



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN  
ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



EKMEKLİK BUĞDAYDA  
(*Triticum aestivum* L.) GENETİK STABİLİTE  
TESTLEMESİ İÇİN SSR MARKÖRLERİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ

Muhammed GÖKALP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Aralık-2022  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL VE ONAYI

Muhammed GÖKALP tarafından hazırlanan “Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Genetik Stabilite Testlemesi İçin SSR Markörlerinin Geliştirilmesi” adlı tez çalışması 14/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Prof. Dr. Önder TÜRKMEN

#### Üye

Prof. Dr. Emrah TORLAK

#### Üye-Danışman

Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ...../...../20.... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim KALAYCI  
FBE Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## **DECLARATION PAGE**

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Muhammed GÖKALP

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## EKMEKLİK BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) GENETİK STABİLİTE TESTLEMESİ İÇİN SSR MARKÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

**Muhammed GÖKALP**

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU**

**2022, 52+xi Sayfa**

**Jüri**

**Prof. Dr. Önder TÜRKMEN**

**Prof. Dr. Emrah TORLAK**

**Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU**

Yaygın ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), Akdeniz bölgesi ve güneybatı Asya'ya özgü bir Poaceae (çim ailesi) türüdür. *T. aestivum*, dünya çapında ılıman iklimlerde yetiştirilen birkaç ekili buğday türünden biridir. Ekmeklik buğday, her hücrenin çekirdeğinde A, B ve D olarak adlandırılan üç tam genoma sahip bir hekzaploiddir bitki türüdür. Diploid ürünlerle karşılaştırıldığında, ekmeklik buğday genomundaki büyük genomik segmentlerin yüksek komplikasyonu ve duplikasyonu nedeniyle *T. aestivum*'daki moleküler genetik araştırmalar zorludur. Saflık testi, ıslah programlarının önemli bir parçasıdır. Buğday çeşitlerinde yüksek düzeyde bir genetik saflık oluşturulmalı ve istikrarlı agronomik performans için saflığı izlemek için güvenilir testler mevcut olmalıdır. Fenotipik karakterizasyon, temel saflık testi protokolleri için düzenli bir yöntemdir; ancak, fenotipik değerlendirmeler öznel ve güvenilir değildir; fenotip çevresel koşullardan ve tarımsal uygulamalardan etkilenir. Bu çalışmada, ekmeklik buğday genomik dizilerinden biyoinformatik yolla 36 tek kopya, ortak baskın SSR belirteci geliştirildi ve amplifikasyon etkinliği ve polimorfizm oranı için deneysel olarak test edildi. Sonuç olarak, 36 SSR marköründen dokuzu, polimorfizm oranlarına ve amplifikasyon tekrarlanabilirliklerine dayalı olarak ekmeklik buğday çeşitlerinin saflık testi için yeterli bulundu. Dokuz tek lokus SSR markörü, ekmeklik buğday genotiplerinde genetik saflık ve stabilite testi için bir ana set olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** DNA Markörü, Ekmeklik Buğday, Genotip, Genom

## **ABSTRACT**

### **MSc THESIS**

#### **DEVELOPMENT OF SSR MARKERS FOR GENETIC STABILITY TESTING IN BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.)**

**Muhammed GÖKALP**

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN MOLECULAR BIOLOGY AND  
GENETICS**

**Advisor: Assoc.Prof. Dr. Ali Tevfik UNCU**

**2022, 52+xi Pages**

#### **Jury**

**Prof. Dr. Önder TÜRKMEN**

**Prof. Dr. Emrah TORLAK**

**Assoc. Prof. Dr. Ali Tevfik UNCU**

Common wheat/bread wheat (*Triticum aestivum* L.), is an annual Poaceae (grass family) species, native to the Mediterranean region and southwest Asia. *T. aestivum* is one of the several species of cultivated wheat, now grown in temperate climates worldwide. Bread wheat is hexaploid, with three complete genomes termed A, B and D in the nucleus of each cell. Compared to diploid crops, molecular genetic research in *T. aestivum* is challenging due to the high complexity and duplication of large genomic segments in the bread wheat genome. Purity testing is an important portion of breeding programmes. A high level of genetic purity in wheat varieties must be established and reliable tests should be available to monitor the purity for stable agronomic performance. Phenotypic characterization is a regular method for basic purity testing protocols; however, phenotypic assessments are subjective, highly prized and unreliable; as phenotype is influenced by environmental conditions as well as agricultural practices. In the present study, 36 single copy, co-dominant SSR markers were developed via bioinformatics from bread wheat genomic sequences and experimentally tested for amplification efficiency and polymorphism rate. As a result, nine out of 36 SSR markers were found to be adequate for purity testing of bread wheat varieties based on their polymorphism rate and amplification reproducibility. These nine single locus SSR markers can be used as a core set for genetic purity and stability testing in bread wheat genotypes.

**Keywords:** DNA markers, Genotyping, Genomics, *Triticum aestivum* L

## ÖNSÖZ

Çalışmamın tüm aşamalarında destek ve yardımlarıyla katkı sağlayan, her türlü desteğini esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Üyesi Ali Tefik UNCU'ya, materyal teminini sağlayan Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ve maddi manevi desteğini esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Muhammed GÖKALP  
KONYA-2022

## İÇİNDEKİLER

ÖZET ...	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ. ....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	ix
TABLO DİZİNİ .....	x
ŞEKİL DİZİNİ .....	xi
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>2</b>
2.1. Geçmişten Günümüze Buğdayın Tarihi .....	2
2.2. Buğdayın Dünya ve Türkiye'deki Durumu .....	5
2.3. Buğdayın Genetik Özellikleri .....	6
2.4. Moleküler Markörler (Markör Çeşitleri) ve Kullanım Alanları .....	7
2.4.1. PCR Temelli Olmayan Teknikler .....	8
2.4.1.1. RFLP.....	8
2.4.2. PCR Temelli Teknikler .....	8
2.4.2.1. RAPD.....	8
2.4.2.2. AFLP.....	9
2.4.2.3. ISSR.....	9
2.4.2.4. SSR (Minisatelit) .....	10
2.5. Buğdayda SSR Markörleri Kullanılarak Yapılan Çalışmalar.....	11
<b>3. MATERYAL METOD .....</b>	<b>15</b>
3.1. Bitki Materyali.....	15
3.2. Ekmeklik Buğday Genomunun Genetik Stabilite Testlemesi için SSR Motiflerince Taranması .....	17
3.2.1. Tüm Genom Fonksiyonel SSR geliştirme.....	17
3.2.2. SSR Markör geliştirme ve haritalama .....	20
3.3. Geliştirilen Markörlerin Fonksiyonel Tanımlaması ve Protein Modelleme Çalışmaları.....	21
3.4. Ekmeklik Buğday Genotiplerinden DNA İzolasyonu ve SSR Markörlerinin Genotiplenmesi.....	22
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI .....</b>	<b>23</b>
4.1. Saflık Testlemesinde Kullanılacak Markör Setinin Taşınması Gereken Özellikler	23
4.2. Ekmeklik Buğday Referans Genomundan SSR Motiflerinin Biyoinformatik Olarak Tespiti .....	24

4.3. Ekmeklik Buğday Referans Genomundan SSR Motiflerinden Markör Dizaynı ..	26
4.4. Geliştirilen SSR Markörlerinin Fonksiyonel Anotasyonu ve e-PCR Sonuçları....	32
4.5. Ekmeklik Buğday Genotiplerinde Çalışılmak Üzere SSR Markörlerinin Seçilmesi Ve Karakterizasyonu .....	34
4.6. Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Genetik Stabilitate Testlemesi.....	37
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>40</b>
5.1. Sonuçlar .....	40
5.2. Öneriler.....	41
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>42</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	: Yüzde
bp	: Base Pair
°C	: Santigrad Derece
da	: Dekar
kb	: Kilobaz
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: nano gram
nt	: nükleik asit
Tm	: Erime Sıcaklığı
µl	: Mikrolitre

### Kısaltmalar

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AP-PCR	: Arbitrary Primed-Polymerase Chain Reaction
DAF	: DNA Amplification Fingerprinting
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
e-Mapping	: Elektronik Haritalama
e-PCR	: Electronic Polymerase Chain Reaction
FASTA	: Biyoinformatik Sekans Dosya Formatı
GB	: Gigabaz
GMATA	: Genome-wide Microsatellite Analyzing Tool Package
H <sub>2</sub> O	: Su
HCL	: Hidroklorik Asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
MAS	: Markör Destekli Islah
MgCl <sub>2</sub>	: Magnesium Chloride
NaCl	: Sodyum Klorür
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PF	: Primer İleri
PR	: Primer Geri
PIC	: Polimorfizm Information Content
QTL	: Quantitative trait Locus
RAPD	: Random Amplified Polymorphic
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribonükleik asid
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
TMO	: Toprak Mahsulleri Ofisi

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 3.1.</b> Çalışma kapsamında kullanılan ekmeklik genotiplerin kademe bilgisi.....	16
<b>Tablo 3.2.</b> Ekmeklik buğday referans genomuna ait NCBI veri bankasından kullanılan veri bilgileri.....	18
<b>Tablo 4.1.</b> SSR motif bilgileri .....	25
<b>Tablo 4.2.</b> Tez kapsamında geliştirilen 7276 adet yeni Tri-Nükleotid SSR markörüne ait örnek bilgi .....	27
<b>Tablo 4.3.</b> Geliştirilen SSR markörlerine ait genom haritalaması sonuçlarının genom koordinat verilerini gösterir örnek tablo .....	29
<b>Tablo 4.4.</b> Geliştirilen 7276 adet tekil SSR markörünün alel üretme bakımından dağılımı gösterir tablo .....	33
<b>Tablo 4.5.</b> Ekmeklik buğday genotiplerinde çalışılmak üzere seçilen 36 adet SSR markörüne ait veriler ve alel büyüklükleri.....	35
<b>Tablo 4.6.</b> Tez kapsamında geliştirilen 9 adet SSR marköründen oluşan çekirdek markör setine ait markör verisi .....	37
<b>Tablo 4.7.</b> Ekmeklik buğday genotiplerinin stabilite düzeylerinin belirlenmesi .....	38
<b>Tablo 4.8.</b> Çekirdek markör setine ait kromozomal pozisyon ve protein tanımları.....	39

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Bereketli hilal .....	3
Şekil 2.2. Türkiye’de tarım ürünlerinin gen çeşitlilik merkezleri .....	4
Şekil 3.1. Ekmeklik buğday genotipinin tarla görünümü.....	16
Şekil 3.2. Ekmeklik buğday genotipinin DNA izolasyonuna hazırlanması .....	17
Şekil 3.3. Ekmeklik buğday genomundan gmata yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin tahmini işlemi. ....	19
Şekil 3.4. Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin genom haritasında yerlerinin belirlenmesi.....	19
Şekil 3.5. Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR markörlerinin geliştirmesi işlemi .....	20
Şekil 3.6. Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin e-mapping ve e-PCR işlemleri.....	21
Şekil 4.1. SSR markör motiflerinin dağılımı .....	26
Şekil 4.2. SSR markör verisi fonksiyonel protein anotasyonları (moleküler fonksiyon ve biyolojik proses) .....	32
Şekil 4.3. Geliştirilen 7276 adet tekil SSR markörünün alel üretme bakımından dağılımı .....	34
Şekil 4.4. Ekmeklik buğday genotiplerinde çalışılmak üzere seçilen 36 adet SSR markörüne ait veriler ve alel büyüklükleri.....	36
Şekil 4.5. TA-SSR1241 isimli markörün 16 ekmeklik buğday genotipinden elde edilen PCR ürünlerinin kapiler elektroforez sonuçları .....	38
Şekil 4.6. TA-SSR1241 markörünün SSR motif polimorfizimi gösteren iki farklı verisine ait homoloji tabanlı protein tahminleri ve ramachandran grafikleri. A-B TA-SSR1241, C-D TA-SSR1241-1 varyantı .....	39

## 1. GİRİŞ

Bitki ıslahı, hızlı bir şekilde artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamak için üretimi artırmadaki en önemli yoldur. İnsan beslenmesinde en önemli tür olan buğday ıslahındaki çalışmalar ülkemizde 1928 yılında başlamış ve günümüzde ileri ıslah teknikleriyle de devam etmektedir. Klasik ıslahta morfolojik yönden yapılan çalışmalar ön plandadır. Morfolojik olarak yapılan seleksiyon ve kriterler klasik ıslahta bazı sorunlara neden olabilmektedir. Özellikle ıslahın ileri kademesinde seleksiyon; en önemli özelliklerden biri olan durulmuşluk, yeknesaklık gibi özellikler morfolojik gözlemlerle yapılmaktadır. Bu gözlemlerle birlikte ileri ıslah tekniklerinin yani moleküler markörler kullanılması daha doğru sonuçlar gösterecektir. Bitki türlerinde yapılan çalışmalarda DNA belirleyicileri, farklı alanlarda kullanılmaktadır. Fiziksel ve genetik kromozom haritaları ile markör destekli seleksiyon bu alanda yapılan en önemli çalışmalardandır (Yıldırım ve Kandemir, 2004). Özellikle moleküler markörler bitki türlerindeki çalışmalarda gen teşhisi, materyal karakterizasyonunun yapılması, filogenetik analizler gibi birçok biçimde kullanılabilir (Rafalski ve ark., 1996).

Artan nüfusla birlikte ithalatın artmamasına ve gerekli olan üretimin yurt içinden temin edilebilmesi için değişen iklim koşullarına uygun olabilecek üretimin aynı oranda artması gerekmektedir (Kün, 1996). Dünyanın en önemli stratejik tarım ürünlerinden birisi olan buğday, insan beslenmesinde ve hayvancılıkta büyük önem arz etmektedir. Her geçen gün sanayi isteklerine uygun olan verimli ve kaliteli olmasının yanında hastalıklara dayanıklı buğday çeşitlerine olan ihtiyaç devam etmektedir (Konak ve ark., 1999). Her bitkide olduğu gibi buğday ıslahında da kaliteli, verimli ve tutarlı performans gösteren (durulmuş-saf) çeşitlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla yapılan seleksiyonlarda genotiplerin genetik olarak bilinmesi önemlidir (Peterson ve ark., 1992).

Klasik ıslahta bölge verim denemesine gelmiş bir hattın durulmuş olması beklenir. Bu özellik çeşidin verim ve kalitesine de doğrudan etki etmektedir. Bu durum buğdayda ve diğer türlerde saflık analizinin moleküler yönü ile incelenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ülkemizde ileri kademe hatlarda durulmuşluk testlerinin moleküler olarak incelenmesi yaygın değildir. Genellikle morfolojik olarak incelenmekte ve seleksiyon yapılmaktadır. Bu yüzden buğdayda saflık testlerinde kullanılması için SSR markörlerinin geliştirilmesi ve kullanılması bu alanda önemli bir adım olacaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Geçmişten Günümüze Buğdayın Tarihi

Buğdayın ilk ekimi yaklaşık 10.000 yıl önce, avcılıktan ve yiyecek toplanmasından yerleşik tarıma geçişi gören 'Neolitik Devrim'in bir parçası olarak gerçekleşmiştir. Bu en erken ekili biçimler diploid (AA genomu) (einkorn) ve tetraploid (AOMB genomu) (emmer) buğdaylarıdır ve genetik akrabalıklarına bakıldığında bunların Türkiye'nin güneydoğusundan geldiğini göstermektedir. Yetiştiricilik, yaklaşık 9000 yıl önce hekzaploid ekmeklik buğdayının ilk ortaya çıkmasıyla Yakın Doğu'ya doğru yayılmıştır (Shewry, 2009).

Buğday formlarından ilk kültüre alınanları Einkorn ve Gernik buğday türleri olduğu bilinmektedir (Shewry, 2009; Peng ve ark., 2011a). Bu buğdayların genetik olarak ilişkileri incelenmesi sonucunda gen merkezlerinin Diyarbakır-Karacadağ yöresi olduğu kanaatine varılmıştır (Heun ve ark., 1997; Dubcovsky ve Dvorak, 2007; Shewry, 2009; Özkan ve ark., 2010). Bu türler bereketli hilal bölgesinde doğal ortamda yetiştirilmektedir (Özkan ve ark., 2010; Peng ve ark., 2011b). Doğal ve yapay seleksiyonlarla *Triticum dicocoides* türü Gernik buğdayına evrimleştirilmiştir ve günümüzde Emmer veya Gernik adıyla da bilinmektedir. Bu tür doğal yollarla kendi kendine melezlenmesiyle kromozom katlanması sonucu Spelt buğdayını meydana getirmiştir (Peng ve ark., 2011a; Peng ve ark., 2011b). Kültüre alınan tetraploid ve diploid buğdaylar bereketli hilal bölgesinde gerçekleşirken, 8500 yıl önce hekzaploid buğday türlerinin oluşması Hazar Denizi yakınlarında meydana gelmiştir (Peng ve ark., 2011a). Emmer ve spelt buğdaylarının doğal ve yapay yollarla kolay hasad edilebilen türlere dönüşmesi sağlanmış ve bununla birlikte oluşan bu buğday formları ıslah çalışmalarının temellerini oluşturmuştur.

Ülkemiz birçok biyolojik çeşitliliği bünyesinde barındırmaktadır. Bunlar arasında en önemli türlerden biri buğdaydır. İnsan beslenmesinin yanında tarihi, kültürel ve toplumsal hatta arkeolojik açıdan da büyük değer taşımaktadır. Buğdayın tarihi Türkiyenin de içinde bulunduğu Irak, İran, Suriye, Lübnan, Filistin ve İsrail'i kapsayan "Bereketli Hilal" diye adlandırılan bölgede başlamıştır (Şekil 2.1.). "Bereketli Hilal" bölgesi buğdayla birlikte birçok tahıl çeşidinin ana vatanı olmuş ve doğal bitki örtüsü halini almıştır. İnsanoğulunun buğdayla beslenmeyi öğrenmesi ve bunu günlük hayatında değerlendirmesi bu bölgede başlamıştır (Özberk ve ark., 2016).



Şekil 2.1. Bereketli hilal (Özberk ve ark., 2016).

İnsanoğlunun beslenmesinde önemli bir yer tutan buğdayın kültüre alınmasındaki ilk yer olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi günümüzde de hala kültürü yapılmakta olan birçok tahıl grubununun (arpa, çavdar, buğday) ve yabani atalarının doğal yayılma gösterdiği bir bölgedir (Nesbitt ve Samuel, 1996; Zohary ve Hopf, 2000).

Bilim insanı Harlan, Türkiye'nin farklı bölgelerinden farklı genetik materyal toplayarak Vavilov tarafından tanımlanan orjin bölgelerinin, bazı genetik çeşitlilikleri içeren beş küçük alana bölünebileceği sonucuna varmıştır. Bunları “mikro merkez” olarak tanımlayan Harlan'a karşın, Türk bilim insanı Ekingen daha farklı veriler kullanarak Harlan tarafından beşe ayrılan bölgeleri yediye ayırmıştır (Şekil 2.2.). Ama bu ayırım hiçbir fark yaratmamaktadır. Çünkü Türkiye her iki türlü de çok değerli gen kaynaklarının sahibidir (Plarre, 1991).

İkinci Dünya savaşıyla birlikte artan nüfus, fakirlik ve açlık kıtlığa neden oldu. O zamanlarda ilkel yöntemlerle üretilen buğday ve çeltiğin verimleri çok düşüktü ve ihtiyacı karşılayamayacak düzeydeydi. Dr. Norman Borlaug verim düşüklüğü ile alakalı Meksika Sonora'da Ford Vakfının destekleriyle çalışmalar yürüttü. Dr. Borlaug ve bu çalışmaya katkı sağlayan Rockefeller Vakfı, melezlemelerle birlikte modern yetiştirme tekniklerinin uygulanması sonucu buğday üretimini ikiye katladı. Yeşil Devrim diye adlandırılan bu

gelişme, Dr. Borlaug'a 1970 Nobel Barış Ödülü'nü kazandı (Perkins, 1997). 1935 yılında yerel çeşit olan Daruma ve Kırmızı Kışlık Türk Buğdayın melezlenmesiyle elde edilen Norin 10 çeşidi bu verimli çeşitlerin geliştirilmesinin ilk ayağıdır (Powell ve ark., 2013). Yeşil devrimle birlikte azotlu gübrelerin ve pestisitlerin yoğun olarak kullanılması ve buğdayların azotu daha etkin şekilde kullanmasının sağlanmasıyla buğday üretimi iki katına çıkmıştır (Atalık, 2007). Bu durumdan ülkemiz de fayda sağlamıştır. 1960'lı yılların başında Meksikadan buğday ithal edilmiştir. Bize ait olan çeşitlerle ilk melezlemesinde kullanılan buğdaylar yeni çeşide dönüştürülmüş ve ana yurduna dönmeye başlamıştır (Özberk ve ark., 2016).



Şekil 2.2. Türkiye’de tarım ürünlerinin gen çeşitlilik merkezleri (Plarre, 1991).

Uzun yıllardan itibaren ülkemizde yetiştiriciliği yapılan kalitesi yüksek, kurağa ve sıcağa dayanıklı yerel çeşitler vardır. Ama bu çeşitlerin verimleri sınırlı olup, yaprak hastalıklarına karşı dirençleri düşüktür. Bununla birlikte uzun boylu buğday çeşitlerinde yatmaya karşı dirençleri düşüktür (Özberk, 2010). Bazı dağ köylerinde bu yerel çeşitlerin ekimleri devam etmektedir. Bir yandan bu yerel çeşitlerin ekimi devam ederken zamanla bu çeşitlerin yerini modern kültür çeşitleri almıştır. İslahçıların babası olarak bilinen Mirza Gökgöl, ülkemizdeki buğday varyasyonları üzerine yaptığı bir çalışmada 18.000 tip ve 256 yeni varyete tespit ederek Türkiyedeki çeşitliliğin bir hazine kadar değerli olduğuna dikkat çekmiştir (Karagöz ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarla yerel buğdayın ekiliş alanlarının zamanla azaldığı görülmektedir (Karagöz, 2014; Kan ve ark., 2015;

Morgounov ve ark., 2016). Bununla birlikte ekiliş alanlarıyla alakalı resmi bir kayıt da bulunmamaktadır. Lakin 565.312 hektar olabileceği tahmin edilmektedir (Karagöz, 2014). Kırmızı Buğday, Sarı Buğday, Karakılçık, Zerun, Ak Buğday, Siyez, Koca Buğday, Topbaş, Şahman ve Üveyik Buğdayı en çok ekim alanına sahip yerel buğday çeşitleridir (Kan ve ark., 2015).

Günümüzde Ekmeklik Buğday Hekzaploid ekmeklik *T. Aestivum* L. ( $2n=42$ , AABBDD) ve Makarnalık Buğdayın *T. durum* Desf. ( $2n=28$ , AABB) ekimi yoğun olarak yapılmakla birlikte, en çok da ekmeklik buğdayın ekimi yapılmaktadır. Günümüzde ekilen bu buğdayların azot tepkisi ve kurağa dayanıklılığı yüksektir. Türkiyede bulunan 11.707 bitki taksonunun 3.649'u yani %31'i endemiktir. Türkiye'de 3.649'u (yüzde 31,82) endemik olmak üzere, toplam 11.707 bitki taksonu kayıtlıdır (Güner, 2012).

## **2.2. Buğdayın Dünya ve Türkiye'deki Durumu**

Dünyadaki toplam nüfusun yaklaşık %80'den fazlasının protein kaynağı olan buğday dünyanın en önemli tahılıdır. Global gıda ihtiyacının da %21'ini karşılamaktadır (Shewry, 2009). Dünyada üretilen buğday 755 milyon tondur (Anonim 2021a). Nüfusun artışı ve gıda ihtiyacı dikkate alındığında buğday üretimi yakın gelecekte yetersiz olacaktır. Bu yüzden verimin %40 artırılması gerekmektedir (Fischer, 2014). Bununla birlikte buğdaya olan talebin de %33 olması öngörülmektedir (Anonim, 2010). Buğday üretiminde Çin 134 milyon ton ile birinci sırada olup, ardından sırasıyla 124 milyon ton ile Avrupa Birliği, 107 milyon ton ile Hindistan, 85.4 milyon ton ile Rusya ve 49.7 ile ABD gelmektedir (TMO, 2020). Bu ülkeler dünya buğday üretiminin %65'ini oluşturmaktadır (Anonim, 2022a).

Türkiye'de buğday üretim miktarı 20,5 milyon tondur. Bunun 4 milyon tonu makarnalık, 16,5 milyon tonu ise ekmeklik buğdaydır. Dekar başına verim ortalaması dünyada 351 kg/da iken, ülkemizde bu değer 278 kg/da'dır (TÜİK, 2021). Kişi başı buğday tüketimi Ülkemizde yıllık ortalama 182 kg olup, diğer ülkelere göre en fazla buğday tüketimi yapan ülkeler arasındadır (ZMO, 2018).

Türkiye'de besin ürünleri arasında en temeli ekmek ve ekmek ürünleridir. Günlük enerji ihtiyacının %43'ü tahıl ve tahıl ürünlerinden sağlanmaktadır (Pekcan ve ark, 2006). Dünyada ise tahıl ve ürünlerinden sağlanan enerji değeri 2000'li yıllarda %48 iken bu oranın 2050 yıllarında %41 olacağı varsayılmaktadır. (Kruse, 2010; Nelson ve ark., 2010). Buğdayın payı ise tahıllar arasında %19'dur. 2014 Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması Raporuna göre beyaz ekmek tüketimi daha fazladır. Buna karşılık beyaz

ekmekten ziyade tanenin tamamını içeren tam tahılların besleyicilik özellikleri daha fazla olduğu ve sağlık açısından da daha faydalı olduğu belirtilmektedir (Borneo and Leon, 2012). Tam buğday unundan yapılmış olan ekmeğin diyabet ve kalp rahatsızlığını önemli ölçüde azalttığı ortaya çıkarılmıştır (Brouns ve ark., 2013). Buğdayın bu denli faydalarının ve yoğun kullanımının olmasıyla birlikte ülkemizin de buğdayın ana vatanı olmasının önemi daha da iyi anlaşılmaktadır.

Küresel olarak, diyetlerinin önemli bir kısmı için buğday kullanan insan sayısının birkaç milyar olduğu şüphesizdir. Bununla birlikte, nispeten düşük protein içeriğine (genellikle %8-15) rağmen buğday, insan ve hayvan beslenmesi için yılda yaklaşık 60 milyon ton olduğu tahmin edilen toplam soya mahsulü kadar protein sağlar. Bu nedenle, özellikle ekmek, erişte ve diğer ürünlerin (bulgur, kuskus gibi) diyetin önemli bir bölümünü sağlayabildiği daha az gelişmiş ülkelerde, buğday proteinlerinin beslenmedeki önemi daha çok dikkate alınmalıdır (Shewry, 2009).

### **2.3. Buğdayın Genetik Özellikleri**

İnsan beslenmesinde önemli bir yer tutan buğdayın kimyasal bileşiminde %65-75, karbonhidrat, %8-14 su, %7-18 oranında protein, %1-2 oranında mineral maddeler, vitaminler ve enzimler bulunmaktadır. Buğday yapısında bulunan gluten proteinlerinin (Glutenin, gliadin) %85 olmasından dolayı ekmek yapımında kullanılması ön plandadır (Akyürek, 2014).

Ekmek yapımında kullanılan ekmeçlik buğday [*Triticum aestivum* L.  $2n=6x=42$  (AABBDD)] farklı atalardan elde edilmiş üç genomu her biri farklı atadan elde edilen A, B ve D olan üç genomu içeren alloheksaploid bir bitkidir (Poehlman, 1987). Ekmeçlik buğday genomu 16x109 bp'den oluşmaktadır (Bennet ve Leitch 1995). Buğday genomu %80'den fazla defalarca tekrarlanmış DNA sekanslarını oluşturmaktadır (Smith ve Flavell, 1975).

Buğday genomu ( $2n = 6x = 42$ ) büyüktür (~17 GB) ve karmaşıktır (AABBDD, 3 homolog alt genom) ayrıca 124 binden fazla gen içeren yüksek tekrar içeriğine (% 80) sahiptir. En son pangenom bazlı düzene göre, buğday genomunda  $140.500 \pm 102$  gen bulunur ve çekirdek genomu  $81.070 \pm 1.631$  gendir (Consortium, 2014).

## 2.4. Moleküler Markörler (Markör Çeşitleri) ve Kullanım Alanları

Genetik bir marker, bir kromozom üzerinde bilinen bir yere sahip olan ve belirli bir gen veya özellik ile ilişkili bir gen veya DNA dizisidir. Gözlenebilen genomik lokustaki mutasyon veya değişiklik nedeniyle ortaya çıkabilecek bir varyasyon olarak bilinmektedir. Genetik bir marker, tek bir baz çifti değişikliğini (tek nükleotid polimorfizmi, SNP) kapsayan bir dizi veya mini ve mikro uydular gibi uzun bir dizi serisine sahip kısa bir DNA dizisi olabilir. Son yıllarda, polimorfizmi DNA düzeyinde ortaya çıkaran çalışmalarda önemli bir rol oynadıkları için moleküler markörlere rağbet artış göstermiştir. Bazen “Akıllı Yetiştirme” terimi markör destekli yetiştirme stratejilerini tanımlamak için kullanılmaktadır (Al-Samarai ve ark., 2015). Başka bir ifadeyle de farklı metodlarla tespiti yapılabilen polimorfik DNA sekans kodlama bölgeleri moleküler markörler olarak tanımlanmaktadır (Metin, 2012). Markör sistemlerinin tespitinin ekonomik olarak, hızlı bir şekilde ve kolay yapılabilmesi, genomdaki düzgün dağılımı, poliformik olması markör sistemlerinde bulunması gereken özelliklerdir. Moleküler markörler bitki gen kaynaklarının ve özelliklerinin belirlenmesinde, genetik ve fiziksel olarak haritalandırmanın oluşturulmasında (Goyal ve ark., 2005; Somers ve ark., 2004; Yıldırım ve ark., 2004a), bitkilerin transgenik durumlarının tespitinde, ıslah araştırmalarında gereken özelliklerin başka bir ebeveyne aktarılmasında ve klasik ıslaha yardımcı olarak ıslah süresinin kısaltılmasında faydalanılmaktadır (Atak, 2004). Fizyoloji, taksonomi, embriyoloji gibi pek çok alanlarda DNA temelli moleküler markörlerden yararlanılmıştır. Özellikle adli vakalarda, parmak izi ve genetik farklılıkların ve benzerliklerinin tespitinde de büyük oranda yararlanılmıştır (Joshi ve ark., 2000).

DNA'nın elde edilebilmesi için organizmanın herhangi bir yerinden küçük bir doku parçası yeterlidir (Botstein ve ark., 1980). DNA markörlerinin kalıtımı basit ilkelere sahip olmasının yanında, çalışılan organizmanın tüm dokularından elde edilebilir ve dominant ya da kodominant özelliğe sahip olabilirler (Williams ve ark., 1990).

DNA markörleri ile ıslah stratejileri zamanla değişerek gelişmiş ve spesifik kalıtsal özelliklere göre markör geliştirme sağlanmıştır. Bununla birlikte konuyla alakalı yapılan bilimsel araştırmalar artmış ve akademik yönden yeni bir saha açılmış oldu. Moleküler markörlerin, kantitatif karakterlerle çalışılmasında kolaylık sağlamış olması bu çalışmalara ilgiyi arttırmıştır (Ruana ve ark., 2003).

Moleküler markörler Hibridizasyon (PCR Temelli Olmayan) yöntemine göre (RFLP-Restriction Fragment Length Polymorphism/Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi) ve PCR'a bağlı olanlar (SSR-Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler, RAPD-Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi, AFLP-Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi, ISSR-Inter Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) şeklinde iki ana gruba ayrılmaktadır (Staub ve ark., 1996).

#### **2.4.1. PCR Temelli Olmayan Teknikler**

##### **2.4.1.1. RFLP**

RFLP hibridizasyon temelinde yaygın bir şekilde kullanılan moleküler markör tekniğidir. Çalışması yapılan bitkinin DNA'sı izole edildikten sonra endonükleaz enzimleriyle DNA parçaları kesilir ve jel elektroforezinde yürütülerek nitroselüloz membran üzerine transfer edilir. Böylece farklı DNA parçaları meydana getirilir. Bu markörlerin yüksek polimorfizme, tekrarlanabilirliği ve kodominant olması avantajı olurken (Bark ve Havey, 1995), maliyetli ve uzun zaman alan bir teknikle yapılması ise dezavantaj yaratmaktadır (Gıdık, 2012). RFLP, genetik çeşitlilik ve filogenetik çalışmalarda, gen haritaların çıkartılmasında ve akrabalık ilişkilerinin tespitinde kullanılmaktadır (Miller ve Tanksley, 1990; Desplanque ve ark., 1999).

#### **2.4.2. PCR Temelli Teknikler**

PCR 'ın keşfedilmesinden sonra moleküler biyoloji çalışmalarına ilgi artmış ve yapılan markör çalışmalarında önemli bir yer edinmiştir. PCR, çok az miktarda DNA ve enzimlerin yanında kimyasalların da kullanılarak canlı organizmaya gerek olmaksızın DNA çoğaltma yöntemidir (Mullis ve Faloona, 1987). PCR tekniğinin geliştirilmesiyle birlikte RAPD, AFLP ve SSR markör sistemleri de oluşturulmuştur (Botstein ve ark., 1980).

##### **2.4.2.1. RAPD**

RAPD, nükleotitlerin rastgele dizilimlerine sahip olan primerlerin kullanılmasıyla DNA parçalarının çoğaltılmasıdır. Bu teknikte oluşan farklı batlarla DNA polimorfizmine bakılabilmektedir (Özşensoy ve Kurar, 2000). RAPD sisteminin

bulunmasından sonra kendi içerisinde DAF (DNA Amplification Fingerprinting) ve AP-PCR (Arbitrary Primed-Polymerase Chain Reaction) olarak iki farklı RAPD sistemi kurulmuştur. DAF sisteminde (Caetano-Anolles ve ark., 1991) 5-8 nükleotit uzunluğunda çeşitli primerler kullanılırken, AP-PCR’da ise 10-15 nükleotit uzunluğu tek nükleotit çeşidi kullanılır ki bu çok kullanılmayan bir işlemdir (Welsh ve McClelland, 1990). Ayrıca DAF sisteminde oluşan ürünlere gümüş nitrat boyaması uygulanır ve poliakrilamid jel üzerinde yürütülür (Filiz ve Koç, 2011).

PCR teknikleri içerisinde bulunan RAPD tekniğinin karakterizasyon ve haritalama işlemlerinde daha kısa sürede ve daha az maliyete gereksinim duyulması nedeniyle tercih edildiği bilinmektedir (Devos ve Gale, 1992). Bu olumlu yönlerinin olmasına rağmen, RAPD markörlerinin dominant olması nedeniyle yorumlanması zor ve kolay bir şekilde tekrarlanmaması gibi olumsuz yönler içermektedir (Lavi ve ark., 1994). Bitkilerde moleküler genetik çalışmalarında da bu teknik başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Buğdayda (Devos ve Gale, 1992), arpada (Tinker ve ark., 1993), fasulyede (Tiwari ve ark., 2005), nohutta (Hajj-Moussa ve ark., 1996), patatada (Hu ve Quirose, 1991), mısırdaki (Osipova ve ark., 2001) bu teknik yoğun bir şekilde kullanılmış ve etkin sonuçlar alınmıştır. Lakin RAPD tekniğinin SSR markörleriyle kıyaslanmasında SSR tekniğinin genetik akrabalık tespitinde daha iyi sonuçlar verdiği bilinmektedir (Ravi ve ark., 2003).

#### **2.4.2.2. AFLP**

AFLP tekniğinin polimorfizm oranı çok yüksek olmasının yanında işgücü ve sonuçlarının güvenilirliği RFLP ve RAPD arasındadır. Parmak izi analizlerinde kullanılması fazla sayıda lokusu aynı zamanda ve etkili bir şekilde taraması sebebiyle oldukça kullanılabilir. Değişik genetik haritalar arasında transferinin zor olması ve dominant markörler vermesi de olumsuz yönlerindedir (Walton, 1993). 18 çeşit arpada genetik varyasyonun belirlenmesi için yapılan SSR, RAPD, AFLP teknikleri arasında, RFLP ve AFLP’nin sonuçları birbirine yakın olduğu, SSR tekniğinin orta ve RAPD tekniğinin daha düşük olduğu kanaatine varılmıştır (Russel ve ark., 1997).

#### **2.4.2.3. ISSR**

ISSR, dizi bilgisine gerek duyulmadan primer dizaynının yapılabilmesi ve dominant markör olması artı yönlerindedir (Joshi ve ark., 2000). Yüksek polimorfizm

özelliğine sahip olmasıyla gen haritalamalarında, genetik benzerlik ve taksonomi çalışmalarında kullanılabilir (Gupta ve ark., 1994; Zietkiewicz ve ark., 1994). Tekrarlanabilirliğin düşük olması ve birbirine benzeyen parçacıkların homolog olmaması ISSR tekniğinin avantajlı olmayan yönleri arasındadır (Kesawat ve Das, 2009).

#### **2.4.2.4. SSR (Minisatelit)**

Minisatellitler 4-20 kb genom büyüklüğü arasında değişken, fazla lokus problemleriyle hidrelize olan (Jeffreys ve ark., 1985), canlı genomda sıklıkla ve belirli sayıda tekrar eden, genomun hangi bölgesinde bulunduğu ve kaç defa tekrarlandığı türler arasında değişiklik gösteren dizilerdir. Kodominant ve tekrarlanabilir özelliğe sahip olması en önemli avantajları iken çalışılan genomun bilgisine ve dizilim analizine ihtiyaç duyulması ise eksik yanlarını oluşturmaktadır (Rangwen ve ark., 1995; Ridout ve Donini, 1999). Tekrar ünitelerindeki sayılardaki varyasyon nedenleri genellikle eşit olmayan gen dönüşleri ve krossing-over başlıca sebepleridir. Yüksek mutasyon oranları popülasyondaki bireylerin çoklu lokuslarını farklılaştırmakta ve polimorfizm oranlarının arttırmaktadır (Nakamura ve ark., 1987). Mikrosatellitlerin tekrar sayısının 100'den az olduğu bilinen bir durumdur. Mikrosatellitler hem prokaryot hem de ökaryot genomunun herhangi bir bölgesinde yer almaktadır (Jarne ve Lagoda, 1996; Varshney ve ark., 2005). Basit yapılı hücreler olan prokaryot hücrelerde mikrosatellitlerin pek çok fonksiyona sahip olduğu bilinmesine karşın gelişmiş yapılı ökaryot hücrelerdeki rolü ise tam anlamıyla çözülememiştir (Bennett, 2000). Mikrosatellit ürünleri sadece tek kopyalı sekanslardan üretilmez. PCR işleminin sadece tek bir lokusu güçlendirmesi şartıyla tekrarlayan DNA sekanslarında yer alabilirler. Bu nedenle, buğdayda, eşlenmiş mikrosatellit işaretleyicilerinin rastgele dağıtılıp dağılmadığını veya kromozomların belirli bölgelerinde kümelenip kümelenmedikleri üzerine araştırma yapmak önemlidir (Gill ve ark., 1993a; Gill ve ark., 1993b).

SSR markörleriyle yapılan moleküler çalışmalar PCR tekniği yardımıyla genetik çalışmalarda kullanılan ve tercih edilen en yaygın markör sistemidir. Bir türün bireylerinde tekrar dizelerini kuşatan DNA dizileri aynıdır ama tekrar dizilim sayıları homolog kromozomlar arasında bile farklılık gösterebilmektedir. İki nükleotit tekrarlı SSR bölgelerinin polimorfizm oranı %100 iken, üç nükleotitli SSR bölgelerinin polimorfizm oranı %60'larda olduğu belirtilmektedir. Bu teknik belirli canlı genomlarının olması, polimorfizm oranlarının çok yüksek olması ve kolay bir kullanıma sahip olması nedeniyle yaygın kullanılan bir markör sistemidir. (Özşensoy ve Kurar,

2000). SSR tekniği bitkilerdeki genetik haritalama konularında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çok fazla polimorfik olmalarından dolayı SSR'lar bitkilerde yüksek oranda bilgi sunmaktadır (Röder ve ark., 1995). Bununla Birlikte DNA replikasyonunda ortaya çıkan dizi atlama, hatalı baz eşleşmeleri ve eşit olmayan crossing-over olayları sayıda farklılığa neden olan başlıca olaylardır ve bu durum jel elektroforeziyle tanımlanmaktadır (Matsuoka ve ark., 2002).

Haritalama ve DNA parmak izi araştırmalarında kullanılması (Korzun ve ark., 1998; Russell ve ark., 2000; Parker ve ark., 2002), biyofarklılık çalışmalarında (Virk ve ark., 1999), genetik akrabalık çalışmalarında (Röder ve ark., 1995), QTL saptamalarında (Parker ve ark., 1998), seleksiyondan kaynaklanan genetik çeşitlilikte (Stachel ve ark., 2000), tetraploid yabancı buğdayların aksesyonları yönüyle (Fahima ve ark., 2002) birçok konu ve alanda kullanımıyla da ne kadar yaygın olarak kullanıldığı ve tercih edildiği ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte mutasyon oranlarının yüksek olmasıyla primer bağlanma bölgelerindeki değişiklikler farklı ve anlamsız alellerin oluşmasına olanak sağlaması sistemin eksikliğidir (Filiz ve Koç, 2011). SSR başta insanlar üzerinde tanımlandıktan sonra diğer organizmalarda da kullanılmaya başlanmıştır (Litt ve Luty, 1989). Buğdayda (Röder ve ark., 1995), mısırda (Senior ve Heun, 1993), soya fasulyesinde (Akkaya ve ark., 1992), patatestede (Provan ve ark., 1996) ve yabancı buğdaylarda (Pestsova ve ark., 2000) SSR araştırmaları yapılmıştır.

Mikrosatellit markörleri bitkilerde yeni bir genetik markerler sınıfını temsil eder. Bu tür işaretleyiciler, heksaploid buğday (*Triticum aestivum* L.) gibi dar bir genetik baza sahip türlerde bile yüksek düzeyde bir polimorfizm meydana getirmektedir (Röder ve ark., 2011).

Tohum üretimi, pazar denetimi ve ıslah araştırma programlarında tohum saflığı testi gereklidir. SSR marker bazlı saflık testi, yüksek derecede kesinlik ile zaman kazanmada büyük katkısı olabilir. Uluslararası Buğday Genom Sekanslama Konsorsiyumu'nun mevcut yeni bir buğday genom düzeneği tüm genom üzerinde her yerde dağıtılan SSR markörleri için paha biçilmez bir kaynak olarak değerlendirilebilir (Consortium, 2014). Özellikleri kontrol eden hedef genlere daha yakın olan SSR'ler buğday çeşitlerini geliştirme programına işlenebilir (Li ve ark., 2014).

## **2.5. Buğdayda SSR Markörleri Kullanılarak Yapılan Çalışmalar**

Libyadaki buğday çeşitlerinde yapılan çalışmada 24 buğday mikrosateliti ile 15 Libya buğday genotipi kullanılmıştır. 24 mikrosatelit ile 20 farklı kromozom üzerine

yerleşen 26 lokus tespit edilmiştir. 4,5 ortalama ile 116 allel her lokus için belirlenmiştir. 2DS ve 4DL üzerinde bulunan 2 markör monomorfik olduğu tespit edilmiştir. B genomu 5,9'luk allel ile 4.1 ve 2.7 allellik A ve D genomlarına göre daha değişken olduğu belirlenmiştir (Ben Amer ve ark., 2001).

Moleküler tanımlanının yapıldığı 20 adet ekmeklik buğday çalışmasında (Dede, 2007), önceden geliştirilen mikrosatellit lokuslarından fazla polimorfiz gösteren 7 tanesi kullanmışlardır. Buğday çeşitlerinden 10'ar tane aksesyonun DNA'larını polimer zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. Sonuçta çeşitlerin iki temel gruba ayrıldığı ve bu iki grubunda alt gruplara ayrıldığı bildirilmiştir. Akbuğday hattı ile sarı buğday hattı arasında genetik olarak benzerlik bulunurken, Mengen hattıyla İzmir'den alınan hat arasında genetik benzerlik birbirinden en uzakta çıkmıştır.

Genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerinin incelenmesinde 40 Çin endemik buğday aksesyonları arasında kullanılan 24 SSR markörünün 21'inin polimorfik olduğu, genetik çeşitliliğinin belirlenmesi çalışmalarında kullanılabileceği ve etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir (Wei ve ark., 2003).

Buğday genetik çeşitliliğini kapsayan başka bir çalışmada farklı orjinli olan 13 buğday genotipinin 43 SSR belirleyicisi kullanılarak aralarındaki genetik benzerliklere bakılmıştır. Çalışmada 13 buğday genotipinin arasında genetik çeşitlilik belirlenmiş ve bu çeşitlerin buğdayda genetik çeşitliliğinin artırılmasında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Ahmad ve ark., 2002).

Salem ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, 48 SSR markörüyle 7 buğday çeşidi kullanılmış, markörler 15 kromozom üzerinde yerleşik 15 bölge belirlemiştir. 48 alel meydana gelmiş ve her lokus için ortalama 3.2 allel oluşmuştur. PIC değerinden 0.548'lik bir ortalama elde edilmiş ve her lokus için alleller 2-7 arasında sayı vermişlerdir. Xgwm95 ve Xgwm437 için ise 0.278-0.816 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Seleksiyonun sebep olduğu bir genetik farklılık çalışmasında 60 ekmeklik buğday, 3 buğday genom örneği ve 42 mikrosatelit ile allel sıklığı analiz edilmiştir. 42 SSR'ın yüksek poliformizm gösterdiği, farklı çevresel şartlar altında yetiştirilmekten ortaya çıkan farklılıkta, SSR'ların gerçekçi ve çözüme yönelik analiz sonuçları kendini göstermiştir (Stachel ve ark., 2000).

Tritikale üzerine Cuadrado ve Schwarzacher (1998) tarafından yapılan çalışmada yakın akraba türleri olan ekmeklik buğday ve çavdarın genomlarındaki di, tri ve tetra

nükleotit motifi içeren 10 SSR markörünün buğday ve çavdarda benzer dağılımlar oluşturduğu belirlenmiştir.

Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan 6 yazlık, 16 kışlık makarnalık buğday çeşidi ve 135 arpa çeşidini birbirinden ayırmak için buğdayın A ve B genomuna ait olan bir dizi mikrosatelit kullanılmıştır. Aynı mikrosatelitler ile 15 popülasyon arasında polimorfizm araştırması yapılmıştır. Sonuçta SSR’ların buğday ve arpa arasındaki genetik farklılığın belirlenmesinde kullanılabileceği ve yüksek oranda doğruluk içerdiği tespit edilmiştir (Donini ve ark., 1998).

Yugoslavyadaki Farklı buğday çeşitlerinde fenotipik varyasyon arasındaki ilişki 47 SSR lokusu ile incelenmiş ve kuraklık altında verimle ilişkili olan psp3071 adında yeni bir markör ortaya çıkarılmıştır (Quarrie ve ark., 2003).

Röder ve ark. (2002), buğday çeşitlerinde mikrosatelitlerle veritabanını analizleri ve yapılandırılması amacıyla, 199 SSR markörü ve 1 sekans spesifik işaretleyici kullanmışlardır. 502 Avrupa buğdayının da yer aldığı özellikle kışlık tipler için bir veritabanı kurmuşlardır. Flagment analizleriyle de farklı tekniklerle veri noktaları üretmişlerdir. Çalışmada %99,5 doğrulukla başarı elde edilmiş olup, duplikasyonlar dışında çeşitler arasında 199 allel belirlenmiş ve tanımlanan ebeveynlerden çeşitler geliştirilmiştir. Çeşitlerin %25’inde heterotik unsurlar görünmesinin ve yüksek seviyede genetik farklılık ve allel farklılığı çıkmasının sebebi Güneydoğu Avrupa’da heterojenitenin üst seviyede olmasıdır. Sonuçta farklı bölgelerdeki genotiplerle yapılan bu çalışmada birçok mikrosatelit için allel frekansları farklılaştırılmıştır.

Etiyopyada bulunan hekzaploid ve tetraploid buğday germplasmındaki genetik çeşitlilik araştırmasında 22 SSR markörü ile 12 *Triticum durum* desf. , 69 *Triticum aestivum*, 54 *Triticum aethiopicum* kullanılmış olup toplam 286 allel tespit edilmiştir. *T. aethiopicum*: 7,9, *T. durum*: 7,9 ve *T. aestivum*: 9,9’luk allel ortalamalarına sahiptir. PIC değerleri de 3 tür karşılaştırılabilmektedir. Genomlara göre allel sayıları A genomunda 10,1, B genomunda 18,4 ve D genomunda 8,2 olarak belirlenmiştir. Türler arasındaki belirlenen farklılıklar dendogram ile sağlanmıştır (Alamerew ve ark., 2004).

Makarnalık buğday çeşitlerinden 4’ü yerel 16 adet olmak üzere arasında genetik ilişkiyi belirlemede yapılan çalışmada yüksek derecede polimorfik olan 7 SSR markörü kullanılmıştır. Çalışma sonucunda SSR’ların ıslah çalışmalarında yeni çeşitlerin ıslahında ebeveyn seleksiyonunda yararlanılabilecek kadar yüksek polimorfik olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber bu SSR’ların, buğday çeşitlerinin genotiplerinin

belirlenmesinde ve DNA parmak izi analizlerinde çok faydalı olduğu ortaya çıkarılmıştır (Doğrar ve ark., 2000).

Kışlık ve yazlık ekmeklik buğdayda genetik çeşitliliğin kuraklığa toleranslığı bakımından SSR ile incelenmesinde genotipler yüksek, orta ve düşük kuraklık toleransı göre ve kaynak bölgelerine göre gruplara ayrılmıştır. Çalışmada kuraklığa toleranslı olan genotiplerdeki genetik çeşitliliğin, kuraklığa karşı toleransı az olan genotiplere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Altı bölgedeki SSR karşılaştırmaları sonucunda Kuzey Amerika'daki genotiplerin diğer bölgelerdeki genotiplere oranla çok daha fazla genetik çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir (Dodig ve ark., 2010).

Garg ve ark. (2001) tarafından ekmeklik buğday, makarnalık buğday ve tritika lede genetik çeşitliliğin incelenmesi amacıyla SSR, AFLP ve RAPD moleküler sistemleri kullanılmıştır. Sonuçlara göre SSR sisteminin diğer AFLP ve RAPD sistemlerine göre çeşitlerin çoğunun tanımlanabildiği ve daha gerçekçi olduğu tespit edilmiştir. Yerel buğday çeşitlerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesinde yapılan çalışmalarda da SSR'ların RAPD ve AFLP'ye göre daha etkili olduğu saptanmıştır (Strelchenko ve ark., 2002).

Peleg ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada kuraklığa dayanıklılık bakımından farklılık gösteren ve İsrail ile yakın bölgelerinden 25 popülasyon ile temsil edilen 145 yabancı tip buğdayda, lokuslardaki alellik çeşitliliği bakımından 54 SSR markörü denenmiştir. Genotipler arasında %54 oranında genetik çeşitlilik tespit edilirken, popülasyonlar arasında ise bu oran %44 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmayla SSR'ların genetik farklılık araştırmaları açısından önemli ve elverişli markörler olduğu tespit edilmiştir.

Wei ve ark. (2005) tarafından fusarium hastalığına dayanıklı 20 Çin yerel çeşidiyle ve fusarium hastalığına duyarlı 4 buğday hattı arasında SSR markörleri kullanılarak genetik benzerlik çalışması yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 40 buğday SSR belirleyicisinden 39'u, 24 buğday genotipin aralarında polimorfik olduğu tespit edilmiştir.

Genotiplerin tanımlanması, buğday genotipleri arasındaki farklılıkların hesaplanması ve DNA polimorfizminin belirlenmesi amacıyla 55 elit buğday genotipinde 20 mikrosatellit ile yapılan çalışmada araştırmacılar, 12 primer çiftinin kullanılmasıyla 55 genotip arasında 48'ini ayırt edebilmişlerdir. Bu sonuca göre mikrosatellitlerin genetik çeşitliliğin hesaplanmasında ve tanımlanmasında oldukça etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır (Prasad ve ark., 1999).

SSR markörleri kullanılarak 36 yerel ekmeklik buğday arasındaki genetik çeşitlilik çalışmasında, SSR markörlerinin gerçekçi ve çok yararlı bir markör sistemi olduğu kanıtlanmıştır (Dreisigacker ve ark., 2005).

Aynı kıtada yetiştirilen 55 elit buğdaydaki DNA polimorfizmi, genetik çeşitliliğin ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla 20 SSR markörü kullanılmıştır. SSR markörleriyle yapılan bu çalışmada 21 lokusta 155 allel belirlenmiştir. 1-13 arasında değişkenlik gösteren allel sayıları 7,4 ortalama allel sayısına sahip olmuşlardır. PIC ve MI değerleri 0,71 ve 0,70 olarak belirlenmiştir. Genetik benzerlikte ise 0,05-0,88 arasında değişkenlik göstererek 0,23 lük ortalama tespit edilmiştir (Prasad ve ark., 2000).

Röder ve ark. (2002) tarafından SSR markörleri aracılığı ile ekmeklik buğdayın germplazmasının genetik çeşitliliğini belirleme çalışması yapılmıştır. Farklı kıtalardan elden edilen 998 hekzaploid ekmeklik buğday çeşidi 24 SSR markörüyle test edilmiş ve her lokus için 18,1 allel ortalaması ile 470 allel tespit edilmiştir. A genomunun lokus allel sayısı 17,4, B 19,9, D 16,5 olmuştur. En iyi çeşitlilik kromozomların sentromerik bölgelerine göre daha çok sentromerik olmayan bölgelerinde görülmüştür. Allel sayısının SSR'ların tekrar sayısı ile birlikte arttığı ve gen çeşitliliğinin allel sırasıyla da bağlantılı olduğu belirlenmiştir.

Kuraklığa tolerans bakımından D genom temelinde genetik çeşitlilik araştırması yapılmış, çalışmada 23 SSR markörü kullanılarak Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC) değerlerine bakılmış ve genetik küme analizleri oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlar SSR markörlerinin kurak ve yarı kurak çevre şartları için buğday ıslahında kullanılabilirliğini göstermiştir (Faheem ve ark., 2015).

### **3. MATERYAL METOD**

#### **3.1. Bitki Materyali**

Tez çalışması kapsamında 16 adet farklı kademelerde (F3-F8) bulunan ekmeklik buğday genotipleri Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden sağlanmıştır (Tablo 3.1.).

**Tablo 3.1.** Çalışma Kapsamında Kullanılan Ekmeklik Genotiplerin Kademe Bilgisi.

Genotip Adı	İlerleme Kademesi
Ekmeklik Buğday G1	F3
Ekmeklik Buğday G2	F4
Ekmeklik Buğday G3	F6
Ekmeklik Buğday G4	F6
Ekmeklik Buğday G5	F5
Ekmeklik Buğday G6	F4
Ekmeklik Buğday G7	F3
Ekmeklik Buğday G8	F3
Ekmeklik Buğday G9	F4
Ekmeklik Buğday G10	F8
Ekmeklik Buğday G11	F6
Ekmeklik Buğday G12	F7
Ekmeklik Buğday G13	F6
Ekmeklik Buğday G14	F3
Ekmeklik Buğday G15	F4
Ekmeklik Buğday G16	F6



**Şekil 3.1.** Ekmeklik buğday genotiplerinin DNA izolasyonuna hazırlanması



**Şekil 3.2.** Ekmeklik buğday genotiplerinin tarla görünümü

### **3.2. Ekmeklik Buğday Genomunun Genetik Stabilité Testlemesi için SSR Motiflerince Taranması**

#### **3.2.1. Tüm Genom Fonksiyonel SSR geliştirme**

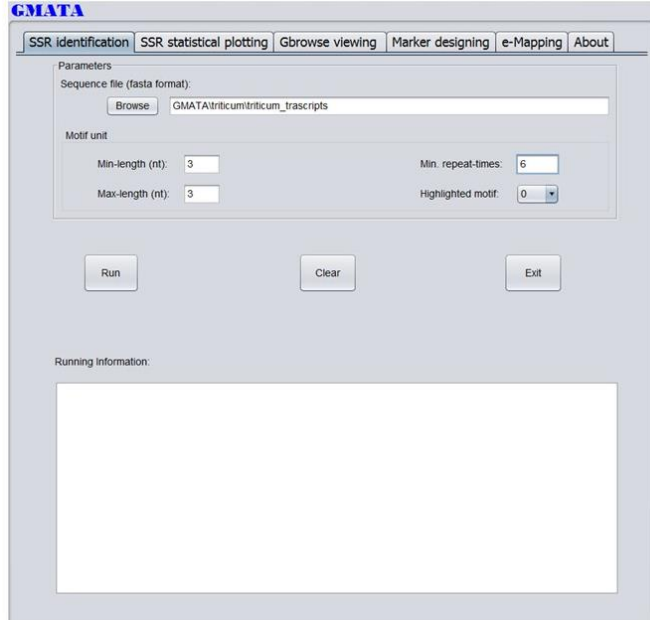
NCBI veri bankasından ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/11?genome\\_assembly\\_id=1613926](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/11?genome_assembly_id=1613926)) indirilen ve 16000Mb büyüklüğünde fasta formatında ekmeklik buğdayın genom verisi (AABBDD) sağlanmıştır (Tablo 3.2.).

**Tablo 3.2.** Ekmeklik buğday referans genomuna ait NCBI veri bankasından kullanılan veri bilgileri

Name	RefSeq	GC%	Protein	Gene	Pseudogene
Chr	1A	598.66	46	2,889	6,101
Chr	1B	700.55	46.3	4,254	7,448
Chr	1D	498.64	46.4	2,371	6,149
Chr	2A	787.78	46	3,549	7,735
Chr	2B	812.76	46.3	4,552	8,740
Chr	2D	656.54	46.4	3,245	7,780
Chr	3A	754.13	46	3,382	7,022
Chr	3B	851.93	46.3	4,531	8,354
Chr	3D	619.62	46.4	2,911	7,059
Chr	4A	754.23	46.1	3,252	6,886
Chr	4B	673.81	46.4	3,756	5,626
Chr	4D	518.33	46.6	2,110	4,955
Chr	5A	713.36	46	3,187	8,239
Chr	5B	714.7	46.3	3,827	8,373
Chr	5D	569.95	46.3	2,805	7,592
Chr	6A	622.67	46	2,606	5,385
Chr	6B	731.19	46.4	4,378	6,986
Chr	6D	495.38	46.5	2,506	5,660
Chr	7A	744.49	45.9	3,566	7,539
Chr	7B	764.07	46.2	4,507	7,176
Chr	7D	642.92	46.4	3,256	7,510

Ekmeklik buğdayda referans genom verisi (assemblyIWGSCCSRefSeqv2.1) AUGUSTUS programı ile ab initio yaklaşımıyla protein kodlamaya sahip olabilecek lokuslar tahmin edilmiş ve sekans fasta dosyası meydana getirilmiştir. Günümüze kadar ekmeklik buğdaydaki transkript verileri NCBI veri sisteminden elde edilerek aynı şekilde fasta formatında indirilmiştir. Bu sayede transkript verileri ve ab initio tahmin verileri seqtk\_mergefa algoritmasıyla bir araya getirilmiştir (merge). Birleştirilen bu genom verileri perfect ve imperfect SSR markörlerinin tespitini yapmak için biyoinformatik yönü ile analiz edilmiştir. Ekmeklik buğdayın genom düzeyinde saflık analizlerinde kullanılması için primer tasarımı, basit dizi tekrar tanımlaması ve işaret haritalaması GMATA (Genome-wide Microsatellite Analyzing Tool Package) (Wang ve Wang, 2016) yazılımının kullanılarak oluşturulmuştur. Bu uygulamada asıl amacımız genomdaki tekrarca zengin bölgelerin ve bununla birlikte imperfect SSR lokuslarının ortaya çıkarılmasıdır. Lakin kullanılan yazılımın (GMATA) çalışması için aynı zamanda R, Perl, Java programlarının kurulu olması gerekmektedir. “SSR identification” kullanılarak fasta formatındaki dosya basit dizi tekrarların bulunması için yüklenmiştir (Şekil 3.3). Kullanılan arama özellik filtreleri: Minimum boy: 3 nt, Maksimum boy: 3 nt, Minimum

tekrar sayısı: 6 şeklindedir (Şekil 3.3). Bunun sonucunda program sayesinde tekrar birimlerinin motifi, sayısı ve en önemlisi tanımlaması yapılan her basit dizi tekrar lokusunun kesin konumunu ortaya çıkaran çıktılar elde edilmiştir (Şekil 3.4.)



Şekil 3.3. Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin tahmini işlemi.

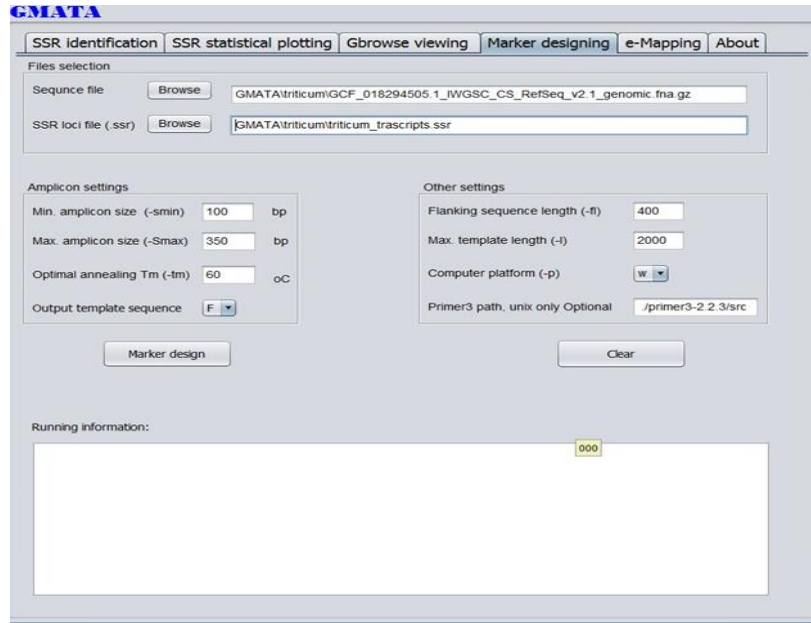


Şekil 3.4. Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin genom haritasında yerlerinin belirlenmesi

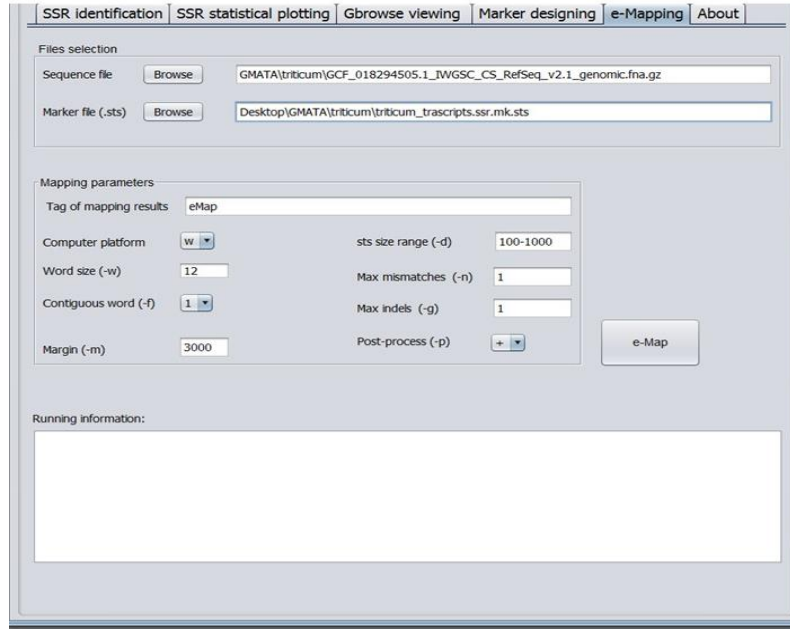
### 3.2.2. SSR Markör geliştirme ve haritalama

PCR primerlerinin geliştirilmesi elde edilen SSR lokuslarının GMATA programındaki “Marker designing” bölümünün kullanılması ile analiz edilmiştir. GMATA programındaki bu bölüme ekmeçlik buğdayda fasta formatında “Sequence file” ve daha önce oluşturulan .ssr çıktı dosyaları “SSR loci dosyası” formatında yüklemesi yapılmıştır. Markör geliştirmede özellikler şu şekilde ayarlanmıştır: Minimum ampikon boyu: 150 bp, maksimum ampikon boyu: 350 bp, erime sıcaklığı (T<sub>m</sub>): 60 °C, Flanking (yan) sekans uzunluğu: 800 bp, maksimum template (kalıp) uzunluğu: 2000 bp.

Parametreler analizlerin sonucunda ‘.mk’ ve ‘.sts’ uzantılı iki tane dosya oluşturmuştur. Her iki dosya da farklı içeriklere sahiptir. ‘.mk’ dosyası markörlerin ileri ve geri primer sekanslarını, bu primerlerin T<sub>m</sub> değerlerini, pozisyonlarını ve meydana getirdikleri sekans ürününün uzunluklarını veren bilgiye sahiptir. İleri ve geri primer sekansların uzunluk bilgilerinin yer aldığı ve bu bilgilerin ‘e-Mapping’ (elektronik haritalama) de kullanılmasının sağlandığı bilgiyi ise ‘.sts’ dosyası içermektedir. ‘e-Mapping’ genomik sekans boyunca tasarlanmış markörleri ampikasyon boyutlarının ve fiziksel haritalamasının hesaplamak için e-PCR algoritması (Schuler, 1997) GMATA programının 'e-Mapping' algoritmasına işlenmiştir.



Şekil 3.5. Ekmeçlik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR markörlerinin geliştirilmesi işlemi.



**Şekil 3.6.** Ekmeklik buğday genomundan GMATA yazılımı kullanılarak SSR motiflerinin e-mapping ve e-PCR işlemleri.

e-Mapping algoritmasında, elde edilen ‘.sts’ dosyası ve birleştirilmiş diziden oluşan FASTA dosyası (Sequence file) kullanılmıştır. e-Mapping algoritmasının çalıştırılabilmesi için maksimum indel (insersiyon-delesyon) sayısı: 0, maksimum mismatches (yanlış eşleşme): 0 olarak uygulanmış ve sonuçta ‘eMap’, ‘.amp’ ve ‘frg’ dosyaları oluşturulmuştur (Şekil 3.5.-3.6.). Elde edilen tüm bu dosyalar markör kopya ve allel boyutları hakkında bilgi yer almaktadır.

### **3.3. Geliştirilen Markörlerin Fonksiyonel Tanımlaması ve Protein Modelleme Çalışmaları**

NCBI veri sisteminden triticum familyasında tanımlı protein sekansları ‘Identical Protein Groups Database’ menüsünden (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ipg/?term=triticum>) tez çalışmasında geliştirilen SSR markörlerinin fonksiyonel anotasyonları için karşılaştırma ve yüksek verimlilikte hizalama yapmak için protein tanımları FASTA formatı olarak indirilmiştir. Daha sonrasında Blast algoritmaları sayesinde BLAST+2.13.0 kullanılarak markör verileri yapılmıştır. Elde edilen SSR markörlerini de içine alan 2000 nükleotidlik sınır sekanslar yani genomik lokuslar indekslenerek tek bir FASTA dosyası olarak markör isimleri aynı bırakılarak birleştirilip dönüştürme işlemi yapılmıştır. Markör sekanslarına atanan anotasyon tanımları her birinde yer alan biyolojik işlem, hücresel bileşen ve moleküler

işlev kapsamlı bir şekilde hesaplamaları yapılarak önemli lokuslara yönelik değişik özellikler belirlenmiştir. SSR markör lokuslarının protein kodlama kapasitesi vardır. Bu lokusları SSR motifleri dikkate alınarak domain tahminleri için protein modellemeleri homoloji esaslı yaklaşımları ile Swiss model protein modelleme programı (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) ile modellenmesi sağlanmıştır.

### **3.4. Ekmeklik Buğday Genotiplerinden DNA İzolasyonu ve SSR Markörlerinin Genotiplenmesi**

Ekmeklik buğday genotiplerinin yapraklarından alınan doku örneklerinden, 200 ng yaprak doku örneğine örneğine 800 µL CTAB ekstraksiyon tampon çözeltisi (%2 CTAB, 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH 8.0), 1.4 M NaCl, %1 PVP-40 ) eklemesi yapılarak hücre duvarının yıkılması için 65°C’ de 1 saat süreyle inkübe edilmiş ve sonrasında hacimce (25:24:1) oranında olan fenol:kloroform:izoamil alkol örneğe koyulmuştur ve oda sıcaklığında olacak şekilde 10 dakika santrifüj edilmiştir. 2 ml’lik deney tüpüne üst faz aktarılıp, 600 µL hacimce 24:1 oranında hazırlanmış kloroform:izoamil alkol hazırlanan örneğe koyulmuştur. Santrifüj işleminden sonra 1,5 ml’lik tüpe, hacminin 1/6 oranında %100’lük izopropanolla karıştırılmış ve oda sıcaklığında DNA paletinin eldesi için 30 dakika inkübe yapılmıştır. DNA çöktisinin izopropanolden ayrıştırılması için inkübe işleminin ardından örnek tekrar oda sıcaklığında 10 dakika santrifüj edilerek üst faz ayrıştırılmış ve DNA’nın süspansiyonu için 100 µL sterilize distile su katılmıştır. DNA ile beraber izole edilmiş olması beklenen RNA degradasyonu DNA ekstraksiyonu esnasında, ekstarkte edilen DNA örneklerine 1 µL RNase enzimi eklenmiş ve 37°C’de 30 dakika tüpler inkübe edilecektir. Ekstraksiyonu yapılmış olan DNA örneklerinin saflığı ve konsantrasyonunun ölçümü Qubit cihazı ile yapılacaktır. Oluşturulan DNA örnekleri -20°C’de ilerde analizlerde kullanılması için saklanmıştır.

Ekmeklik buğday genotiplerinde genetik stabilite testlerinde genotipleme, SSR markörünün çoğaltılabilmesi, yapılacak olan PCR reaksiyon karışımları için 1x AmplitaqGold® PCR Tamponu, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub> , 200µM her bir dNTP, 300 nM her bir primer, 0.5 ünite AmplitaqGold® polimeraz enzimi (Applied Biosystems Foster City CA), 10.0µL ekmeklik buğdayın yaprak DNA’sı ve nükleaz içermeyen H<sub>2</sub>O ile reaksiyon hacimlerinin toplamı 20µL olacak şekilde sonlandırılmıştır.

İlk başta 95°C’de 10 dakika DNA denatürasyonu; denatürasyon için 95°C’de 30 saniye; tavlama (annealing) reaksiyonu için 60°C’de (sıcaklıklar primerlere göre değişik

gösterecektir); uzama için 72°C'de 30 saniye (35 döngü olacak şekilde); en son uzama 72°C'de 10 dakika ve 4°C'de reaksiyon şartlarında PCR reaksiyonları meydana getirilmiştir. Ekmeklik buğday genotiplerinin DNA örneklerinden; çoğaltılan SSR markörleri agoroz jel elektroforezi ve Qiaxcel Fragment Analyzer (Qiagen Sample&Assay Technologies) kapiler elektroforez sistemi ile oluşturulmuştur.

#### **4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI**

##### **4.1. Saflık Testlemede Kullanılacak Markör Setinin Taşınması Gereken Özellikler**

Tohum üreticileri piyasaya; açılım (segregasyon) göstermeyecek olan durulmuş hatlar üzerinden tohumluk üretmeleri gerekmektedir. Islah çalışmaları sonucunda saflaştırılan ileri melez hatlarının, belirli bir jenerasyondan sonra genetik alt yapısında homozigotlaşma başlamaktadır. Piyasaya sürülen tohumların belirli bir kaynaktan, genetik olarak saf olmaları gerekmektedir ki yetiştiriciler satın aldıkları tohumun üretim alanında tek düze (saf) olarak yetiştirebilsinler. Bu noktada tarla, bağ, bahçede üretilen ürünün açılım göstermesi hem tohum üreticisine hem de çiftçi için ekonomik yükümlülükler oluşturabilir. Bu nedenle tohum üreticileri; çiftçiye ulaşmadan önce ürettikleri tohumların saf olduğunu teyit etmeleri gerekir bu noktada morfolojik, kimyasal ve biyokimyasal testlemeler ile sertifikasyon işlemleri yapılmaktadır. Son on yıllık süreçte moleküler genetik alanda ki gelişmeler sayesinde yapılan saflık testlemeleri moleküler markörler ile gerçekleştirilmekte ve diğer saflık testleme yöntemlerine göre doğruluğu yüksek, kesin sonuçlar üretmektedir. Moleküler genetik testlemeler ileri jenerasyonlarda oluşabilecek segregasyonları, heterozigotluk durumunu ve dışa dönük melez alabilen bitkilerde tohumda ki olası kontrolsüz döllenmeleri tespit edebilmektedirler. Bu noktada domates, biber, karpuz gibi birçok bahçe bitkisinde saflık testlemeleri için moleküler markör setleri belirlenmiş ve sertifikasyon işlemlerinde rutin saflık testleme yöntemleri haline gelmiştir. Saflık belirleme testlerinde kullanılan bu moleküler markörler; genom üzerinde fazlaca rekombinasyona uğrayan bölgelerden, ko-dominant; dizeye dayalı ve tekli kopyalara ait genomik lokuslar üzerinden belirlenmiş SNP ve SSR markörleridir. Buğdayda moleküler markörler kullanılarak saflık testlemeleri için geliştirilmiş rutin kullanıma uygun bir markör seti mevcut değildir. Ancak buğday genomunda gerçekleştirilen moleküler genetik çalışmalar sonucu çok sayıda genom dizisi veri tabanlarına yüklenmiştir ve bu bilgiler kullanılarak saflık testlemesi için markörler geliştirilebilir. Buğdayda bir diğer özel durum ise kompleks

genom yapısı ve polyploidi seviye farklarıdır. Moleküler genetik saflık testi geliştirilen birçok bahçe bitkisinin genom organizasyonu ve yapısı buğdaya kıyasla daha basittir ve genomları diploid (2n) yapıdadır. Buğdayda moleküler markörler kullanılarak yapılacak bir saflık testi için öncelikle doğru markör setinin biyoinformatik olarak belirlenmesi gereklidir. Testleme için kullanılması planlanan markörlerin aşağıdaki özellikleri taşıması gerekir.

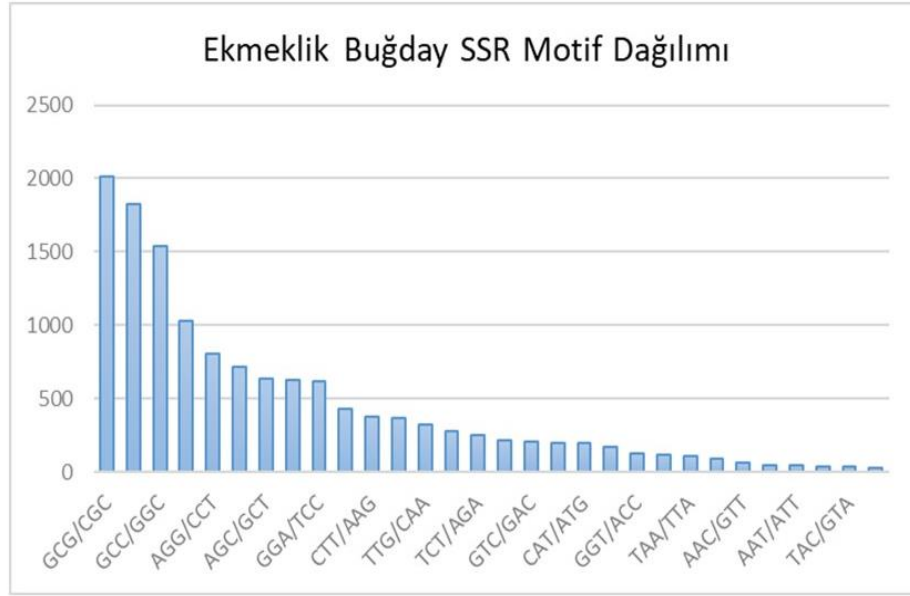
- Markörün DNA dizisine dayalı buğday genomuna spesifik olması.
- Markörün ko-dominant bir markör olması yani homozigot lokusları, heterozigot lokuslardan ayırması gerekmektedir.
- Hexaploid genoma sahip ekmeklik buğday için genom yapısı diploid şekilde düşünülüp her bir genoma spesifik markörler geliştirilmesi gerekir yani genom üzerinde çalışılan bölge yalnızca bir set genoma ait olup diğer genom bölgelerinde tekrarı olmaması gerekir.
- Kullanılacak markörlerin genom setleri üzerinde tek kopya halinde bulunması gerekmektedir. Çünkü testlemenin amacı homozigot bireyleri heterozigot bireylerden ayırt etmektir. Multi lokusa bağlanan bir markör, test sonucunu direk etkileyebilir ve homozigot olan bireyleri heterozigot gibi gösterebilir.

#### **4.2. Ekmeklik Buğday Referans Genomundan SSR Motiflerinin Biyoinformatik Olarak Tespiti**

Tüm bu kriterler göz önünde tutularak Ekmeklik buğday genomuna spesifik, ekmeklik buğday genotiplerinde genetik stabilitenin belirlenmesi amacı ile SSR markörleri geliştirilmiştir. Öncelikle Ekmeklik buğday referans genom verisi (assemblyIWGSCCSRefSeqv2.1) ab initio yaklaşımla protein kodlama potansiyeline sahip lokuslar tahmin edilerek bir sekans fasta dosyası oluşturulmuştur. Ayrıca yine NCBI veri tabanından bugüne kadar ekmeklik buğdayda bulunan transkript verileri fasta formatında indirilmiş olup, ab initio tahmin verileri ile transkript verileri birleştirilmiştir. SSR markörlerinin geliştirilmesinde bu veri seti kullanılmıştır. Veri setinin toplam büyüklüğü 475,526,569 bp uzunluğundadır. SSR markör motifleri tri-nükleotid tekrar dizileri bakımında taranmıştır. Yeni toplam 13535 adet SSR motifi tespit edilmiştir (Tablo 4.1.). Tri-nükleotid SSR motifleri bakımından en sık rastlanan motifler sırası ile GCG/CGC, CGG/CCG, GCC/GGC, GAG/CTC şeklinde olup sırası ile 2010, 1824, 1538 ve 1030 adettir (Şekil 4.1.).

**Tablo 4.1.** SSR motif bilgileri

Grouped Motif	Total
GCG/CGC	2010
CGG/CCG	1824
GCC/GGC	1538
GAG/CTC	1030
AGG/CCT	805
CAG/CTG	717
AGC/GCT	633
GCA/TGC	628
GGA/TCC	619
TTC/GAA	430
CTT/AAG	381
TGG/CCA	366
TTG/CAA	325
CAC/GTG	283
TCT/AGA	255
CGA/TCG	218
GTC/GAC	203
TCA/TGA	202
CAT/ATG	197
ATC/GAT	168
GGT/ACC	130
ACA/TGT	120
TAA/TTA	108
CGT/ACG	90
AAC/GTT	68
ATA/TAT	46
AAT/ATT	45
CTA/TAG	36
TAC/GTA	33
ACT/AGT	27



**Şekil 4.1.** SSR markör motiflerinin dağılımı

Benzer şekilde en sık görülen tri-nükleotid motif biçimi buğday genomunda SSR markör geliştirme çalışmalarında tespit edilmiştir (Gupta ve ark., 2003; Somers ve ark., 2004; Mehta ve ark., 2021).

#### **4.3. Ekmeklik Buğday Referans Genomundan SSR Motiflerinden Markör Dizaynı**

Elde edilen SSR markör motiflerine ait indeks sekans dosyası daha sonra bulunan SSR motifleri için markör dizaynı gerçekleştirilmiş olup toplamda 12535 adet markör geliştirilmiştir. Primer geliştirmede yüksek hassaslık parametreleri kullanılmasından dolayı 1000 adet SSR motif bölgesine primer dizaynı gerçekleştirilmiştir. Bu durum markör olarak çalışılacak olan 12535 adet primer çiftini yüksek güvenilirlikte dizayn edilmiş olarak göstermektedir. Geliştirilen 12535 markörün 7276 adeti unique SSR markörüdür yani ilk kez bu çalışmada geliştirilmiştir. Geliştirilen tüm markörlere ait veriler Figshare veri tabanına (10.6084/m9.figshare.21746819) yüklenmiş olup Tablo 4.2.'de bir örnek set verilmiştir ([https://figshare.com/articles/dataset/Ekmeklik\\_Bugday\\_SSR\\_veri\\_figshare\\_xlsx/21746819](https://figshare.com/articles/dataset/Ekmeklik_Bugday_SSR_veri_figshare_xlsx/21746819)).

**Tablo 4.2.** Tez kapsamında geliştirilen 7276 adet yeni Tri-Nükleotid SSR markörüne ait örnek bilgi

Name	Seq_Len	StartPos	EndPos	Repetitions	Motif
>XM_044462114.1	1458	159	176	6	GCG
>XM_044462114.1	1458	525	548	8	GGA
>XM_044462189.1	1523	204	221	6	CGC
>XM_044462204.1	1768	339	359	7	AGA
>XM_044462205.1	2389	960	980	7	AGA
>XM_044462206.1	2187	758	778	7	AGA
>XM_044462208.1	2381	952	972	7	AGA
>XM_044462213.1	2973	1544	1564	7	AGA
>XM_044462215.1	2047	618	638	7	AGA
>XM_044462220.1	2639	1210	1230	7	AGA
>XM_044462223.1	2520	1094	1111	6	AGA
>XM_044462227.1	1647	344	364	7	AGA
>XM_044462228.1	2284	16	33	6	CTC
>XM_044462233.1	2399	1096	1116	7	AGA
>XM_044462237.1	2013	586	606	7	AAG
>XM_044462241.1	1873	446	466	7	AAG
>XM_044462244.1	2469	1042	1062	7	AAG
>XM_044462272.1	2601	1479	1496	6	AGG
>XM_044462289.1	690	7	24	6	TCT
>XM_044462295.1	1767	160	177	6	GGC
>XM_044462300.1	713	331	357	9	CTC
>XM_044462300.1	713	401	418	6	CTC
>XM_044462367.1	3366	85	105	7	AGG
>XM_044462435.1	855	809	832	8	CGC
>XM_044462477.1	4886	345	362	6	CGG
>XM_044462510.1	3553	254	271	6	GCG
>XM_044462514.1	1219	82	99	6	CGC
>XM_044462518.1	1213	82	99	6	CGC
>XM_044462522.1	1195	82	99	6	CGC
>XM_044462527.1	570	82	99	6	CGC
>XM_044462591.1	759	60	77	6	CGC
>XM_044462628.1	1509	94	111	6	GCC
>XM_044462633.1	1732	27	44	6	GTC
>XM_044462645.1	768	63	80	6	CGC
>XM_044462691.1	507	199	222	8	GAG
>XM_044462716.1	2212	60	77	6	GCC
>XM_044462758.1	1984	485	505	7	GCA
>XM_044462787.1	1506	285	308	8	GGA
>XM_044462814.1	3473	431	460	10	CGG
>XM_044462814.1	3473	763	780	6	CCT
>XM_044462817.1	1801	257	274	6	CAC
>XM_044462875.1	2960	277	294	6	CCT
>XM_044462882.1	1180	49	69	7	CCG
>XM_044462893.1	1070	53	70	6	TTC
>XM_044462912.1	1185	272	289	6	GCG
>XM_044462940.1	1778	92	109	6	TCC

>XM_044463019.1	1657	115	135	7	CTT
>XM_044463040.1	1062	564	581	6	CCT
>XM_044463067.1	1281	30	50	7	CTC
>XM_044463068.1	1191	35	55	7	CTC
>XM_044463069.1	1301	30	50	7	CTC
>XM_044463088.1	2686	1369	1386	6	GGC
>XM_044463112.1	1616	405	422	6	GCG
>XM_044463116.1	726	91	117	9	CCG
>XM_044463123.1	764	256	273	6	GCG
>XM_044463189.1	2268	133	153	7	GCG
>XM_044463191.1	1030	676	693	6	CGG
>XM_044463265.1	1469	291	320	10	GAG
>XM_044463282.1	1271	489	506	6	GCG
>XM_044463283.1	1752	1715	1732	6	GAT
>XM_044463284.1	2787	2750	2767	6	GAT
>XM_044463337.1	1398	602	622	7	GCG
>XM_044463376.1	1196	724	744	7	GAG
>XM_044463383.1	1340	779	796	6	CGG
>XM_044463424.1	1827	1222	1242	7	GAA
>XM_044463426.1	1785	1180	1200	7	GAA
>XM_044463497.1	1228	139	156	6	CGC
>XM_044463507.1	1566	865	882	6	GAG
>XM_044463512.1	1437	421	438	6	AAG
>XM_044463522.1	1335	457	474	6	GAG
>XM_044463565.1	1452	1221	1241	7	ATG
>XM_044463602.1	886	63	80	6	AGC
>XM_044463605.1	1366	125	142	6	ACC
>XM_044463649.1	1022	412	432	7	GAG
>XM_044463688.1	911	353	370	6	AGC
>XM_044463700.1	920	289	306	6	CGC
>XM_044463729.1	2735	1007	1033	9	TGA
>XM_044463736.1	2765	1037	1063	9	TGA
>XM_044463741.1	2688	960	986	9	TGA
>XM_044463753.1	1090	135	152	6	CCG
>XM_044463809.1	1512	384	401	6	CTC
>XM_044463860.1	2414	88	105	6	CCT
>XM_044463884.1	708	2	43	14	CTT

Geliştirilen SSR markörlerine ait genom koordinatları GFF3 formatında toplanmış olup markörlere ait tüm koordinat verileri Figshare veri tabanına GFF3 dosya formatında yüklenmiş olup Tablo 4.3.'de bir örnek set aşağıda verilmektedir. Çalışma kapsamında 7276 adet yeni SSR markörü Jaiswal ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 268 adet SSR markörlerine ek olarak MAS çalışmalarında kullanılabilir. Ayrıca yeni geliştirilen markörlere ilişkin kromozomal pozisyon bilgilerinin bulunması özellikle pozisyonel klonlama çalışmalarına destek olacağı

düşünülmektedir. Hastalık dayanıklılığı ve agronomik kalite özelliklerin de geliştirilen markörlerin başta, Bhatta ve ark. (2019) yaptıkları çalışmaya, Liu ve ark. (2001) mildiyö hastalık dayanım markör geliştirme çalışması ve Ogonnaya ve ark. (2008) çok sayıda ekmeklik buğday hastalığı için yaptıkları haritalama verilerinin ince haritalama çalışmalarında kullanılabilecektir.

**Tablo 4.3.** Geliştirilen SSR markörlerine ait genom haritalaması sonuçlarının genom koordinat verilerini gösterir örnek tablo

Lokus	Markör	PF	PR	Markör verilerinin Harita Pozisyonları
##gff- version 3				
XM_044462 114.1	SSR	159	176	Name=SSR1;ID=SSR1 6:GCG;Note=SSR1 6: GCG@XM_044462114.1:159..176
XM_044462 114.1	SSR	525	548	Name=SSR2;ID=SSR2 8:GGA;Note=SSR2 8: GGA@XM_044462114.1:525..548
XM_044462 189.1	SSR	204	221	Name=SSR3;ID=SSR3 6:CGC;Note=SSR3 6: CGC@XM_044462189.1:204..221
XM_044462 204.1	SSR	339	359	Name=SSR4;ID=SSR4 7:AGA;Note=SSR4 7: AGA@XM_044462204.1:339..359
XM_044462 205.1	SSR	960	980	Name=SSR5;ID=SSR5 7:AGA;Note=SSR5 7: AGA@XM_044462205.1:960..980
XM_044462 206.1	SSR	758	778	Name=SSR6;ID=SSR6 7:AGA;Note=SSR6 7: AGA@XM_044462206.1:758..778
XM_044462 208.1	SSR	952	972	Name=SSR7;ID=SSR7 7:AGA;Note=SSR7 7: AGA@XM_044462208.1:952..972
XM_044462 213.1	SSR	1544	1564	Name=SSR8;ID=SSR8 7:AGA;Note=SSR8 7: AGA@XM_044462213.1:1544..1564
XM_044462 215.1	SSR	618	638	Name=SSR9;ID=SSR9 7:AGA;Note=SSR9 7: AGA@XM_044462215.1:618..638
XM_044462 220.1	SSR	1210	1230	Name=SSR10;ID=SSR10 7:AGA;Note=SSR1 0 7:AGA@XM_044462220.1:1210..1230
XM_044462 223.1	SSR	1094	1111	Name=SSR11;ID=SSR11 6:AGA;Note=SSR1 1 6:AGA@XM_044462223.1:1094..1111
XM_044462 227.1	SSR	344	364	Name=SSR12;ID=SSR12 7:AGA;Note=SSR1 2 7:AGA@XM_044462227.1:344..364
XM_044462 228.1	SSR	16	33	Name=SSR13;ID=SSR13 6:CTC;Note=SSR1 3 6:CTC@XM_044462228.1:16..33
XM_044462 233.1	SSR	1096	1116	Name=SSR14;ID=SSR14 7:AGA;Note=SSR1 4 7:AGA@XM_044462233.1:1096..1116
XM_044462 237.1	SSR	586	606	Name=SSR15;ID=SSR15 7:AAG;Note=SSR1 5 7:AAG@XM_044462237.1:586..606
XM_044462 241.1	SSR	446	466	Name=SSR16;ID=SSR16 7:AAG;Note=SSR1 6 7:AAG@XM_044462241.1:446..466
XM_044462 244.1	SSR	1042	1062	Name=SSR17;ID=SSR17 7:AAG;Note=SSR1 7 7:AAG@XM_044462244.1:1042..1062
XM_044462 272.1	SSR	1479	1496	Name=SSR18;ID=SSR18 6:AGG;Note=SSR1 8 6:AGG@XM_044462272.1:1479..1496
XM_044462 289.1	SSR	7	24	Name=SSR19;ID=SSR19 6:TCT;Note=SSR1 9 6:TCT@XM_044462289.1:7..24

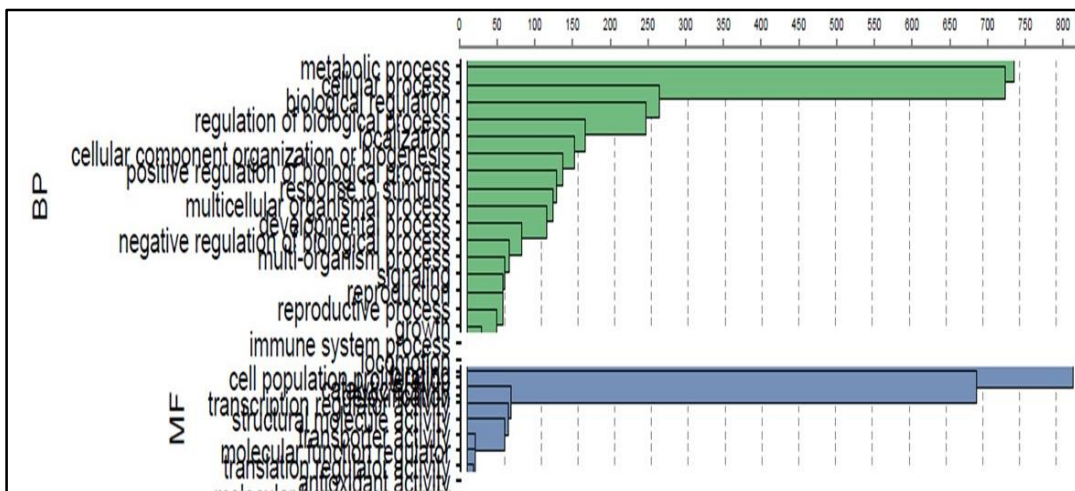
XM_044462 295.1	SSR	160	177	Name=SSR20;ID=SSR20 6:GGC;Note=SSR20 6:GGC@XM_044462295.1:160..177
XM_044462 300.1	SSR	331	357	Name=SSR21;ID=SSR21 9:CTC;Note=SSR21 9:CTC@XM_044462300.1:331..357
XM_044462 300.1	SSR	401	418	Name=SSR22;ID=SSR22 6:CTC;Note=SSR22 6:CTC@XM_044462300.1:401..418
XM_044462 367.1	SSR	85	105	Name=SSR23;ID=SSR23 7:AGG;Note=SSR23 7:AGG@XM_044462367.1:85..105
XM_044462 435.1	SSR	809	832	Name=SSR24;ID=SSR24 8:CGC;Note=SSR24 8:CGC@XM_044462435.1:809..832
XM_044462 477.1	SSR	345	362	Name=SSR25;ID=SSR25 6:CGG;Note=SSR25 6:CGG@XM_044462477.1:345..362
XM_044462 510.1	SSR	254	271	Name=SSR26;ID=SSR26 6:GCG;Note=SSR26 6:GCG@XM_044462510.1:254..271
XM_044462 514.1	SSR	82	99	Name=SSR27;ID=SSR27 6:CGC;Note=SSR27 6:CGC@XM_044462514.1:82..99
XM_044462 518.1	SSR	82	99	Name=SSR28;ID=SSR28 6:CGC;Note=SSR28 6:CGC@XM_044462518.1:82..99
XM_044462 522.1	SSR	82	99	Name=SSR29;ID=SSR29 6:CGC;Note=SSR29 6:CGC@XM_044462522.1:82..99
XM_044462 527.1	SSR	82	99	Name=SSR30;ID=SSR30 6:CGC;Note=SSR30 6:CGC@XM_044462527.1:82..99
XM_044462 591.1	SSR	60	77	Name=SSR31;ID=SSR31 6:CGC;Note=SSR31 6:CGC@XM_044462591.1:60..77
XM_044462 628.1	SSR	94	111	Name=SSR32;ID=SSR32 6:GCC;Note=SSR32 6:GCC@XM_044462628.1:94..111
XM_044462 633.1	SSR	27	44	Name=SSR33;ID=SSR33 6:GTC;Note=SSR33 6:GTC@XM_044462633.1:27..44
XM_044462 645.1	SSR	63	80	Name=SSR34;ID=SSR34 6:CGC;Note=SSR34 6:CGC@XM_044462645.1:63..80
XM_044462 691.1	SSR	199	222	Name=SSR35;ID=SSR35 8:GAG;Note=SSR35 8:GAG@XM_044462691.1:199..222
XM_044462 716.1	SSR	60	77	Name=SSR36;ID=SSR36 6:GCC;Note=SSR36 6:GCC@XM_044462716.1:60..77
XM_044462 758.1	SSR	485	505	Name=SSR37;ID=SSR37 7:GCA;Note=SSR37 7:GCA@XM_044462758.1:485..505
XM_044462 787.1	SSR	285	308	Name=SSR38;ID=SSR38 8:GGA;Note=SSR38 8:GGA@XM_044462787.1:285..308
XM_044462 814.1	SSR	431	460	Name=SSR39;ID=SSR39 10:CGG;Note=SSR39 10:CGG@XM_044462814.1:431..460
XM_044462 814.1	SSR	763	780	Name=SSR40;ID=SSR40 6:CCT;Note=SSR40 6:CCT@XM_044462814.1:763..780
XM_044462 817.1	SSR	257	274	Name=SSR41;ID=SSR41 6:CAC;Note=SSR41 6:CAC@XM_044462817.1:257..274
XM_044462 875.1	SSR	277	294	Name=SSR42;ID=SSR42 6:CCT;Note=SSR42 6:CCT@XM_044462875.1:277..294
XM_044462 882.1	SSR	49	69	Name=SSR43;ID=SSR43 7:CCG;Note=SSR43 7:CCG@XM_044462882.1:49..69
XM_044462 893.1	SSR	53	70	Name=SSR44;ID=SSR44 6:TTC;Note=SSR44 6:TTC@XM_044462893.1:53..70
XM_044462 912.1	SSR	272	289	Name=SSR45;ID=SSR45 6:GCG;Note=SSR45 6:GCG@XM_044462912.1:272..289

XM_044462 940.1	SSR	92	109	Name=SSR46;ID=SSR46 6:TCC;Note=SSR46 6:TCC@XM_044462940.1:92..109
XM_044463 019.1	SSR	115	135	Name=SSR47;ID=SSR47 7:CTT;Note=SSR47 7:CTT@XM_044463019.1:115..135
XM_044463 040.1	SSR	564	581	Name=SSR48;ID=SSR48 6:CCT;Note=SSR48 6:CCT@XM_044463040.1:564..581
XM_044463 067.1	SSR	30	50	Name=SSR49;ID=SSR49 7:CTC;Note=SSR49 7:CTC@XM_044463067.1:30..50
XM_044463 068.1	SSR	35	55	Name=SSR50;ID=SSR50 7:CTC;Note=SSR50 7:CTC@XM_044463068.1:35..55
XM_044463 069.1	SSR	30	50	Name=SSR51;ID=SSR51 7:CTC;Note=SSR51 7:CTC@XM_044463069.1:30..50
XM_044463 088.1	SSR	1369	1386	Name=SSR52;ID=SSR52 6:GGC;Note=SSR52 6:GGC@XM_044463088.1:1369..1386
XM_044463 112.1	SSR	405	422	Name=SSR53;ID=SSR53 6:GCG;Note=SSR53 6:GCG@XM_044463112.1:405..422
XM_044463 116.1	SSR	91	117	Name=SSR54;ID=SSR54 9:CCG;Note=SSR54 9:CCG@XM_044463116.1:91..117
XM_044463 123.1	SSR	256	273	Name=SSR55;ID=SSR55 6:GCG;Note=SSR55 6:GCG@XM_044463123.1:256..273
XM_044463 189.1	SSR	133	153	Name=SSR56;ID=SSR56 7:GCG;Note=SSR56 7:GCG@XM_044463189.1:133..153
XM_044463 191.1	SSR	676	693	Name=SSR57;ID=SSR57 6:CGG;Note=SSR57 6:CGG@XM_044463191.1:676..693
XM_044463 265.1	SSR	291	320	Name=SSR58;ID=SSR58 10:GAG;Note=SSR58 10:GAG@XM_044463265.1:291..320
XM_044463 282.1	SSR	489	506	Name=SSR59;ID=SSR59 6:GCG;Note=SSR59 6:GCG@XM_044463282.1:489..506
XM_044463 283.1	SSR	1715	1732	Name=SSR60;ID=SSR60 6:GAT;Note=SSR60 6:GAT@XM_044463283.1:1715..1732
XM_044463 284.1	SSR	2750	2767	Name=SSR61;ID=SSR61 6:GAT;Note=SSR61 6:GAT@XM_044463284.1:2750..2767
XM_044463 337.1	SSR	602	622	Name=SSR62;ID=SSR62 7:GCG;Note=SSR62 7:GCG@XM_044463337.1:602..622
XM_044463 376.1	SSR	724	744	Name=SSR63;ID=SSR63 7:GAG;Note=SSR63 7:GAG@XM_044463376.1:724..744
XM_044463 383.1	SSR	779	796	Name=SSR64;ID=SSR64 6:CGG;Note=SSR64 6:CGG@XM_044463383.1:779..796
XM_044463 424.1	SSR	1222	1242	Name=SSR65;ID=SSR65 7:GAA;Note=SSR65 7:GAA@XM_044463424.1:1222..1242
XM_044463 426.1	SSR	1180	1200	Name=SSR66;ID=SSR66 7:GAA;Note=SSR66 7:GAA@XM_044463426.1:1180..1200
XM_044463 497.1	SSR	139	156	Name=SSR67;ID=SSR67 6:CGC;Note=SSR67 6:CGC@XM_044463497.1:139..156
XM_044463 507.1	SSR	865	882	Name=SSR68;ID=SSR68 6:GAG;Note=SSR68 6:GAG@XM_044463507.1:865..882
XM_044463 512.1	SSR	421	438	Name=SSR69;ID=SSR69 6:AAG;Note=SSR69 6:AAG@XM_044463512.1:421..438
XM_044463 522.1	SSR	457	474	Name=SSR70;ID=SSR70 6:GAG;Note=SSR70 6:GAG@XM_044463522.1:457..474
XM_044463 565.1	SSR	1221	1241	Name=SSR71;ID=SSR71 7:ATG;Note=SSR71 7:ATG@XM_044463565.1:1221..1241

XM_044463 602.1	SSR	63	80	Name=SSR72;ID=SSR72 6:AGC;Note=SSR72 6:AGC@XM_044463602.1:63..80
XM_044463 605.1	SSR	125	142	Name=SSR73;ID=SSR73 6:ACC;Note=SSR73 6:ACC@XM_044463605.1:125..142
XM_044463 649.1	SSR	412	432	Name=SSR74;ID=SSR74 7:GAG;Note=SSR74 7:GAG@XM_044463649.1:412..432
XM_044463 688.1	SSR	353	370	Name=SSR75;ID=SSR75 6:AGC;Note=SSR75 6:AGC@XM_044463688.1:353..370
XM_044463 700.1	SSR	289	306	Name=SSR76;ID=SSR76 6:CGC;Note=SSR76 6:CGC@XM_044463700.1:289..306
XM_044463 729.1	SSR	1007	1033	Name=SSR77;ID=SSR77 9:TGA;Note=SSR77 9:TGA@XM_044463729.1:1007..1033
XM_044463 736.1	SSR	1037	1063	Name=SSR78;ID=SSR78 9:TGA;Note=SSR78 9:TGA@XM_044463736.1:1037..1063
XM_044463 741.1	SSR	960	986	Name=SSR79;ID=SSR79 9:TGA;Note=SSR79 9:TGA@XM_044463741.1:960..986
XM_044463 753.1	SSR	135	152	Name=SSR80;ID=SSR80 6:CCG;Note=SSR80 6:CCG@XM_044463753.1:135..152
XM_044463 809.1	SSR	384	401	Name=SSR81;ID=SSR81 6:CTC;Note=SSR81 6:CTC@XM_044463809.1:384..401
XM_044463 860.1	SSR	88	105	Name=SSR82;ID=SSR82 6:CCT;Note=SSR82 6:CCT@XM_044463860.1:88..105
XM_044463 884.1	SSR	2	43	Name=SSR83;ID=SSR83 14:CTT;Note=SSR83 14:CTT@XM_044463884.1:2..43

#### 4.4. Geliştirilen SSR Markörlerinin Fonksiyonel Anotasyonu ve e-PCR Sonuçları

Geliştirilen 12535 adet SSR markör verisi yine biyoinformatik olarak fonksiyonel protein anotasyonların tabi tutulmuş olup protein kodlama verileri moleküler fonksiyon ve biyolojik proses, gruplanarak analiz edilmiştir (Şekil 4.2.).



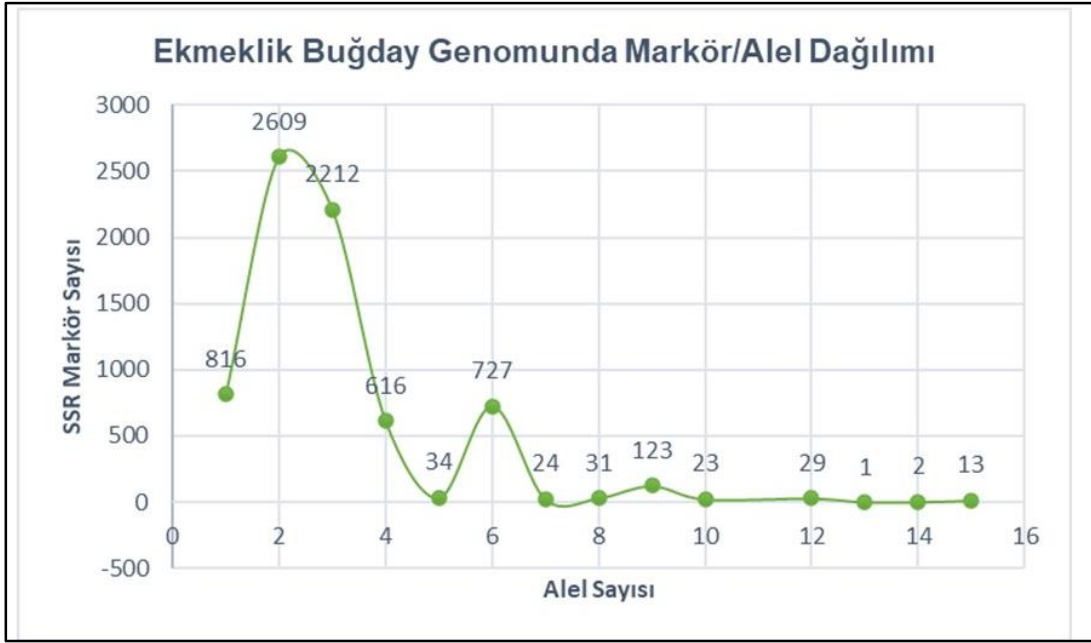
Şekil 4.2. SSR markör verisi fonksiyonel protein anotasyonları (moleküler fonksiyon ve biyolojik proses)

Tez kapsamında geliştirilen 7276 tekil yeni SSR markörü ekmeklik buğdayda genetik stabilitenin tespiti için öngörülen parametreler uyarınca, protein kodlama potansiyeli, hekzaploid ekmeklik buğday genomunda tek kopya halinde bulunma olasılığı ve yüksek düzeyde varyasyon gösterme potansiyeli bakımından e-PCR ve tüm ekmeklik buğday genomuna e-mapping algoritmaları tarafından analiz edilmiştir. Haritalan SSR markörlerinden 22421 adet toplam ampikon üretmiştir (Şekil 4.3.). Markörlerin sırası ile 816 markör tek lokus, 2609 markör iki lokus, 2212 markör üç lokus, 616 markör ise dört lokusa bağlanmıştır ve kalan markörler beş veya daha fazla sayıda alel üretmiştir (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Geliştirilen 7276 adet tekil SSR markörünün alel üretme bakımından dağılımı gösterir tablo

Alleles	Total markers
1	816
2	2609
3	2212
4	616
5	34
6	727
7	24
8	31
9	123
10	23
12	29
13	1
14	2
15	13

Tek lokus özelliği gösteren 816 SSR markörünü içinden 36 adet markör laboratuvarında ekmeklik buğday genotiplerinin saflık testlemesinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Markör seçimi polimorfizm biriktirme ve tek kopya olma özellikleri üzerinden belirlenmiş bu noktada aday 816 adet lokusa ait sekans verileri NCBI veri tabanında araştırılmış çok sayıda sekans girişi ve temsili olan 201 SSR markör sekansları çoklu hizalanarak SSR motiflerinde en çok sayıda tekrar farklılığı görülen 36 markör seçilmiştir. Çalışmada tespit edilen 816 adet tek lokus SSR markörü, literatürde benzer çalışmalarda tespit edilen ve haritalama, genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısı çalışmaları için kullanılan tek lokus SSR markörlerinden daha fazla sayıdadır (Torada ve ark., 2006; Varshney ve ark., 2000; Hao ve ark., 2011; Belete ve ark., 2021). Bu durumun temel sebebi ekmeklik buğday referans genomunun geliştirilmesi ve çalışma kapsamında hem ab initio hem de referans temelli biyoinformatik yaklaşımların kullanılmasıdır.



Şekil 4.3. Geliştirilen 7276 adet tekil SSR markörünün alel üretme bakımından dağılımı

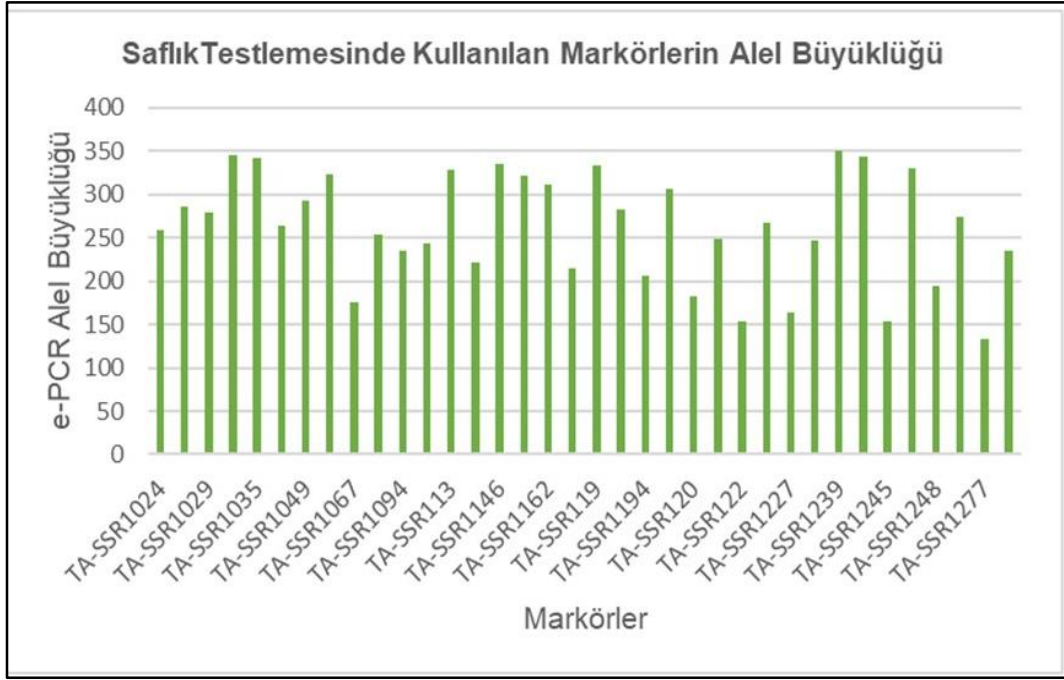
#### 4.5. Ekmeklik Buğday Genotiplerinde Çalışılmak Üzere SSR Markörlerinin Seçilmesi Ve Karakterizasyonu

Ekmeklik buğday genotiplerinde çalışılmak üzere seçilen 36 adet SSR markörüne ait veriler ve alel büyüklükleri Tablo 4.5.'de verilmiştir. Geliştirilen 36 adet markörün tamamı PCR amplifikasyonu vermiş olup çalışma kapsamında tahmin edilen alel büyüklüklerine benzer PCR ürünleri üretmişlerdir.

**Tablo 4.5.** Ekmeklik buğday genotiplerinde çalışılmak üzere seçilen 36 adet SSR markörüne ait veriler ve alel büyüklükleri

<b>Markör Adı</b>	<b>Alel Büyüklüğü (bp)</b>
TA-SSR1024	259
TA-SSR1026	286
TA-SSR1029	279
TA-SSR1032	346
TA-SSR1035	342
TA-SSR1039	264
TA-SSR1049	292
TA-SSR1060	323
TA-SSR1067	176
TA-SSR108	253
TA-SSR1094	235
TA-SSR1097	244
TA-SSR113	328
TA-SSR1137	221
TA-SSR1146	335
TA-SSR1147	322
TA-SSR1162	311
TA-SSR1175	214
TA-SSR119	334
TA-SSR1191	282
TA-SSR1194	206
TA-SSR1195	306
TA-SSR120	183
TA-SSR1218	248
TA-SSR122	154
TA-SSR1226	267
TA-SSR1227	163
TA-SSR1238	247
TA-SSR1239	350
TA-SSR1241	343
TA-SSR1245	154
TA-SSR1247	331
TA-SSR1248	194
TA-SSR1272	274
TA-SSR1277	134
TA-SSR128	235

Çalışma kapsamında genotipleme de kullanılan 36 adet SSR markörü 150 ile 354 bp arasında büyüklüğü değişen aleller üretmiştir (Şekil 4.4.). Çalışma kapsamında kullanılan farklı ilerleme kademelerindeki 16 adet ekmeklik buğday genotipini yüksek çözünürlükte ayırtmış ve %70-%95 aralığında saflık gösteren 4 temel gruba ayırmıştır. S8 gibi ileri kendilenmiş genotiplerde yüksek düzeyde, S3 ila S4 seviyesinde ki genotiplerde düşük seviyede durulma oranları tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Ekmeklik buğday genotiplerinde çalışılmak üzere seçilen 36 adet SSR markörüne ait veriler ve alel büyüklükleri.

Genotipleme de kullanılan 36 SSR marköründen 9 tanesi kullanılan genotip setinde genetik stabilite saflık/purity testlemelerinde kullanılacak bir çekirdek markör seti olarak belirlenmiştir (Tablo 4.6.). Çekirdek seti olarak belirlenen bu 9 markör sırası ile TA-SSR1060, TA-SSR1137, TA-SSR1175, TA-SSR1277, TA-SSR1241, TA-SSR1248, TA-SSR1226, TA-SSR108 ve TA-SSR1097 isimli markörlerdir. Ayrıca çekirdek markör seti protein modellemeleri yapılmış olup veriler Şekil 4.6.'da görülmektedir. Çekirdek markör seti yüksek miktarda polimorfik alel üretmiştir. En yüksek sayıda polimorfik veri TA-SSR1137, TA-SSR1241 ve TA-SSR1226 şeklinde olup 16 genotipte 11, 7 ve 6 adet farklı alel üretmişlerdir.

**Tablo 4.6.** Tez kapsamında geliştirilen 9 adet SSR marköründen oluşan çekirdek markör setine ait markör verisi.

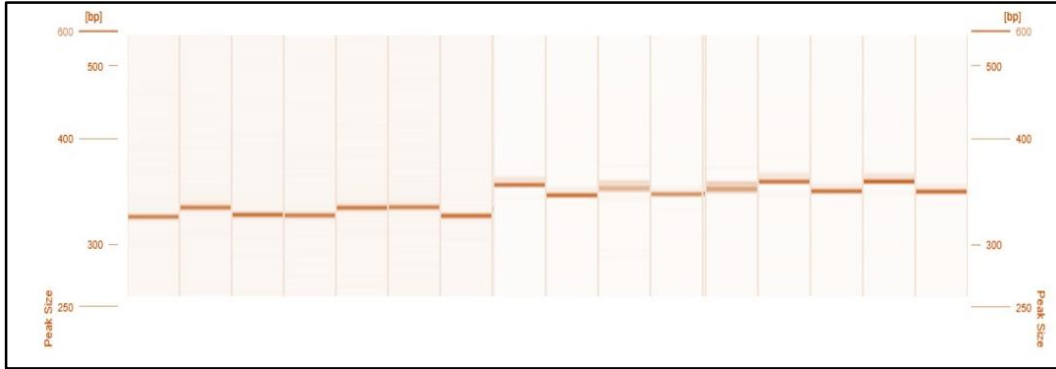
Markör Adı	Primer İleri	Tm	Primer Geri	Tm
TA-SSR1060	GGTCGGGAGGTT TGATCTG	60.459	GCATGCCATTACCA TCCTTT	59.791
TA-SSR1137	CTCCTCGTGAGCC ATCTCC	60.929	GATGTGCGCCACA ACCTT	60.698
TA-SSR1175	TGATCCAGGAGG AGATCGAC	60.160	TCCTCCATGACCCT CATCTT	59.460
TA-SSR1277	GCACAAGGGGTG AGCTTTCT	61.725	GTTTCCAGGGAGA AGGGAAG	60.045
TA-SSR1241	GGAGGCGGAGGA ATAAGAAG	60.166	CAGAGCTGATCCC CTGTTTC	59.803
TA-SSR1248	GGAAACCCTCGT CATCTCCT	60.456	GCCGAGATGGTCTT CTCCTT	60.735
TA-SSR1226	ACTACGACCGAG CCTTTTCA	59.875	GAGCGAGATGTAC CGGAGAA	60.362
TA-SSR108	TCTTCCTTGCTGG TTTGCTT	59.993	CACCACTGCTGCTC CTGTT	60.038
TA-SSR1097	TCGCGAGAGTTC GTGTGTAG	60.199	CCTCGTCATCGTCA TCTTCC	60.622

#### 4.6. Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Genetik Stabilite Testlemesi:

Tez çalışması kapsamında geliştirilen markörlerin ekmeklik buğday genotiplerinde genetik saflık testlemesinde kullanılabileceğini göstermek üzere farklı ilerleme kademelerinde bulunan 16 adet ekmeklik buğday genotipi 36 adet SSR markörü ile genotiplenmiş olup 9 adet SSR markörünün yeterli çözünürlüğü sağladığı tespit edilmiştir. TA-SSR1241 isimli markör 16 genotipte 8 adet alel üreterek en yüksek polimorfizm gösteren markör olmuştur (Şekil 4.5.). Genetik stabilite düzeyleri araştırılan 16 genotipin F3 ve F4 kademesinde bulunan sekiz genotip için stabilite düzeyi %82-%87 arasında tespit edilmiş olup F5 ve F6 kademesinde ki altı genotip %93-95 arasında son olarak F7 ve ileri genotiplerde %97 üzerinde tespit edilmiştir (Tablo 4.7.).

**Tablo 4.7.** Ekmeklik buğday genotiplerinin stabilite düzeylerinin belirlenmesi

Genotip Adı	İlerleme Kademesi
Ekmeklik Buğday G1	%82-%87
Ekmeklik Buğday G2	%82-%87
Ekmeklik Buğday G3	%93-95
Ekmeklik Buğday G4	%93-95
Ekmeklik Buğday G5	%93-95
Ekmeklik Buğday G6	%82-%87
Ekmeklik Buğday G7	%82-%87
Ekmeklik Buğday G8	%82-%87
Ekmeklik Buğday G9	%82-%87
Ekmeklik Buğday G10	97%
Ekmeklik Buğday G11	%93-95
Ekmeklik Buğday G12	97%
Ekmeklik Buğday G13	%93-95
Ekmeklik Buğday G14	%82-%87
Ekmeklik Buğday G15	%82-%87
Ekmeklik Buğday G16	%93-95



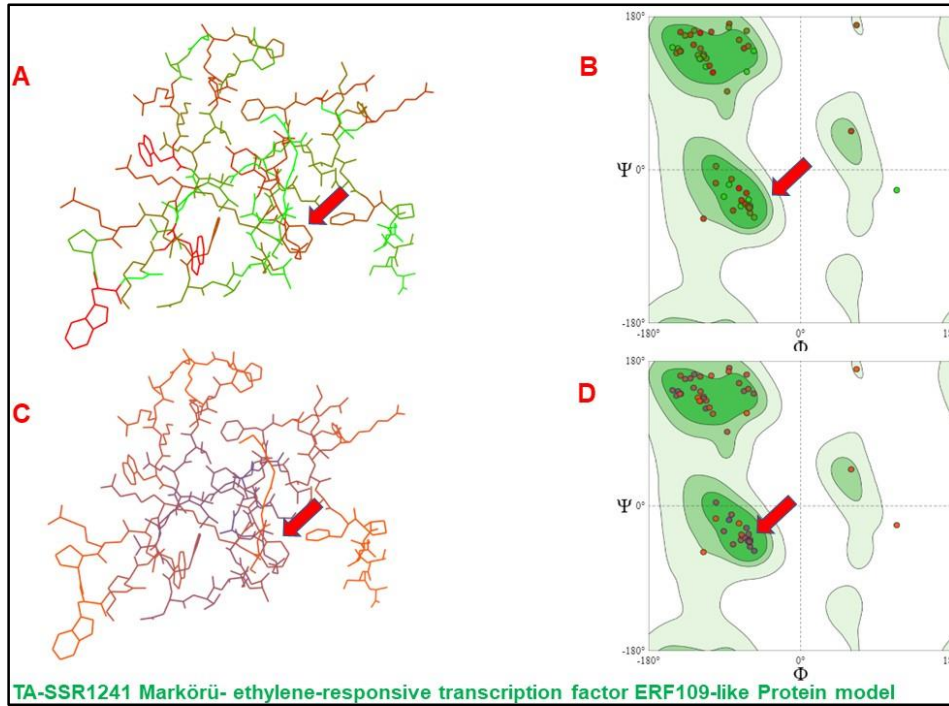
**Şekil 4.5.** TA-SSR1241 isimli markörün 16 ekmeklik buğday genotipinden elde edilen PCR ürünlerinin kapiler elektroforez sonuçları.

Çalışma kapsamında belirlenen dokuz adet SSR marköründen oluşan çekirdek markör seti homoloji tabanlı protein modelleme analizlerine tabi tutulmuş olup (Waterhouse vd. 2018, Bienert vd. 2017, Guex vd. 2009) hem protein tanımlamaları hem de NCBI veri bankasında bulunan 9 markörün farklı genotiplerde yüklenmiş olan DNA sekans verileri indirilmiş ve SSR markör motifi bakımından polimorfik olan sekanslar hizalanarak tespit edilmiştir (Tablo 4.8.).

**Tablo 4.8.** Çekirdek markör setine ait kromozomal pozisyon ve protein tanımları

Markör Adı	Pozisyon	Protein Tanımları
TA-SSR1060	Chr3A	Triticum aestivum GDSL esterase/lipase At4g10955-like
TA-SSR1137	Chr3A	Triticum aestivum signal recognition particle subunit SRP
TA-SSR1175	Chr1A	Triticum aestivum chaperone protein ClpB1-like
TA-SSR1277	Chr3B	Triticum aestivum uncharacterized LOC12306
TA-SSR1241	Chr1A	Triticum aestivum ethylene-responsive transcription factor ERF109
TA-SSR1248	Chr3B	Triticum aestivum uncharacterized LOC123066203
TA-SSR1226	Chr3B	Triticum aestivum uncharacterized LOC123065205
TA-SSR108	Chr2B	Triticum aestivum mitochondrial inner membrane protease subunit 2
TA-SSR1097	Chr3A	Triticum aestivum acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32

Örnek olarak TA-SSR1241 markörü için veri tabanında bulunan 21 farklı genotipe ait sekans SSR motif farklılıkları üzerinden 3 gruba ayrılmıştır. Farklı bulunan sekanslardan a.a sekansları tahmin edilmiş ve farklılık oluşan iki a.a sekansı üzerinden protein modellemeleri yapılmıştır (Şekil 4.6.).



**Şekil 4.6.** TA-SSR1241 markörünün SSR motif polimorfizimi gösteren iki farklı verisine ait homoloji tabanlı protein tahminleri ve ramachandran grafikleri. A-B TA-SSR1241, C-D TA-SSR1241-1 varyantı.

TA-SSR1241 ve TA-SSR1241-1 varyasyonuna ait veriler modellendiğinde hem protein modellerinin iç fonksiyonel domaininde hem de protein modelleri için oluşturulan ramachandran grafiklerinde hem phi açısında değişim olduğu hem de protein modellerinin

arka yapısında TA-SSR1241-1 varyantında glisin a.a değişmesi hem açıları hemde modelin yapısını değiştirdiği gözlemlenmektedir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) genotiplerinde genetik saflık testlemeleri için kullanılabilecek genom spesifik, tek kopya ve polimorfizim potansiyeli yüksek SSR markörlerinin geliştirilerek validasyonu hedeflenmiştir. Ekmeklik buğday genomu yüksek genom büyüklüğü ve kompleks genom organizasyonuna sahip hekzaploid bir genomdur. A, B ve D genomlarının hibridizasyonu süreçlerinde hem genomlar arası hem de genom içinde genomik lokusların duplikasyonları, translokasyonlarının sıklıkla oluştuğu referans genom projesi sonucu ortaya koyulmuştur. Özellikle bu kompleks genom yapısı çoklukla genom içi sekans benzerliklerini arttırmıştır. Bu önemli bilgi özellikle tek kopya genomik bölgelerin tespitinin önemini saflık testlemesi çalışmalarında elzem kılmaktadır. Tez çalışması kapsamında ekmeklik buğday referans genomu hem ab initio hem de homoloji tabanlı yaklaşımlar ile biyoinformatik olarak analiz edilerek genetik stabilite testlemelerinde kullanılmak üzere aday markör bölgelerinin tespiti ve markörlerin gelişilmesi çalışmaları yürütülmüştür. Çalışma kapsamında 13535 adet tri-nükleotid SSR motifi tespit edilmiş olup yüksek kalite parametreleri kullanılarak aday SSR markörlerini tanımlayacak primerler dizayn edilmiştir. Ekmeklik buğday genomuna spesifik 7276 adeti unique SSR markörü çalışma kapsamında geliştirilmiş olup, bu markörler referans genoma yine biyoinformatik algoritmalar ile haritalanmıştır. Tek kopya SSR markörleri bu sonuçlar üzerinden filtrelenmiş ve 816 adet tek kopya SSR markörü haritalanmıştır. Polimorfizim üretme kabiliyetleri, protein anotasyon verileri incelenerek 36 adet SSR markörü laboratuvarda ekmeklik buğday genotiplerinde saflık testleme çalışmalarında kullanılmıştır. Farklı ilerleme (durulma) kademelerindeki ekmeklik buğday genotipleri bu markör seti ile incelenmiş ve genetik stabilite düzeyleri tespit edilmiştir. Daha sonra 36 SSR markörünün içinden dokuz adet SSR markörü yereli çözünürlüğü ağladığı tespit edilmiş olup bu dokuz SSR markörü ekmeklik buğdayda kullanılmak üzere karakterize edilmiştir. Tez çalışması sonucunda ekmeklik buğdayların saflık tespitinde

kullanılabilecek tekrar edilebilir genom spesifik, yüksek çözünürlükte markör seti geliştirilmiştir.

## **5.2. Öneriler**

Çalışma kapsamında 7276 adet SSR markörü genomik koordinatları tespit edilerek karakterize edilmiştir. Bu markör seti hem ekmeklik buğday genetik haritalarında kullanılabilecek nitelikte olup hem de bu markör seti referans anotasyonu olan önemli agronomik özelliklere ilişkili bölgelerde seçim için kullanılma potansiyeline sahiptir. Bu markör seti ileride genetik ilişkilendirme ve haritalama çalışmalarında kullanılabileceği öngörülmektedir. Ayrıca geliştirilen ve validasyonu gerçekleştirilen 36 adet SSR markörü daha geniş bir ekmeklik buğday gen koleksiyonunda denenerek ayırım, çözünürlük gücü tespit edilmelidir. Tez kapsamında karakterize edilen markör seti farklı buğday türlerinde denenerek transfer edilebilme kabiliyetleri denebileceği öngörülmektedir. Son olarak tez çalışma sonuçları ekmeklik buğday çeşitlerinin DNA parmak izi analitlerinde ve DNA barkodlarının oluşturulmasında kullanılması ileride gerçekleştirilecek çalışmalar için önerilir.

## KAYNAKLAR

- Ahmad, M., 2002. Assessment of Genomic Diversity Among Wheat Genotypes Go Determined by Simple Sequence Repeats. *Genome*, 45(4); 646-651.
- Akkaya, M. S., Bhagwat, A. A. and Cregan, P. B., 1992, Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean, *Genetics*, 134; 1131-1139.
- Akyürek S, 2014, Değişik Fenolojik Özelliklere Sahip Buğday Çeşitlerinde Süne Zararının Verim ve Kalite Üzerine Etkisi ve Genetik Farklılıkların Belirlenmesi. (Doktora Tezi) Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.
- Alamerew S., Chebotar S., Huang X., Röder M.S. and Börner A., 2004, Genetic diversity in Ethiopian hexaploid and tetraploid wheat germplasm assessed by microsatellite markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 51: 559–567.
- Al-Samarai, Firas & Al-Kazaz, Abdulkareem. (2015). Molecular Markers: an Introduction and Applications. *European Journal of Molecular Biotechnology*. 9. 10.13187/ejmb.2015.9.118CrossRef.
- Anonim, 2010. FAO, Te State of food insecurity in the world—Addressing food insecurity in protracted crises. <https://124.im/8MIQ7> (Erişim tarihi: 16.04.2022).
- Anonim, 2021a, IGC, Uluslararası Tahıl Konseyi. <https://124.im/kH5oMe> (Erişim tarihi: 01.10.2022).
- Anonim, 2022a, USDA, Grain and Feed Update. <https://124.im/W4K> (Erişim tarihi: 16.10.2022).
- Atak M, 2004, Farklı Triticale Hatlarının Morfolojik ve DNA Markörleriyle Genetik Karakterizasyonu. (Doktora Tezi, yayınlanmamış). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Atalık, A. (2007). Tarımın Tarihsel Süreci ile Gıda Güvenliği İlişkisi. *Şeker Dünyası*, 28, 48-51.
- Augustus - Stanke, M., & Waack, S., 2003, Gene prediction with a hidden Markov model and a new intron submodel. *Bioinformatics*, 19(Suppl 2), ii215–ii225. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg1080>.
- Bark, O. H., and Havey, M.J., 1995. Similarities and relationship among population of the bulb onion as estimated by RFLPs. *Theor. Appl. Genetics* 90:407-414.
- Belete, Y., Shimelis, H., Laing, M., & Mathew, I. (2021). Genetic diversity and population structure of bread wheat genotypes determined via phenotypic and SSR marker analyses under drought-stress conditions. *Journal of Crop Improvement*, 35(3), 303-325.

- Ben Amer, I. M., Börner, A., Röder, M.S., 2001. Detection of genetic diversity in Libyan wheat genotypes using wheat microsatellite markers. *Gen. Res. Crop Evol.*, 48: 579-5
- Bennett MD, Leitch IJ, 1995, Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann. Bot.*, 76: 113-176.
- Bennett, P., 2000, Microsatellites. *Journal of Clinical Pathology. Mol Pathol*, 53: 177-183.
- Bienert, S., Waterhouse, A., de Beer, T.A.P., Tauriello, G., Studer, G., Bordoli, L., Schwede, T. The SWISS-MODEL Repository - new features and functionality. *Nucleic Acids Res.* 45, D313-D319 (2017).
- Borneo, R., Leon, A.E., 2012, Whole Grain Cereals: Functional Components and Health Benefits. *Food and Function*, 3, 110-119.
- Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.W., 1980, Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Am. J. Of Human Genetic*, 32; 314-331.
- Bhatta, M., Shamanin, V., Shepelev, S., Baenziger, P. S., Pozherukova, V., Pototskaya, I., & Morgounov, A. (2019). Marker-trait associations for enhancing agronomic performance, disease resistance, and grain quality in synthetic and bread wheat accessions in Western Siberia. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(12), 4209-4222.
- Brouns, F.J. P.H., Buul, V.J.V., Shewry, P. , 2013, Does Wheat Make Us Fat and Sick? *Journal of Cereal Science*, 58, 209-215.
- Caetano-Anolles, G., Bassam B.J., Gresshoff P.M., 1991, DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Biotechnol*, 9, 553-557.
- Consortium, I. W. G. S., 2014, A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345:1251788. doi: 10.1126/science.1251788.
- Cuadrado, A., Schwarzacher, T., 1998, The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma*, 107: 587-594.
- Dede, B., 2007, Mikrosatellit DNA belirleyicileri kullanarak yerel ekmeklik buğday çeşitlerinin tanımlanması (yüksek lisans tezi). Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Desplanque, B., P. Boudry, K. Broomberg, P. Saumitou-Laprade, J. Cuguen, H. Dijk, 1999, Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (*Chenopodiaceae*), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*, 98, 1194-1201.

- Devos, K. M. and Gale, M. D., 1992, The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genetics*, 84; 567-572.
- Dodig, D., Zori, M., Kobiljski, B., Momirovi, G.S. ve Quarrie, S.A., 2010, Assessing Drought Tolerance and Regional Patterns of Genetic Diversity Among Spring and Winter Bread Wheat Using Simple Sequence Repeats and Phenotypic Data. *Csiro Publishing*, 61, 812-824.
- Doğrar, N., Akın-Yalın, S. and Akkaya, M.S., 2000, Discriminating durum wheat cultivars using highly polymorphic simple sequence repeat DNA markers *Plant Breed.* 119: 360–362.
- Donini, P., Stephenson, P., Bryan, G.J., Koebner, R.M.D., 1998, The Potential of Microsatellites for High Throughput Genetic Diversity Assessment in Wheat and Barley. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45; 415-421.
- Dreisigacker, S., Zhang, P., Warburton, M.L., Skovmand, B., Hoisington, D. And Melchinger, A.E., 2005, Genetic Diversity Among and within CIMMYT Wheat Landrace Accessions Investigated with SSRs and Implications for Plant Genetic Resources Management. *Crop Science*, 45; 65-661.
- Dubcovsky J, Dvorak J, 2007, Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science*, 316: 1862–1866.
- Faheem, M., Mahmood, T., Shabbir, G., Akhtar, N., ul Kazi, A.G. ve Kazi, A.M., 2015, Assessment of D-genome Based Genetic Diversity in Drought Tolerant Wheat Germplasm. *International Journal of Agriculture & Biology*, 17, 791-796.
- Fahima, T., Röder, M.S., Wendehake, K., Kırzhner, V.M., And Nevo, E., 2002. Microsatellite polymorphism in natural populations of wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. Appl. Genet.* 104: 17–29.
- Filiz, E., Koç, Ğ., 2011, Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *GAÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Fischer, R. A., Byerlee, D., Edmeades, G., 2014, Crop Yields and Global Food Security: Will Yield Increase Continue to Feed the World? *ACIAR Monograph no. 158.* (Australian Centre for International Agricultural Research).
- Garg, M., Sukhwinder, S., Baldev, S., Kuldeep, S., Dhaliwal, H.S., Singh, S., Singh, B., Singh, K., 2001, Estimates of Genetic Similarities and DNA Fingerprinting of Wheat (*Triticum* Species) and Triticale Cultivars Using Molecular Markers. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 71; 438-443.
- Gıdık, B., 2012, Trakya bölgesinde yetiĞen kanola (kolza) bitkisinde genetik çeşitliliğın moleküler işaretleyicilerle karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
- Gill, K.S., Gill, B.S., and Endo, T.R. 1993a. A chromosome regionspecific mapping strategy reveals gene-rich telomeric ends in wheat. *Chromosoma*, 102: 374–381.

- Gill, K.S., Gill, B.S., Endo, T.R., and Mukai, Y. 1993b. Fine physical mapping of Ph1, a chromosome pairing regulator gene in polyploid wheat. *Genetics*, 134: 1231–1236.
- Goyal, A., Bandopadhyay, R., Sourdille, P., Endo, T.R., Balyan, H.S., Gupta, P.K., 2005, Physical molecular maps of wheat chromosomes. *Functional and Integrative Genomics*, 5: 260-263.
- Guex, N., Peitsch, M.C., Schwede, T. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective. *Electrophoresis* 30, S162-S173 (2009).
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J. ve Owen, J.L., 1994, Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor. Appl. Genetics*, 89: 998-1006.
- Gupta, P. K., Rustgi, S., Sharma, S., Singh, R., Kumar, N., & Balyan, H. S. (2003). Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Molecular genetics and genomics*, 270(4), 315-323.
- Güner, A., 2012, Türkiye Bitkileri Listesi. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, Flora Dizisi, IBSN: 978-605-60425-7-7, İstanbul.
- Hajj-Moussa, E., Millán, T., Gil, J., Cubero, J.I., 1996, Variability and genome length estimation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) revealed by RAPD analysis. *J Genet Breed* 51:83–85.
- Hao, C., Wang, L., Ge, H., Dong, Y., & Zhang, X. (2011). Genetic diversity and linkage disequilibrium in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.) revealed by SSR markers. *PLOS one*, 6(2), e17279.
- Heun M, Schafer-Pregl R, Klawan D, Castagna R, Accerbi M, Borghi B, Salamini F, 1997, Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Science*, 278:1312–1314.
- Hu, J. & Quirose, C.F., 1991, Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant Cell Rep* 10: 505– 511.
- Jaiswal, S., Sheoran, S., Arora, V., Angadi, U. B., Iquebal, M. A., Raghav, N., ... & Kumar, D. (2017). Putative microsatellite DNA marker-based wheat genomic resource for varietal improvement and management. *Frontiers in plant science*, 8, 2009.
- Jarne, P. and Lagoda, P.J.L., 1996, Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*, Vol.11, No.10, (October 1996), pp. 424-429.
- Jeffreys, A.J., V. Wilson, S.L. Thein, 1985, Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. *Nature*, 314, 67-73.

- Joshi, S.P., V.S. Gupta, R.K. Aggarwal, P.K. Ranjekar, D.S. Brar, 2000, Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics.*, 100, 1311–1320.
- Kan M., Küçükçongar M., Keser M., Morgounov A., Muminjanov H., Özdemir F. and Qualset C., 2015, *Wheat Landraces in Farmers' Fields in Turkey: National Survey, Collection and Conservation, 2009-2014*, FAO publication, 178 p.
- Karagöz A., 2014, *Wheat landraces of Turkey*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26(2): 149-156.
- Karagöz, A. ve Özberk İ., 2010, *Türkiye’de Buğday Genetik Kaynakları ve İslahta Kullanılması. Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu. 17-18 Mayıs 2010, Sayfa: 67-74, Ş.Urfa.*
- Kesawat, M.S. ve B.K Das, 2009, *Molecular Markers: It's Application in Crop Improvement. J. Crop Sci. Biotech.*, 12 (4),169 -181.
- Konak, C., Akça, M., Turgut, İ., 1999, *Aydın İli koşullarına uyumlu buğday çeşitlerinin belirlenmesi, Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, 87-90.
- Korzun, V., Röder, M.S., Ganal, M.W., Worland, A.J., And Law, C.N., 1998, *Genetic analysis of the dwarfing gene (Rht8) in wheat. Part I. Molecular mapping of the Rht8 on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (Triticum aestivum L.). Theor. Appl. Genet.* 96: 1104–1109.
- Kruse, J., 2010, *Estimating Demand for Agricultural Commodities to 2050. Global Harvest Initiative. Pre-publication draft*, 3-16-10.
- Kün, E., 1996, *Tahıllar-I (Serin İklim Tahılları)*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:1451.
- Lavi, U., Cregan, P., Scchap, T. and Millel, J., 1994, *Amplification and breeding of perennial fruit crops. In: Janick, J. (ed) Plant Breeding Reviews. John Wiley Sons, Inc: NY Vol: 397-401.*
- Li, Y.-C., Korol, A. B., Fahima, T., and Nevo, E., 2004, *Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. Mol. Biol. Evol.* 21, 991–1007. doi: 10.1093/molbev/msh073.
- Liu, S., Griffey, C. A., & Maroof, M. S. (2001). *Identification of molecular markers associated with adult plant resistance to powdery mildew in common wheat cultivar Massey. Crop Science*, 41(4), 1268-1275.
- Litt, M. and Luty, J. A., 1989, *A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle action gene. AmJ. Hum. Genet.*, 44; 397-401.

- Matsuoka, Y., S.E. Mitchell, S. Kresovich, M. Goodman, J. Doebley, 2002, Microsatellites in Zea-variability, patterns of mutations and use for evolutionary studies. *Theor. Appl. Genet.*, 104, 436-450.
- Mehta, G., Muthusamy, S. K., Singh, G. P., & Sharma, P. (2021). Identification and development of novel salt-responsive candidate gene based SSRs (cg-SSRs) and MIR gene based SSRs (mir-SSRs) in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Scientific reports*, 11(1), 1-15.
- Metin A, 2012, Nohut Çeşitlerinde SSR Varyasyonu ve Genetik İlişkilerin Değerlendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yozgat.
- Miller, J.C. ve S.D. Tanksley, 1990, RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.*, 80, 437–448.
- Morgounov A., Keser M., Kan M., Küçükçongar M., Özdemir F., Gummadov N., Muminjanov H., Zuev E. and Qualset C. O., 2016, Wheat Landraces Currently Grown in Turkey: Distribution, Diversity, and Use. *Crop Sci.* 56: 3112-3124. doi:10.2135/cropsci2016.03.0192.
- Mullis, K.B. ve F. Faloona, 1987, Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase chain reaction. *Methods Enzymol*, 155, 350–355.
- Nakamura, Y., M. Leppert, P. O'Connell, R. Wolff ve ark., 1987, Variable number tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science*, 235, 1616-1622.
- Nelson, G.C., Rosegrant, M.W., Palazzo, A., Gray, I., Ingerstoll, C., Robertson, R. 2010, Food security, farming, and climate change to 2050: scenarios, results, policy options. *Research*.
- Nesbitt, M. & Samuel, D., 1996, From Staple Crop to Extinction? The Archaeology and History of The Hulled Wheats. *Proceedings of The First International Workshop on Hulled Wheats*, 21: 41-100.
- Ogbonnaya, F. C., Imtiaz, M., Bariana, H. S., McLean, M., Shankar, M. M., Hollaway, G. J., ... & Van Ginkel, M. (2008). Mining synthetic hexaploids for multiple disease resistance to improve bread wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59(5), 421-431.
- Osipova, E.S., Kokaeva, Z.G., Troitskij, A.V., 2001, RAPD Analysis of Maize Somaclones, *Rus. J. Genetics* 37(1):80-84.
- Özberk, İ., Atay, S., Altay, F., Cabi, E., Özkan, H., Atlı, A., 2016, Türkiye'nin Buğday Atlası. WWW-Türkiye. Büyük Postane Cad. No:19, İstanbul. ISBN: 978-605-9903-07-3.

- Özberk, İ., Zencirci, N., Özkan, H., Özberk, F., Eser, V., 2010, Dünden Bugüne Makarnalık Buğday Islahı ve Geleceğe Bakış. Makarnalık Buğday ve Mamulleri Konferansı, 17-18 Mayıs 2010, s:43-66.
- Özkan H, Willcox G, Graner A, Salamini F, Kilian B, 2010, Geographic distribution and domestication of wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58:11–53.
- Özşensoy, Y., Kurar, E., 2000, Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmaları. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(2) 11-19.
- Parker, G.D., Chalmers, K.J., Rathjen, A.J., And Langridge, P., 1998, Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 97: 238–245.
- Parker, G.D., Fox, P. N., Langridge, P., Chalmers, K., Whan, B., And Ganter, P., 2002, Genetic diversity within Australian wheat breeding programs based on molecular and pedigree data. *Euphytica* 124: 293-306.
- Pekcan, G., Köksal, E., Küçükerdönmez, Ö., Özel, H., 2006, Household Food Wastage In Turkey. *FAO Statistics Division Working Paper Series*, No. ESS/ESSA/006e.
- Peleg, Z., Saranga, Y., Krugman, T., Abbo, S., Nevo, E. ve Fahima, T., 2008, Allelic Diversity Associated with Aridity Gradient in Wild Emmer Wheat Populations. *Plant, Cell and Environment*, 31, 39-49.
- Peng JH, Sun D, Nevo E, 2011a. Will emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, occupies a pivotal position in wheat domestication process. *Australian Journal of Crop Science*; 5 (9): 1127-1143.
- Peng JH, Sun D, Nevo E, 2011b. Domestication, evaluation, genetics and genomics in wheat. *Molecular Breeding*, 28:281-301.
- Perkins, J.H., 1997, *Geopolitics and Green Revolution. Wheat Genes And The Cold War: Wheat Breeding in The Green Revolution*, Oxford University Press, UK.
- Pestsova, E, Ganal, M.W., Röder, M., 2000, Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697.
- Peterson CJ, Graybosch RA, Baenziger PS and Grombacher AW, 1992, Genotype and environment effects on quality characteristics of hard red winter wheat. *Crop Sci.*, 32: 98-103.
- Plarre, W., 1991, The Necessity of Germplasm In-situ Conservation in Turkey. *The Conservation of Wild Progenitors of Cultivated Plants. Environmental Encounters Series*, 8: 85-89.
- Poehlman JM, 1987, *Breeding Field Crops 3rd edition*. AVI, Westport, Connecticut.

- Powell, W., Wilhelm, E.P., Boulton, M.I., Barber, T.E.S., Greenland, A. J., 2013, Genotype Analysis of The Wheat Semidwarf Rht-B1b and Rht-D1b Ancestral Lineage. *Plant Breeding*, 132: 539-545.
- Prasad, M., Varshney, R.K., Roy J.K., Balyan, H.S., Gupta, P.K., 2000, The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 584–592.
- Prasad, S., Reddy, K.S., Jawali, N., 1999, Abundance of Random Amplified Hybridising Microsatellites in Mungbean (*Vigna Radiata* L. Wilczek). *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 7; 173-177.
- Provan, J., Powell, W. and Waugh, R., 1996, Microsatellite analysis of relationship within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theor. Appl. Genet.* 92: 1078-1084.
- Quarrie, S.A., Dodig, D., Pekiç, S., Kirby J. and Kobiljski, B., 2003, Prospects for marker-assisted selection of improved drought responses in wheat. *Bulg. J. Plant Physiol., Special Issue*:83-95.
- Rafalski, A., Morgante, M., Powell, W., Vogel, J.M. and Tingey, S.V., 1996, Generating and Using DNA Markers in Plants. In: Birren B., Lai E. (Eds.): *Analysis of Non-Mammalian Genomes - A Practical Guide*. Academic Pres., New York.
- Rangwen, R., Akkaya, M.S., Bhagwar, A.A., Lavi, U., Cregon, P.B., 1995, The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 43-48.
- Ravi, M., Geethanjali, S., Sameeyafarheen, F. and Maheswaran, M., 2003, Molecular Marker based Genetic Diversity Analysis in Rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers *Euphytica* Volume 133.
- Ridout, C.R., Donini, P., 1999, Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*, 4, 76-79.
- Röder, M.S., Plaschke, P., König, S.U., Börner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D., And Ganal, M.W., 1995, Abundance, variability and-chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246: 327-333.
- Röder, M.S., Wendehake, K., Korzun, V., Bredemeijer, G., Laborie, D., Bertrand, L., Isaac, P., Rendel, S., Jackson, J., Cooke, R.J., Vosman, B., and Ganal, M.W., 2002. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theor. Appl. Genet.*, 106: 67-73.
- Röder, Marion & Korzun, Viktor & Gill, Bikram & Ganal, Martin., 2011, The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome*. 41. 278-283. 10.1139/gen-41-2-278.
- Ruana J. and Sonnio A., 2003, Marker-assisted selection – Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. Chapter 1: 4-13.

- Russel, J.R., Fuller, J.D., Macaulary, M., Hatz, B.G., Jahoor, A, and Waugh, R., 1997., Direct Comparison of Levels of Genetic Variation Among Barley Accessions Detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genetic*, 95; 714-722.
- Russell, J.R., Ellis, R.P., Thomas, W.T.B., Waugh, R., Provan, J., Booth, A., Fuller, J., Lawrence, P., Young, G., And Powell, W., 2000, A retrospective analysis of spring barley germplasm Development from “foundation genotypes” to currently successful cultivars. *Mol. Breed.* 6: 553–568.
- Salem, K.F.M., El-Zanaty, A.M., and Esmail, R.M., 2008, Assessing Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genetic Diversity Using Morphological Characters and Microsatellite Markers. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5): 538- 544.
- Senior, M.L. and Heun, M., 1993, Mapping maize microsatellites and polymerase-chain-reaction confirmation of the targeted repeats using a ct primer. *Genome* 36:884-889.
- Schuler, G. D. (1997). Sequence mapping by electronic PCR. *Genome research*, 7(5), 541-550.
- Shewry, 2009, Wheat, *Journal of Experimental Botany*, Volume 60, Issue 6, Pages 1537–1553, <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>).
- Smith, D.B., and Flavell, R.B., 1975, Characterisation of the wheat genome by renaturation kinetics. *Chromosome*, 50: 223–242.
- Somers, D.J., Isaac, P., Edwards, K., 2004, A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor. Appl. Genet.*, 109: 1105-1114.
- Stachel, M., Lelley, T., Grausgruber, H., And Vollmann, J., 2000, Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. *Theor. Appl. Genet.* 100: 242–248.
- Staub, J.E., Serquen, F.C., Gupta, M., 1996, Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, 31, 729-740.
- Strelchenko, P., Kenneth S., Mitrofanova, O., Machay, M. and Balfourier, F., 2002, Genetic Diversity Among Hexaploid Wheat Landraces with Different Geographical Origins Revealed by Microsatellites: Comparison with AFLP and RAPD.
- Tinker, N.A., Fortin, M.G., Mather, D.E., 1993, Random Amplified Polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. *Theor. Appl. Genet.* 85: 976-984.
- Tiwari, M., Singh, N.K., Rathore, M. and Kumar, N., 2005, RAPD markers in the analysis of genetic diversity among common bean germplasm from Central Himalaya *Genetic Resources and Crop Evolution* Volume 52.
- Torada, A., Koike, M., Mochida, K., & Ogihara, Y. (2006). SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 112(6), 1042-1051.

- TMO., 2020, 2020 Yılı Hububat Raporu, <http://www.tmo.gov.tr>.
- TÜİK., 2021, Türkiye İstatistik Kurumu. İnternet adresi: <http://www.tuik.gov.tr/>
- Varshney, R.K.; Graner, A. & Sorrels, M.E., 2005, Genetic microsatellite markers in plants: features and applications. Trends in Biotechnology, Vol.23, No.1, (January 2005), pp. 48-55.
- Varshney, R. K., Prasad, M., Roy, J. K., Kumar, N., Dhaliwal, H. S., Balyan, H. S., & Gupta, P. K. (2000). Identification of eight chromosomes and a microsatellite marker on 1AS associated with QTL for grain weight in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, 100(8), 1290-1294.
- Vırk, P.S., Poomı, H.S., Syed, N.H., And Kearsey, M.J., 1999, Fast and reliable genotype validation using microsatellite markers in Arabidopsis thaliana. Theor. Appl. Genet. 98: 462-464.
- Walton, M., 1993, Molecular markers: which ones to use? Seed World, July (1993), p: 23-29.
- Wang, X., & Wang, L. (2016). GMATA: an integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing. Frontiers in plant science, 7, 1350.
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. Nucleic Acids Res. 46(W1), W296-W303 (2018).
- Wei, Y.M., Hou, Y.C., Yan, Z.H., Wu, W., Zhang, Z.Q., Liu, D.C., Zheng, Y.L., 2005, DNA Polimorphism Divergence in Chinese Wheat (Triticum aestivum L.) Landraces Highly Resistant to Fusarium Head Blight. J. Appl. Genet., 46(1); 3-9.
- Wei, Y.M., Zheng, Y.L., Yan, Z.H., Wu, W., Zhang, Z.Q., Lan, X.J., 2003, Genetic Diversity in Chinese Endemic Wheats Based on STS and SSR Markers. Wheat Infor. Serv., 97; 9-15.
- Welsh, J. ve M. McClelland, 1990, Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res, 18, 7213–7218.
- Williams, J.G.K., A.R. Kublelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, S.V. Tingey, 1990, DNA polymorphism's amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., 18, 6531- 6535.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001, Genetik Markörler ve Analiz Metotları. Bitki Biyoteknolojisi II., Bölüm 23, 334-363.

- Yıldırım, A., Karadağ, Y., Sakin, M.A., Gökmen, S., Kandemir, N., Akkaya, M.S., and Yıldırım, F., 2004a. Transfer of stripe rust resistance gene Yr26 to Turkish wheats using microsatellite markers. *Cereal Research Communications*, 32: 25-30.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski, D. Labuda, 1994, Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored PCR amplification. *Genomics*, 20, 176-183.
- Ziraat Mühendisleri Odası., 2018, Buğday Raporu. [http://www.zmo.org.tr/genel/bizden\\_detay.php?kod=30125&tipi=17&sube=0](http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30125&tipi=17&sube=0).
- Zohary, D., Hopf, M. (2000). *Domestication of plants in the Old World*. 3rd edn. 316pp, New York: Oxford University Press.