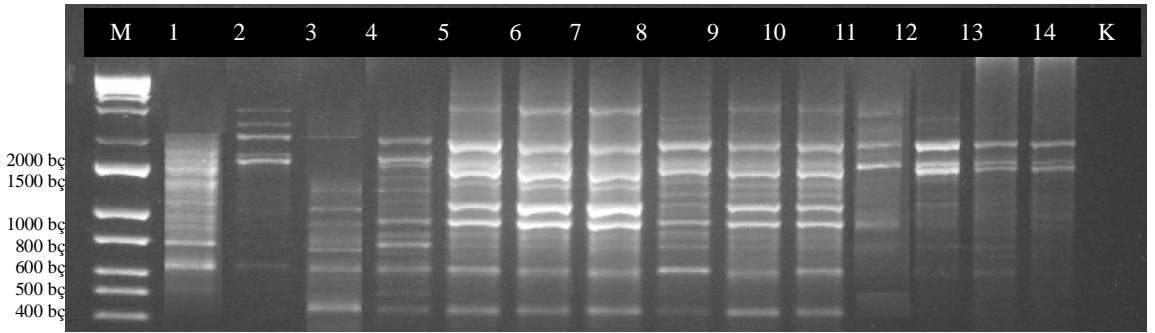
Şekil 4.8. S 122 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:**Amanos-97, **8:**Kunduru-1149, **9:**Altıntaş-95, **10:**Meram-2002, **11:**Ankara-98, **12:**Gediz-75, **13:**Fuatbey-200, **14:**Pınar-2001, **K:**Kontrol



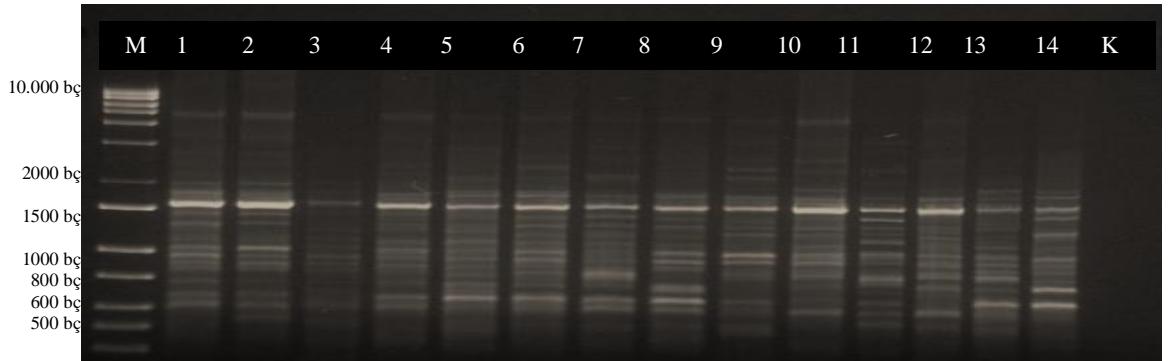
Şekil 4.9. S 125 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



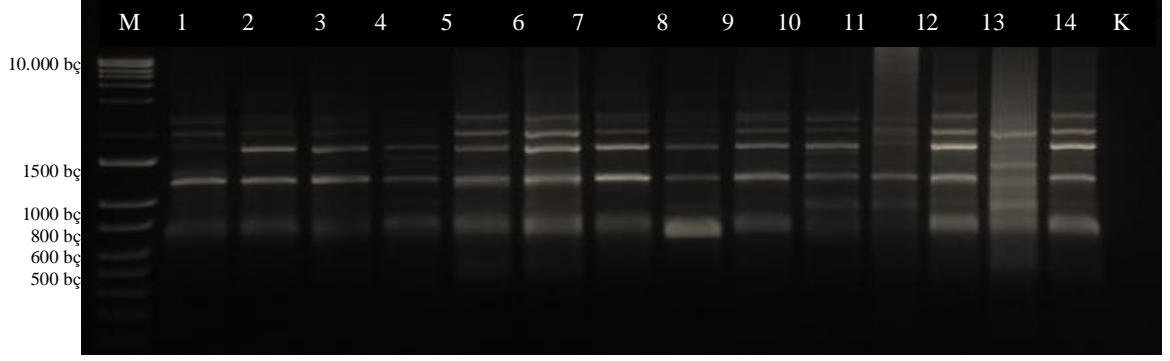
Şekil 4.10. S 126 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



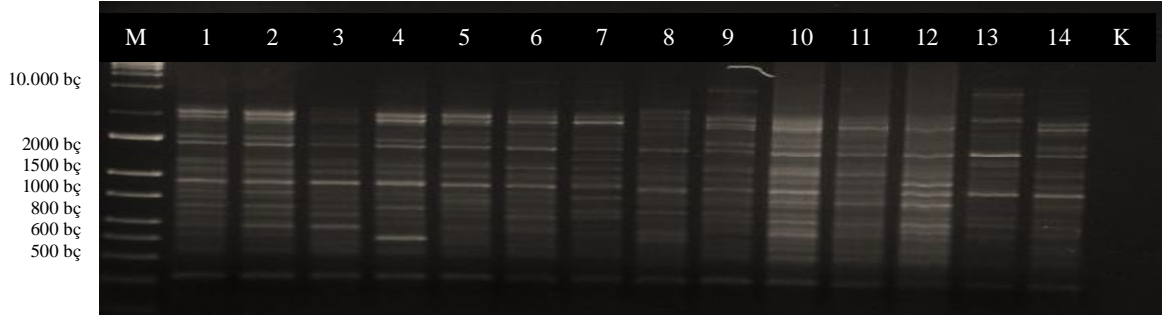
Şekil 4.11. S 127 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



Şekil 4.12. S 128 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



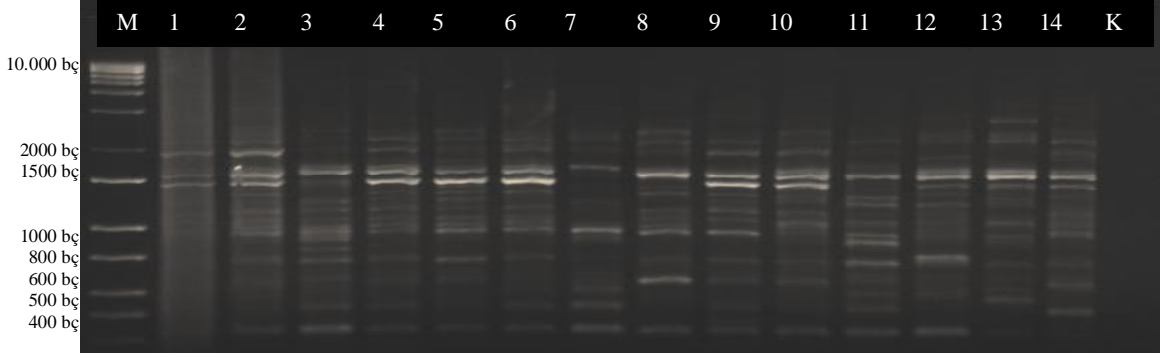
Şekil 4.13. S 129 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



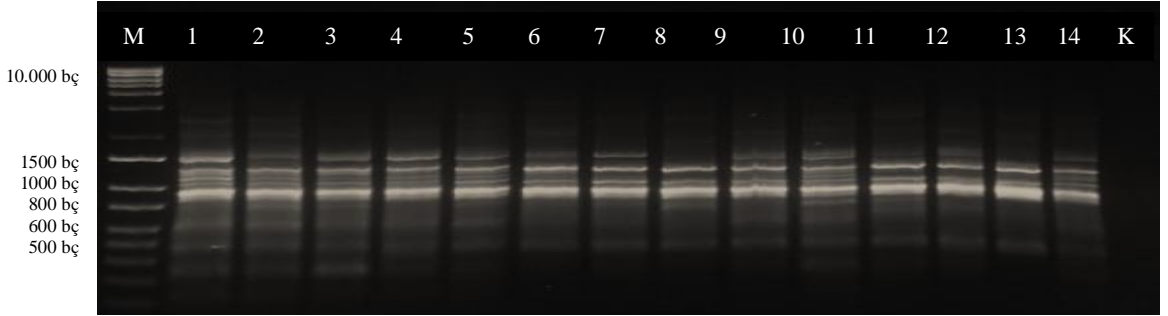
Şekil 4.14. S 130 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



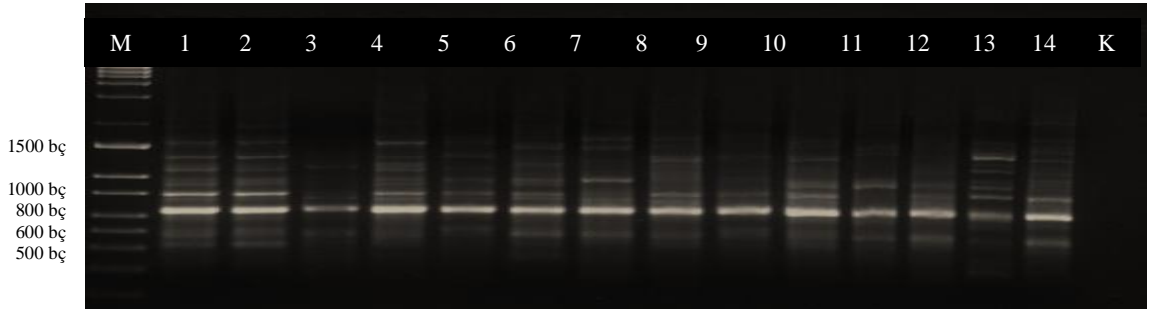
Şekil 4.15. S 132 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



Şekil 4.16. S 134 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



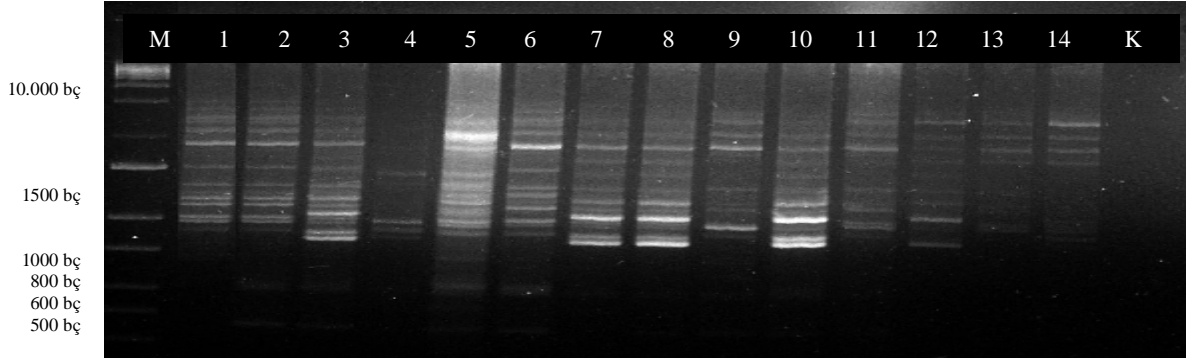
Şekil 4.17. S 135 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



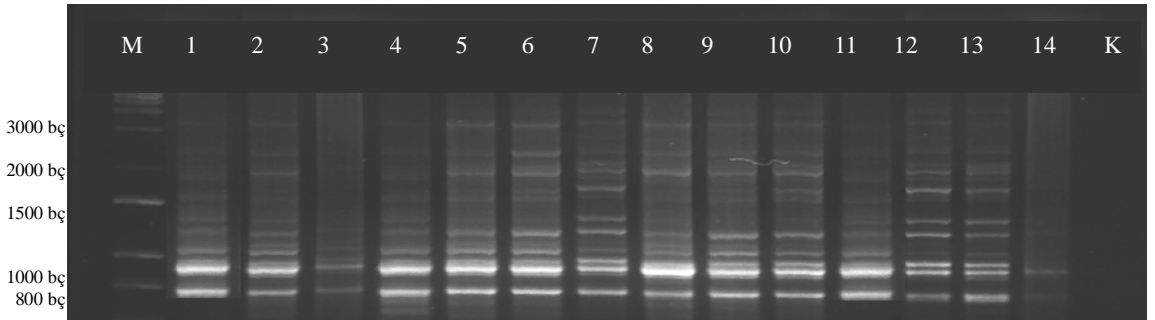
Şekil 4.18. S 138 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



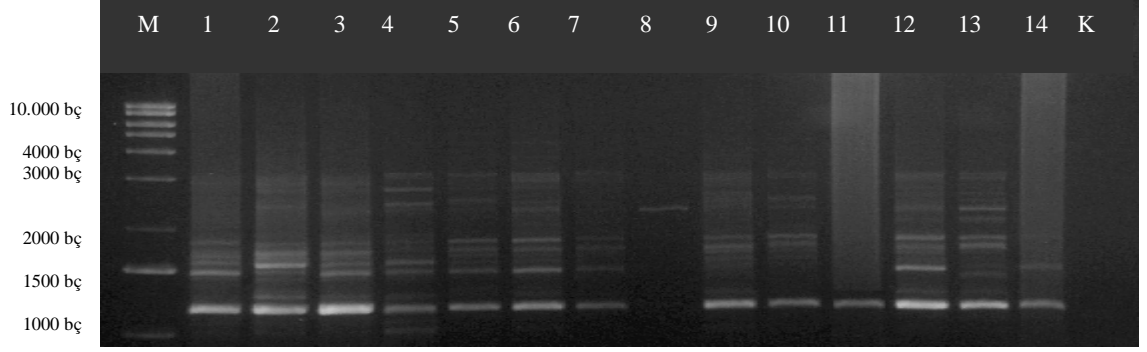
Şekil 4.19. S 151 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



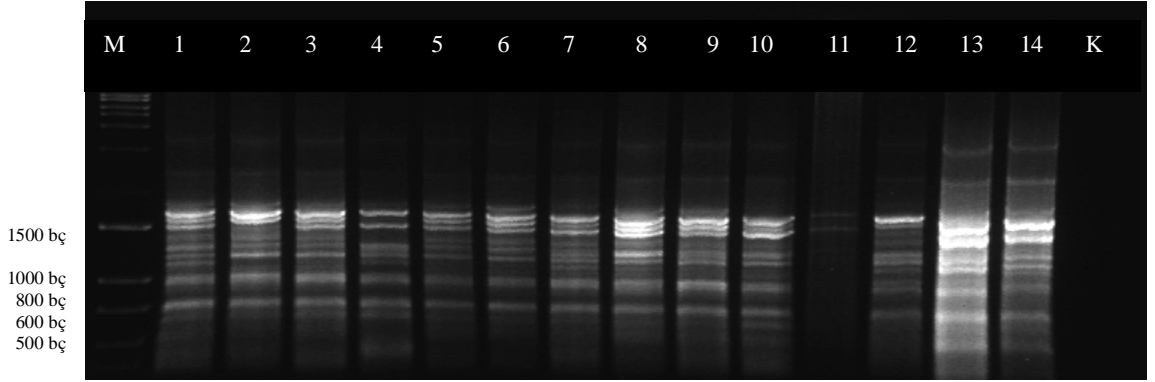
Şekil 4.20. S 156 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



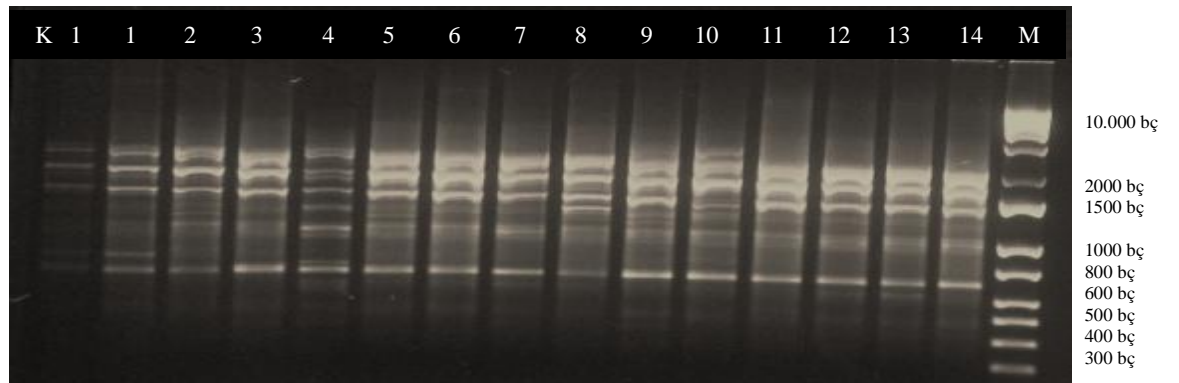
Şekil 4.21. S 161 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



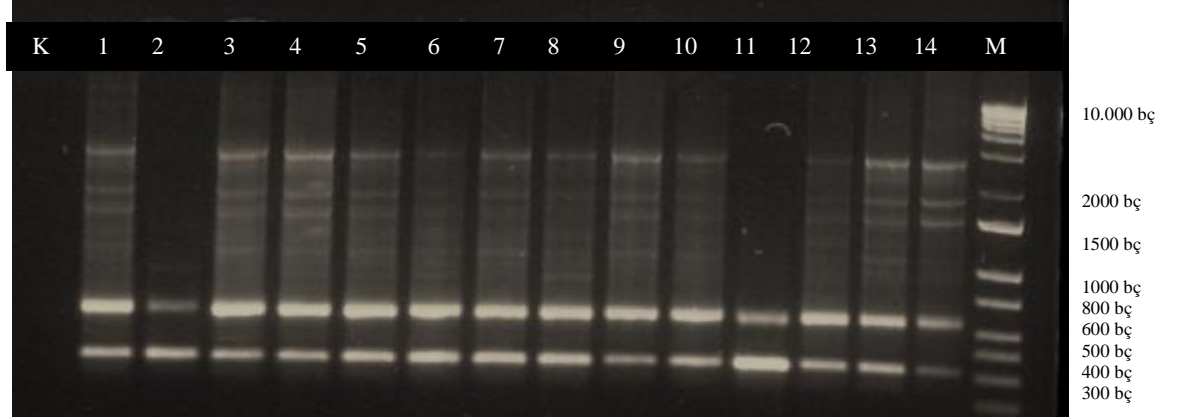
Şekil 4.22. S 169 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



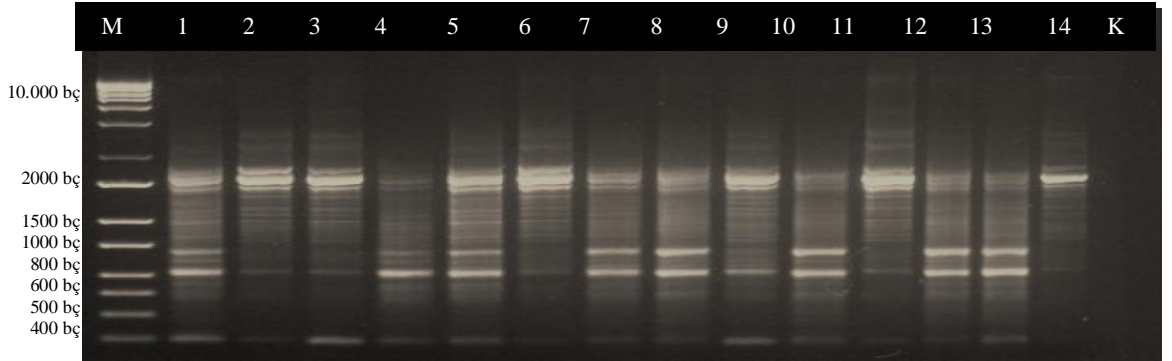
Şekil 4.23. S 248 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



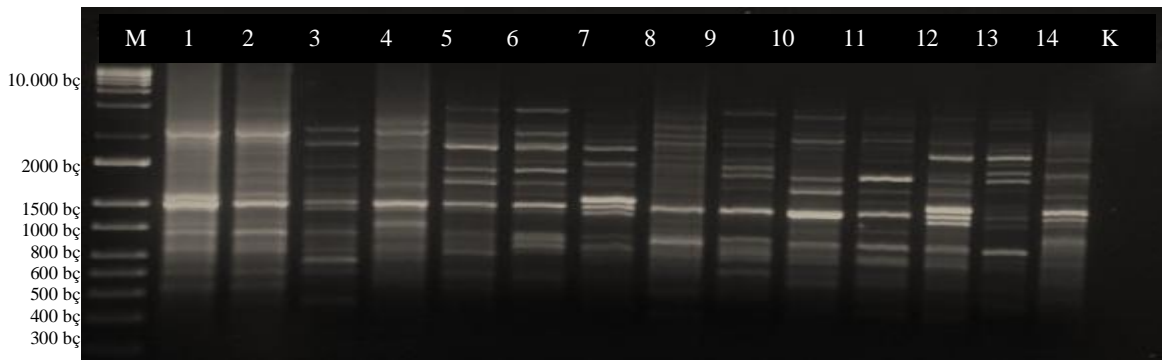
Şekil 4.24. S 271 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



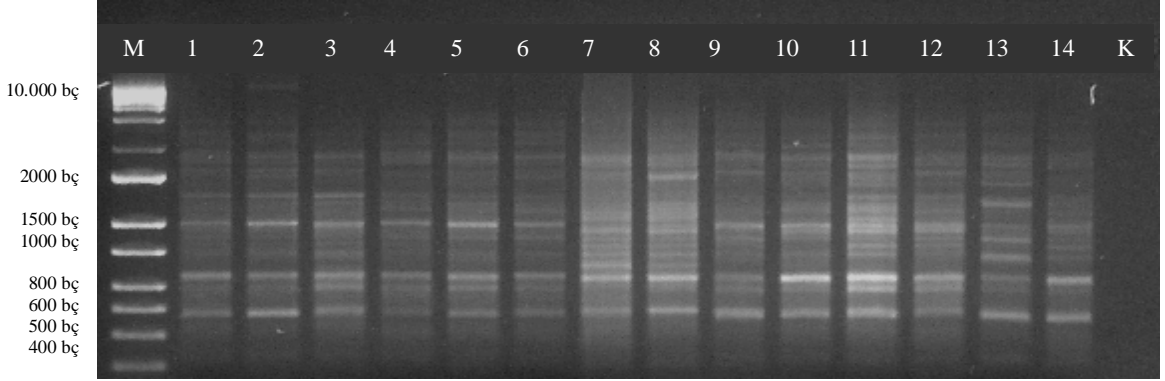
Şekil 4.25. S 280 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



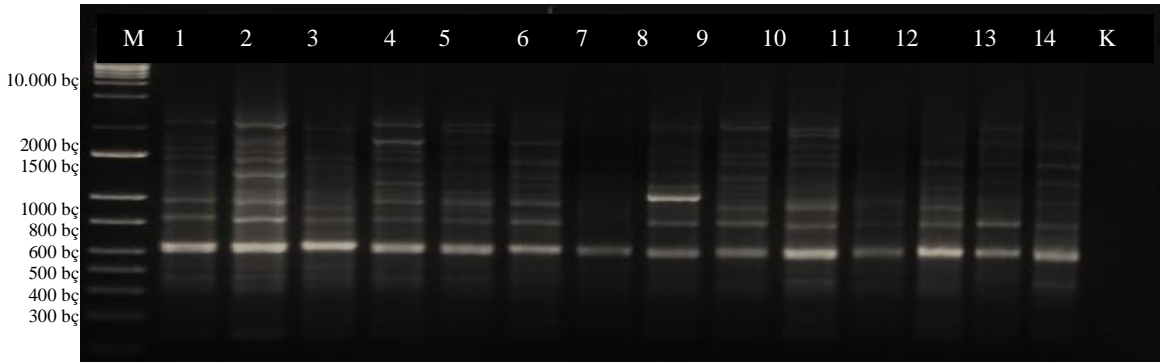
Şekil 4.26. S 418 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



Şekil 4.27. S 443 primerine ait jel görüntüsü.

M: Markör, **1:** Yelken, **2:** Ç-1252, **3:** Selçuklu-97, **4:** Ege-88, **5:** Çakmak-79, **6:** Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol



Şekil 4.28. S 461 primerine ait jel görüntüsü.

M:Markör, **1:**Yelken, **2:**Ç-1252, **3:**Selçuklu-97, **4:**Ege-88, **5:**Çakmak-79, **6:**Kızıltan-91, **7:** Amanos-97, **8:** Kunduru-1149, **9:** Altıntaş-95, **10:** Meram-2002, **11:** Ankara-98, **12:** Gediz-75, **13:** Fuatbey-200, **14:** Pınar-2001, **K:** Kontrol

Çizelge 4.1 incelendiğinde de görüleceği gibi makarnalık buğday çeşitlerinde amplifikasyon gösteren 28 adet primerden toplam 200 adet bant elde edilmiş olup, bunlardan 129 (% 64.5)'u polimorfik, 71 (% 35.5)'i ise monomorfik RAPD-PCR bantları vermiştir. Ortalama polimorfizm oranı ise % 66.7 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak Joshi ve Nguyen (1993 a) buğday ile yaptıkları RAPD-PCR sonucunda, 109 PCR ürününden 71 (% 65) adedini, Altıntaş ve ark. (2008) 334 PCR ürününden 214 (% 62)'ünü polimorfik bulurken, saptadığımız değerlerden farklı olarak Sun ve ark. (1998 a) 168 PCR ürününden 78 adedini, Hou ve ark. (2005) 109 banttan 84 (% 77.06)'ünü, Grewal ve ark. (2007) 372 banttan 323 (% 86.8)'ünü, ve Sofalian ve ark. (2008) ise 129 banttan 106'sını polimorfik olarak saptamışlardır. Araştırmada belirlenen ortalama polimorfizm oranına (% 66.7) benzer veya yakın

olarak Pujar ve ark. (1999) % 68.9, Mukhtar ve ark. (2002) % 64.38, Atak (2004) % 61.6, Malaki ve ark. (2008) % 60 ve Sawalha ve ark. (2008) % 65 oranında polimorfizm oranları belirlemişlerdir. Pujar ve ark. (2002) % 50.6, Taghian ve Abo-Elwafa (2003) % 41.86, Bhutta ve ark. (2006) % 46.97, Karcicio (2006) % 46.02, Wang ve ark. (2007) % 16.5 ve Tahir (2008) % 35.7 polimorfizm oranı saptayarak çalışmamızdaki sonuçtan daha düşük polimorfizm oranları tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra çalışmalarında Sofalian ve ark. (2008) % 82.2 ve Bıbı ve ark. (2009) ise % 89.2 polimorfizm oranları belirleyerek çalışmamızdaki sonuçtan daha yüksek polimorfizm oranı saptamışlardır.

Elde edilen fragmentlerin bant büyüklüklerinde, en düşük bant ağırlığı 300 bç olup S 32, S 129 ve S 280 primerlerinden (Şekil 4.3, 4.13, 4.25), en büyük bant ağırlığı ise 4000 bç olup S 125 primerinden elde edilmiştir (Şekil 4.9). En yüksek polimorfizm yüzdesi % 100 ile S 56, S 122 ve S 161 primerlerinden (Şekil 4.6, 4.8, 4.21), en düşük polimorfizm yüzdesi ise % 28.5 ile S 169 primerinden elde edilmiştir (Şekil 4.22). Diğer primerlerin polimorfizm yüzdesi ise % 33.3 ile % 90 arasında değişim göstermiştir. Çalışılan primerlerden 2-12 arasında toplam bant oluşumu gerçekleşmiştir. En çok bant elde edilen primerler S 21, S 56 ve S 151 primerleri olup (Şekil 4.1, 4.6, 4.19), bunlardan 12 adet bant elde edilmiştir. En az bant veren primer ise 2 adet bant oluşumu ile S 35 primeri olmuştur (Şekil 4.5). Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 7.14 (193/27), polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 4.77 (129/ 27) olarak belirlenmiştir.

Araştırmalarında RAPD-PCR yöntemini kullanan Selbach ve Molina (2000) 160-2500 bç, Tavale (2001) 450-1800 bç, Cao ve ark. (2002) 280-2800 bç, Fernandez ve ark. (2002) 250-1450 bç, Taghian ve Abo-Elwafa (2003) 408-1506 bç, Teshale ve ark. (2003) 300-3000 bç, Maric ve ark. (2004) 400-1900 bç, Abbas ve ark. (2008 a ve b) sırasıyla 250-3000 bç ve 250-1000 bç, Cenkci ve ark. (2008) 290-2570 ve Bıbı ve ark. (2009) 142-5300 bç arasında değişen bant büyüklükleri elde ederek çalışmamızda elde edilen bant büyüklüklerine benzer sonuçlar bulmuşlardır. En yüksek ve en düşük polimorfizm oranları bakımından ise Doğrar ve ark. (2000) çalıştıkları primerlerde 0.609-0.872, Atak (2004) % 60- % 100 ve Altıntaş ve ark. (2008) % 26 - % 58 arasında polimorfizm belirleyerek çalışmamızdaki bulgulara yakın değerler bulmuşlardır. Araştırmada elde edilen 2-12 bant sonucu buğday bitkisiyle yürütülen çalışmalarda, Liu ve ark.(1999) ve Bıbı ve ark.(2009)'nın sırasıyla 6-12 ve 1-11 bant bulgularını destekler

niteliktedir. Ayrıca, Pujar ve ark. (2002) primer başına 9.81 adet bant (7.71 tanesi polimorfik olan), Hou ve ark. (2005) primer başına 4.19 bant, Grewal ve ark. (2007) 5.30 bant ve Tonk ve ark. (2008) ortalama polimorfik bant sayısını 3.5 oranında saptayarak çalışmamızdaki sonuçlara benzer değerler bulmuşlardır.

4.2. Makarnalık Buğdaylara Ait Kümeleme Analizi Sonuçları

Fenogramın elde edilmesi için incelenen jelde bant desenlerine bakılarak, polimorfik primerlerden elde edilen PCR ürünlerine ait bant desenlerinin “var” (1) ya da “yok” (0) şeklinde bilgisayar programına girilmesi sonucunda elde edilen bant matrisleri yardımıyla DICE eşitliği kullanılarak oluşturulan benzerlik matrisine ait değerler Çizelge 4. 2’de verilmiştir.

Çizelge incelendiğinde en yüksek benzerliğin 0.874 oranı ile Çakmak-79 ile Kızıltan-91 çeşitleri arasında olduğu görülmektedir. Diğer en yüksek benzerlikler ise Kızıltan-91 – Altıntaş-95 ve Yelken - Çeşit-1252 çeşitleri arasında sırasıyla 0.873 ve 0.861 oranı ile saptanmıştır. Elde edilen verilere göre en düşük benzerlik oranı ise 0.434 ile Ege-88 ile Ankara-98, 0.500 değeri ile Yelken ve Ankara-98 ve 0.504 oranı ile Pınar-2001 ve Ankara-98 çeşitleri arasında saptanmıştır. Bu durumda elde edilen sonuçlara göre, birbirine en yakın çeşitler Çakmak-79 ve Kızıltan-91, birbirine en uzak çeşitler ise Ege-88 ve Ankara-98 çeşitleri olmuştur. Çeşitlere ait pedigriler incelendiğinde ise (Çizelge 3.1), Ankara-98 ve Gediz -75 çeşitlerinin pedigrilerinde TC^{*2}’yi ortak anaç olarak paylaştıkları görülmektedir. Ayrıca Gediz-75’in Ankara-98’in anaçlarından biri olduğu ve iki çeşit arasında 0.609 oranında bir benzerlik olduğu Çizelge 4.2’de görülmektedir. Bunun yanı sıra Gediz-75 ve Ege-88 çeşitleri diğer bir ortak ataya (Jori) sahip olup, 0.517 oranında birbirine benzemektedirler. Çakmak-79, Kızıltan-91, Selçuklu-97 çeşitlerinde ise 61-130/UVY162 ortak anaç iken, 61-130 anacının ise Çakmak-79, Kızıltan-91, Selçuklu-97 çeşitlerinin yanı sıra Çeşit-1252 çeşidinin de ortak anacı olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1). Benzer çeşitlerle yaptığı RAPD-PCR sonucunda çalışmamızdaki sonuca paralel olarak Karcicio (2006), çalışmasında Kızıltan-91 ve Çakmak-79 çeşitlerinin birbirine yakın çeşitler olduğunu ve fenogramda aynı grupta yer aldığını bildirmiş, bunun nedeninin de bu iki çeşidin pedigrilerinde iki ortak atayı (61-130/ÜVY-162) paylaşması olduğunu belirtmiştir. Aynı

çalışmada Pınar-2001 ile Ankara-98 çeşitleri arasında çalışmamızdaki sonuca benzer olarak düşük benzerlik oranı saptamıştır.

DİCE eşitliğinden elde edilen benzerlik indeksi baz alınarak oluşturulan fenograma (Şekil 4.29) göre çalışılan makarnalık buğday genotipleri 6 kolda (grup) toplanmışlardır. Birinci kolda Ankara-98 çeşidi yer almış olup, diğer çeşitlerle 0.560 oranında benzerlik göstermektedir. İkinci kolda yer alan Pınar -2001 ile diğer çeşitler arasında 0.540, üçüncü kolda yer alan Ege-88 ile diğer çeşitler arasında 0.620 oranında benzerlik saptanmıştır. Dördüncü ve beşinci kolda sırasıyla Fuatbey-2000 ile Selçuklu-97 çeşitleri yer almış ve diğer çeşitlerle aralarında 0.640 ile 0.710 oranında benzerlik belirlenmiştir. Diğer tüm çeşitler altıncı kolda yer almışlardır. Altıncı kolda kendi içerisinde başlıca iki alt kola ayrılmakta olup, altıncı kolun birinci kolunda Amamos-97, Gediz-75, Kunduru-1149, Meram-2002, Altıntaş-95, Kızıltan-91 ve Çakmak-79 çeşitleri, ikinci dalında ise Yelken ve Çeşit-1252 çeşitleri bulunmaktadır.

Çizelge 4.2. Makarnalık buğday çeşitlerinde DICE eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri

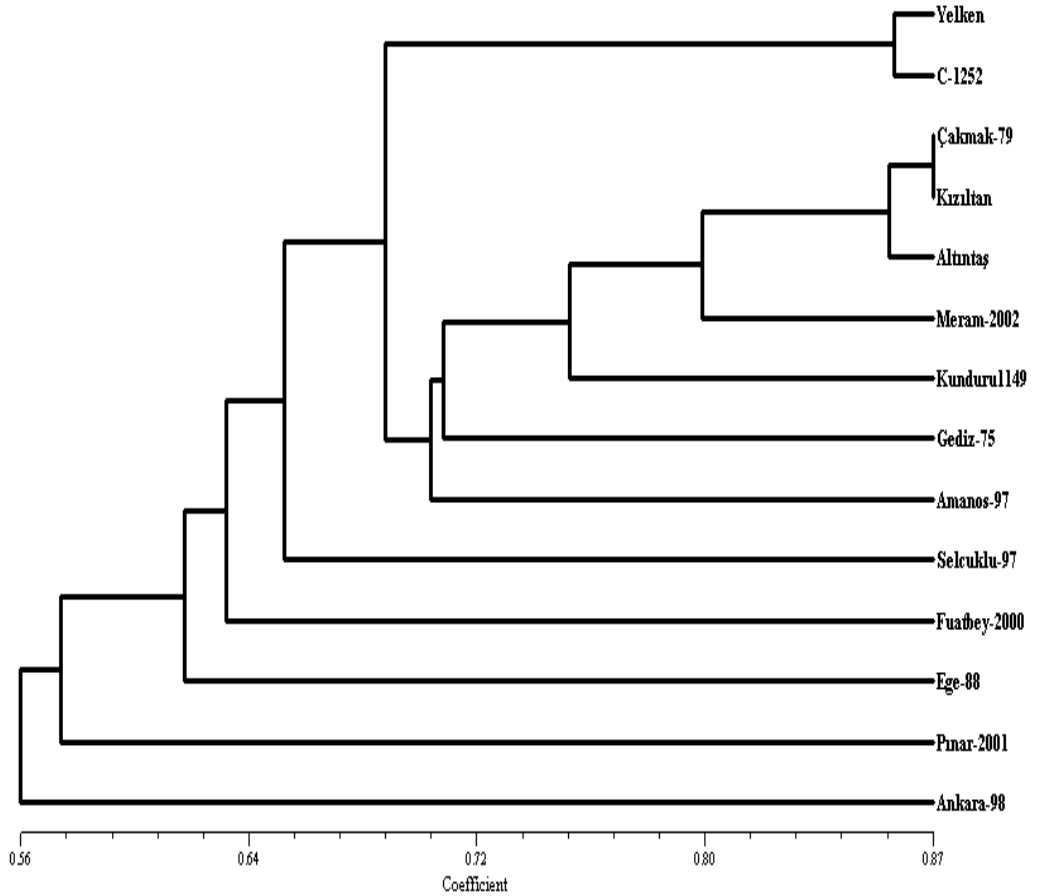
G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1.00													
2	0.861	1.0												
3	0.662	0.622	1.0											
4	0.709	0.653	0.580	1.0										
5	0.679	0.716	0.705	0.658	1.0									
6	0.679	0.742	0.667	0.644	0.874	1.0								
7	0.628	0.679	0.641	0.604	0.707	0.744	1.0							
8	0.600	0.667	0.626	0.558	0.720	0.747	0.646	1.0						
9	0.701	0.750	0.714	0.653	0.845	0.873	0.703	0.767	1.0					
10	0.711	0.781	0.638	0.629	0.768	0.793	0.724	0.762	0.823	1.0				
11	0.500	0.547	0.526	0.434	0.585	0.639	0.583	0.536	0.621	0.662	1.0			
12	0.587	0.680	0.585	0.517	0.683	0.684	0.684	0.684	0.704	0.774	0.609	1.0		
13	0.629	0.616	0.543	0.574	0.636	0.662	0.596	0.621	0.671	0.658	0.534	0.676	1.0	
14	0.619	0.577	0.544	0.530	0.587	0.612	0.544	0.553	0.635	0.561	0.504	0.511	0.612	1.0

G:Genotip, 1:Yelken, 2:Ç-1252, 3:Selçuklu-97, 4:Ege-88, 5:Çakmak-79, 6:Kızıltan-91, 7:Amamos-97, 8:Kunduru-1149, 9:Altıntaş-95, 10:Meram-2002, 11:Ankara-98, 12:Gediz-75, 13:Fuatbey-200, 14: Pınar-2001.

Çalışmamızda DICE eşitliğinden elde edilen benzerlik matrisi değerleri 0.434-0.874 arasında değişmiştir. RAPD-PCR yöntemi kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda ise benzerlik indekslerini, Castagna ve ark. (1997) 0.432- 0.982 (ortalama 0.718), Sun ve ark. (2003) 0.64- 0.98, Teshale ve ark. (2003) 0.400-0.966, Mantzavinou ve ark. (2005) 0.153-0.973, Karcicio (2006) 0.276-0.778 ve Cencki ve ark. (2007) ise 0.388 - 0.714 arasında bulduklarını bildirmektedirler. Saptanan bu değerler araştırmamızda saptanan 0.433-0.874 değerleri ile göreceli yakındır. Paul ve ark. (1998) 0.004- 0.409,

Bedö ve ark. (2000) 0.03-0.74, Szucks ve ark (2000) 0.03-0.18 oranlarını belirleyerek araştırmada saptanan değerlerden daha küçük değerler bildirirken, Mukhtar ve ark. (2002) 0.756-0.927, Hou ve ark. (2005) 0.753-0.980 değerleri ile daha yüksek değerler bulmuşlardır.

Araştırmamızda elde edilen fenogramda çalışılan makarnalık buğday çeşitleri 6 grupta toplanmışlardır. Bu bulgular Abbas ve ark. (2008 a) ve Sofalian ve ark. (2008) yaptıkları RAPD-PCR sonucu elde ettikleri fenogramda çalıştıkları buğday genotiplerinin 6 grupta toplandıkları bulgularına benzer niteliktedir. Bunun yanı sıra yapılan diğer çalışmalarda araştırmamızdan farklı olarak, Liu ve ark. (1999), elde ettikleri fenogramın 4 gruptan, Pujar ve ark. (1999) 3 gruptan, Doğrar (2000) ve Tavale (2001) 2 gruptan oluştuğunu bildirirken, Mukhtar ve ark. (2002) ve Bhutta (2006) ise fenogramda 1 büyük ve 2 küçük alt grup oluştuğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.29. UPGMA metoduyla oluşturulan makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram

Çalışmada kullanılan çeşitlerin genetik olarak benzerliklerinin yanı sıra morfolojik benzerlikleri de incelendiğinde; birbirine en yakın çeşit olarak belirlenen Çakmak-79 ve Kızıltan-91 makarnalık buğday çeşitlerinin yeşil ve tüysüz yapraklı, başaklarının orta sıklıkta ve dik duruşlu, tanelerinin renkli, orta erkenci, kışa dayanımlarının iyi ve verim potansiyellerinin yüksek olduğu görülmektedir (Anonim 2009 a).

Altınova TİM tarafından kuru şartlarda yürütülen makarnalık ve ekmeçlik buğdayların çeşit, verim ve adaptasyon denemelerinde, makarnalık buğdaylardan Ankara-98, Çeşit-1252 ve Kızıltan-91'in bitki boyları sırasıyla 55, 53 ve 54 cm, 1000 tane ağırlıkları ise 51.2, 46.2 ve 48.8 olarak belirlenmiştir (Anonim 2004). Aynı bitki materyallerini kullanarak genetik farklılıkları incelediğimiz çalışmamızda ise bu çeşitlerin kümeleme analizi sonucunda, Ankara-98 çeşidinin ayrı bir kümede yer aldığı, Çeşit-1252 ve Kızıltan-91 çeşitlerinin ise aynı kümenin farklı alt kollarında bulunduğu belirlenmiştir.

Ayçiçek ve Yıldırım (2006), tarafından 12 adet makarnalık buğday çeşidi üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise makarnalık buğday çeşitlerinin agronomik özellikleri çizelge 4.3'deki değerlerde belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Makarnalık buğday çeşitlerinin agronomik özellikleri

Çeşit	Başak Sayısı (Adet)	Bitki Boyu (cm)	Başak Boyu (cm)	Başakçık sayısı (Adet)	Başakta Tane Ağırlığı (g)	Başak Verimi (g)	1000 Tane Ağırlığı (g)	Tane Verimi (kg)
Altıntaş-95	125	86.5	7.8	18.4	36.3	1.83	50.5	208.0
Ankara-98	132	68.4	6.5	17.6	38.2	2.27	60.3	308.0
Çakmak-79	148	71.5	7.4	17.7	35.3	1.84	54.0	206.0
Çeşit-1252	140	71.9	8.0	18.0	39.0	2.15	57.1	254.0
Kızıltan-91	149	79.1	7.3	17.3	30.0	1.63	56.1	243.0
Kunduru-1149	157	95.5	7.0	17.8	32.5	1.76	55.8	214.0
Selçuklu-97	145	69.6	7.5	18.6	40.0	1.52	42.6	233.0
Yelken	136	81.9	7.1	18.5	41.1	2.12	52.4	212.0

(Kaynak: Ayçiçek ve Yıldırım 2006)

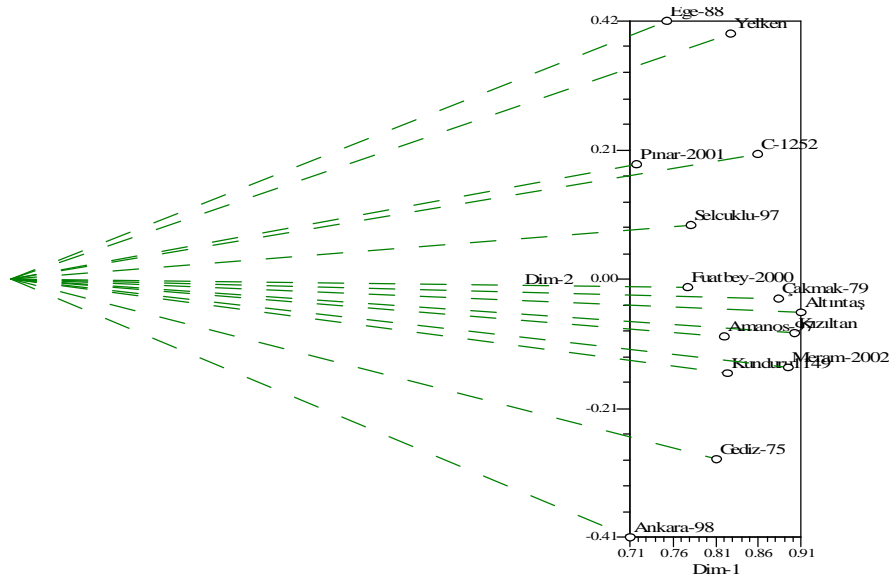
Araştırmacıların sonuçlarına göre fenogramda da birbirine çok benzer çıkan Çakmak-79 ve Kızıltan-91 çeşitlerinin agronomik özellikleri bakımından da birbirine yakın değerler verdiği görülmektedir. Ankara-98 ve Selçuklu-97 çeşitlerinin ise fenogramda

ayrı kollarda yer almasına karşın agronomik olarak fenogramda aynı grupta yer alan çeşitlerle benzer veya yakın değerler aldığı belirlenmiştir.

4.3. Makarnalık Buğdaylara Ait Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuçları

Çalışılan makarnalık buğday çeşitlerinin genetik varyasyonunu belirlemek amacıyla yapılan “Temel Bileşenler Analizi (PCA)” sonucu Şekil 4.30’da görülmektedir. Elde edilen varyasyon ve Eigen (öz) değerleri Ek-2’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre çeşitler arasında genetik varyasyon bakımından Fuatbey-2000, Çakmak-79, Altıntaş-95, Kızıltan-91, Amanos-97, Meram-2002 ve Kunduru-1149 çeşitleri aynı grupta toplanırlarken, diğer çeşitler DICE eşitliğinden elde edilen fenograma benzer şekilde farklı gruplar oluşturmuşlardır. Ancak Gediz-75, Yelken ve Çeşit -1252 çeşitleri fenogramda aynı grupta yer almasına rağmen PCA sonucu farklı bölgelerde yer almışlardır. Bunun sebebinin çeşitlerin çok farklı coğrafi bölgelerden getirilmesi veya farklı genetik içeriğe sahip anaçların kullanılması olarak açıklanmaktadır (Karcicio 2006). Çizelge 3.2 incelendiğinde de görüleceği gibi Gediz-75 İzmir, Yelken Konya ve Çeşit-1252 ise Ankara illerinde bulunan Tarımsal Araştırma Enstitülerinden temin edilmiş olup, bu farklı coğrafi yörelerde yetiştirilmesi önerilmektedir. Bunun yanı sıra çeşitler farklı anaçları da içermektedirler (Çizelge 3.1). Ayrıca değişik ekolojik ortamlarında RAPD- polimorfizminin ortaya çıkmasında etkili olduğu Nevo ve ark. (2002) tarafından bildirilmektedir.



Şekil 4.30. Makarnalık buğday çeşitlerine ait temel bileşenler analizi

Karcicio (2006), makarnalık buğday çeşitlerinde RAPD-PCR tekniği ile genetik çeşitlilik analizi konulu çalışmasında, elde ettiğimiz sonuca benzer şekilde, çeşitlerin fenogramda 2 grup oluşturmalarına rağmen PCA sonucunda çeşitlerin 4 farklı grupta toplandığını bildirmiştir.

4.4. Ekmeklik Buğdaylara Ait RAPD Markörlerinin Elektroforez Sonuçları

Çalışmada 45 adet RAPD primeri ile 16 adet ekmeklik buğday çeşidi taranmış, 17 adet RAPD primerinden polimorfik RAPD-PCR ürünü elde edilmiştir. Analizler sonucu primerlerden elde edilen bantların özellikleri Çizelge 4.4'de, jel görüntüleri ise Şekil 4.31-4.47'de gösterilmiştir. Fenogram çiziminde kullanılan bant matriksleri ise Ek-3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Ekmeklik buğday çeşitlerinde primerlerden elde edilen bantların özellikleri

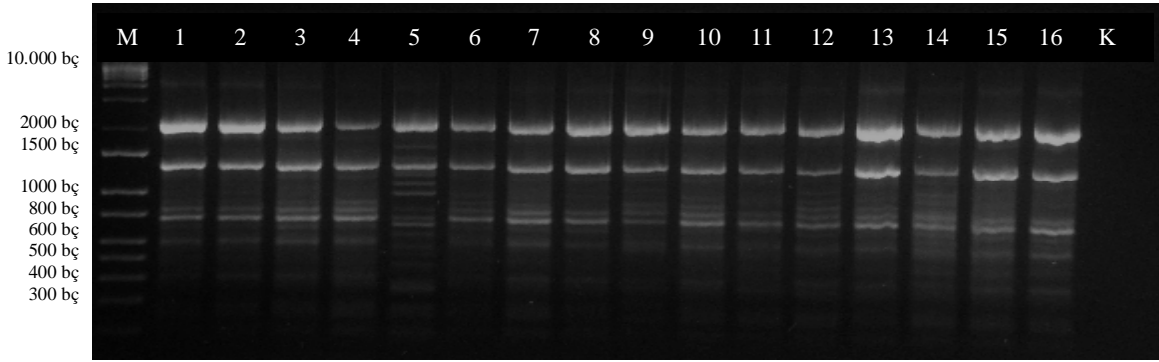
Primer Adı	Bant Büyüklüğü	Polimorfik Bant Sayısı	Monomorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı
S 22	600-2000 bç	4	3	7	% 57.1
S 32	300-2000 bç	7	1	8	% 87.5
S 34	300-2600 bç	12	1	13	% 92.3
S 98	500-1400 bç	4	1	5	% 80.0
S 126	400-2000 bç	8	1	9	% 88.8
S 127	400-1700 bç	13	1	14	% 92.8
S 129	300-1950 bç	9	2	11	% 81.8
S 130	300-2800 bç	6	2	8	% 75.0
S 132	300- 1800 bç	5	-	5	% 100
S 133	300-1900 bç	8	5	13	% 61.5
S 135	500-2100 bç	2	2	4	% 50.0
S 138	500-1500 bç	2	1	3	% 66.6
S 156	350-2000 bç	8	1	9	% 88.8
S 418	300-1000 bç	4	4	8	% 50.0
S 443	500-2100 bç	8	1	9	% 88.8
S 444	500-1400 bç	2	4	6	% 33.3
S 461	500-1490 bç	8	2	10	% 80.0
Toplam		110	32	142	

Ekmeklik buğday çeşitlerinde RAPD-PCR ürünü veren 17 primerden toplam 142 adet bant elde edilmiş olup, bunun 110 (% 77.4) tanesi polimorfik, 32 (% 22.5)'si ise monomorfik olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Ortalama polimorfizm oranı ise % 74.9 olarak saptanmıştır. Elde edilen bantların büyüklükleri 300-2800 bç arasında belirlenmiş olup, en düşük bant ağırlığı (300 bç) S 32, S34, S129, S130, S132, S133 ve

S 418 primerlerinde (Şekil 4.32, 4.33, 4.37, 4.38, 4.39,4.40 ve 4.44), en yüksek bant ağırlığı ise (2800 bç) S 130 (Şekil 4.38) primerinden elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

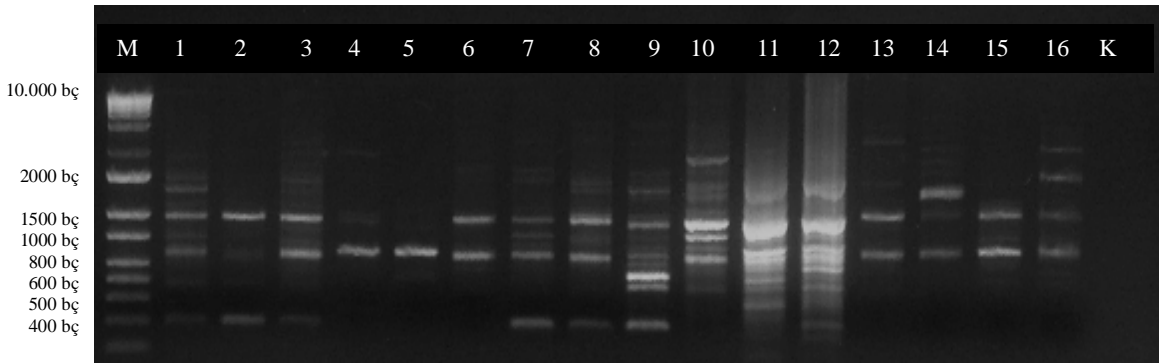
Primerlerin polimorfizm yüzdeleri % 33.3-% 100 arasında saptanmıştır. En yüksek polimorfizm yüzdesi S 132 primerinden elde edilirken (Şekil 4.39), en düşük polimorfizm yüzdesine S 444 (Şekil 4.46) primeri sahip olmuştur (Çizelge 4.4).

Değerlendirmeye alınan primerlerden 3-14 adet arasında, primer başına ortalama 8.35 bant elde edilmiştir. En fazla bant oluşumu sağlayan primerler S 34, S 127 ve S 133 primerleri olup sırasıyla 14 ve 13'er adet bant oluşturmuşlardır (Şekil 4.33, 4.36 ve 4.4.40). En az bant oluşumu ise 3 adet bant ile S 138 (Şekil 4.42) primerinden elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Çalışmada polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 6.47 (110/17) olarak belirlenmiştir.



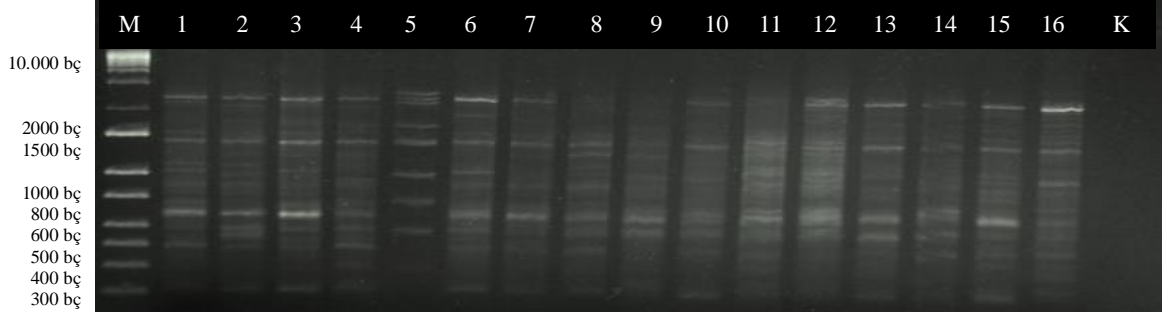
Şekil 4.31. S 22 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



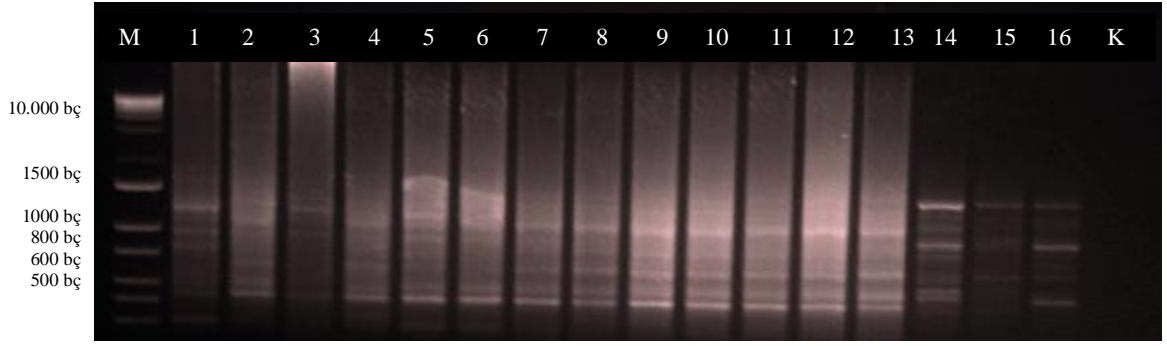
Şekil 4.32. S 32 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



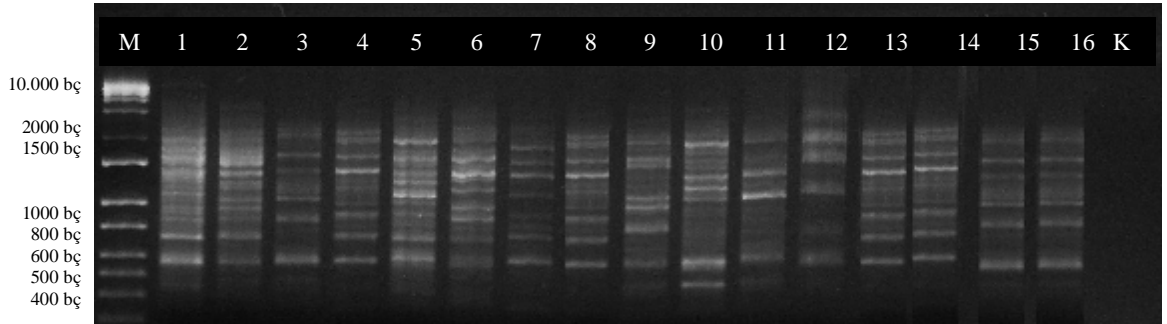
Şekil 4.33. S 34 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



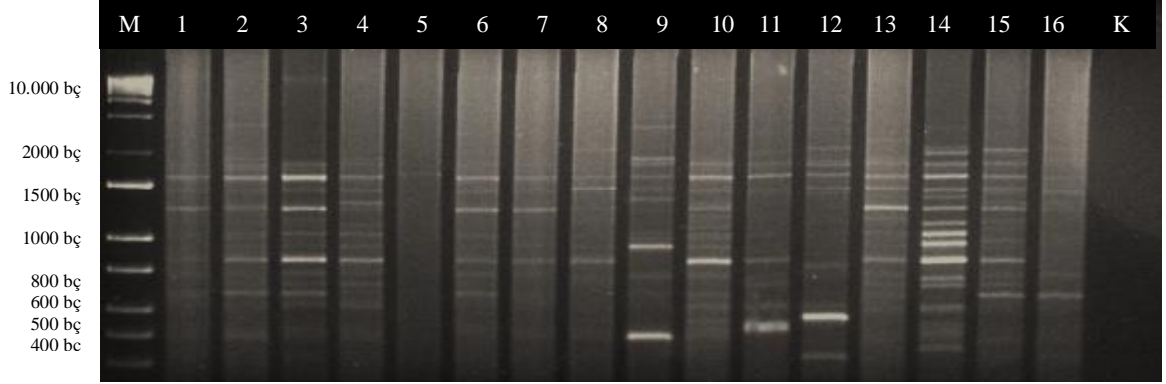
Şekil 4.34. S 98 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



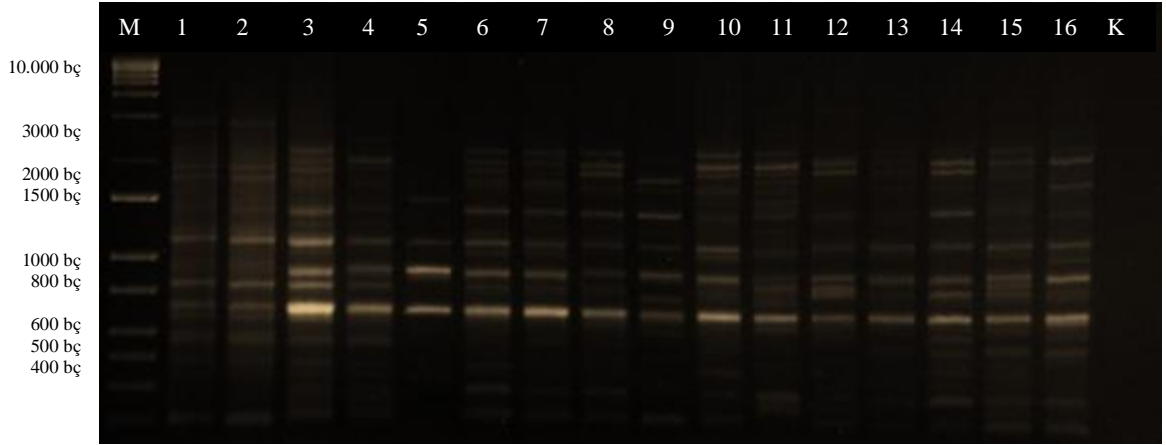
Şekil 4.35. S 126 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



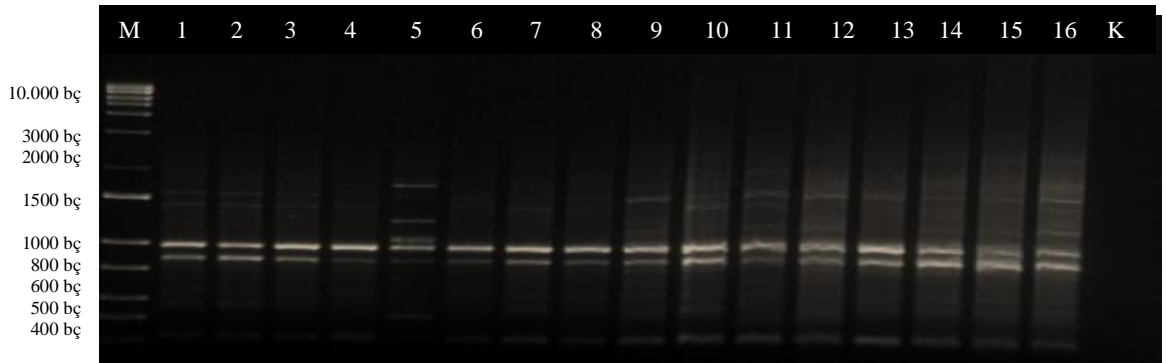
Şekil 4.36. S 127 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



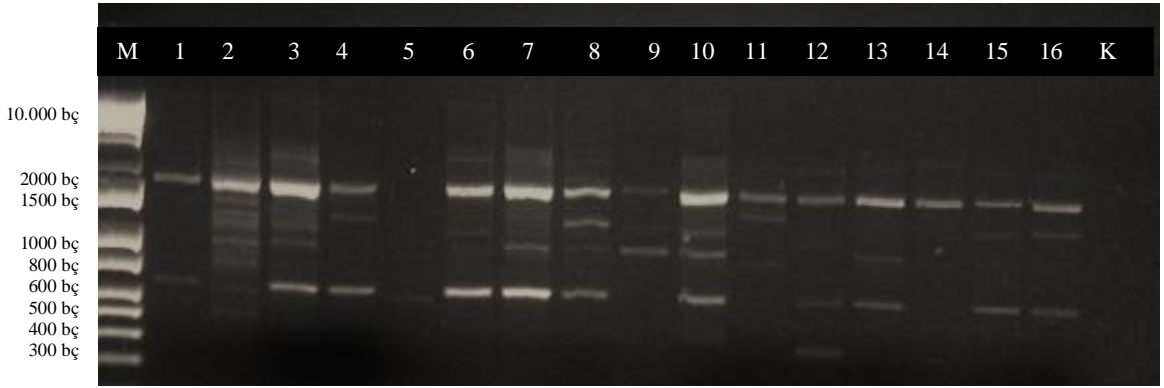
Şekil 4.37. S 129 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



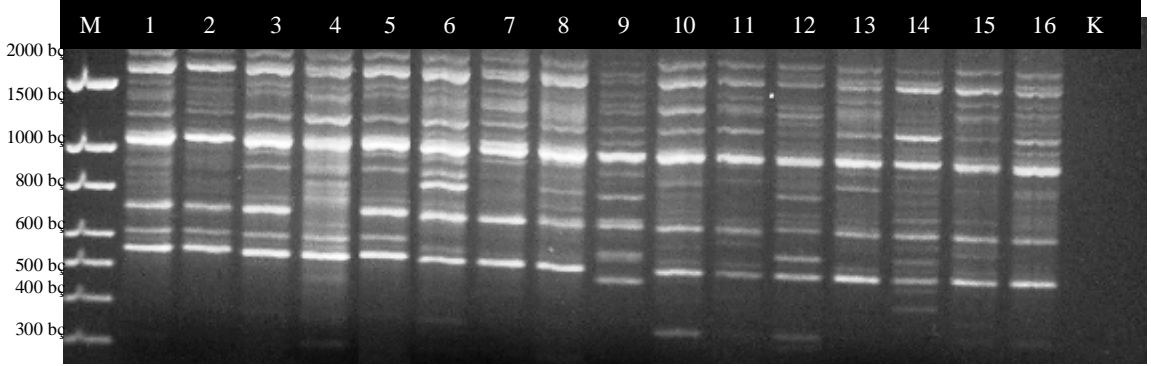
Şekil 4.38. S 130 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



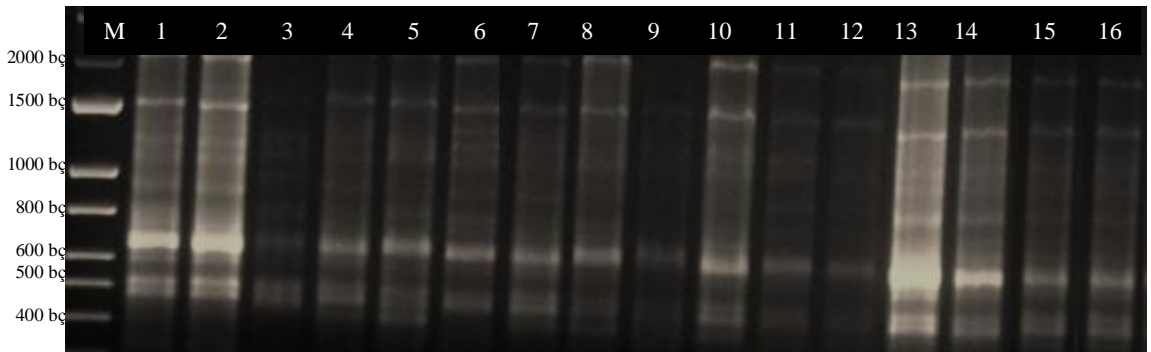
Şekil 4.39. S 132 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



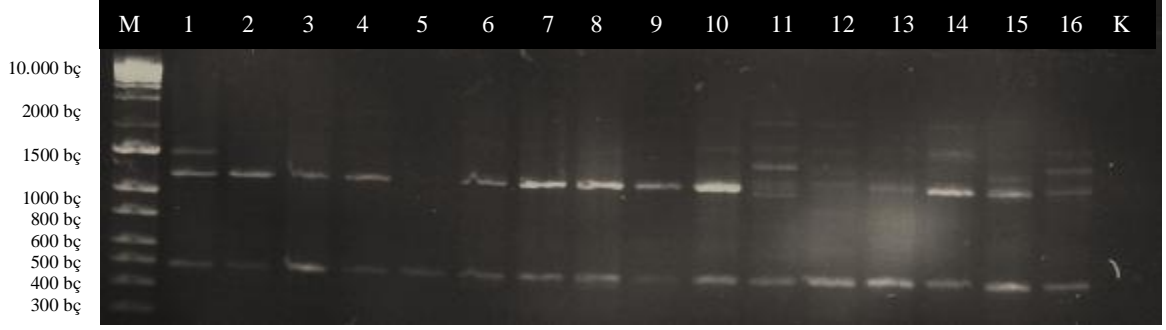
Şekil 4.40. S 133 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



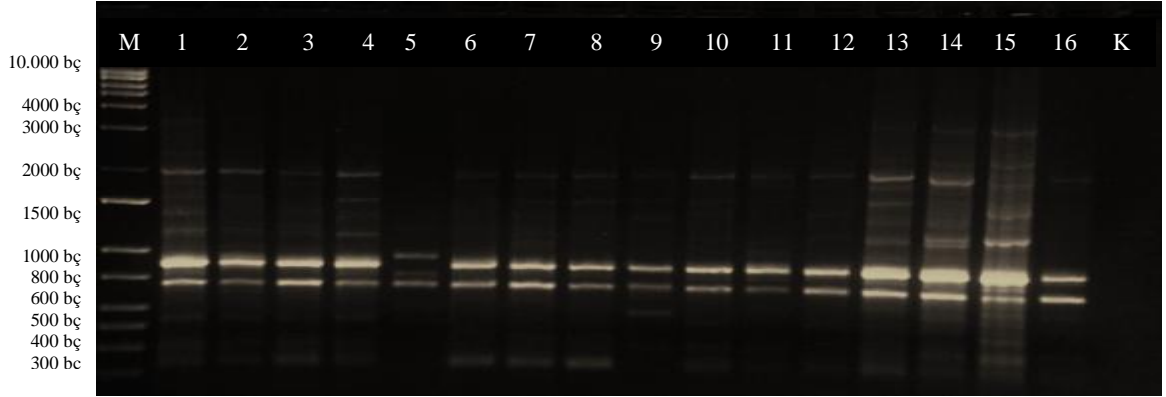
Şekil 4.41. S 135 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



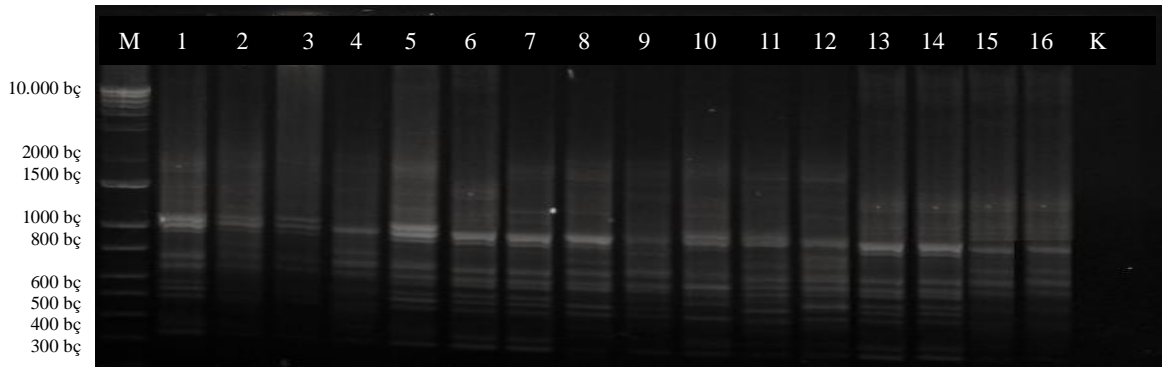
Şekil 4.42. S 138 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



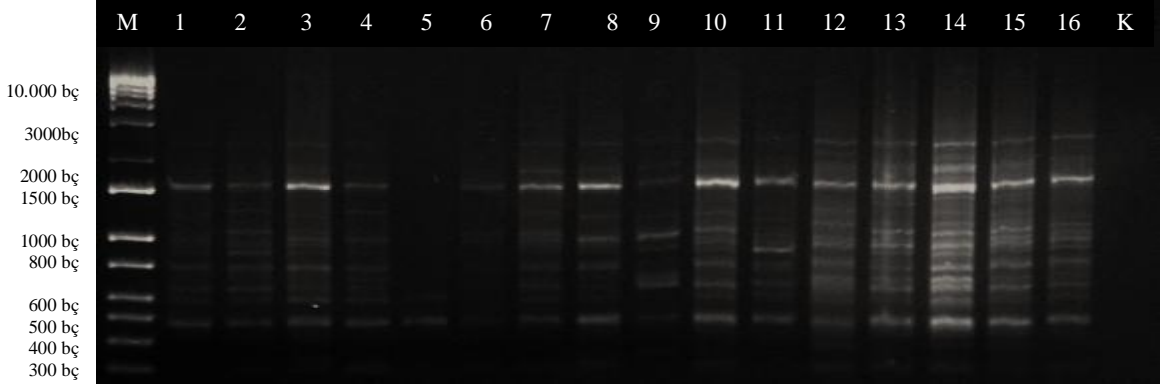
Şekil 4.43. S 156 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



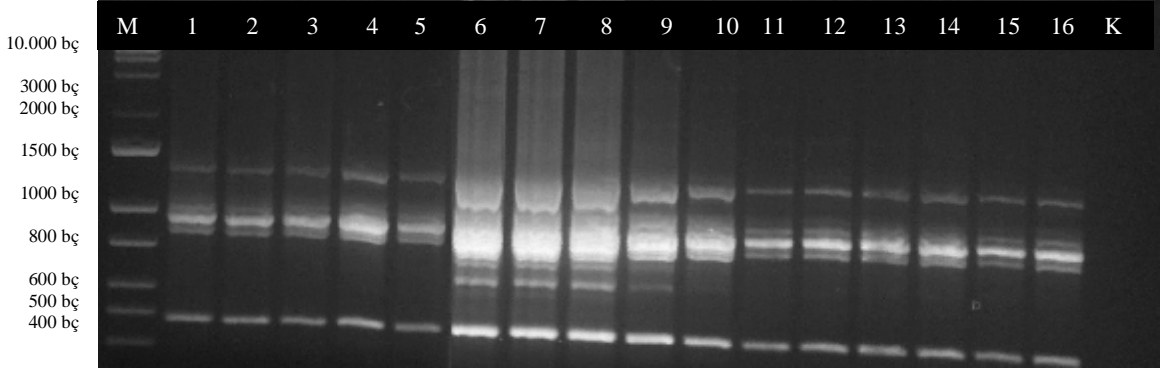
Şekil 4.44. S 418 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



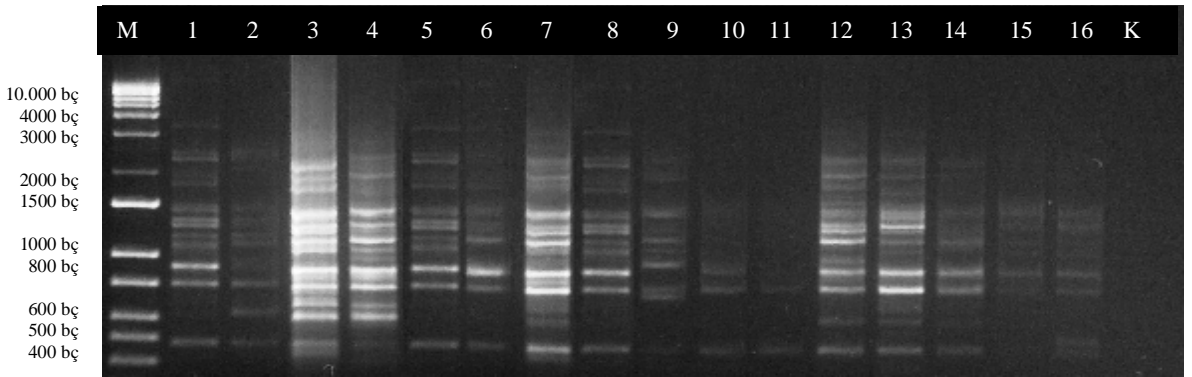
Şekil 4.45. S 443 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



Şekil 4.46. S 444 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol



Şekil 4.47. S 461 primerine ait jel görüntüsü.

M: Marker **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99, **K:** Kontrol

Çalışmamızdaki sonuca benzer olarak ise, Naghavi ve ark. (2004) 46 primerden 17'sini polimorfik bularak değerlendirmeye aldıklarını bildirirken, ekmeklik buğday çeşitleri üzerinde RAPD-PCR yöntemini kullanan Nagaoka ve ark (1997) 200 primerden 25'ini, Sun ve ark (1998) 32 primerden 26'sını, Bilgin ve Korkut (2005) 10 primerden 5'ini, Gawel ve ark (2002) 38 primerden 6 tanesini, Maric ve ark (2004) 36 primerden 14'ünü değerlendirmeye aldıklarını bildirmektedirler.

Elde edilen PCR ürünü açısından çalışmamızda toplam 142 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların 110 (% 77.4) tanesi polimorfik olup 32 (% 22.5) tanesi monomorfik olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda ise; Joshi ve Nguyen (1993 a) 71 (% 65)'i polimorfik olan 109 bant, Sun ve ark. (1998 a) 78 (% 49)'i polimorfik olan 168 bant elde ederken, Sun ve ark. (1998 b) 279 banttan 182 (% 65.2)'sini, Teshale ve ark. (2003) 98 banttan 64 (% 65.3)'ünü, Khan ve ark. (2004) 452 banttan 184 (% 40.7)'ünü, Naghavi ve ark. (2004) 213 banttan 188 (% 88)'ini, Altıntaş ve ark. (2008) 334 banttan 214 (% 62)'ünü ve Bıbı ve ark. (2009) ise 102 PCR ürününden 91 (% 89.2)'ini polimorfik olarak belirlemişlerdir.

Araştırmada ortalama polimorfizm oranı % 74.9 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu değer Khan ve ark. (2004) tarafından yürütülen çalışmada % 76 oranındaki polimorfizm sonucu ile paralellik göstermektedir. Buna karşılık Akkaya ve Büyükunal-Bal (2004) çalışmalarında belirledikleri % 68, Rashed ve ark. (2008) % 64.5 ve Sawalha ve ark.(2008) % 65'lik polimorfizm değerleri çalışmamızdaki bulgudan relatif daha düşük, Naghavi ve ark. (2004) ve Cenkeci ve ark. (2007) tarafından belirlenen sırasıyla % 88 ve % 93.5 polimorfizm oranları ise araştırmamızdaki sonuçtan daha yüksek polimorfizm değerleridir. Bunun dışında çalışmalarında He ve ark.(1992) % 38, Cao ve ark. (1998) % 48 ve % 26, Bhutta (2006) % 46.97 ve Shoaib ve Arabi (2006) ise % 46.67 oranında polimorfizm belirleyerek çalışmamızdaki sonuca göre büyük oranda daha düşük polimorfizm oranı saptadıklarını bildirmişlerdir.

Maric ve ark. (2004) çalışmalarında parça büyüklüklerini 400-1900 bç arasında, Mukhtar ve ark. (2004) 200-3500 bç arasında, Bhutta (2006) 250-3200 bç arasında, Bhutta ve ark. (2006) 170-2600 bç arasında, Naz ve ark. (2006) 250-1000 bç arasında, Rashed ve ark (2008) 200-1884 bç arasında ve Bıbı ve ark (2009) ise 142-5300 bç arasında belirlemişlerdir. Ayrıca Cao ve ark (2002) 280-2800 bç arasında, Teshale ve

ark. (2003) 300-3000 bç ve Cenkci ve ark. (2007) 300-2700 bç arasında buldukları bant büyüklükleri ile çalışmamızda belirlediğimiz 300-2800 bç arasındaki bant büyüklüklerine benzer değerler elde etmişlerdir.

Elde edilen polimorfizm yüzdeleri bakımından diğer çalışmaları incelediğimizde; çalışmamızda belirlediğimiz % 33.3 - % 100 arasındaki polimorfizm oranlarına yakın olarak Akkaya ve Büyükunal-Bal (2004) tarafından % 36 - % 87 arasında polimorfizm oranları saptanmıştır. Buna karşın Gawel ve ark. (2002) % 0- % 64 arasında ve Altıntaş ve ark. (2008) % 35-% 58 arasında polimorfizm oranları saptayarak çalışmamızdaki sonuçtan daha düşük değerler bulmuşlardır.

Değerlendirmeye alınan primerlerden elde edilen bant sayılarına baktığımızda çalışmamızda 3-14 arasında, primer başına ortalama 8.35 adet bant elde edilmiştir. Ayrıca, polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 6.47 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4). Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda ise Mukhtar ve ark. (2002) belirledikleri 5-14 adet bant ve primer başına ortalama 8.9 bant sonucu ile çalışmamızdaki sonuca benzer bir sonuç elde etmiştir. Bunun dışında Liu ve ark. (1999) 1-12 arasında bant, Sun ve ark. (1998 a) 1-6 bant, Bilgin ve Korkut (2005) 2-11 adet bant ve Bibi ve ark. (2009) ise 1-11 adet bant elde ederek bizim elde ettiğimiz 3-14 arasındaki bant sayısından daha az bant sayısı elde etmişler, Sun ve ark. (1998 b) 2-20 arasında, Gawel ve ark. (2002) 3-27 arasında ve Naghavi ve ark. (2004) ise 6-18 arasında bant sayıları belirleyerek elde ettiğimiz bant sayısından daha fazla bant sayısı saptadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca primer başına ortalama bant sayısı bakımından yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde; primer başına Cao ve ark. (2002) 'nın ortalama 6.9, Khan ve ark. (2004)'nın ortalama 4.4, Bhutta (2006)'nın ortalama 10.3, Bhutta ve ark. (2006)'nın ortalama 7.6 ve Cenkci ve ark. (2008)'nin ise ortalama 6.5 bant elde ettikleri görülmektedir. Çalışmamızda ortalama 6.47 bant olarak belirlediğimiz primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısına benzer olarak, Cao ve ark. (2002)'da primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısını 6.4 adet bant olarak belirlerken, çalışmadaki sonuçtan farklı olarak Altıntaş ve ark. (2008) çalışmalarında ortalama polimorfik bant sayısını 26.8 olarak saptamışlardır.

4.5. Ekmeklik Buğdaylara Ait Kümeleme Analizi Sonuçları

17 adet polimorfik primerden elde edilen bantları “var” (1) yada “yok” (0) şeklinde bilgisayara girilmesi ve DICE eşitliği kullanılarak oluşturulan benzerlik matrisine ait değerler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5’te görüldüğü gibi en yüksek benzerlik 0.860 oranı ile Gerek-79 ve Basribey-95 çeşitleri arasındadır. İkinci en yüksek benzerlik ise Golia ve Harmankaya-99 çeşitleri arasında 0.854 olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre en düşük benzerlik oranı 0.316 ile Sagittario ve Gönen-98, 0.341 ile Gönen-98 ve Marmara-86 çeşitleri arasında saptanmıştır. Bu durumda birbirine en yakın çeşitlerin Gerek-79-Basribey-95, en uzak çeşitlerin ise Sagittario ve Gönen-98 olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.5. Ekmeklik buğday çeşitlerinde DICE eşitliği kullanılarak elde edilen benzerlik matrisi değerleri

G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	1.00															
2	0.763	1.00														
3	0.659	0.709	1.00													
4	0.659	0.635	0.787	1.00												
5	0.439	0.316	0.353	0.418	1.00											
6	0.644	0.691	0.711	0.667	0.483	1.00										
7	0.717	0.651	0.695	0.752	0.457	0.742	1.00									
8	0.689	0.619	0.667	0.747	0.400	0.674	0.860	1.00								
9	0.512	0.500	0.584	0.526	0.372	0.549	0.583	0.638	1.00							
10	0.591	0.634	0.615	0.660	0.341	0.710	0.755	0.688	0.587	1.00						
11	0.494	0.507	0.525	0.512	0.312	0.634	0.552	0.558	0.593	0.627	1.00					
12	0.512	0.450	0.629	0.611	0.372	0.571	0.583	0.638	0.644	0.587	0.642	1.00				
13	0.614	0.561	0.615	0.680	0.455	0.667	0.776	0.729	0.609	0.702	0.554	0.630	1.00			
14	0.594	0.547	0.615	0.691	0.396	0.642	0.685	0.661	0.610	0.654	0.604	0.590	0.729	1.00		
15	0.511	0.619	0.645	0.626	0.333	0.674	0.620	0.612	0.553	0.708	0.612	0.574	0.667	0.716	1.00	
16	0.500	0.585	0.571	0.577	0.318	0.624	0.571	0.583	0.522	0.702	0.602	0.565	0.596	0.636	0.854	1.00

G: Genotip, **1:** Sultan, **2:** Sagittario, **3:** Katea-I, **4:** Momtchill, **5:** Gönen-98, **6:** Kıraç-66, **7:** Gerek-79, **8:** Basribey-95, **9:** Kaşifbey-95, **10:** Marmara-86, **11:** Flamura, **12:** Pehlivan, **13:** Köksal-2000, **14:** Saraybosna, **15:** Golia, **16:** Harmankaya-99

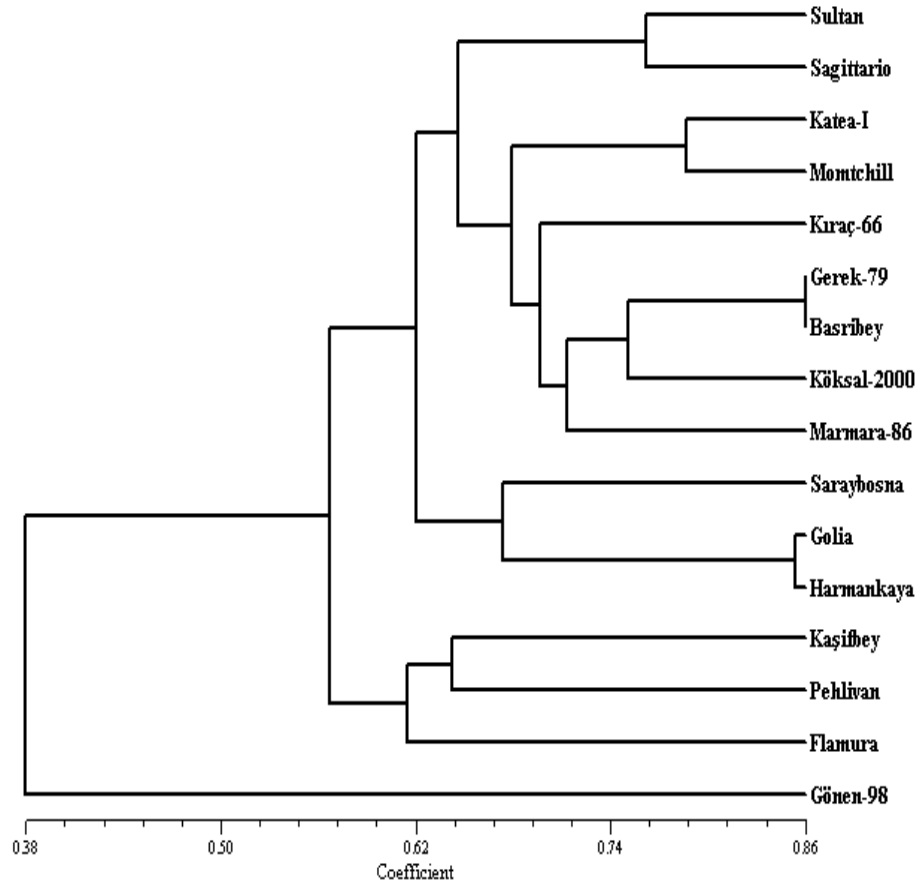
Ekmeklik buğday çeşitlerine ait pedigriler incelendiğinde (Çizelge 3.1), Yayla 305 anacının Gerek-79 ve Kıraç-66 çeşitlerinin, BEZ anacının Katea-I ve Pehlivan çeşitlerinin ve LOVRIN anacının ise Flamura ile Harmankaya-99 çeşitlerinin ortak atası olduğu görülmektedir. Bu çeşitler arasındaki benzerlik oranı ise, Gerek-79 ve Kıraç-66 çeşitlerinde 0.742, Katea-I ve Pehlivan çeşitlerinde 0.629 ve Flamura ile Harmankaya-99 çeşitlerinde ise 0.602 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5). Ayrıca Katea-I ve Momtchill

çeşitlerinin Köksal-2000 çeşidinin anaçları olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1) ve Köksal-2000 çeşidinin Momtchill ile 0.680, Katea-I ile de 0.615 oranında benzer olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

DICE eşitliğinden yararlanılarak oluşturulan fenograma göre çalışılan ekmeklik buğday çeşitleri 2 grupta toplanmışlardır (Şekil 4.48). Birinci kolda Gönen-98 çeşidi tek başına yer almış olup ikinci kolda kendi içerisinde 2 alt gruba ayrılmıştır. 2 grubun 1. alt kolunda Flamura, Pehlivan ve Kaşifbey-95 çeşitleri, 2. alt kolunda ise diğer çeşitler yer almışlardır. 2. alt kolda Şekil 4.48'de görüldüğü gibi kendi içerisinde alt gruplara bölünmüştür. Elde edilen fenogramda birinci kolda yer alan Gönen-98 çeşidi ile diğer çeşitler arasında 0.380 oranında benzerlik saptanmıştır. 2. kolda bulunan iki alt grubun birbirine olan benzerlik oranı ise 0.590 civarındadır. Fenogramda da görüldüğü gibi birbirine en benzer olan çeşitler Gerek-79 ve Basribey-95 olup, benzerlik oranı 0.860 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda DICE eşitliğinden elde edilen benzerlik matrisi değerleri 0.316-0.860 arasında değişmiştir.

Ekmeklik buğday çeşitleri üzerine yapılan diğer çalışmalarda ise benzerlik indekslerini; Chen ve ark. (1994) 0.65-0.99, Paul ve ark. (1998) 0.004-0.409, Mukhtar ve ark. (2002) 0.756-0.927, Teshale ve ark. (2003) 0.630-0.952, Bhutta ve ark. (2006) 0.83-0.93 ve Tahir (2008) ise 0.105-0.917 aralığında belirlemişlerdir.

Çalışmada elde edilen fenogramda çalışılan ekmeklik buğday çeşitleri 2 grupta toplanmışlardır. 1 grupta tek bir çeşit (Gönen-98) yer alırken, 2 grup kendi içinde 2 alt gruba ayrılmış olup diğer 16 çeşitte bu alt gruplar içerisinde dağılım göstermiştir (Şekil 4.48). Çalışmamızda belirlediğimiz bu sonuca benzer olarak Sun ve ark. (1998 a), Bilgin ve Korkut (2005), Sun ve ark. (2003), Naghavi ve ark. (2004), Bhutta ve ark. (2006), Rashed ve ark. (2008) ve Tahir (2008)'de araştırmalarında elde ettikleri fenogramda çalıştıkları buğday genotiplerinin 2 grup altında toplandıklarını bildirmişlerdir. Bunun dışında; çalışmalarında Mukhtar ve ark. (2002) ve Bhutta (2006) fenogramın 1 büyük ve 2 küçük alt gruptan oluştuğunu bildirirken, ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik çeşitliliği üzerine araştırma yapan diğer araştırmacılar Paul ve ark. (1998) ve Cencki ve ark. (2007) fenogramda çeşitlerin 4 grupta, Cao ve ark. (1998), Naz ve ark. (2006), Altıntaş ve ark. (2008) ve Bıbı ve ark. (2009) ise 3 grupta toplandıklarını belirlemişlerdir.



Şekil 4.48. UPGMA metoduyla oluşturulan ekmeklik buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram

Çalışmada kullanılan ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik olarak benzerliklerinin yanı sıra morfolojik benzerlikleri de incelendiğinde; birbirine en yakın çeşitler olarak belirlenen Basribey-95 ve Gerek-79 çeşitlerinin sapının orta boylu, yapraklarının tüysüz, başaklarının sık yapıda ve dik duruşlu, kılçıklı ve yüksek verimli oldukları görülmektedir. Ancak Basribey-95 çeşidinin tanesinin beyaz, Gerek-79 çeşidinin ise kahverengi olduğu, kurağa ve soğuğa dayanıklılık bakımından Basribey-95 çeşidinin hassas, Gerek-79 çeşidinin ise dayanıklı olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Anonim 2009 a). Yine çalışmamızda aynı grupta yer alan, Bulgaristan orjinli olan Momtchill ve Katea-I çeşitlerinin ise kılçiksız ve orta sık başak yapıları, 90-100 cm bitki boyları, kırmızı-yarı sert tane yapıları gibi özellikleri ile birbirlerine benzedikleri görülürken iki çeşidin melezlenmesiyle oluşan Köksal-2000 çeşidinin de atalarına benzer şekilde kılçiksız ve orta sıklıkta başak yapısına ve kırmızı renkte taneye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada fenogramda aynı grupta yer almalarına rağmen

Sagittario ve Sultan-95 çeşitlerinin başaklarının kılçıklı olması dışında morfolojik olarak birbirlerine çok benzemediği saptanmıştır. Zira Sagittario çeşidinin tanesi yarı sert- kırmızı ve 1000 tane ağırlığı 40-44 g ve erkenci bir çeşit iken Sultan-95 çeşidi beyaz ve yumuşak taneli ve 1000 tane ağırlığı ise 33-37 g arasında ve orta erkenci bir çeşittir. Ayrıca Sagittario çeşidi sahil ve geçit bölgelerine önerilirken Sultan-95 Orta Anadolu bölgesi için uygundur (Anonim 2009 a).

Çağlar ve ark. (2006)'nın bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin Erzurum koşullarında adaptasyon yetenekleri üzerine yaptıkları bir araştırmada, bitki boyu, m²'de başak sayısı başakta tane sayısı, 1000 tane sayısı, tane verimi ve hektolitre ağırlıkları değerlerini sırasıyla Gerek-79 çeşidinde 85.9 cm, 529.4 adet, 21.3 adet, 39.2 g, 407.7 kg/da ve 76.7 kg, Katea-I çeşidinde 77.9 cm, 395.0 adet, 30.4 adet, 36.3 g, 332.8 kg/da ve 76.9 kg, Pehlivan için 76.0 cm, 477.5 adet, 21.1 adet, 42.4 g, 364.2 kg/da ve 77.1 kg ve Sultan-95 çeşidinde ise bu değerleri 77.0 cm, 396.9 adet, 27.1 adet, 38.5 g, 351.1 kg/da ve 76.9 kg olarak belirlemişlerdir. Elde edilen değerler incelendiğinde çeşitlerin agronomik olarak yakın değerlere sahip olduğu görülmektedir. Bu çalışmada değerlendirilmeye alınan çeşitler bizim çalışmamızda da kümeleme analizi sonucunda fenogramda genetik benzerlikler bakımından aynı grupta yer almışlardır.

Tayyar (2005), tarafından ekmeklik buğday çeşitlerinin verim ve bazı kalite özelliklerinin saptandığı bir çalışmada ise bazı çeşitlerin verim ve kalite özellikleri çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ekmeklik buğday çeşitlerinin verim ve kalite özellikleri.

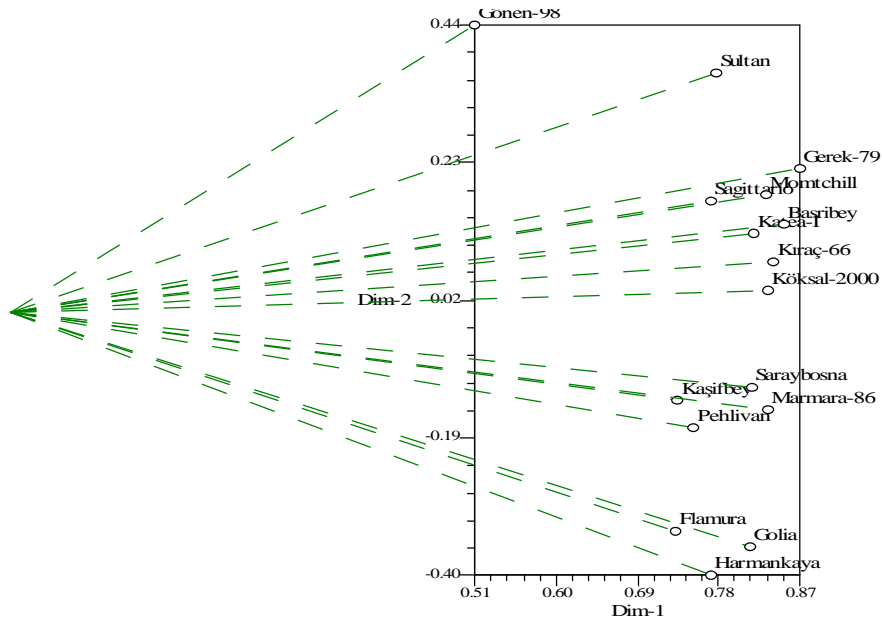
Çeşit	Tane Verimi (kg/da)	Nem (%)	Gluten (g)	Gluten İndeks (%)	Sedimentasyon (ml)	Beklemeli Sedimentasyon (ml)
Flamura	645.9	11.90	32.5	95.0	40.5	59.0
Kaşıfbey-95	566.2	11.95	34.0	92.0	37.0	53.5
Sagittario	479.7	11.80	33.1	81.0	39.5	53.0
Pehlivan	463.8	11.95	40.0	50.0	38.5	32.5
Gönen	450.2	11.85	32.8	75.0	33.0	35.0
Golia	446.8	12.30	35.0	72.5	35.5	40.5
Katea-I	438.3	12.35	38.5	50.5	35.0	34.5

(Kaynak: Tayyar 2005)

Araştırıcının bulgularına göre görüldüğü gibi çeşitlerin verim ve kalite özellikleri bakımından da birbirine aşağı yukarı benzer değerler aldığı görülmektedir. Ancak verim bakımından yapılan bu çalışmada Flamura ve Kaşifbey-95 çeşitlerinin diğer çeşitlere oranla daha yüksek verim verdiği, Gluten indeks açısından ise Pehlivan ve Katea-I çeşitlerinin ise düşük değer aldığı görülmektedir. Çalışmamızda elde edilen fenogramda Tayyar (2005)'ın bitki materyali olarak kullandığı bu çeşitlerin aynı ana kümede yer aldığı, Flamura, Kaşifbey-95 ve Pehlivan çeşitlerinin Sagittario, Golia ve Katea-I çeşitlerinden farklı bir alt kümede yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.48)

4.6. Ekmeklik Buğdaylara Ait Temel Bileşenler Analizi (PCA) Sonuçları

Ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik varyasyonunu belirlemek üzere yapılan temel bileşenler analiz sonucu Şekil 4.49'da görülmektedir. Elde edilen varyasyon ve Eigen değerleri ise EK-4'de verilmiştir.



Şekil. 4.49. Ekmeklik buğday çeşitlerine ait temel bileşenler analizi

Şekil 4. 49'un incelenmesinden görülebileceği gibi çeşitler 5 grupta toplanmışlardır. 1. grupta Gönen-98, 2. grupta Sultan çeşitleri tek başına yer alırken 3. grupta Gerek-79, Momtchill, Sagittario, Katea-I, Kırac-66 ve Köksal-2000 çeşitleri, 4. grupta Saraybosna, Kaşifbey, Marmara-86 ve Pehlivan çeşitleri ve son olarak 5. grupta ise Flamura, Golia ve Harmanakaya çeşitleri yer almıştır. Bu dağılıma benzer sonuç daha önce elde ettiğimiz fenogramda da göze çarpmaktadır. Nitekim fenogramda 2 gruba ayrılmış ve

2.grupta kendi içerisinde alt gruplara ayrılarak farklı gruplar oluşturmuştur (Şekil 4.38). Buna karşılık Sultan ve Sagittario çeşitleri fenogramda benzerlik bakımından aynı grupta yer almalarına rağmen temel bileşenler analizi sonu farklı yerlerde bulunmuşlardır. Bunun sebebinin daha öncede belirtildiği gibi çeşitlerin farklı coğrafi bölgelerden getirilmesi veya farklı genetik içeriğe sahip anaçların kullanılması olarak açıklayabiliriz. Çizelge 3.1 ve 3.2’de de görüldüğü gibi Sultan-95 Eskişehir ilinde bulunan Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından ıslah edilmiş bir çeşit olup, Orta Anadolu ve Geçit Bölgeleri için önerilmektedir. Bunun yanı sıra Sagittario çeşidi ise İtalyan orjinli olup sahil bölgeleri için uygun bir çeşittir. Ayrıca farklı genetik içeriğe sahip anaçlardan oluşmuşlardır.

Çalışmamızdaki sonuçtan farklı olarak bu konuda araştırma yapan Maric ve ark. (2004) PCA sonucunda çeşitlerin 2 grupta toplandıklarını, Altıntaş ve ark. (2008) ise fenogramda çalıştıkları ekmeçlik buğday çeşitlerinin 3 grupta toplandıklarını ancak PCA sonucunda ise çeşitlerin 2 grupta dağılım gösterdiklerini bildirmişlerdir.

5. SONUÇ

Islah çalışmalarında, bitkilerin genetik yapılarının değiştirilmesi ve geliştirilmesiyle ortaya çıkan varyasyondan yararlanılarak yapılacak seleksiyonlarda daha kaliteli, yüksek verimli, hastalıklar ve zararlılara dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan yeni çeşitlerin mümkün olduğunca kısa sürede elde edilmesi amaçlanmaktadır. Bitki ıslahında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerin ve seleksiyon etkinliği artırılmaya çalışılsa da bunlar çok uzun zaman alan, zahmetli ve yüksek maliyetli işlemlerdir. PCR'a dayalı moleküler markörler, zamanı kısalttığı, moleküler haritalamada gerekli iş gücü ve harcamayı azalttığı için günümüzde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Rasgele dizilişi belirlemek amacıyla tek DNA primeri kullanımı içeren RAPD tekniğinin tahılları da içeren birçok bitki grubunda kullanım olanağı bulunmaktadır. RAPD tekniği tahıllarda, genetik haritaların hazırlanmasında, gen işaretlemede, çeşit belirlemede, popülasyonlarda ve türlerdeki varyasyonun ortaya çıkartılmasında, türler, alt türler ve çeşitler arasındaki filogenetik ilişkilerin çalışılması gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Gupta ve ark. 1999).

RAPD-PCR tekniği kullanılarak elde edilen polimorfizm oranının değişkenliğini reaksiyon koşulları, kullanılan örnek ve primer sayısı etkileyebilmektedir. Primer sayısının fazla olması daha fazla lokusun taranmasına olanak sağladığı için RAPD tekniğinin istatistiksel değerini artırmaktadır. Yabancı döllen bitkilerde en az 10-15 primerin kullanılması yeterli iken kendine döllen bitkilerde çalışılan primer sayısının artırılması varyasyonların tespit edilmesinde kolaylık sağlayabilmektedir. Fakat buğday gibi genetik temeli daraltılmış kültür bitkilerinde genetik varyasyonun primer sayısının artışı ile pozitif korelasyon göstermediği çalışmamızın daha önceki kısımlarında örnek olarak verilen çalışmalarda da açıkça görülmektedir. Bizim çalışmamızda da toplam 45 RAPD primeri kullanılmış ve makarnalık buğdaylarda 28'i (% 62.2), ekmeçlik buğdaylarda ise 17'si (% 37.8) polimorfik olarak saptanmıştır.

RAPD-PCR yönteminin tekrarlanabilirliği hassastır. Bu tez çalışmasında güvenilirliği sağlayabilmek için PCR koşulları iyi bir şekilde optimize edilmeye çalışılmış, her bir primer en az iki kez tekrarlanmış ve sadece tekrarlanabilir nitelikteki bantlar değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ise daha önce

yapılan çalışmalar ışığında seçilmiş olup, *Triticum* türlerinde bilgi verici özellikte olduğu saptanmış olan primerlerdir.

Fenogram bilgisine bakarak makarnalık buğday çeşitlerinin 6, ekmeklik buğday çeşitlerinin ise 2 grupta toplandığını, ayrıca ekmeklik buğdaylarında kendi içerisinde alt gruplara ayrıldığını söyleyebiliriz. Fenogram sonuçlarında aynı grupta yer alan bazı çeşitlerin ortak bir atayı (Çakmak-79, Kızıltan-91, Kunduru-1149, Çeşit-1252, Gerek-79, Kıraç-66, Köksal-2000, Katea-I ve Momtchill), bazılarının ise ortak bir coğrafi özelliği (Çeşit-1252, Çakmak-79, Kızıltan-91 (Ankara), Yelken, Meram-2002 (Konya) Altıntaş-95 ve Kunduru (Eskişehir), Katea-I ve Momtchill (Bulgaristan orjinli), Gerek-79, Kıraç-66 ve Sultan-95 (Eskişehir)) paylaştığı görülmektedir. Farklı coğrafi bölgelerden gelen ve atasal bağı bulunmayan çeşitlerin aynı grupta yer almasının nedeninin uygulanan ıslah programlarının bir sonucu olduğunu söyleyebiliriz. Çünkü ıslah programları belirli genetik özelliklerin seçilmesine yönelik yapılmaktadır. Bu durum, çeşitler arasında ortak bir ata olmasa da benzer bir genetik yapının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Karcicio 2006)

DICE eşitliğinden elde edilen benzerlik matrisi değerlerine bakıldığında; makarnalık buğday çeşitleri arasındaki benzerlik indeksinin 0.434-0.874 arasında, ekmeklik buğday çeşitlerinde ise 0.316-0.860 arasında değiştiği görülmektedir. Bu durum daha önce Chen ve ark. (1994), Akkaya ve ark. (1999), Doğrar ve ark. (2000), Szucs ve ark. (2000), Taghian ve Abo-Elwafa (2003), Maric ve ark. (2004), Bhutta ve ark. (2006), Shoaib ve Arabi (2006), Altıntaş ve ark. (2008) ve Tahir (2008) gibi araştırmacıların araştırmalarında da belirtildiği gibi hem makarnalık hem de ekmeklik buğdaylarda genetik temelin daraltıldığı sonucunu desteklemektedir. Ancak PCA sonucunda makarnalık ve ekmeklik buğdaylarda sırasıyla 8 ve 5 grubun oluşması, buğday çeşitlerinde genetik temelin henüz varyasyon yaratamayacak kadar daraltılmadığı sonucunu da göstermektedir. Bu durum, çeşitlerin çok farklı coğrafi bölgelerden olması ve farklı genetiğe sahip anaçların kullanılması ile açıklanabilir. Çünkü RAPD polimorfizminin ortaya çıkmasında değişik ekolojik koşullar etkili olabilmektedir.

Bu çalışma ile, ülkemizde tescil edilmiş buğday çeşitleri arasında göreceli olarak dar bir genetik farklılığın bulunduğu ve RAPD markörleriyle bitki ıslahı programlarında

anaçların benzerliği hakkında bilgi alınarak ve bu sayede genetik olarak uniform yada çok benzer olan bireylerin melezlemede kullanılmasından kaçınarak uygun anaçların seçimiyle başarılı ıslah programlarının yürütülebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- ABBAS, S.J., S.R.U. SHAH, G.RASOOL and A. IQBAL. 2008 a. Analysis of Genetic Diversity in Pakistani Wheat Varieties By Using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Primers American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 2(1): 29-33.
- ABBAS, S.J., S. R.U. SHAH, G. RASOOL and A. IQBAL. 2008 b. Analysis of Genetic Diversity in Pakistani Wheat Varieties By Using Simple Sequence Repeat (SSR) Primer Sets. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 2(1): 34-37.
- ABD-EL-HALEEM, S.H.M., M.A. REHAMA and S.M.S. MOHAMED. 2009. Genetic Analysis and RAPD Polymorphism in Some Durum Wheat Genotypes Global Journal of Biotechnology & Biochemistry 4 (1): 01-09.
- ABDOLAHIE, M., B. TABATABAIE, S. BOSHERRIE, MR. GHANNADHA and M. OMIDI. 2003. Study of Genetic Diversity in Some Wheat Cultivars Using SSR Markers. Iranian J. Agric. Sci.34: 447-454.
- AKAR, T. 2002. Türkiye’de Yetiştirilen Yerel Makarnalık Buğday (*Triticum durum* L.) Çeşitlerinde Genetik Farklılığın Polimorfik DNA Analizi ile Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi (Yayınlanmamış).
- AKKAYA, M.S., DOĞRAR, A. İNCİRLİ, E.E. HAKKI, E. B. BÜYÜKÜNAL ve H. BİLGİÇ. 1999. Türkiye Makarnalık Buğday Çeşitlerinde DNA belirleyicileri Kullanarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Hububat Sempozyumu. 8-11 Haziran 1999. Konya. 143-145.
- AKKAYA, M.S. and E.B. BÜYÜKÜNAL-BAL. 2004. Assessment of Genetic Variation of Bread Wheat Varieties Using Microsatellite Markers Euphytica 135: 179-185.
- ALIYEV, R.T., M.A. ABBASOV and A.C. MAMMADOV.2007. Genetic Identification of Diploid and Tetraploid Wheat Species With RAPD Markers. Turk J Biol 31: 173-180.
- ALTINTAS, S., F. TOKLU, S. KAFKAS, B. KILIAN, A. BRANDOLINI and H. ÖZKAN. 2008. Estimating Genetic Diversity in Durum and Bread Wheat Cultivars From Turkey Using AFLP and SAMPL Markers. Plant Breeding 127: 9-14.
- AMIOUR, N., A. BOUGUENNEC, C. MARCOZ, P. SOURDILLE, M. BOURGOIN, D. KHELIFI and G. BRANLARD. 2002. Diversity of Seven Glutenin and Secalin Loci Within Triticale Cultivars Grown in Europa. Euphytica.123: 295-305.
- ANONİM. 2001. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü. Çeşit Kataloğu. s.4-19.
- ANONİM. 2004. <http://www.tigem.gov.tr/Bitkiseluretimdenemelerkitabi>
- ANONİM. 2007. FAO Production Year Book. www.fao.org
- ANONİM. 2009 a. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü. [www. tarlabitkileri. gov.tr/cesitlerimiz/bugday](http://www.tarlabitkileri.gov.tr/cesitlerimiz/bugday)
- ANONİM. 2009 b. Konya Ticaret Borsası. [www. ktb. org.tr](http://www.ktb.org.tr)

- ATAK, M. 2004. Farklı Triticale Hatlarının Morfolojik ve Dna Markörleriyle Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi (Yayınlanmamış).106 s.
- AYÇİÇEK, M ve T. YILDIRIM. 2006. Bazı Makarnalık Buğday (*Triticum turgidum* var. *durum* L.) Çeşitlerinin Erzurum Koşullarındaki Verim Yetenekleri. Fırat Üniversitesi. Fen ve Müh. Bil. Dergisi. 18(2):151-157.
- BARCACCIA, G., L. MOLINARI, O. PORFIRI and F. VERONESI. 2002. Molecular Characterization of Emmer (*Triticum dicoccon* Schrank) Italian Landraces. Genetic Resources and Crop Evolution 49: 415–426.
- BEDO, Z., L. SZUNICS, L. LANG, LU. SZUNICS, O. VEISZ, I. KARSAI, GY. VIDA, P. SZÜCS, A. JUHASZ, M. GAL, SZ. BENCZE, M. MEGYERI, K. PUSKAS, and C. S. HORVATH. 2000. Genetic Diversity in Durum Wheat. Annual Wheat Newsletter. Vol:46. <http://wheat.pw.usda.gov/gpages/awn/>
- BENNETT, M.D. and J.B.SMITH.1976. Nuclear DNA Amounts in Angiosperms. Philosophical Transaction of Royal Society, London 274: 227-274.
- BHUTTA, W. M. 2006. Biochemical and Molecular Characterization of Wheat Genotypes Determined By RAPD Analysis. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science, 57(4):335-341.
- BHUTTA, W.M., J. AKHTAR, M. IBRAHIM and A. SHAHZAD. 2006. Genetic Variation Between Pakistani Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes As Revealed By Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. South African Journal of Botany. 72: 280-283.
- BIBI, S., U. DAHOT, I. A. KHAN, A. KHATRI and M.H. NAQVI. 2009. Study of Genetic Diversity (*Triticum aestivum* L.) Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Pakistan Journal of Botany. 41(3):1023-1027.
- BİLGİN, O. 2001. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarında Genetik Uzaklıklar, Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi. Doktora Tezi.
- BİLGİN, O. ve K.Z. KORKUT. 2005. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi.2(3):245-252.
- BRAUN, H. J., N. ZİNCİRCİ ve F. ALTAY. 2001. Turkish Wheat Pool. In: The World Wheat book. A History of Wheat Breeding. Ed. A.P. Bonjean, W. L. Angin Landres-Paris- New York. p: 851-879.
- CAO, W., P. HUCL, G. SCOLES and R.N. CHIBBAR.1998. Genetic Diversity Within Spelta and Macha Wheats Based on RAPD Analysis. Euphytica 104: 181–189.
- CAO, W., G. SCOLES, P. HUCL and R. N. CHIBBAR. 1999. The Use of RAPD Analysis To Classify Triticum Accessions. Theor. Appl. Genet. 98: 602-607.
- CAO, W., P. HUCL, G. SCOLES, R. N. CHIBBAR, P. N. FOX and B. SKOVMAND. 2002. Cultivar Identification and Pedigree Assessment of Common Wheat Based on RAPD Analysis Wheat Information Service Number 95: 29-35.

- CASTAGNA, R., S. GNOCCHI, M. PERENZIN and M. HEUN. 1997. Genetic Variability of the Wild Diploid Wheat *Triticum urartu* Revealed By RFLP and RAPD Markers. *Theor Appl Genet* 94: 424-430.
- CENKCI, S., M. KONUK and Y. EREN. 2007. Genetic Diversity in Some Wild (*Triticum* L. and *Aegilops* L.) and Cultivated (*Triticum aestivum* L. and *Triticum durum* Desf.) Wheat Species of Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2:1-7.
- CENKCI, S., M. YILDIZ, M. KONUK and Y. EREN. 2008. RAPD Analyses of Some Wild *Triticum* L. and *Aegilops* L. Species and Wheat Cultivars in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50/1: 35–42.
- CHAPMAN, V., T. E. MILLER and R. RILEY. 1976. Equivalence of The Genome of Bread Wheat and That of *Triticum urartu*. *Genet. Res.* 27: 69-76.
- CHEN, H. B., J. M. MARTIN, M. LAVIN and L. E. TALBERT. 1994. Genetic Diversity in Hard Red Spring Wheat Based on Sequence-Tagged-Site PCR Markers *Crop Science*.34(6): 1628-1632.
- CZAPLICKI, A. P. BORSUK and I. MORACZEWSKI. 2000. Molecular Methods of Identification of Wheat Varieties. *Mendel-Brno* vol17(6): Part-2.
- ÇAĞLAR, Ö., A. ÖZTÜRK ve S. BULUT. 2006. Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Erzurum Ova Koşullarına Adaptasyonu. *Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi*. 37(1):1-7.
- DE BUSTOS, A., C. CASANOVA, C. SOLER and N. JOUVE. 1998. RAPD Variation in Wild Populations of Four Species of the Genus *Hordeum* (Poaceae). *Theor. Appl. Genet*, 96: 101-111.
- DEVOS, K. M. and M.D. GALE. 1992. The Use of Random Amplified Polymorphic DNA Markers in Wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 84:567 – 572.
- DOGRAR, N., S. AKIN-YALIN and M.S. AKKAYA. 2000. Discriminating Durum Wheat Cultivars Using Highly Polymorphic Simple Sequence Repeat DNA Markers *Plant Breeding* 119:360-362.
- DVORAK, J., P. E. MCGUIRE and B.CASSIDY. 1988. Apparent Sources of The A Genomes of Wheats Inferred From Polymorphism in Abundance and Restriction Fragment Length of Repeat Nucleotide Sequences. *Genome*. 30: 680-689.
- DVORAK, J., P. DI TERLIZZI, H-B. ZHANG and B. RESTA. 1993. The Evolution of Polyploid Wheat: Identification of A Genome Donor Species. *Genome*. 36: 21-31.
- ERİŞ, A. ve H. GÜLEN. 2004. Moleküler Biyoloji (Temel Bilgiler). *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları* No:98.
- EVIGEZ. 1995. The Wheat Database. Research Institute of Crop Production. Praha-Ruzyne. Czech Gene Bank.
- FAHIMA, T., G.L. SUN, A. BEHARAV, T. KRUGMAN, A. BEILES and E. NEVO. 1999. RAPD Polymorphism of Wild Emmer Wheat Populations, *Triticum Dicoccoides*, in Isreal. *Theor. Appl. Genet*, 98: 434-447.
- FAROOG, S. and F. AZAM. 2002. Molecular Markers in Plant Breeding-I: Concepta and Characterizations. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 5(10):1135-1140.

- FELDMAN, M. 2001. The Origin of Cultivated Wheat. in: The Wheat Book, Bonjean, A., and Angus, W (Eds) Paris-Lavoisier.
- FERNÁNDEZ, M.E., A.M. FIGUEIRAS and C. BENITO. 2002. The Use of ISSR and RAPD Markers For Detecting DNA Polymorphism, Genotype Identification and Genetic Diversity Among Barley Cultivars With Known Origin. *Theor. Appl. Genet.* 104:845-851.
- FREITAS, L.B. DE., L. JERUSALINSKY, S.L. BONATTO, F.M. SALZANO and L.B. DE FREITAS. 2000. Extreme Homogeneity Among Brazilian Wheat Genotypes Determined By RAPD Markers. *Pesquisa-Agropecuaria-Brasileira*, 35: 11, 2255-2260; 24 Ref.
- GAWEL M., I. WIŚNIEWSKA and A. RAFALSKI. 2002. Semi-Specific PCR For The Evaluation of Diversity Among Cultivars of Wheat and Triticale. *Cellular & Molecular Biology Letters*. Vol:7. No:2A: 577 – 582.
- GREWAL, S. P. KHARB, R. MALIK, S. JAIN and R K JAIN. 2007. Assessment of Genetic Diversity Among Some Indian Wheat Cultivars Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol: 17(6): 18-23.
- GUPTA, P. K., R.K. VARSHNEY, P. C. SHARMA and B. RAMESH. 1999. Review. Moleküler Markers and Their Application in Wheat Breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.
- GÜLŞEN, O. ve N. MUTLU. 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatarım* 4(2):27-37.
- HE, S., H. OHM and S. MACKENZIE. 1992. Detection of DNA Sequences Polymorphism Among Wheat Varieties. *Theor. Appl. Genet*, 84:573-578.
- HOU, Y.C., Z.H. YAN, Y.M. WEI and Y.L. ZHENG. 2005. Genetic Diversity in Barley From West China Based on RAPD and ISSR Analysis. *Barley Genetics Newsletter* 35:9-22.
- IQBAL, A., A.S. KHAN, I.A. KHAN, F.S. AWAN, A. AHMAD and A.A. KHAN. 2007. Study of Genetic Divergence Among Wheat Genotypes Through Random Amplified Polymorphic DNA. *Genet. Mol. Res.* 6 (3): 476-481.
- JONES, B.L., G.L. LOOKHART, A. MAK and D.B. COOPER. 1982. Sequences of Purothiononins and Their Inheritance in Diploid, Tetraploid and Hexaploid Wheats. *J. Hered.*, 73:143-144.
- JOSHI, C.P. and H. T. NGUYEN. 1993 a. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Analysis Based Intervarietal Genetic Relationships Among Hexaploid Wheats. *Plant Science*. 93(1-2): 95-103.
- JOSHI, C.P. and H. T. NGUYEN. 1993 b. Application of the Random Amplified Polymorphic DNA Technique for the Detection of Polymorphism among Wild and Cultivated Tetraploid Wheats. *Genome*. 36(3):602-609.
- KARCICIO, M. 2006. Yerel Durum Buğdayı Çeşitlerinde (*Triticum durum* Desf.) RAPD-PCR Tekniği ile Genetik Çeşitlilik Analizi Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 80s.

- KHAN, I. A., F. S. AWAN, A. AHMAD and A. A. KHAN. 2004. A Modified Mini Prep Method for Economical and Rapid Extraction of Genomic DNA in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 22: 89a-89e, March 2004.
- KHAN, I. A., F. S. AWAN, A. AHMAD, Y.B. FU and A. IQBAL. 2005. Genetic Diversity of Pakistan Wheat Germplasm As Revealed By RAPD Markers *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 239–244.
- KIHARA, H., 1944. The Discovery of The DD Analyzer, One of The Ancestors of *Triticum vulgare*. *Agric. Horticult.* 19: 889-890.
- KIHARA, H., 1954. Considerations on The Evolution and Distribution of *Aegilops* Species Based on The Analyzer Method. *Cytologia.* 19: 336-357.
- KONAREV, C. G., I. P. GAVRILYUK, N. K. GUBAREVA and T. I. PENEVA. 1979. About Nature and Origin of Wheat Genomes on The Data of Biochemistry and Immunochemistry of Grain Proteins. *Cereal Chem.* 56: 272-278.
- KULEUNG, C., P.S. BAENZIGER and I. DWEIKAT. 2004. Transferability of SSR Markers Among Wheat, Rye and Triticale. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1147-1150.
- KUMAR, R. 1989. The Technique of Polymerase Chain Reaction. *A Journal of Methods in Cell and Molecular Biology*, 1: 133-152.
- KURT, O. ve Y. ŞAVŞATLI. 2005. Bitkisel Biyoteknolojiye Genel Bir Bakış. *OMÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi.* 20(3):126-133.
- LI, Y.C., T. FAHIMA, A. BEILES, A.B. KOROL and E. NEVO. 1999. Microclimatic Stress and Adaptive DNA Differentiation in Wild Emmer Wheat, *Triticum dicoccoides*. *Theor. Appl. Genet.* 98: 873-883.
- LIU, Z.Q., Y. PEI and Z.J. PU 1999. Relationship Between Hybrid Performance and Genetic Diversity Based on RAPD Markers in Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Plant Breeding* 118:119-123.
- MALAKI, M., M.R. NAGHAVI, H. ALIZADEH and F. TABATABAEI. 2008. Analysis of Genetic Diversity in Wild Diploid Wheat *Triticum boeoticum* From West of Iran Using RAPD and AFLP Markers. 11th. International Wheat Genetics Symposium, 24-29 August 2008. Brisbane, Austria.
- MANIATIS, T., E. FRITSCH and J. SAMBROOK. 1982. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- MANTZAVINO, A., P.J. BEBELI and P. J. KALTSIKES. 2005. Estimating Genetic Diversity in Greek Durum Wheat Landraces With RAPD Markers. *Australian Journal of Agricultural Research.* 56: 1355-1364.
- MARIC, S., S. BOLARIC, J. MARTINCIC, I. PEJIC and V. KOZUMPLIK. 2004. Genetic Diversity of Hexaploid Wheat Cultivars Estimated By RAPD Markers, Morphological Traits and Coefficients of Parentage *Plant Breeding* 123, 366-369.
- MAYER, M.S., T. ABEBE, C.J. SIMON, J. KUMAR, W. J. KAISER, J.M. KRAFT and F.J. MUEJHLBAUER. 1997. Development of a DNA Marker for Fusarium Wilt Resistance in Chickpea. *Crop Science* 37: 1625-1629.

- MIGDADI, H.M., A.M. TELL and S. MASOUD. 2006. Genetic Diversity in Some *Aegilops* Species in Jordan Revealed Using RAPD. *Bioversity International - FAO*. Issue No.139:47-52.
- MOTAWEI, M.I., A.A. AL-DOSS and K.A. MOUSTAFA. 2007. Genetic Diversity Among Selected Wheat Lines Differing in Heat Tolerance Using Molecular Markers. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 5(1):180-183.
- MUKHTAR, M.S., M.U. RAHMAN and Y. ZAFAR. 2002. Assessment of Genetic Diversity Among Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars From A Range of Localities Across Pakistan Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis *Euphytica* 128: 417–425.
- NAGAOKA, T. and Y. OGIHARA. 1997. Applicability of Inter-Simple Sequence Repeat Polymorphisms in Wheat For Use As DNA Markers in Comparison to RFLP and RAPD Markers. *Theor Appl Genet*. 94: 597-602.
- NAGHAVI, M. R., M. MARDI, H. A. RAMSHINI and B. FAZELINASAB. 2004. Comparative Analyses of The Genetic Diversity Among Bread Wheat Genotypes Based on RAPD and SSR Markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, Vol. 2, No. 3: 195-202.
- NAZ, A., Z. A. SWATI and I. A. KHAN. 2006. Studies on Genetic Diversity in Pakistani Wheat Varieties Using Randomly Amplified Polymorphic DNA. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 9(15): 2858-2861.
- NEVO, E., A. B. KOROL, A. BEILES, and T. FAHIMA. 2002. *Evolution of Wild Emer Wheat and Wheat Improvement*. Springer- Verlag, Berlin, Almanyia.
- NISHIKAWA, K. 1984. Species Relationship of Wheat and its Putative Ancestors As Viewed From Isozyme Variation. 7th Int Wheat Genet. Symp., pp, 59-63.
- ÖZAYDIN, S. 2004. Rapd (Rastgele Arttırılmış Polimofik Dna) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. *DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 6. Sayı: 113-130.
- PAUL, J. G., K. J. CHALMERS, A. KARAKOUSIS, J. M. KRETSCHMER, S. MANNING and P. LANGRIDGE. 1998. Genetic Diversity in Australian Wheat Varieties and Breeding Material Based on RFLP Data. *Theor Appl Genet* 96: 435-446.
- PERENZIN, M., C. MINOA and B. BORGHI. 1995. Scelta Delle Varietai Risultati Della 22-a Sperimentazione Nazionale. *L'Informatone Agrario*. Vol: 51(33):5-12.
- PUJAR, S., S.A. TAMHANKAR, V.S. RAO, V. S. GUPTA, S. NAIK and P.K. RANJEKAR. 1999. Arbitrarily Primed PCR Based Diversity Assesment Reflects Hierarchical Grouping of Indian Tetraploid Wheat Genotypes. *Theo. Appl. Genet*. 99(5):868-876.
- PUJAR, S., S.A. TAMHANKAR, V. S. GUPTA, V.S. RAO and P.K. RANJEKAR. 2002. Diversity Analysis of Indian Tetraploid Wheat Using Intersimple Sequence Repeat Markers Reveals Their Superiority Over Random Amplified Polymorphic DNA Markers. *Biochemical Genetics*. Vol:40.Nos.1/2.63-69.
- RAFALSKI, A., S.V. TINGEY and J.G.K.WILLIAMS. 1994. (RAPD) markers. *Plant Molecular Biology Mannual*. 114:1-8.

- RAMSHINI, H., M.R. NAGHAVI and H. ALİZADEH. 2005. Comparison of Genetic Diversity Based on Total and Sharp Bands of RAPD Data in Wheat. *Asian Journal of Plant Sciences*. 4(2):123-127.
- RASHED, M.A., M.H. ABOU-DEIF, M.A.A. SALLAM and W. A. RAMADAN. 2008. Estimation of Genetic Diversity Among Thirty Bread Wheat Varieties By RAPD Analysis. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(12): 1898-1905.
- ROHLF, F. J. 2005. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2. 2. Department of Ecology and Evolution State University of New York. Stony Brook, NY 11794-5445. ISBN:0-95031-31-3. 42 p.
- SALAMINI, F., H. ÖZKAN, A. BRANDOLINI, R. SCHAFER-PREGL and W. MARTIN. 2002. Genetics and Geography of Wild Cereal Domestication in The Near East. *Nature Reviews, Genetics*. 3: 429–441.
- SAULESCU, N. N. 2001. Romanian Wheat Pool. In: *The World Wheat book. A History of Wheat Breeding*. Ed. A.P. Bonjean, W. L. Angin Landres- Paris- New York. p: 333-349.
- SAWALHA, K., H. EIDEH, SA'AD LAHAM, H. HASASNEH and B. MEZEID. 2008. Genetic Diversity Studies on Wheat Landraces in Palestine Using RAPD Markers in Comparison to Phenotypic Classification. *Journal of Applied Biological Sciences* 2 (1): 29-34.
- SELBACH, A. and S. CAVALLI-MOLINA. 2000. RAPD Characterization of Brazilian Barley (*Hordeum vulgare ssp. vulgare*) Varieties *Euphytica* 111: 127–135, 2000.
- SHARMA, A., A. G. NAMDEO and K.R. MAHADIK. 2008. Phcog. Rev.: Rewiev Article. *Molecular Markers: New Proepects in Plant Genome Analysis. Pharmacognosy Rewievs* 2(3): 23-34.
- SHOAIB, A. and M. I. E. ARABI. 2006. Genetic Diversity Among Syrian Cultivated and Landraces Wheat Revealed By AFLP Markers *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 901–906.
- SKROCH, P. W., J. TIVANG and J. NIENHUIS. 1992. Analysis of Genetic Relationship Using RAPD Marker Data. *Applification of RAPD Technology to Plant Breeding. Joint Plant Breeding Symposia Series, Minneapolis, Minnesota*.
- SOFALIAN, O., N. CHAPARZADEH, A. JAVANMARD and M.S. HEJAZI. 2008. Study The Genetic Diversity of Wheat Landraces From Northwest of Iran Based on ISSR Molecular Markers. *International Journal of Agriculture & Biology* Vol. 10, No. 3, 465–8.
- SOLEIMANI, V.D., B.R. BAUM and D.A. JOHNSON 2002. AFLP and Pedigree-Based Genetic Diversity Estimates in Modern Cultivars of Durum Wheat [*Triticum turgidum* L. subsp. durum (Desf.) Husn.] *Theor Appl Genet* 104:350-357.
- SOYSAL, M. İ. 2002. Genetik. T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü. Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı.
- http://www.agroteknik.com/dna_dolan/genetik/index.html.

- SUD, S., N.S. BAINS and G.S. NANDA. 2005. Genetic Relationships Among Wheat Genotypes, as Revealed by Microsatellite marker and Pedigree analysis. *Journal of Applied Genetics*. 46(4):375-379.
- SUN, Q., Z. NI, Z. LIU, J. GAO and T. HUANG. 1998 a. Genetic Diversity in Elite Wheat Cultivars Revealed By Random Amplified Polymorphic DNA. *Annual Wheat Newsletter*. Vol:44. <http://wheat.pw.usda.gov/gpages/awn/>
- SUN, Q., Z. NI, Z. LIU AND J. GAO and T. HUANG. 1998 b. Genetic Relationships and Diversity Among Tibetan, Common, and European Spelt Wheat Revealed By RAPD Markers. *Euphytica* 99: 205–211.
- SUN, G., M. BOND, H. NASS, R. MARTIN and Z. DONG. 2003. RAPD Polymorphisms in Spring Wheat Cultivars and Lines With Different Level of Fusarium Resistance *Theor Appl Genet* 106:1059–1067.
- SZUCS, P., A. JUHASZ, I. KARSAI, L.LANG, O. VEISZ and Z. BEDO. 2000. Use of Molecular Markers For Studying Genetic Diversity in Durum Wheat (*Triticum durum Desf.*). *Journal of Genetics and Breeding* 54: (1) 25-33; 44 Ref.
- TAGHIAN, A.S. and A. ABO-ELWAFI. 2003. Multivariate and RAPD Analyses of Drought Tolerance in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Assiut Journal of Agricultural Sciences*. 34(5):1-22.
- TAHIR, N.A. 2008. Assesment of Genetic Diversity Among Wheat Varities in Sulaimanyah Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 1(4): 159-164.
- TAMS, S.H., E.BAUNER, G. OETTLER and A.E. MELCHINGER. 2004. Genetic Diversity in European Winter Triticale Determined With SSR Markers and Coancestry Coefficient. *Theor. Appl. Genet.* 108:1385-1391.
- TAVALE, S. T. 2001. Molecular Analysis of Wheat Genome Using ISSR and RAPD Markers. A Thesis Submitted To The University of Pune For The Degree of Master of Science (Partly By Papers and Partly By Research) In Chemistry (Biochemistry) (Unpublished) 72s.
- TAYYAR, Ş. 2005. Biga Koşullarında Yetiştirilen Farklı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Verim ve Bazı Kalite Özelliklerinin Saptanması. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 18(3):405-409.
- TESHALE, E.T., S. BANSAL, A. MISHRA, VIJAIPAL and V.K. EHANNA. 2003. DNA Fingerprinting of Wheat Genotypes by RAM Markers *Wheat Information Service Number* 96: 23-27.
- THOMAS, G., T. MOHAPATRA, A.R. RAO and R. P. SHARMA. 2006. Distinguishing Indian Commercial Wheat Varities Using RAPD Based DNA Fingerprints. *Indian Journal of Biotechnology*. 5:200-206.
- TINGEY, S.V. and J.P. DEL TUFA. 1993. Genetic Analysis With Random Amplified Polimorphic DNA Markers. *Plant Physiol.*101: 349- 352.
- TINKER, N. A., M. G. FORTIN and D. E. MATHER. 1993. Random Amplified Polymorphic DNA and Pedigree Relationships in Spring Barley *Theor Appl. Genet.* 85: 976-984.

- TODOROVSKA, E., A. TRIFONOVA and A. ATANASOV. 2003. Genetic Diversity Among Elite Bulgarian Barley Varieties Evaluated by RFLP and RAPD Markers. *Euphytica*.129:325-336.
- TONK, F. A., R. R. AKÇALI, M. A. FURAN ve S. YÜCE. 2008. Bazı Makarnalık Buğday Çeşitleri ile Yeni Geliştirilen Hatlarda Genetik İlişkilerin RAPD Markörleriyle İncelenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 45 (2): 85-90.
- ULUKAN, H. 2007. Klasik Bitki Islahı ve Genetik Mühendisliği ile Oluşturulan Değişimlere Genel Bir Bakış. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 21(2): 27-40.
- VIERLING, R. A. and H. T. NGUYEN. 1992. Use of RAPD Markers To Determine The Genetic Diversity of Diploid Wheat Genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 84(7-8): 835-838.
- WANG, T., Q. HUANG and W. FENG. 2007. RAPD and SSR Polymorphisms in Mutant Lines of Transgenic Wheat Mediated By Low Energy Ion Beam. *Plasma Science and Technology*, Vol.9, No.5,643-648.
- WELSH, J.and M. MCCLELLAND. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR With Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res.*18: 7213-7218.
- WILLIAMS, J.G.K., A.R. KUBELIK, K.J. LIVAK, J.A. RAFALSKI and S.V. TINGERY. 1990. DNA Polymorphism Amplified By Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- YEŞBEK, A. 2007. *T. Dicoccoides* ve *T. Dicoccon* Türleri Arasındaki Genetik Çesitliliğin RAPD-PCR Tekniği İle Belirlenmesi. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 75s. (Yayınlanmamış).
- YILDIRIM, A. 1999. Genetik Haritaların Tahıl Islahındaki Önemi ve Kullanımı. *Hububat Sempozyumu*. 8-11 Haziran 1999. Konya.133-142.
- YILDIRIM, A. ve N. KANDEMİR. 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodları. *Bitki Biyoteknolojisi 2: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*. Edt: S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoğlu. Selçuk Üniversitesi Basımevi, s.334-363.
- YÜRÜR, N. 1998. Serin İklim Tahılları (Tahıllar-1). *Uludağ Üniversitesi Basımevi*. s.107-108.

EK-1'in devamı

S 122	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2000 bç	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1650 bç	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0
1450 bç	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1300 bç	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
1000 bç	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1
950 bç	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
S 125	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
4000 bç	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
2500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2000 bç	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1
1300 bç	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
1250 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
800 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
790 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
700 bç	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
450 bç	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
400 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1
S 126	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
3000 bç	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
2000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000 bç	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
950 bç	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
800 bç	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
400 bç	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
S 127	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1450 bç	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1
1400 bç	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1
1100 bç	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0
1000 bç	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
950 bç	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0
825 bç	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0
800 bç	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
650 bç	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1
600 bç	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0
S 128	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2100 bç	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1
2000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1700 bç	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
1300 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
S 129	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2000 bç	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1
1990 bç	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1
1500 bç	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1
1490 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1200 bç	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
950 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
825 bç	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
600 bç	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0
500 bç	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
300 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 130	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1500 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
1200 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 132	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2000 bç	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0

EK-1'in devamı

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S 248	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
3000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2750 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1800 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1500 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000 bç	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S 271	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
3000 bç	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1
2000 bç	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1500 bç	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
700 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
400 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 280	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1500bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1450 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
750 bç	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0
600 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
300 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
S 418	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
3000 bç	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
2100 bç	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2000 bç	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0
1500 bç	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0
1300 bç	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0
1050 bç	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
975 bç	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
795 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 443	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1400 bç	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
650 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 461	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2000 bç	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1
1000 bç	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0
800 bç	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

1:Yelken, 2:Ç-1252, 3:Selçuklu-97, 4:Ege-88, 5:Çakmak-79, 6:Kızıltan-91, 7:Amanos-97, 8:Kunduru-1149, 9:Altıntaş-95, 10: Meram-2002, 11: Ankara-98, 12: Gediz-75, 13: Fuatbey-2000, 14: Pınar-2001.

EK-2**Makarnalık buğdayların eigen değerleri**

Çeşit Adı	Eigen Değeri	Yüzdesi	% Toplam Varyans
Yelken	9.52153809	68.011	68.011
Çeşit-1252	0.72817341	5.201	73.212
Şelçuklu-97	0.58118016	4.151	77.364
Ege-88	0.50025086	3.573	80.937
Çakmak-79	0.47582088	3.399	84.336
Kızıltan-91	0.39561097	2.826	87.161
Amanos-97	0.38917609	2.779	89.941
Kundurur 1149	0.34273186	2.441	92.389
Altıntaş-95	0.30095747	2.149	94.539
Meram-2002	0.25001679	1.786	96.325
Ankara-98	0.17309681	1.236	97.561
Gediz-75	0.13472809	0.962	98.523
Fuatbey-2000	0.10635723	0.759	99.283
Pınar-2001	0.10036129	0.717	> 100

EK-3**Ekmeklik buğdaylara ait fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri**

S22	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1400 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1100 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
790 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
780 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 32	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2000 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
1400 bç	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0
1000 bç	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
900 bç	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
700 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
500 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
300 bç	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0
S 34	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2600 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2500 bç	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2495 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1600 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1490 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1300 bç	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
1000 bç	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
800 bç	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
700 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
300 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 98	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1400 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
1300 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
1000 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
700 bç	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 126	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2000 bç	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
1600 bç	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1500 bç	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0
1350 bç	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1200 bç	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1
1000 bç	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
750 bç	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
600 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
400 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
S 127	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1700 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
1600 bç	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
1500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1350 bç	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1300 bç	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
1000 bç	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
950 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
900 bç	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
850 bç	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0
650 bç	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
610 bç	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1

EK-3'ün devamı

350 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
S 418	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
650 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
570 bç	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0
550 bç	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
350 bç	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
300 bç	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0
S 443	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2100 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1
1700 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1500 bç	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1000 bç	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0
900 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1
800 bç	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
3650 bç	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
600 bç	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 444	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1400 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1050 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
1000 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
900 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
600 bç	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S 461	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1490 bç	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0
1300 bç	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1200 bç	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
1100 bç	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0
1000 bç	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
900 bç	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
800 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
700 bç	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600 bç	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
500 bç	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

1: Sultan, 2: Sagittario, 3: Katea-I, 4: Momtchill, 5: Gönen-98, 6: Kıraç-66, 7: Gerek-79, 8: Basribey, 9: Kaşifbey, 10: Marmara-86, 11: Flamura, 12: Pehlivan, 13: Köksal-2000, 14: Saraybosna, 15: Golia, 16: Harmankaya-99

EK-4**Ekmeklik buğdayların eigen değerleri**

Çeşit Adı	Eigen Değeri	Yüzdesi	% Toplam Varyans
Sultan	10.09034237	63.0646	63.0646
Sagittario	0.95271223	5.9545	69.0191
Katea-I	0.82259830	5.1412	74.1603
Momtchill	0.67491304	4.2182	78.3785
Gönen-98	0.5659722	3.5373	81.9159
Kıraç-66	0.48307080	3.0192	84.9351
Gerek-79	0.41764662	2.6103	87.5453
Basribey	0.36496857	2.2811	89.8264
Kaşifbey	0.33854016	2.1159	91.9423
Marmara-86	0.28565806	1.7854	93.7276
Flamura	0.24953960	1.5596	95.2873
Pehlivan	0.21032450	1.3145	96.6018
Köksal-2000	0.167494467	1.0468	97.6486
Saraybosna	0.15565308	0.9728	98.6215
Golia	0.119551614	0.7470	99.3684
Harmankaya	0.10104963	0.6316	>100

ÖZGEÇMİŞ

1976 Bolu Gerede doğumlu olan Esra AYDOĞAN ÇİFCİ ilk, orta ve lise öğrenimini Zonguldak'ta tamamladı. 1995 yılında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümüne başlayan ÇİFCİ 1999 yılında bu bölümden mezun oldu. 2000 yılında Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve aynı yıl Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2003 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. Halen aynı bölümde görevini sürdürmektedir.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan, ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Köksal YAĞDI'ya,

Doktora tez konuyla ilgili ön bilgileri edinmek amacıyla gittiğim O.D.T.Ü Kimya bölümünde laboratuvar olanaklarını sınırsızca açan ve her türlü bilgi birikimini paylaşan Sayın Prof. Dr. S. Mahinur AKKAYA ve Sayın Dr. Mehmet KARCICIO'ya,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ümran ERTÜRK ve arkadaşım Araş. Gör. P. Özlem KURT'a,

Sonuçların değerlendirilmesi için kullandığımız istatistiksel analiz programının kullanımı ve yorumlanması konusunda yardımcı olan Sayın Yrd. Doç.Dr. Zeynel DALKILIÇ'a,

Tezim süresince bölüm olanaklarını rahatlıkla kullanmanızı sağlayan, bilgileri ve yardımlarını esirgemeyen başta bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Z. Metin TURAN olmak üzere bütün bölüm öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerine,

Bugüne kadar beni her konuda destekleyip, bana güvenerek her zaman yanımda olan çok sevgili ve değerli eşim, oğlum ve aileme en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.