



Research /Araştırma

BAZI SİYEZ BUĞDAYLARININ ISSR MARKÖRLERİ İLE KARAKTERİZASYONU

Fatih DEMİREL^{1*}

ÖZET

Bu çalışmada 14 siyez buğdayı (*Triticum monococcum* L.) 7 ISSR markörü kullanılarak genetik ilişkileri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda 68 polimorfik bant elde edilmiş olup polimorfizm oranı (P%) ortalama %97.5 olarak hesaplanmıştır. Genetik çeşitlilik (H) değeri 0.38 ile 0.50 arasında olup, ortalama 0.45 olarak belirlenmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.30 ile 0.37 arasında olup, ortalama 0.34 olarak saptanmıştır. Ortalama Jaccard benzerlik değeri 0.4554 olarak tespit edilmiştir. Dendogram sonucuna göre genotipler iki kümede gruplanırken, PCoA grafiğinde dört alt kümeye ayrıldıkları belirlenmiştir. Genetik varyasyonun belirlenmesi ve filogenetik ilişkilerin karakterize edilmesinde ISSR markörlerinden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Siyez Buğdayı, *Triticum monococcum* L., ISSR, Islah

GENETIC DIVERSITY OF SOME EINKORN WHEATS BY ISSR MARKERS

ABSTRACT

In this study, genetic relationships of 14 einkorn wheats (*Triticum monococcum* L.) were determined using 7 ISSR markers. As a result of the research, 68 polymorphic bands were obtained and the polymorphism ratio (P%) was calculated as average 97.5%. The genetic diversity (H) value varied between 0.38 and 0.50, and the average H value was determined as 0.45. Polymorphism information content (PIC) changed between 0.30 and 0.37 with an average 0.34. The average of Jaccard similarity index was determined as 0.4554. According to the result of the dendogram, all genotypes are grouped into two clusters. On the other hand, PCoA analysis demonstrated that einkorn wheats divided into four sub-clusters in graph. In conclusion, ISSR markers can be used to determine genetic variation and characterize phylogenetic relationships.

Key words: Einkorn, *Triticum monococcum* L., ISSR, Breeding

¹ Fatih DEMİREL (Orcid ID: 0000-0002-6846-8422), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Fatih DEMİREL, e-mail: drfdemirel@gmail.com

GİRİŞ

Bitki gen kaynağı zenginliği açısından Türkiye önemli bir bitki örtüsüne sahip olduğu bilinmektedir. Türkiye, Dünya gen merkezleri içerisinde Akdeniz ve Asya Minör grubu içerisinde bulunmasından dolayı zengin bir floraya sahiptir (Vavilov, 1994). Türkiye'nin zengin florası, bulunduğu konum ve birçok bitki türüne gen kaynağı ve orijin (anavatan) olmasından kaynaklanmaktadır (Eren, 2014). Türkiye'nin anavatan olduğu bu bitki türlerinin başında hiç şüphesiz buğday (*Triticum* sp.) bitkisi gelmektedir. Buğday bitkisi artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyacının karşılanmasında en önemli kaynak olduğu bilinmektedir. Türkiye'de buğday bitkisi binlerce yıllık tarihiyle önemli bir kültür bitkisi olarak değerlendirilmektedir (Zohary ve Hopf, 1988; Harlan, 1995). Siyez buğdayının ise üretim miktarının artacağı bildirilmektedir (Demirel, 2020).

Buğday bitkisinde verim ve kalitenin artırılmasında çeşitlerin belirlenmesi amacıyla genetik kaynaklar ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır. Buğday ıslah çalışmalarında kullanılması gereken önemli bir genetik kaynak ise siyez (*Triticum monococcum* L.) buğdayıdır. Siyez, günümüzde kullanılan buğday genotiplerinin atasal buğdaylarından biri olarak kabul edilmektedir (Karabak ve ark., 2019; Kaplan, 2020). Kültürü binlerce yıl öncesine dayanan siyez buğdayı, hayvan ve insan beslemesi açısından oldukça önemlidir. Kültürü yapılan buğday çeşitlerine kıyasla daha çok protein, yağ ve organik madde içerdiği çalışmalarla belirlenmiştir. Ayrıca siyez buğdayının olumsuz iklim ve verimsiz toprak koşullarında yetişebildiği bildirilmiştir (Zengin, 2015; Karabak ve ark., 2019). Morfolojik ve moleküler çalışmalarda siyez buğdayları araştırmacılar tarafından ıslah ve moleküler çalışmaları için kaynak olarak kullanılmıştır (Gurcan, 2017; Demirel, 2019; Eren, 2020).

Bitki ıslah çalışmalarında genotipler arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde moleküler markörler kullanılmaktadır. Moleküler markör gibi biyoteknolojik araçlar, gen bölgelerinin karakterize edilmesi, gen keşfi, genetik haritalama ve bazı taksonomi çalışmalara katkı sağlamaktadır (Kwon ve ark., 2005; Soorni ve ark., 2013). Özellikle genetik varyasyonun, bağlantı haritalarının belirlenmesiyle çeşitler arası genomik değişkenliği ortaya koymaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005). Moleküler markör tekniği yaklaşık yarım asırdır PCR temelli olarak kullanılmaktadır (Schulman 2007; Hubby ve Lewontin, 1966). Genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan SSR, SRAP, REMAP, IRAP, RBIP, SSAP, SNP gibi çeşitli moleküler markör teknikleri bulunmaktadır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesi için farklı teknikler kullanılması gerekmektedir. Bu tekniklerin dışında günümüzde kullanılan bir diğer moleküler teknik ise ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) tekniğidir. Bu nedenle farklı markör teknikleri ile genetik varyasyonun belirlenmesi oldukça önemlidir.

El-Assal ve Gaber (2012) RAPD, ISSR ve SSR belirteçlerinin genetik ilişki kurma ve Mısır ve Suudi buğday çeşitleri arasında ayırım yapmadaki yeteneklerini inceledikleri çalışmada ISSR belirteçlerinin daha fazla rekürrens (geri tekrarlana bilirlilik) olduğu ve yüksek polimorfizm sağladığı böylece çeşit ayrımcılığında kullanılabilceği sonucuna varmışlardır.

Bu çalışmada son yıllarda önemi artan ve ıslah çalışmalarına katkı sağlaması amacıyla siyez buğdaylarında genetik varyasyonun belirlenmesi ve filogenetik ilişkilerin karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışma Kayseri Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi Bitki Biyoteknolojisi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan siyez buğdayları Iğdır Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü bünyesinde temin edilmiştir.

DNA izolasyonu için 0.4 g yaprak örnekleri kullanılarak, Doyle ve Doyle (1990)'ye göre CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) ekstraksiyon protokolü modifiye edilerek uygulanmıştır. İzole edilen DNA konsantrasyonları 230/280 nm dalga boyunda spektrofotometrik cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümü yapılan DNA'lar 5 ng/µl olacak şekilde PCR analizine hazırlanmıştır. 20 µl'lik PCR kokteyli hazırlanarak, PCR işleminde reaksiyon için 94 °C'de 1 dakika 1 döngü, 94 °C'de 45 saniye markör bağlanma sıcaklığında 45 saniye 72 °C'de 1 dakika 42 döngüyle yapıldıktan sonra 72 °C'de 5 dakika 1 döngü basamakları ile sonlandırılmıştır. PCR yardımıyla çoğaltılan DNA'lar TBE tampon içerisinde %2'lik agaroz jel üzerinde elektroforez kullanılarak 120 V'da 3 saat yürütülmüştür. Elektroforez işleminden elde edilen PCR ürünleri kuyulara eklenmiştir. Elektroforez sonrasında jeller UV ışını altında görüntüleri kayıt altına alınmıştır. Literatür bilgileri doğrultusunda 4 buğday örneği üzerinde yapılan amplifikasyon sonucu 7 primer ile çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan ISSR primerler sırasıyla UBC-845, UBC-840, UBC-823, UBC-851, UBC-826, UBC-818 ve UBC-822'dir. ISSR primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri incelenerek bant varlığı durumunda '1', bant yokluğunda '0' şeklinde skorlanmıştır. Skorumla sonrası polimorfik bant sayısı (PB), polimorfizm oranı (P%), gen çeşitliliği (H) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) gibi parametreler belirlenmiştir (Peakall ve Smouse, 2006; Liu ve Muse, 2005). Genotiplere ait benzerlik indeksi Jaccard (1912)'a göre NTSYS-pc V2.11 programı kullanılarak belirlenmiştir (Rohlf, 2000). Genotipler arası benzerlik dendogramı MEGA programı kullanılarak oluşturulmuştur (Kumar ve ark, 1994). İki boyutlu PCoA grafik GENALEX V6.5 programı kullanılarak elde edilmiştir (Peakall ve Smouse, 2006).

Çizelge 1. Siyez buğdayı genotiplerine ait amplifikasyon sonuçları

	Sekans	Sıcaklık	Bant Sayısı		Çeşitlilik Değerleri	
			PB	P%	H	PIC
UBC-845	(CT)8RG	45	12	90	0.38	0.30
UBC-840	(GA)8YT	45	12	100	0.44	0.33
UBC-823	(TC)8C	45	10	97.5	0.43	0.33
UBC-851	(GT)8YG	45	8	100	0.49	0.37
UBC-826	(AC)8C	45	12	95	0.50	0.37
UBC-818	(CA)8G	45	8	100	0.48	0.36
UBC-822	(TC)8A	45	6	100	0.49	0.37
Toplam			68			
Ortalama			9.71	97.5	0.45	0.34

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada 14 siyez buğdayı ile 7 ISSR primeri kullanılarak polimorfizm durumları incelenmiştir. 14 siyez buğdayına ait amplifikasyon sonuçları Çizelge 1'de detaylı bir şekilde verilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı 9.71 ve toplam polimorfik bant sayısı ise 68 olarak belirlenmiştir. Çalışmada %100 polimorfizm elde edilen primerler sırasıyla UBC-840, UBC-851, UBC-818 ve UBC-822 markörleri olduğu saptanmıştır. En düşük polimorfizm oranı ise %90 ile UBC-845 marköründen elde edilmiştir. Ayrıca ortalama polimorfizm oranı %97.5 olarak belirlenmiştir. Olgun et al. (2015) 5 ISSR primeri ile yaptıkları çalışmada %95.5 oranında polimorfizm elde etmişlerdir. Ayrıca Altındal ve ark. (2017) tritikale çeşitlerinde 16 primer kullanarak ortalama %42.27 polimorfizm oranı bildirmişlerdir. Zhu ve ark. (2011) beş ISSR markörü ile yeniden üretilebilir toplam 43 farklı bant ortaya çıkarmış, 43 bantın 29'unun (%67.44) polimorfik olduğunu raporlamışlardır. Abdel-Lateif ve Hewedy (2018) yürüttükleri çalışmada buğday genotiplerini beş ISSR primerleri ile analiz ederek toplam 34 bantın oluştuğunu ve bu bantlardan 23'ünün polimorfik olduğunu (P% = %68) sunmuşlardır.

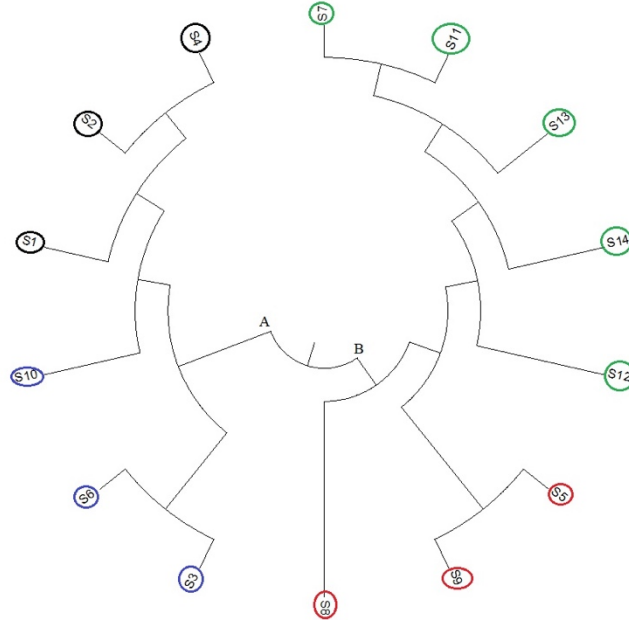
Çalışma sonucunda ortalama H değeri $H=0.45$ iken, en yüksek H değeri $H=0.50$ ile UBC-826 marköründe ve en düşük H değeri ise 0.38 ile UBC-845 marköründe belirlenmiştir. Dashchi ve ark. (2012) yürüttükleri çalışmada ISSR analizi kullanarak İran ekmeçlik buğdaylarında ortalama H değerini 0.36 olarak rapor etmişlerdir. Ma ve ark. (2006) buğdayda genetik yakınlığı incelemek için ISSR markörlerini kullanmış, PIC değerlerini en düşük 0.601 olarak, en yüksek 0.941 olarak ve ortalamasını da 0.791 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki PIC değeri Ma ve ark. (2006)'nın PIC değerinden düşük çıkmış olup, onların buğday genotiplerini ıslah hatlarından seçmiş olmalarından kaynaklı olabileceği kanaatine varılmıştır. Benzer bir çalışmada Khaled ve ark. (2015) ISSR yöntemi ile ortalama PIC değerini 0.10 olarak, RAPD yöntemi ile ortalama PIC değerini 0.15 olarak raporlamışlardır. Etminan ve ark. (2016) ise ISSR analizi ile elde ettikleri bulgularda ortalama PIC değerini 0.41 olarak bulmuşlardır.

PIC, mevcut her bir bandın ilişki frekanslarını hesaba kattığı için, ham bant sayısından biraz daha iyi bir çeşitlilik tahmini sağlar (Cömertpay ve ark., 2012).

Çizelge 2. Siyez buğdaylarına ait Jaccard benzerlik değerleri

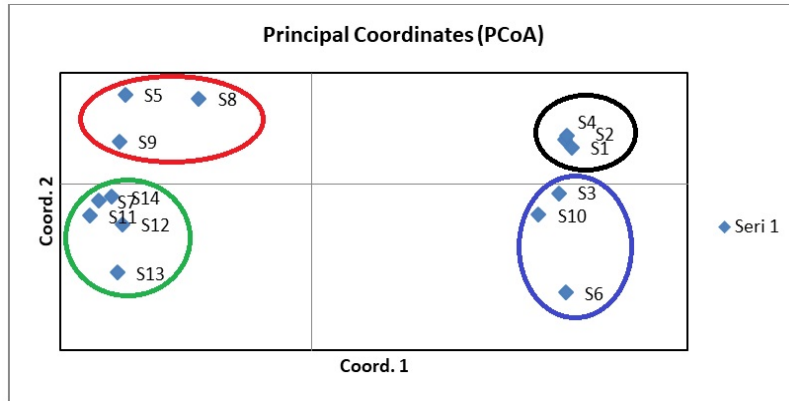
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14
S1	1													
S2	0.9600	1												
S3	0.6667	0.6364	1											
S4	0.9231	0.9597	0.6176	1										
S5	0.1053	0.1071	0.1333	0.1053	1									
S6	0.6333	0.6000	0.6875	0.5806	0.0164	1								
S7	0.0508	0.0517	0.0635	0.0508	0.7857	0.0167	1							
S8	0.1509	0.1538	0.1786	0.1509	0.6818	0.1111	0.6222	1						
S9	0.0714	0.0727	0.0833	0.0714	0.7805	0.052	0.7561	0.5435	1					
S10	0.7143	0.6786	0.5143	0.6552	0.0893	0.6207	0.0909	0.1800	0.0357	1				
S11	0.0339	0.0345	0.0476	0.0339	0.7619	0.0169	0.8718	0.6000	0.8205	0.0536	1			
S12	0.0536	0.0545	0.0667	0.0536	0.7143	0.0357	0.775	0.5556	0.6829	0.0556	0.7949	1		
S13	0.0351	0.0357	0.0667	0.0351	0.6744	0.0545	0.8205	0.5556	0.6829	0.0755	0.8421	0.7436	1	
S14	0.0357	0.0364	0.0500	0.0357	0.7317	0.5100	0.7500	0.5682	0.7436	0.0370	0.8158	0.7179	0.7632	1

Siyez buğdayları arasındaki benzerlik oranlarını belirlemek için Jaccard benzerlik değerlerinden yararlanılmıştır. S1 ve S2 genotipleri 0.96'lık değer ile birbirine en çok benzeyen genotipler olurken S5 ve S6 genotipleri 0.0164'lük değer ile birbirine en az benzeyen genotipler olarak saptanmıştır. Jaccard benzerlik değerleri ortalaması ise 0.4554 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2). Carvalho ve ark. (2009) ISSR markörlerini kullanarak Portekiz ekmeçlik ve makarnalık buğdaylarında genetik çeşitliliği araştırdıkları çalışmada Jaccard benzerlik değerlerinin 0.32 ile 0.85 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Burkhamer ve ark. (1998)'da yaptıkları benzer bir çalışmada da buğdaylar arası benzerlik değerlerinin 0.34 ile 0.81 aralığında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu değerlerin 0.0164'e kadar düşmesinin sebebi seçilmiş siyez buğdaylarındaki genetik uzaklığın yüksek olmasından kaynaklandığını göstermektedir.



Şekil 1. Siyez buğdaylarına ait dendogram

Dendogram ve PCoA (Temel koordinat analizi) birlikte incelendiğinde siyez buğdayları iki farklı kümeye ayrıldığı (A ve B) daha sonra dört farklı alt kümelere bölündüğü saptanmıştır (Şekil 1). A kümesi içerisinde Şekil 2’de gösterilmiş siyah ve mavi kümeler bulunmaktadır. Siyak kümeyi S1, S2 ve S4 genotipleri oluştururken, mavi kümeyi ise S3, S6 ve S10 genotipleri oluşturmaktadır. B kümesi içerisinde Şekil 2’de gösterilmiş kırmızı ve yeşil kümeler yer almaktadır. S5, S8 ve S9 genotipleri kırmızı kümede bulunurken, S7, S11, S12, S13 ve S14 genotipleri ise yeşil kümede gruplanmıştır.



Şekil 2. Siyez buğdaylarına ait PCoA grafiği

SONUÇ

Bu çalışmada 7 ISSR markörü ile 68 polimorfik bant elde edilmiş olup 14 siyez genotipi dendograma göre 2 kümeye, PCoA grafiğine göre de 4 alt kümeye ayrıldığı belirlenmiştir. Yeni spesifik belirteçlerin tanımlanması, yetiştiricilerin ıslah programları için buğday germplazmasını değerlendirmesi çok önemlidir. Genetik varyasyonun belirlenmesi, filogenetik ilişkilerin karakterize edilmesi ve ISSR markörlerinin yeterliliğini araştırdığımız bu çalışma ile ıslahçılar ve araştırmacılar için faydalı bilgiler sunulmuştur.

Planlanacak ıslah çalışmaları için bu araştırmanın sonuçları değerli katkılar sağlayabileceği fakat farklı markör sistemleri ve morfolojik araştırmalarla da çalışmanın desteklenmesi gerekliliği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Lateif, K. S., & Hewedy, O. A. (2018). Genetic diversity among Egyptian wheat cultivars using SCoT and ISSR markers. *SABRAO J Breed Genet*, 50(1), 36-45.
- Altındal, D., Altındal, N., Akgün, İ. (2017). Tritikale (X Triticosecale Wittmack) Genotiplerinin ISSR-PCR Yöntemi ile Moleküler Düzeyde Tanımlanması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(3), 19-26.
- Burkhamer, R. L., Lanning, S. P., Martens, R. J., Martin, J. M., & Talbert, L. E. (1998). Predicting progeny variance from parental divergence in hard red spring wheat. *Crop Science*, 38(1), 243-248.
- Carvalho, A., Lima-Brito, J., Maças, B., & Guedes-Pinto, H. (2009). Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. *Biochemical Genetics*, 47(3-4), 276-294.
- Cömertpay, G., Baloch, F. S., Kilian, B., Ülger, A. C., & Özkan, H. (2012). Diversity assessment of Turkish maize landraces based on fluorescent labelled SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30(2), 261-274.
- Dashchi, S., Abdollahi Mandoulakani, B., Darvishzadeh, R., & Bernousi, I. (2012). Molecular similarity relationships among Iranian bread wheat cultivars and breeding lines using ISSR markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(2), 254-260.
- Demirel, F., Gurcan, K., & Akar, T. (2019). Clustering Analysis of Morphological and Phenological Data in Einkorn and Emmer Wheats Collected from Kastamonu Region. 5(11), 25-36.
- Demirel, F., & Barış, E. (2020). Production Projection of Einkorn and Emmer Wheat Cultivated in Turkey. *Journal of Agriculture*, 3(1), 1-5.
- Doyle, J.J., Doyle, J.E., (1990). Isolation of Plant DNA From Fresh Plant Tissue. *Focus*, 12,13-15.
- El-Assal, S. E. D., & Gaber, A. (2012). Discrimination capacity of RAPD, ISSR and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationship and diversity among Egyptian and Saudi wheat cultivars. *American Journal of Applied Sciences*, 9(5), 724.
- Eren, B., (2014). *Yoncaya (Medicago sativa L.) ait yabani aksesyonların, yerel çeşitlerin ve modern çeşitlerin morfolojik özellikler yönüyle karşılaştırılmaları*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars. 39.
- Eren, B., & Demirel, F. (2020). Fide Gelişim Dönemindeki Bazı Buğday Genotiplerinde Özellikler Arası Korelasyon Analizi. *Journal of Agriculture*, 3(1), 28-32.
- Etminan, A., Pour-Aboughadareh, A., Mohammadi, R., Ahmadi-Rad, A., Noori, A., Mahdavian, Z., & Moradi, Z. (2016). Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(6), 1075-1081.
- Gurcan, K., Demirel, F., Tekin, M., Demirel, S., & Akar, T. (2017). Molecular and agro-morphological characterization of ancient wheat landraces of turkey. *BMC plant biology*, 17(1), 171.
- Gülşen, O., Mutlu, N. (2005). Bitki biliminde kullanılan genetik markörler ve kullanım alanları. *Alatırım*, 4(2), 27-37.
- Harlan, J. R. (1995). *The Living Fields: Our Agricultural Heritage*. Cambridge Univ. Pres. Cambridge. U. K.
- Hubby, J.L., Lewontin, R.C., (1966). A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. the number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54(2): 577-594.
- Jaccard, P. (1912). The distribution of the flora in the alpine zone. *New Phytol.* 11(2):37-50.
- Kaplan, B., (2020). Bazı Fırıncılık Ürünlerinde Siyez Buğday Unu Kullanımının Optimizasyonu, Ürün Kalitesi Ve Raf Ömrü Nitelikleri Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kastamonu. 129
- Karabak, S., Taşçı, R., Ceyhan, V., Özbek, K., Arslan, H. Y. (2019). İhsangazi Tarlalarından Soframıza Kültür Mirası Siyez Buğdayı. *Toprak Su Dergisi*, 86-93.
- Khaled, A. G. A., Motawea, M. H., & Said, A. A. (2015). Identification of ISSR and RAPD markers linked to yield traits in bread wheat under normal and drought conditions. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(2), 243-252.
- Kwon, S. J., Park, K. C., Kim, J. H., Lee, J. K., & Kim, N. S. (2005). Rim 2/Hipa CACTA transposon display; a new genetic marker technique in *Oryza* species. *BMC genetics*, 6(1), 1-13.
- Kumar, S., Tamura, K., & Nei, M. (1994). MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Bioinformatics*, 10(2), 189-191.
- Liu, K., Muse, S.V. (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128-2129.
- Ma, Y. M., Li, S. S., Fan, Y. D., Sun, H. Y., Li, Y. X., & Li, R. J. (2006). Genetic Diversity of ISSR Loci for Wheat Cultivars of Huang-Huai Winter Wheat Region [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 1.

- Olgun, M., Ayter, N. G., Başçiftçi, Z. B., Turan, M., Koyuncu, O., ARDIÇ, M., ... & TAKIL, E. (2015). Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Rpd ve Issr Analizleriyle Genetik Farklılıkların Belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(2), 94-101.
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.
- Rohlf, J.F., (2000). NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, Setauket, New York.
- Schulman, A.H., (2007). Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, 158: 313 – 321.
- Soorni, A., Nazeri, V., Fattahi, R., & Khadivi-Khub, A. (2013). DNA fingerprinting of *Leonurus cardiaca* L. germplasm in Iran using amplified fragment length polymorphism and inter-retrotransposon amplified polymorphism. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 438-447.
- Vavilov, N. (1994). *Origin and Geography of Cultivated Crops*. Cambridge Univ. Press. U. K.
- Zengin, G. (2015). Bazı ilkel buğdaylarda kalite parametrelerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Selçuk Üniversitesi, Konya. 1-81
- Zhu, Y., Hu, J., Han, R., Wang, Y., & Zhu, S. (2011). Fingerprinting and Identification of Closely Related Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars Using ISSR and Fluorescence-Labeled TP-M13-SSR Markers. *Australian journal of crop science*, 5(7), 846.
- Zohary DandHopf, M. (1988). *Domestication of Plants in the Old World*. Clarendon Press, Oxford, UK.