



Araştırma Makalesi (Research Article)

Cilt 2 - Sayı 4: 194-202 / Ekim 2019
(Volume 2 - Issue 4: 194-202 / October 2019)

SERİ 82 EKMEKLİK BUĞDAY M₃ MUTANTLARININ FONKSİYONEL MARKÖRLERLE KARAKTERİZASYONU

Hülya KİRAZ¹, İlker YÜCE¹, Özgür KEKİLLİ², Harun OCAKTAN¹, Münire TOPSAKAL¹,
Numan Yıldırım GÜROCAK¹, Hatice OSANMAZ¹, Fatih Mehmet KILINÇ¹, Tuğba
BAŞKONUŞ², Ziya DUMLUPINAR^{1*}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

Gönderi: 07 Ağustos 2019; **Kabul:** 16 Ağustos 2019; **Yayınlanma:** 01 Ekim 2019
(**Received:** August 07, 2019; **Accepted:** August 16, 2019; **Published:** October 01, 2019)

Özet

Bu çalışmada Seri 82 ekmeçlik buğday çeşidi ve 6 mutant hattı (Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 ve Seri 82-M₃-6) bazı tarımsal özelliklere ait genler bakımından 17 fonksiyonel DNA markörü kullanarak karakterize edilmiştir. Çalışmada Seri 82 ekmeçlik buğday çeşidi ve 6 mutantını karakterize etmek için, gluten mukavemeti alleli (Bx7^{OE} markörü), sarı pas dayanıklılık genleri *Yr45* (Xwgp115 markörü) ve *Yr51* (SUN104 markörü), kara pas dayanıklılık geni *Sr49* (SUN209 ve SUN479 markörleri), vernalizasyon geni *Vrn-A1* (VRN1 markörü), cüçelik geni *Rht-B1a* (uzun) (BF-WR1 markörü), *Rht-B1b* (kısa) (BF-MR1 markörü), *Rht-D1a* geni (uzun) (DF2-WR2 markörü), *Rht-D1b* geni (kısa) (DF MR2 markörü), *Rht8* geni (WMS261 markörü), yüksek protein içeriği geni *Gpc-B1* (UHW89 markörü), çavdar translokasyonu genleri (RIS, NOR ve SCM9 markörleri), dane sertliği *Pina* alleli (Pina-D1 markörü) ve mumsuluk *Wx-A1* geni (SUN1 markörü)'ne ait markörler kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, 17 DNA marköründen 61 allel elde edilirken, ortalama allel sayısı da 3.58 olmuştur. En yüksek bant sayısı RIS ve SCM9 markörlerinden 6 adet ile elde edilirken, en düşük allel sayısı Bx7^{OE}, Xwgp115 ve SUN209 markörlerinden elde edilmiştir. Ortalama polimorfizmi bilgi içeriği (PIC) değeri 0.79 olarak belirlenirken, en yüksek PIC değeri BF-WR1 marköründen 0.99 değeri ile elde edilmiştir. Allel spesifik markörlerden elde edilen bantlar değerlendirildiğinde Seri 82, Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 genotiplerinde kara pas *Sr49* geninin bulunmuş, Seri 82-M₃-2 genotipinde cüçelik (kısa) gen bölgesi tespit edilmiş ve Seri 82, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 ve Seri 82-M₃-6 genotiplerinde cüçelik (uzun) gen bölgesi, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 genotipinde cüçelik (*Rht8*) gen bölgesi ve Seri 82 ve tüm mutantlarında çavdar translokasyonlarına ait gen bölgeleri tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ekmeçlik buğday, Fonksiyonel DNA markörleri, Mutasyon, Mutant











Characterization of M₃ Mutants of Seri 82 Bread Wheat Cultivar Using Functional Markers

Abstract: In this study, Seri 82 bread wheat and 6 mutant lines (Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 and Seri 82-M₃-6) were screened for some traits using 17 allele specific DNA markers. In the study Seri 82 bread wheat and 6 mutant lines characterized for alleles gluten strength (Bx7^{OE} marker), yellow rust *Yr45* (Xwgp115 marker) and *Yr51* (SUN104 marker), stem rust *Sr49* (SUN209 and SUN479 markers), vernalisation *Vrn-A1* (VRN1 marker), dwarfing *Rht-B1a* (tall) (BF-WR1 marker), *Rht-B1b* (short) (BF-MR1 marker), *Rht-D1a* (tall) (DF2-WR2 marker), *Rht-D1b* (short) (DF MR2 marker), *Rht8* (WMS261 marker), high protein content *Gpc-B1* (UHW89 marker), rye translocation (RIS, NOR and SCM9 markers), grain hardness *Pina* (Pina-D1 marker) and waxy *Wx-A1* (SUN1 marker). According to the results, 61 polymorphic bands obtained from 17 DNA markers and the average allele number was 3.58. The highest band numbers were obtained from RIS and SCM9 markers with 6 bands, while the lowest band numbers were obtained from Bx7^{OE}, Xwgp115 and SUN209 markers. The average polymorphism information content (PIC) value was determined as 0.79, while the highest PIC value was obtained from BF-WR1 markers as 0.99. As the allele specific markers evaluated stem rust *Sr49* was determined in Seri 82, Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4 and Seri 82-M₃-6 genotypes while dwarfing gene (short) screened in Seri 82-M₃-2 genotype and dwarfing gene (tall) determined on the Seri 82, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 and Seri 82-M₃-6 genotypes. *Rht8* dwarfing gene was found in Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-4 and Seri 82-M₃-6 genotypes and rye translocation was found in all mutant lines.

Keywords: Bread wheat, Functional DNA markers, mutagenesis, mutant

*Corresponding author: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

E mail: zdumlupinar@ksu.edu.tr (Z. DURLUPINAR)

Hülya KİRAZ		https://orcid.org/0000-0001-9594-313X
İlker YÜCE		https://orcid.org/0000-0002-9761-3561
Özgür KEKİLLİ		https://orcid.org/0000-0002-1509-9977
Harun OCAKTAN		https://orcid.org/0000-0003-1711-5712
Münire TOPSAKAL		https://orcid.org/0000-0002-9143-4028
Numan Yıldırım GÜROCAK		https://orcid.org/0000-0003-2741-8741
Hatice OSANMAZ		https://orcid.org/0000-0002-5516-741X
Fatih Mehmet KILINÇ		https://orcid.org/0000-0001-6780-030X
Tuğba BAŞKONUŞ		https://orcid.org/0000-0002-0744-6086
Ziya DURLUPINAR		https://orcid.org/0000-0003-3119-6926

Cite as: Kiraz H, Yüce İ, Kaya E, Kekilli Ö, Ocaktan H, Topsakal M, Gürocak NY, Osanmaz H, Kılınç FM, Başkonuş T, Dumlupınar Z. 2019. Characterization of M₃ mutants of seri 82 bread wheat cultivar using functional markers. BSJ Agri, 2(4): 194-202.

1. Giriş

İnsanların eski çağlardan günümüze kadar tükettikleri besin maddelerinin başında tahıllar gelmektedir. Tahıl terimi "*Graminae*" familyasına ait tohumları olan buğday, mısır, arpa, çavdar vb. gibi tanelerin tümünü ifade etmek için kullanılır (Altan, 1990). *Graminae* (Buğdaygiller) familyasına ait olan ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum* L.), insan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında ekim alanının genişliği ve üretim miktarı bakımından gerek dünyada gerekse ülkemizde oldukça önemli bir yeri vardır (Yağdı, 2004). Dünyanın en önemli kültür bitkilerinden biri olan buğdayın yeryüzünde farklı coğrafik alanlara yayılması, insanların beslenmesinde temel gıda maddesi olması, besinlerden alınan kalorinin yaklaşık % 2'sini tek başına karşılaması gibi özelliklerinden dolayı ıslah çalışmalarında ilk sıralarda yer almaktadır (Toklu ve Yağbasanlar, 2005). Buğdayın gelişme hızının yüksek olması, geniş adaptasyon yeteneğine sahip olması, verimli bir bitki olması ve birçok ülkenin beslenme, ticari, sosyo-ekonomik ihtiyaçlarını karşılama gibi nedenlerinden dolayı dünya çapında yaklaşık 770 milyon ton üretimi yapılmaktadır (FAO, 2019). Ülkemizde ise tarla tarımının

temelini oluşturan ve hemen her bölgemizde yetişebilen buğday; kullanım alanlarının çeşitliliği, tarımın tamamıyla mekanize olması, destekleme alımlarının olması ve yetiştiriciliğinin kolay olması gibi özelliklerinden dolayı ekiliş ve üretim bakımından yaklaşık 7.2 milyon hektar alanda 20 milyon ton üretim yapılarak ilk sırada yer almaktadır (TÜİK, 2019).

Kültür buğdaylarının gen havuzlarının zenginleştirilmesi ve iyileştirilmesinde buğdayın yabani akrabalarından *Aeg. squarrosa* (2n=14 DD) ile *Triticum durum* (2n=28 AABB) veya *Triticum dicococcum* (2n=28 AABB) türleri arasında melezlemeler yapıldıktan sonra embriyo kurtarma tekniği kullanılarak primer sentetik hekzaploid ekmeklik buğdaylar (2n=42 AABBDD) elde edilmektedir (Mujeeb-Kazi ve ark., 1996). Ekmeklik buğday, farklı akrabalarından elde edilmiş A, B ve D genomunu bulunduran bir kültür bitkisidir ve genom uzunluğu 16 × 10⁹ baz çiftinden oluşmaktadır (Geboloğlu ve Furan, 2017). Ekmeklik buğdayın tarımsal açıdan önemli karakterleri içermesi ve insan beslenmesinde en çok tercih edilen tahıl bitkisi olması nedeniyle çok fazla moleküler haritalama çalışmalarına tabi tutulmuş ve bu haritaların çoğunluğu yabani ve interspesifik melezlerden geliştirilmiştir

(Messmer ve ark., 1999). Geliştirilen yeni genotiplerin gelecekte oluşabilecek iklimsel değişikliklere yönelik, hastalık ve zararlılara karşı direnç kazandırılması gibi amaca uygun olarak kullanılabilmesi için ıslah çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Buğday tanesinde karbonhidrat, yağ ve proteinin yanında insan ve hayvan beslenmesinde önemli derecede rol oynayan vitaminler de bulunmakta (Kün, 1988) ve diğer bitkilerde olduğu gibi, buğday ıslah programlarında da hem tane hem de kalite özellikleri bakımından yüksek potansiyele sahip bitkilerin geliştirilmesi hedeflenmektedir (Özbay, 2014).

Islah çalışmalarının temel amacı; bitkilerin genotiplerinde yapılacak değişiklikler ile ortaya çıkan varyasyona seleksiyon çalışmaları yapılarak kalitelisi iyileştirilen, yüksek verime sahip, hastalıklara ve zararlı etmenlere daha dayanıklı, gelişmiş adaptasyon yeteneğine sahip olabilen yeni çeşitlerin, olabildiğince daha kısa sürede ve daha az maliyetle elde etmeye çalışmaktır. Gerçekleştirilen bitki ıslah çalışmalarında melezleme yapılarak genetik analizler ve bitki seleksiyonu geliştirilmeye çalışılsa da bu işlemler çok zaman isteyen, yorucu ve maliyeti yüksek olan çalışmalardır. Bitkilerin genetik özelliklerinin değerlendirilmesi ve kullanım amacına yönelik olarak çalışmalar yapılması göz önünde bulundurularak son zamanlarda DNA, izoenzim ve protein markörü gibi moleküler markörler araştırma ve uygulama alanlarında kullanımları oldukça önem teşkil etmekle birlikte bu markörler ıslah çalışmalarında kullanıma olanağı sunmaktadır (Halward ve ark., 1992). Klasik ıslah çalışmalarını kolaylaştırıp, başarısını artıran ve hızını artıracak olan tekniklerden markör destekli seleksiyon (MAS) ilk sırada gelmektedir (Yıldırım, 2005) ve MAS ile buğday ıslah çalışmalarında geleneksel yöntemler ile seleksiyonu zor veya mümkün olmayan karakterlerin seleksiyonu gerçekleştirilebilmektedir (Yıldırım, 2009). Son zamanlarda çalışmalarda kullanımları yaygınlaşan moleküler markörler; bitkilerin genetik teşhisinde, transformant karakterizasyonunda, kalitatif özellik ve kantitatif özelliklere ait ıslah çalışmalarında, filogenetik çalışmalarda (Rafalski ve ark., 1996), türlerin taksonomik tanımlanması yapılarak filogenetik akrabalarının saptanabilmesinde, linkage haritalamalarında çeşit tanımlanmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde kullanılmaktadır (Lowe ve ark., 1996; Ates Sönmezoğlu, 2006; Dede, 2007). Markör sistemleri; polimorfik, az maliyetli, kolay ve hızlı tespit edebilmesi, eş-baskın kalıtıma sahip olması, genoma uniform dağılışı göstermesi, ön-sekans bilgisi içermeyen genomlarda bile uygulanabilir olması gibi özelliklerine göre farklılık göstermektedir (Gupta ve ark., 1999; Atak, 2004).

Moleküler markörlerin diğer markörlere nazaran güvenilir sonuçlar elde edilmesi, çevre faktörlerinden etkilenmemeleri, bitkilerin her döneminde kullanılabilir olması, bitkilerde olgunlaşmaları beklenmeden uygulanabilmeleri ve geniş varyasyona sahip olmaları gibi avantajlarından dolayı kullanımları oldukça yaygındır (Özcan ve ark., 2001). Özellikle buğdayda çok zaman

alacak olan ıslah çalışmaları moleküler markörler kullanılarak daha kısa sürede gerçekleştirilerek sarı pas, kara pas ve külleme gibi hastalıklara dayanıklılık genlerinin aktarımı yanında, mumsuluk (Waxy genleri), vernalizasyon, cücelik ve gluten mukavemeti gibi özelliklere ait önemli genlerin de yeni çeşitlere aktarımı gerçekleştirilmiştir (Sönmezoğlu ve ark.,2010).

Buğday ıslah çalışmalarında kullanılan moleküler DNA markörlerinden en önemlileri hibridizasyona dayalı Sınırlı bant uzunluğu polimorfizmi (RFLP), PCR bazlı tesadüfi çoğaltılan DNA dizileri (RAPD), basit dizi tekrarları (SSR) veya mikrosatellitler, çoğaltılmış bant uzunlukları polimorfizmi (AFLP) ve etiketlenmiş dizi bölgeleri (STS) markörleridir.

Araştırmada, ülkemizin yazlık dilimi ekmeklik buğday üretim alanlarında geniş bir ekim alanına sahip, tane verimi yüksek, beyaz kılıçlı, protein oranı yüksek olan ve sarı pasa hassasiyetinden dolayı artık ekimi tercih edilmeyen Seri 82 ekmeklik buğday çeşidi ve bu çeşide ait 6 adet M₃ mutant popülasyonu kullanılmış ve Seri 82 ekmeklik buğday çeşidinin M₃ mutantlarının fonksiyonel DNA markörleri ile karakterizasyonu amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki Materyali

Araştırmada, ülkemizin yazlık dilimi ekmeklik buğday üretim alanlarında geniş bir ekim alanına sahip, tane verimi yüksek, beyaz kılıçlı, protein oranı yüksek olan ve sarı pasa hassasiyetinden dolayı artık ekimi tercih edilmeyen Seri 82 ekmeklik buğday çeşidi ve bu çeşide ait 6 adet M₃ mutant popülasyonu kullanılmıştır. Seri 82 mutant hatlarının DNA'larının elde edilmesi için genotiplere ait tohumlar torf+kum+toprak karışımını içeren viyollere ekilmiş ve bitki büyüme kabiniinde 25 °C sıcaklıkta 2 yapraklı döneme kadar yetiştirilmiştir.

2.2. DNA İzolasyonu

Ekmeklik buğday genotiplerine ait yaprak örnekleri laboratuvar ortamında 2 ml'lik ependorf tüpler içerisine alınmıştır. Alınan bu örnekler sıvı azot yardımıyla öğütülmüş ve sonrasında DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu cetyl trimethyl ammonium bromide (cTAB) metoduna göre (Oliver ve ark., 2010) aşağıdaki gibi yapılmıştır.

Buğday genotiplerinden alınan örnekler, sıvı azot kullanılarak steril çubuk yardımıyla 2 ml'lik ependorf tüpler içerisinde parçalanarak öğütülmüştür. Tüplerin içerisine 1 ml izolasyon solüsyonu (1 M Tris-HCl (pH:8), 0.5 M EDTA (pH:8.9), 5 M NaCl, % 2 w/v cTAB, % 2 polyvinyl-pyrrolidone-40, % 5 sarcosyl) eklenerek 65 °C'de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir (20 dakikada bir alt üst edilerek). Sıcak su banyosundan alınan örnekler üzerine çeker ocak içerisinde 1 ml chloroform: izoamil alkol (24:1) eklenerek 10000 (rpm) devirde 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj bittikten sonra üstte kalan sıvı kısım yaprak parçalarıyla karıştırılmadan pipet yardımıyla steril yeni tüplere alınmıştır. Yeni tüplere alınan sıvı üzerine 1'er ml -20 °C'de bekletilen

isopropanol eklenerek 10000 (rpm) devirde 30 dakika santrifüj yapılarak DNA'ların tüpün dibine çöktürülmesi sağlanmış ve sıvı kısım DNA'lardan uzaklaştırılmıştır. DNA'ların üzerine 1 ml % 70'lik etanol eklenerek 13000 (rpm) devirde 2 dakika santrifüj yapılmış ve sonrasında sıvı kısım uzaklaştırılarak işlem tekrar edilmiştir. Santrifüj bittikten sonra 1 ml % 96'lık etanol eklenerek 13000 (rpm) devirde 2 dakika santrifüj yapılarak DNA'lar temizlenmiş ve sonrasında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan DNA'lara 250 µl RNase solüsyonu (10mM Tris-HCl (pH: 7-7.5) eklenmiş ve DNA izolasyonu

tamamlanmıştır. İzole edilen DNA'ların Nanodrop spektrofotometre (Thermo Nanodrop 2000 spektrofotometre) cihazı ile DNA konsantrasyonları ve saflikları belirlenmiştir. Daha sonra moleküler markör çalışmalarında kullanılmak üzere DNA konsantrasyonları 50 ng/µl olacak şekilde seyreltilmiştir.

2.3. DNA Primerleri

Çalışmada toplamda 17 adet allel spesifik DNA markörü kullanılarak genotipler moleküler olarak karakterize edilmiştir. Araştırmada kullanılan DNA markörlerine ait bilgiler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan DNA primerleri

No	Primer	Primer Dizisi (5'-3')	Gen Bölgesi	Beklenen bant uzunluğu (bp)	Marker
1	Bx7 ^{OE} _F Bx7 ^{OE} _R	CCTCAGCATGCAAACATGCAGC CTGAAACCTTTGGCCAGTCATGTC	Gluten Mukavemeti	563	Eş-baskın
2	Xwgp115_F Xwgp115_R	AGTGTCTTGTAGGGTATC TCAGGCCGTGAAAAATAT	Sarı pas <i>Yr45</i>	492	Baskın
3	SUN104_F SUN104_R	TGCTATGTGCGTGATGATGA TTACATGCTCCAGCGACTTG	Sarı pas <i>Yr51</i>	225	Baskın
4	SUN479_F SUN479_R	CAAAATGAAATGTGATCCTGTT TCATCTAACCAGCAATGGTAT	Kara pas <i>Sr49</i>	200	Eş-baskın
5	SUN209_F SUN209_R	AG CTATGAGCTTCGCTATTG GTGATTGGTTCGGATTACTTA	Kara pas <i>Sr49</i>	148	Eş-baskın
6	VRN1A_F VRN1- INT1_R	GAAAGGAAAAATCTGCTCG GCACGAAATCGAAATCGAAG	Vernelizasyon <i>Vrn-A1</i>	484 (<i>vrn-A1</i> kışık veya <i>Vrn-A1c</i> yazlık) 715-624 iki bant <i>Vrn-A1a</i> 464 <i>Vrn-A1b</i> yazlık 452 <i>Vrn-A1d</i> yazlık 430 <i>Vrn-A1e</i> yazlık	Baskın
7	BF- WR1	GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG CATCCCCATGGCCATCTCGAGCTG	Cücelik (Uzun) <i>Rht-B1a</i>	273	Baskın
8	BF- MR1	GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG CATCCCCATGGCCATCTCGAGCTA	Cücelik (Kısa) <i>Rht-B1b</i>	273	Baskın
9	DF2- WR2	GGCAAGCAAAGCTTCGCG GGCCATCTCGAGCTGCAC	Cücelik (Uzun) <i>Rht-D1a</i>	264	Baskın
10	DF- MR2	CGCGCAATTATGGCCAGAGATG CCCCATGGCCATCTCGAGCTGCTA	Cücelik (Kısa) <i>Rht-D1b</i>	254	Baskın
11	WMS261_F WMS261_R	CTCCCTGTACGCCTAAGGC CTCGCGTACTAGCCATTG	Cücelik <i>Rht8</i>	165- 204	Eş-baskın
12	UHW89-BF UHW89-R	TCTCCAAGAGGGGAGAGACA TTCTCTACCCATGAATCTAGCA	Yüksek Protein <i>Gpc-B1</i>	122	Eş-baskın
13	RIS_F RIS_R	TAATTTCTGCTTGCTCCATGC ACTGGGGTGCACTGGATTAG	Çavdar Translokasyonları	110	Baskın
14	NOR_F NOR_R	GCATGTAGCGACTAACTCATC CCCAGTTTTCCATGTCCG	Çavdar Translokasyonları	400, 600, 700, 800	Baskın
15	SCM9_F SCM9_R	TGACAACCCCTTTCCCTCGT TCATCGACGCTAAGGAGGACCC	Çavdar Translokasyonları	220	Eş-baskın
16	PinaD1_F PinaD2_R	CCCTGTAGAGACAAAGCTAA TCACCAGTAATAGCCAATAGT	Dane Sertliği <i>Pina</i>	330	Baskın
17	SUN1_F SUN1_R	CGCTCCCTGAAGAGAGAAAGAA ATAGGCACAACCCTAAC	Waxy <i>Wx-A1</i>	<i>Xsun-7A, 219, 233, 260, 271, 275, 285 ve 289</i>	Eş-baskın

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) ve Fragment Analizleri

PZR; 0.02 ml hacminde 96'lık platelerine; 1µl dNTP karışımı (10 mM karışım (A+T+G+C)), 3µl 10x buffer, 1.2 µl MgCl₂, DNA primer çifti (1µl F ve 1µl R), 3 µl (50 ng) genomik DNA, 9.5 µl dH₂O ve 0.3 µl Taq DNA polimeraz (5U/µl, Fermantes) olacak şekilde toplam 20 µl PZR solüsyonu hazırlanmıştır.

PZR reaksiyonları "ependorf" marka thermal cycler cihazında; 95 °C'de 5 dakika çalıştırılmış ve sonrasında 95 °C (DNA iplikçiklerinin ayrışması) 1 dakika, 55 °C (primerlerin yapışması (tavlama)) 1 dakika ve 72 °C (DNA

eşleşmesi)'de 1 dakika çalışarak, 95 °C ile 72 °C arasında 35 döngü yapması sağlanmış ve son aşamada 72 °C'de 5 dakika çalıştırılarak işlem tamamlanmıştır. Elde edilen PZR ürünleri kullanılabildiği kadar -20 °C'ye bırakılmıştır.

Fragment analizleri için PZR işleminden sonra elde edilen ürünler, Qiagen firmasına ait "QIAxcel Advanced System" fragment analiz cihazında yürütülmüş ve genotiplere ait DNA bantları elde edilmiştir.

2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Yedi adet ekmeklik buğday genotipine ait fragment analizi sonucuna bakılarak okuma aralığı 15 baz çifti ile 5000 baz çifti arasında seçilmiştir. Skorlama işlemi esnasında

hassasiyet ± 4 baz çifti kabul edilmiş ve buna göre alleller değerlendirilmiştir.

Çalışma sürecinde elde edilen genetik veriler ile araştırmada kullanılan ekmeçlik buğday genotipleri arasındaki benzerlikler ve genotipe ait alleller hakkında bilgi edinilmiştir. Ekmeçlik buğday genotiplerinin genetik benzerlikleri NTSYSpc 2.21q (Rohlf, 2005) programında Dice indeks (Dice, 1945) kullanılarak hesaplanmıştır. Her bir genotipe ait DNA bantları "0" veya "1" olarak kodlanıp ikili (binary) veri matrisi oluşturulmuştur. Oluşturulan bu matris yardımıyla UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) kullanılarak, genotiplerin birbiri ile benzerliklerini gösteren dendrogram elde edilmiştir.

2.6. Polimorfizm Bilgi İçeriklerinin Hesaplanması

Moleküler analizlerde kullanılan her bir DNA markörü için polimorfizm bilgi içerikleri Weir (1996)'e göre aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$PIC=1-\sum P_i^2$$

Pi; araştırmada çalışılan 7 ekmeçlik buğday genotipinde (6 mutant hat ve Seri 82 genotipi) i'inci allelin frekansdır.

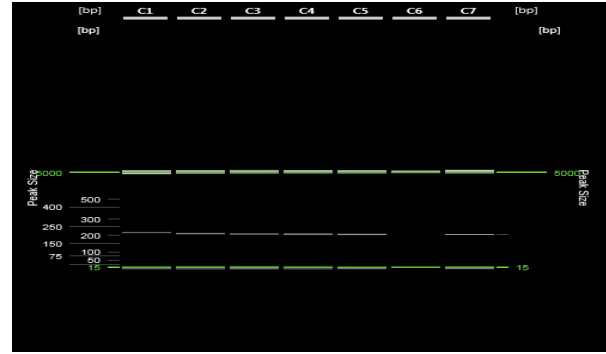
3. Bulgular ve Tartışma

Çalışmada kullanılan 7 adet Seri 82 ekmeçlik buğday genotipinin bazı özellikler bakımından 17 allel spesifik DNA markörleri taranmış, ayrıca elde edilen bantlar kullanılarak genotipler arasındaki genetik benzerlikleri belirlenmiştir. Çalışmada polimorfik bant veren 17 adet DNA markörü ile 7 adet Seri 82 ekmeçlik buğday genotipi taranmış ve 61 adet polimorfik bant bulunmuştur. Primer başına ortalama allel sayısı 3.58 olurken, en fazla allel üreten markörler 6 adet bant ile RIS ve SCM9 markörü olmuş, en az allel üreten markörler ise 2 adet bant ile SUN209, Xwgp115 ve Bx7^{OE} markörleri olmuştur.

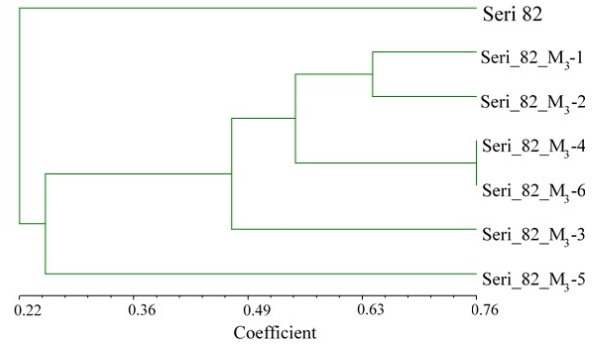
Araştırmada ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0.79 olarak hesaplanmıştır. En yüksek PIC değeri 0.99 (BF-MR1) olarak hesaplanırken, en düşük PIC değeri 0.24 (SUN204) olarak hesaplanmıştır. Genotiplerin taranmasında kullanılan DNA markörlerinin allel sayıları ve polimorfizm bilgi içeriği değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Furan ve Yüce (2009) gerçekleştirdikleri araştırmada, polimorfizm oranını % 66.7 olarak hesaplamışlardır. Geboloğlu ve Furan (2017) çalışmalarında, polimorfizm yüzdesini tüm genotipler arasında % 96.07 olarak tespit etmişlerdir. Olgun ve ark. (2015) çalışmalarında, polimorfizm oranını RAPD markörlerinde % 80 olarak saptarken, ISSR da % 99.5 olarak saptamışlardır. Lima-Brito ve ark. (1996) ekmeçlik buğday x tritordeum F₁ hibritlerinde morfolojik ve verim karakterlerini değerlendirmek için RAPD ve ISSR markörlerini kullanmışlar ve RAPD polimorfizm oranını % 41.2 olarak hesaplarken, ISSR polimorfizm oranını ise % 81.51 olarak hesaplamışlardır.

Araştırmada kullanılan allel spesifik markörlerden SUN479'a ait görüntü Şekil 1'de verilmiş ve diğer markörlere ait veriler ise Tablo 3'te gösterilmiştir. Bununla birlikte, Seri 82 ekmeçlik buğday çeşidi ile 6 adet

Seri 82 M₃ mutant hatları 17 adet DNA markör ile tarandıktan sonra elde edilen verilere göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 2).



Şekil 1. SUN479 primerine ait jel görüntüsü (C1: Seri 82, C2: Seri 82-M₃-1, C3: Seri 82-M₃-2, C4: Seri 82-M₃-3, C5: Seri 82-M₃-4, C6: Seri 82-M₃-5, C7: Seri 82-M₃-6).



Şekil 2. DNA markör verilerine göre oluşturulmuş filogenetik ağaç

Bx7^{OE} primerinin, gluten mukavemetine ait genlerle ilişkili olduğu belirtilmektedir. Araştırmada, Seri 82 ekmeçlik buğday ve mutantlarında gluten mukavemetine ait gen bölgesi tespit edilememiştir. Butow ve ark. (2004) yaptıkları çalışma ile Bx7^{OE} markörünün, kodlanan bölgenin 750 bç kısmına karşılık gelen eş-baskın bir markör olduğunu, *Glu-B1a1* (520 bç) içermeyen hatların genine 43 bazlık bir fazlalıkla 563 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini bildirmişlerdir (Tablo 3). Xwgp115 primerinin, sarı pas (*Yr45* geni) hastalığına dayanıklılık genlerini belirlemede kullanılmaktadır. Seri 82 ekmeçlik buğday ve mutantlarında sarı pas dayanıklılık gen bölgesi (*Yr45*) tespit edilememiştir Li ve ark. (2011), yazlık ve kışık ekmeçlik buğday hatlarında Xwgp115 markörünün 492 baz uzunluğunda DNA bandı oluşturduğunu ve sarı pas hastalığı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). SUN104 primeri, sarı pas dayanıklılık geni *Yr51* gen bölgesini taramaktadır. Seri 82 ve mutantlarında sarı pas (*Yr51*) dayanıklılık gen bölgesi tespit edilememiştir. Randhawa ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada SUN104 markörünün kodladığı gen bölgesinde 225 bç uzunluğunda allel tespit ettiklerini ve bu allelin sarı pas hastalığına dayanıklılık geni ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

SUN479 primerinin, kara pasa dayanıklılık geni *Sr49* ile ilişkilidir. Seri 82 ve mutantlarında, Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 hattında kara pas (*Sr49 geni*) dayanıklılık geninin bulunduğu tespit edilmiştir. Bansal ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada SUN479 markörünün kodladığı gen bölgesinde 200 bç uzunluğunda DNA bandı oluşturduğunu ve kara pas hastalığı dayanıklılık geni ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. (Tablo 3). SUN209 primerinin, kara pasa

dayanıklılık geni *Sr49* gen bölgesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında sadece Seri 82 ekmeçlik buğday genotipinde kara pasa dayanıklılık gen bölgesi tespit edilmiştir. Bansal ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada SUN209 markörünün kodladığı gen bölgesinde 148 bç uzunluğunda DNA bandı oluşturduğunu ve kara pas hastalığı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

Tablo 2. Genotiplerin Taranmasında Kullanılan DNA Primerlerine Ait Allel Sayıları ve PIC Değerleri

No	Primer Adı	Allel Sayısı	PIC Değeri
1	Bx7 ^{OE} _F Bx7 ^{OE} _R	2	0.84
2	Xwgp115_F Xwgp115_R	2	0.96
3	SUN104_F SUN104_R	3	0.63
4	SUN479_F SUN479_R	4	0.93
5	SUN209_F SUN209_R	2	0.24
6	VRN1AF VRN1-INT1R	3	0.95
7	BF- WR1	4	0.99
8	BF- MR1	4	0.95
9	DF2- WR2	5	0.92
10	DF- MR2	4	0.93
11	WMS261_F WMS261_R	3	0.97
12	UHW89-BF UHW89-R	3	0.90
13	RIS_F RIS_R	6	0.57
14	NOR_F NOR_R	4	0.57
15	SCM9_F SCM9_R	6	0.41
16	PinaD1_F PinaD2_R	3	0.90
17	SUN1_F SUN1_R	3	0.90

Tablo 3. Seri 82 ekmeçlik buğday ve mutant hatlarına ait alellik varyasyonları

Genotipler, Markörler	Seri 82	Seri 82-M ₃ -1	Seri 82-M ₃ -2	Seri 82-M ₃ -3	Seri 82-M ₃ -4	Seri 82-M ₃ -5	Seri 82-M ₃ -6
Bx7 ^{OE}	-	-	-	-	-	-	-
Xwgp115	-	-	-	-	-	-	-
SUN104	-	-	-	-	-	-	-
SUN479	-	-	+	+	+	-	+
SUN209	+	-	-	-	-	-	-
VRN1	-	-	-	-	-	-	-
BF-WR1	-	-	-	-	-	-	-
BF-MR1	-	-	+	-	-	-	-
DF2_WR2	+	+	-	+	+	+	+
DF-MR2	-	-	-	-	-	-	-
WMS261	-	+	-	-	+	-	+
UHW89	-	-	-	-	-	-	-
RIS	+	+	+	+	+	+	+
NOR	-	-	-	-	-	-	-
SCM9	-	-	-	-	-	-	-
Pina	-	-	-	-	-	-	-
SUN1	-	-	-	-	-	-	-

VRN1 primerinin, vernalizasyon geni *Vrn-A1* gen bölgesini belirlemede kullanıldığı bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, vernalizasyon özelliğine ait gen bölgesi tespit edilememiştir. Yan ve ark. (2004) gerçekleştirdikleri çalışmada buğday genotiplerinde 484 bç uzunluğunda bant elde edilmesi halinde kışlık buğday *Vrn-A1* allelini, 715-624 bç uzunluğunda iki bant elde edilirse *Vrn-A1a* allelini, 464 bç uzunluğunda bant elde edilirse yazlık buğday *Vrn-A1b* allelini, 452 bç uzunluğunda bant elde edilmesi halinde yazlık buğday *Vrn-A1d* ve 430 bç uzunluğunda bant elde edilmesi halinde ise yazlık buğday *Vrn-A1e* allelini taşıdığını bildirmişlerdir (Tablo 3). BF-WR1 primerinin, cücelik (uzun) özelliğine ait gen bölgesini belirlemede kullanıldığı bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, cücelik (uzun) özelliğine ait herhangi bir gen bölgesi tespit edilememiştir. Ellis ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışma ile BF-WR1 markörünü kullanarak 273 bç uzunluğunda allel tespit etmişler ve bu allelin cücelik (uzun) gen bölgesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). BF-MR1 primerinin, cücelik (kısa) gen bölgelerini belirlemede kullanılmaktadır. Seri 82 ve mutantlarında, Seri 82-M₃-2 hattında cücelik (kısa) özelliğine ait gen bölgesi tespit edilmiştir. Ellis ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışma ile BF9-MR1 markörünü kullanarak 273 bç uzunluğunda allel tespit etmişler ve bu allelin cücelik (kısa) gen bölgesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

DF2_WR2 primerinin, cücelik (uzun) özelliğine ait genleri belirlemede kullanıldığı bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, Seri 82, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 ve Seri 82-M₃-6 hattında cücelik (uzun, *Rht-Dla*) özelliğine ait gen bölgesi tespit edilmiştir. Ellis ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışma ile DF2_WR2 markörünü kullanarak 264 bç uzunluğunda allel tespit etmişler ve bu allelin cücelik (uzun) gen bölgesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). DF-MR2 primerinin, cücelik (kısa/*Rht-Dlb*) özelliğine ait gen bölgesini tespit etmede kullanıldığı bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, cücelik (kısa) özelliğine ait gen bölgesi tespit edilememiştir. Ellis ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışma ile DF2_MR2 markörünü kullanarak 254 bç uzunluğunda allel tespit etmişler ve bu allelin cücelik (kısa/*Rht-Dlb*) gen bölgesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

WMS261 primerinin, cücelik (*Rht8*) gen bölgelerini belirlemede kullanılmaktadır. Seri 82 ve mutantlarında, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 hatlarında cücelik (*Rht8*) genine ait gen bölgesi tespit edilmiştir. Kozun ve ark. (1998) gerçekleştirdikleri çalışmada WMS261 markörünü kullanarak 165-204 bç uzunluğunda allel tespit ettiklerini ve bu allelin cücelik (*Rht8*) geni ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. (Tablo 3). UHW89 primerinin yüksek protein geni *Gpc-B1* gen bölgesini tespit etmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, yüksek protein (*Gpc-B1*) özeliğine ait herhangi gen bölgesi tespit edilememiştir. Distelfeld ve ark. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmada UHW89 markörünü

kullanarak 122 ve 126 bç uzunluğunda bant elde ettiklerini, bu 4 bç'lik polimorfizmin ACTT duplikasyonu sonucunda olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

RIS primerinin, çavdar translokasyonlarına ait gen bölgelerini belirlemede kullanılmaktadır. Seri 82 ve mutantlarının tümünde çavdar translokasyonuna ait gen bölgeleri tespit edilmiştir. Koebner ve ark. (1995) gerçekleştirdikleri çalışmada RIS markörünü kullanarak 110 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini ve bu allelin çavdar translokasyonuna ait genlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). NOR primerinin, çavdar translokasyonlarına ait gen bölgesini belirlemede kullanıldığı tespit edilmiştir. Seri 82 ve mutantlarında, çavdar translokasyonuna ait gen bölgesi tespit edilememiştir. Koebner ve ark. (1995) gerçekleştirdikleri çalışmada NOR markörünü kullanarak 400, 600, 700, 800 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini ve bu allellerin çavdar translokasyonuna ait genlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). SCM9 primerinin, çavdar translokasyonlarına ait gen bölgelerini tespit etmede kullanıldığı bilinmektedir. Seri 82 ve mutantlarında, çavdar translokasyonuna ait herhangi bir bölgesi gen tespit edilememiştir. Saal ve Wricke (1999) gerçekleştirdikleri çalışmada SCM9 markörünü kullanarak 220 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini ve bu allelin çavdar translokasyonuna ait genlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). Pina primerinin, dane sertliği özelliğine ait gen bölgelerini belirlemede kullanılmaktadır. Seri 82 ve mutantlarında, dane sertliğine ait herhangi bir gen bölgesi tespit edilememiştir. Gauiter ve ark. (1990) gerçekleştirdikleri çalışmada Pina markörünü kullanarak 330 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini ve bu allelin dane sertliğine ait genlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3). SUN1 primerinin, Waxy geni *Wx-A1* gen bölgesini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Seri 82 ve mutantlarında, mumsuluk özelliğine ait herhangi bir gen bölgesi tespit edilememiştir. Sharoflou ve Sharp (1999) gerçekleştirdikleri çalışmada SUN1 markörünü kullanarak 219, 233, 260, 271, 275, 285 ve 289 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini, Maryami ve ark. (2014) çalışmalarında ise 230 ve 265 bç uzunluğunda allel elde ettiklerini bu allellerin mumsuluk özelliğine ait genlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Tablo 3).

Filogenetik ağaç ilk olarak 2 ana gruba ayrılmaktadır. İlk grubu Seri 82 ekmeklik buğday çeşidi oluştururken, ikinci grubu Seri 82 mutant hatları oluşturmaktadır. İkinci grup da kendi içinde iki alt gruba ayrılmaktadır ve Seri 82-M₃-5 hattı diğerlerinden ayrılmıştır. Genetik benzerlik, Weir 1996'ya göre hesaplanarak, 7 genotip arasındaki benzerlik katsayısı yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Dendogramı incelediğimizde tüm genotipler arasında en az genetik benzerlik % 22 ile Seri 82 ile diğer hatlar arasında olmuştur. En benzer genotipler ise % 76 benzerlik oranı ile Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 genotipleri olmuştur (Şekil 2). Bilgin ve Korkut (2005) çalışmalarında, örnek olarak o bölgede yaygın bir biçimde ekimi yapılmakta olan ekmeklik buğday çeşitleri ile

CIMMYT'den temin edilen hatları kullanarak toplamda 20 adet genotipte genetik benzerlik ve uzaklığı RAPD markörü kullanarak belirlemeye çalışmışlardır ve benzerlik oranını en düşük 0.36 olarak bulurken, en yüksek benzerlik oranını 0.946 olarak saptamışlardır. Kırçalıoğlu (2001), gerçekleştirdiği çalışmada SDS-PAGE tekniği kullanarak glutenin bantları elde etmiş ve buğday genotiplerinin tanımlamalarını gerçekleştirmiştir. Genel olarak glutenin bantlarının çeşitlere özgü bir desen oluşturduğu gözlemlenmiş ve bu çalışma ile genotiplerin genetik benzerlik değerinin 0.08-0.98 arasında olduğu tespit edilmiştir. Geboloğlu ve Furan (2017) çalışmalarında Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden temin ettikleri 23 adet ekmeçlik buğday çeşidini SSR primeri kullanarak bu genotipler arasındaki farklılık oranını 0.39-0.58 olarak saptamışlar ve çeşitler arası genetik farklılığın toplandıkları bölgelerden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

4. Sonuç ve Öneriler

Çalışmada 17 adet DNA markörü ile 7 adet Seri 82 ekmeçlik buğday ve mutant hattı taranmış ve 61 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Filogenetik ağaç incelendiğinde Seri 82 çeşidine uygulanan mutasyonun başarılı olduğu ve mutantların ebeveynlerinden oldukça farklılaştığı tespit edilmiştir. Bu sayede mutasyon ıslahı ile genetik varyasyonun artırılabilceği de bir kez daha ortaya konmuştur. Araştırmada kullanılan genotiplerden Seri 82-M₃-2, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6'da kara pas (*Sr49*), Seri 82 ekmeçlik buğdayda kara pas (*Sr49*), Seri 82-M₃-2 genotipinde cücelik (kısa) gen bölgesi tespit edilmiş ve devamında Seri 82, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-3, Seri 82-M₃-4, Seri 82-M₃-5 ve Seri 82-M₃-6 genotiplerinde cücelik (uzun) gen bölgesi, Seri 82-M₃-1, Seri 82-M₃-4 ve Seri 82-M₃-6 genotipinde cücelik (*Rht8*) gen bölgesi, Seri 82 ve tüm mutant hattında çavdar translokasyonlarına ait gen bölgeleri tespit edilmiştir.

Çıkar İlişkisi

Yazarlar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedirler.

Teşekkür ve Bilgilendirme

Bu çalışma, Hülya KİRAZ'ın 2019 yılında tamamlanan "Seri 82 Ekmeçlik Buğday M₃ Mutantlarının Fonksiyonel Markörlerle Karakterizasyonu" başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir. Diğer yazarlar da materyalin mutasyon uygulaması ve M₀ kademesinden M₃ kademesine getirilmesi aşamalarında katkı sunmuşlardır.

Kaynaklar

Altan A, 1990. Tahıl İşleme Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Ofset Atölyesi, 107s., Adana.
Ateş Sönmezoğlu Ö, 2006. Mikrosatelit DNA Belirleyicileri Kullanarak Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
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.

Anonim, 2019. www.fao.org.worldfood_situation.com. Erişim Tarihi: 05.04.2019.

Butow BJ, Ma W, Gale KR, Cornish GB, Rampling L, Larroque O, Bekes F, 2004. Molecular discrimination of Bx70E alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (8): 1524-1532.

Bilgin O, Korkut KZ, 2005. Bazı Ekmeçlik Buday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(3): 245-252.

Bansal UK, Muhammad S, Forrest KL, Hayden MJ, Bariana HS, 2015. Mapping of a new stem rust resistance gene *Sr49* in chromosome 5B of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 128(10): 2113-2119.

Dede B, 2007. Mikrosatelit DNA Belirleyicileri Kullanarak Yerel Ekmeçlik Buğday Çeşitlerinin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.

Dice LR, 1945. Measures of the Amount of Ecologic Association between Species. *Ecology*, 26, s. 297-302.

Distelfeld A, Uauy C, Fahima T, Dubcovsky J, 2006. Physical map of the wheat high-grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high-throughput molecular marker. *New Phytologist*, 169(4): 753-763.

Ellis MJ, ark. (2002) Biochemical and crystallographic studies of the Met144Ala, Asp92Asn and His254Phe mutants of the nitrite reductase from *Alcaligenes xylosoxidans* provide insight into the enzyme mechanism. *J Mol Biol*, 316(1): 51-64

Furan MA, Yüce S, 2009. Buğdayda Sarı Pasa Dayanımlı ve Duyarlı Bazı Çeşit ve Hatların SSR Analizleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46(1): 1-8.

Gauiter MF, Alary R, Joudrier P, 1990. Cloning and characterization of a cDNA encoding the wheat (*Triticum durum* Desf.) CM16 protein. *Plant Mol Biol*, 14: 313-322.

Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC, Ramesh B, 1999. Review Molecular Markers and Their Applications in Wheat Breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.

Geboloğlu MF, Furan MA, 2017. Bazı Türk Yazlık Ekmeçlik Buğday Çeşitleri Arasındaki Genetik Farklılığın SSR Markörleriyle Belirlenmesi. *YYÜ Tar Bil Derg*, 27(1): 132-138.

Halward T, Stalker T, Larue E, Kochert G, 1992. Use of single-primer DNA amplification in genetic studies of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Mol Bio*, 18: 315-325.

Kırçalıoğlu G, 2001. Bazı Buğday Tescilli Çeşit ve İleri Hatlarının Biyokimyasal Markörlerle Tanımlanması. *Anadolu Journal of AARI*, 11(2): 1-19.

Koebner RMD, 1995. Generation of PCR-based markers for the detection of rye chromatin in a wheat background. *Theoretical and Applied Genetics*, 90 (5): 740-745.

Korzun V, Röder MS, Galal M, 1998. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 96(8):1104-1109.

Kün E, 1988. Seri İklim Tahılları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 322 s. Ankara.

Lowe AJ, Hinotte O, Guarino L, 1996. Standardization of Molecular Genetic Techniques for the Characterization of Germplasm Collections: The Case of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107: 50-54.

- Lima-Brito J, Guedes-Pinto H, Harrison GE, Heslop-Harrison JS, 1996. Chromosome Identification and Nuclear Architecture in Triticale x Tritordeum F₁ hybrids. J Exp Bot 47: 583-588.
- Li Q, Chen XM, Wang MN, Jing JX, 2011. Yr45, A New Wheat Gene for Stripe Rust Resistance on the Long Arm of Chromosome 3D. Theoretical and Applied Genetics, 122(1): 189-197.
- Mujeeb-Kazi A, Rosas V, Roldan S, 1996. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss) Schmal. (*Aegilops squarrosa* auct non L.) in Synthetic Hexaploid Wheats (*T. turgidum* L. s. lat.- *T. tauschii* ; 2n=6x=42, AABBDD) and Its Potential Utilization for Wheat Improvement. Genetic Resources and Crop Evolution, 43: 129-134.
- Messmer M, Keller M, Zenetti S, Keller B, 1999. Genetic Linkage Map of a Wheat x Spelt Cross. Theoretical Applied Genetics, 98: 1163-1170.
- Maryami Z, Fazeli A, Mehrabi AA, 2014. Investigation of Diversity of *Waxy-A1* Gene using Amplification in Different Spices in a Genome Wheat's. Advances in Environmental Biology, 8(7): 2004-2007.
- Olgun M, Ayter NG, Başçıftçi ZB, Turan M, Koyuncu O, Ardıç M, Açar G, Takıl E, 2015. Identification of Genetic Divergence in Some Bread Wheat Varieties by RAPD and SSR Analyses. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(2): 94-101.
- Oliver RE, Obert DE, Hu G, Bonman JM, O'Leary-Jepsen E, Jackson EW, 2010. Development of Oat-Based Markers from Barley and Wheat Microsatellites. Genome, 53(6): 458-471.
- Özcan S, Gürel E, Babaoğlu M, 2001. Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Konya.
- Özbay B, 2014. Ekmeklik Buğday Genotiplerinde Kalite Özellikleri ile Gliadin Protein Band Desenleri Arasındaki İlişkiler. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Tekirdağ. 62s.
- Rafalski A, Morgante M, Powell W, Vogel JM, Tingey SV, 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.
- Randhawa M, Bansal U, Valarik M, Klocova B, Dolezel J, Bariana H, 2014. Molecular Mapping of Stripe Rust Resistance Gene *Yr51* in Chromosome 4AL of Wheat. Theoretical and Applied Genetics, 127: 317-324
- Rohlf FJ, 2005. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.2. Setauket, Exeter Publishing, New York, USA.
- Saal B, Wricke G, 1999. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.). Genome, 42: 964-972.
- Shariflou MR, Sharp PJ, 1999. A polymorphic Microsatellite in the 3'end of 'Waxy' Genes of Wheat, *Triticum aestivum*. Plant Breeding, 118: 275-277
- Sönmezoğlu ÖA, Yıldırım A, Eserkaya Güleç T, Kandemir N, 2010. Markör Destekli Seleksiyonun Buğday İslahında Kullanımı, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(1):105-112.
- Toklu F, Yağbasanlar T, 2005. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Bitki Boyu, Başaklanma Süresi, Bayrak Yaprak Alanı ve Tane Ağırlığının Kalıtımı Üzerine Bir Araştırma. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt II, s. 689-694, 5-9 Eylül 2005 Antalya.
- TÜİK, 2019. www.tuik.gov.tr. Erişim Tarihi: 05.04.2019.
- Yağdı K, 2004. Bursa Koşullarında Geliştirilen Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Hatlarının Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(1): 11-23.
- Yıldırım A, 2005. Molecular Marker Facilitated Pyramiding of Resistance Genes for Fungal Diseases of Wheat. Workshop on Genomics and Marker Assisted Selection (MAS) in Plant Breeding. 3-7 Ekim 2005 (Sunulu Bildiri), İzmir.
- Yıldırım A, Ateş Sönmezoğlu Ö, Eserkaya T, Kandemir N, Sayaslan A, 2009. Makarnalık Buğdayda Modern Teknolojik Yöntemlerle Hızlandırılmış Kalite İslahı. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim 2009 (Sunulu Bildiri) Hatay.
- Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Blechl A, Khan IA, Ramakrishna W, 2004. The Wheat VRN2 Gene is a Flowering Repressor Down-Regulated by Vernalization. Science, 303: 1640-1644.
- Weir BS, 1996. Genetik Veri Analizi II, 2. Baskı. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA.