



Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Makarnalık Buğday Çeşitlerinde Genetik Farklılıkların Belirlenmesi ^a

Esra Aydoğan Çıfci¹, Köksal Yağdı¹

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Görükle/BURSA

*e-posta: esra@uludag.edu.tr; Tel: 0 224 2941526; Faks: 0 224 442 8836

Geliş Tarihi: 23.11.2010, Kabul Tarihi: 10.01.2011

Özet: Bu çalışma yurdumuzda tescil edilmiş ve tarımı yapılan makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.) çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği RAPD yöntemi ile inceleme amacıyla Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tohumluk Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada 14 adet makarnalık (*Triticum durum* Desf.) buğday çeşidi kullanılmıştır. RAPD analizi sonuçlarına göre, kullanılan 45 primerden 27 tanesi polimorfik, 1 tanesi monomorfik bantlar oluşturmuştur. Çalışılan makarnalık buğdaylarda ortalama polimorfizm oranı % 66.7 olarak saptanmıştır. Polimorfik primerlerden, toplam 200 PCR ürününden 129 tanesi polimorfik olarak belirlenmiştir. Elde edilen DNA bantlarının büyüklükleri 300-4000 bp arasında saptanmıştır. Primer başına düşen bant sayısı 2 ile 12 arasında değişmiştir. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 7.14, polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 4.77 olarak belirlenmiştir. Makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik benzerlik indeksi 0.434-0.874 arasında değişim göstermiştir. UPGMA (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu) metodu kullanılarak çizilen dendrogramda makarnalık buğdayların 6 grupta toplandığı gözlenmiştir. Bu analiz sonucuna göre, makarnalık buğday çeşitlerinde genetik olarak birbirine en yakın çeşitlerin Çakmak-79 ve Kızıltan-91, genetik olarak birbirine en uzak çeşitlerin ise Ege-88 ve Ankara-98 olduğu saptanmıştır. Makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik varyasyonun tespit edilmesi amacıyla kullanılan Temel Bileşenler Analizi (PCA) sonucunda ise makarnalık buğdayların 8 grup oluşturduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çeşitler arasında varyasyon bakımından Fuatbey-2000, Çakmak-79, Altıntaş-95, Kızıltan-91, Amanos-97, Meram-2002 ve Kunderu-1149 çeşitleri aynı grupta toplanmışlardır. Bunun yanı sıra Gediz-75, Yelken ve Çeşit-1252 çeşitleri kümeleme analizi sonucunda dendrogramda aynı grupta yer almasına rağmen PCA sonucu farklı bölgelerde yer almışlardır. Bu çalışma ile ülkemizde tescil edilmiş makarnalık buğday çeşitleri arasında göreceli olarak dar bir genetik farklılığın bulunduğu ve bitki ıslahı programlarında uygun anaçların seçiminde genotiplerin benzerliklerinin saptanmasında RAPD markörlerinden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Makarnalık buğday, RAPD-PCR, genetik çeşitlilik, polimorfizm.

* Doktora tezinin bir bölümüdür.

Determination of Genetic Diversity of Durum Wheats Cultivated in Turkey

Abstract: This study was carried out at the Seed Laboratory of the Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, University of Uludag in order to determine the genetic diversity of durum (*Triticum durum* Desf.) wheat varieties registered and cultivated in our country. In this research 14 durum wheats were used. On the basis of RAPD analysis, out of 45 primers 27 primers for durum wheat were polymorphic and 1 primer formed monomorphic bands. The polymorphism was determined 66.7 % for durum wheat. For durum wheats, polymorphic primers detected 200 bands and 129 of them polymorphic. DNA fragment size ranged from 300-4000 bp in durum wheats. Fragments per primers ranged from 2-12. The average number of fragments per polymorphic primer was found 7.14 and the average number of polymorphic fragments per polymorphic primer was detected as 4.77. Genetic similarity matrix changed into 0.434 to 0.874. Using UPGMA (The unweighted pair grouping method of arithmetic averages) to cluster data it was seen that durum wheat varieties were grouped into six cluster. The result of the analysis indicated that for durum wheats the highest similarity was between Çakmak-79 and Kızıltan-91 whereas the genetic distance between Ege-88 and Ankara-98 was the lowest. At the result of Principal Component Analysis (PCA), used for detecting the genetic variation between wheat varieties, 8 groups for durum wheat were determined. The result of analysis showed that for the variation between varieties, Fuatbey-2000, Çakmak-79, Altıntaş-95, Kızıltan-91, Amanos-97, Meram-2002 and Kunduru-1149 varieties were in the same group. On the other hand, Gediz-75, Yelken and Çeşit-1252 varieties were found different parts at the result of PCA while they were determined at the same group in the dendrogram of cluster analysis. The result of the study indicated that the registered varieties in Turkey, possessed relatively narrow genetic background and concluded that to determine the genetic similarity of genotypes for selecting proper parents in breeding programmes RAPD technique can be used as a molecular genetic marker.

Key Words: Durum wheat, RAPD-PCR, genetic diversity, polymorphism.

Giriş

Günümüzde dünya nüfusunun hızlı artışı nedeniyle, beslenme gereksinimi tarımın hızla gelişmesinde bir güç kaynağı olmuştur. Bu amaçla, ıslah çalışmaları ile bitkilerin genetik yapıları değiştirilerek daha kaliteli, yüksek verimli, hastalıklara ve zararlılara dayanıklı ve adaptasyon yeteneği yüksek olan çeşitler elde edilmeye çalışılmıştır. Buğday ıslahında morfolojik, fizyolojik ve fenotipik özellikler, seleksiyon kriteri olarak ele alınmaktadır. Karakterlerin oluşumunda genotip kadar çevre şartlarının da etkisi bulunmaktadır. Fenotipik özellikler çoğu kez kantitatif karakterler taşımaktadır. Bu nedenle, çevre şartlarından etkilenmeyen seleksiyon kriterlerinin bulunması genetik ilerlemeyi ve iyileştirmeyi hızlandıracaktır (Bilgin, 2001).

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

Bu çalışmada da DNA düzeyinde markör kullanılarak, yurdumuzda tescil edilmiş ve tarımı yapılan makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği RAPD yöntemi ile incelemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada yurdumuzun farklı bölgelerinde bulunan Tarımsal Araştırma Enstitüleri ile Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen toplam 14 adet makarnalık buğday çeşidi kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan buğday çeşitleri, pedigrileri ve ıslahçı kuruluşları.

Çeşitler	Pedigree	Islahçı Kuruluş
Altıntaş-95	KND//68111/WARD YE0313-18E-3E-2E-OE	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü/ Eskişehir
Amanos-97	OST'Ş'//CTA'Ş'/YAV'S''	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Adana
Ankara-98	BAK2916/LDS//6783/3/BERK469/7/CR''S''/GS''S''//APULICUM/3DF17-72/4/DII65137/GEDIZ75/5/ AA ''S'' /6/ CPE/G2// TC*2/TC	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Çeşit-1252	61-130//414-44/377-2	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Çakmak-79	ÜVY 162/61-130	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Ege- 88	JORİ/ANHİNGA//FLAMİNGO(BİTTEREN/'S'')c m9799-126M-1M-4Y-0M	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Menemen/İzmir
Fuatbey - 2000	-	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Adana
Gediz-75	LD357E- TC*2 X JORİ 27354-1M-1Y-OY	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Menemen/İzmir
Kızıltan-91	ÜVY 162/61-130//BY2E/TC	Tarla Bitkileri Merkez Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Ankara
Kunduru - 1149	SILV-TUR	Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Eskişehir
Meram-2002	-	Bahri Dağlaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Konya
Pınar-2001	GÖKGÖL /AMASYA	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi / Bursa
Selçuklu-97	073-44*2/OVİ/3/DF21-72//61-130/ÜVY 162	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü / Konya
Yelken -	-	Bahri Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü

Araştırma Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümüne ait Tohumluk laboratuvarında yürütülmüştür. DNA izolasyonu için EZ-10 Spin Column DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. PCR'a başlamadan önce izole edilen DNA'ların miktarları spektrofotometrik olarak 260/280 nm dalga boyunda ölçülmüş, protein ve RNA kontaminasyonu olup olmadığı incelenmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerde hesaplanan

DNA miktarlarına göre PCR analizi için μl 'de 5 ng olacak şekilde örnekler sulandırılmıştır. PCR işlemi için, her tüpte toplam 20 μl olacak şekilde 20 ng genomik DNA, 25 μM dNTP, 1.25 μl 10 x Buffer, 25 mM MgCl_2 , 1 ünite Taq DNA polimeraz enzimi kullanılmıştır. PCR işlemi için Bio Basic firmasına ait S serisinden 10 baz dizilimli 45 adet rasgele RAPD primeri kullanılmıştır. Kullanılan primer ve baz dizilişleri Çizelge 2'de verilmiştir. DNA'nın çoğaltımı için Creacon T-CY versiyon 1.2 marka thermocycler'da 94 °C'de 3 dakikada 1 döngü, 94 °C'de 30 saniye, 36 °C'de 1 dakika, 72 °C'de 2 dakika 40 döngü ve son olarak 72 °C'de 10 dakikadan oluşan PCR programı gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi sonrasında çoğalan DNA'lar elektroforezde %1.2'lik EEO agaroz jelde, 100 V'da, 2.5 saat yürütülmüştür. Jel ve elektrot tampon çözeltisi olarak önce 10 x TBE stok çözeltisi hazırlanmış daha, sonra bu çözelti elektroforezde kullanılmak üzere 1x TBE (900 ml saf su, 100 ml 10xTBE/11) olacak şekilde seyreltilmiştir. Elektroforez işleminde 11 μl PCR ürününe 2.5 μl yükleme boyası ilave edilmiş, ürünlerin baz çiftlerini belirlemek için 100 bp-10 kb'lik Bio Basic firmasına ait DNA yükleme markörü (DNA size marker) kullanılmıştır.

Çizelge 2. RAPD primerleri ve baz dizilişleri

Primer Adı	Primer Sekansları (5→3)	Primer Adı	Primer Sekansları (5→3)
S 21	CAG GCC CTT C	S 134	TGC TGG AGG T
S 22	TGC CGA GCT G	S 135	CCA GTA CTC C
S 32	TCG GCG ATA G	S138	TTC CCG GGT T
S 34	TCT GTG CTG G	S 139	CCT CTA GAC C
S 35	TTC CGA ACC C	S 143	CCA GAT GCA C
S 38	AGG TGA CCG T	S 151	GAG TCT CAG G
S 56	AGG GCG TAA G	S 156	GGT GAC TGT G
S 81	CTA CGG AGG A	S 161	ACC TGG ACA C
S 98	GGC TCA TGT G	S 165	TGT TCC ACG G
S 101	GGT CGG AGA A	S 169	TGG AGA GCA G
S 120	GGG AGA CAT C	S 177	GGT GGT GAT G
S 122	GAG GAT CCC T	S 186	GAT ACC TCG G
S 123	CCT GAT CAC C	S 188	TTC AGG GTG G
S 124	GGT GAT CAG G	S 218	GAT GCC AGA C
S 125	CCG AAT TCC C	S 222	AGT CAC TCC C
S 126	GGG AAT TCG G	S 244	ACC TTC GGA C
S 127	CCG ATA TCC C	S 248	GGC GAA GGT T
S 128	GGG ATA TCG G	S 271	CTG ATG CGT G
S 129	CCA AGC TTC C	S 280	TGT GGC AGC A
S 130	GGA AGC TTG G	S 418	CAC CAT CCG T
S 132	ACG GTA CCA G	S 443	CTG TTG CTA C
S 133	GGC TGC AGA A		

RAPD-PCR reaksiyonları en az iki kez tekrar edilmiştir. Herhangi bir kirlenmenin olup olmadığını belirlemek üzere tüm PCR reaksiyonları için genomik DNA hariç diğer bileşenleri içeren negatif kontrol kullanılmıştır. PCR sonrası görüntüleri elde etmek için

Kodak 1D jel görüntüleme sistemi kullanılmıştır. Dendrogramın elde edilmesi için PCR sonucu oluşan RAPD-DNA bantlarının okunması ve değerlendirilmesinde gözle görülebilecek netlikte oluşan tüm bantlar değerlendirilmeye alınmış, çok net görülmeyen değerlendirme dışı bırakılmıştır. İncelenen jelde bant desenlerine bakılarak bantların olup olmaması durumuna göre “1” veya “0” şeklinde değerlendirilmeler yapılmış ve bant matrisleri oluşturulmuştur. Ayrıca çeşitler arasındaki mevcut genetik varyasyonu incelemek amacıyla temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır. Bu amaçla NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versiyon 2.2 (Rohlf, 2005) bilgisayar programı kullanılmıştır.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Çalışmada kullanılan primerlerden hepsi amplifikasyon göstermemiş olup, 27 tanesi tekrarlanabilir ve güvenilir polimorfik RAPD-PCR ürünleri vermiş, 1 tanesi monomorfik bantlar oluşturmuştur. Amplifikasyon gösteren bu primerlerin bant özellikleri Çizelge 3’de verilmiştir.

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

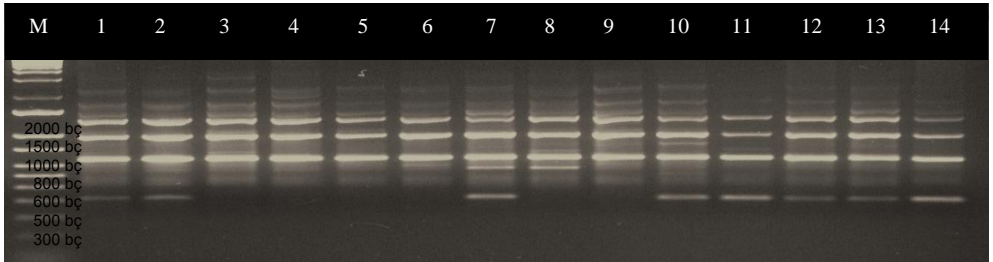
Çizelge 3 incelendiğinde de görüleceği gibi makarnalık buğday çeşitlerinde amplifikasyon gösteren 28 adet primerden toplam 200 adet bant elde edilmiş olup, bunlardan 129’u polimorfik, 71’i ise monomorfik RAPD-PCR bantları vermiştir. Ortalama polimorfizm oranı ise % 66.7 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki sonuca benzer olarak Joshi ve Nguyen (1993) buğday ile yaptıkları RAPD-PCR sonucunda, 109 PCR ürününden 71 (% 65) adedini, saptadığımız değerlerden farklı olarak yine aynı yöntemi kullanan araştırmacılar Sun ve ark. (1998) 168 PCR ürününden 78 adedini, Grewal ve ark. (2007) 372 banttan 323 (% 86.8)’ünü polimorfik olarak saptamışlardır.

Araştırmada belirlenen ortalama polimorfizm oranına (% 66.7) benzer veya yakın olarak RAPD yöntemi ile buğdayda Pujar ve ark. (1999) % 68.9, Mukhtar ve ark. (2002) % 64.38, Malaki ve ark. (2008) % 60 ve Sawalha ve ark. (2008) % 65 oranında polimorfizm oranları belirlemişlerdir. Taghian ve Abo-Elwafa (2003) % 41.86, Bhutta ve ark. (2006) % 46.97, Karcicio (2006) % 46.02, Wang ve ark. (2007) % 16.5 ve Tahir (2008) % 35.7 polimorfizm oranı saptayarak çalışmamızdaki sonuçtan daha düşük, ve Bibi ve ark. (2009) ise % 89.2 polimorfizm oranı belirleyerek çalışmamızdaki sonuçtan daha yüksek polimorfizm oranı saptamışlardır.

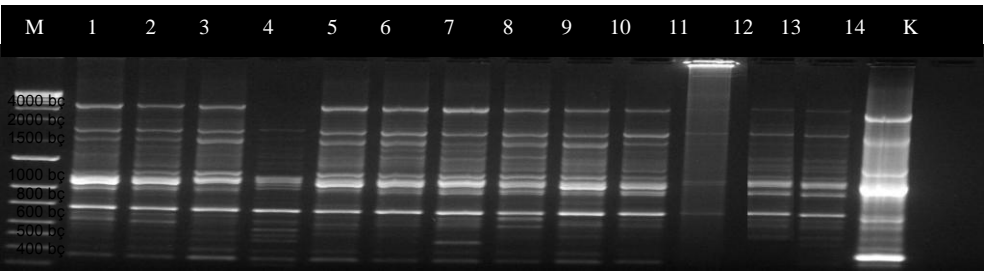
Elde edilen fragmentlerin bant büyüklüklerinde, en düşük bant ağırlığı 300 bp olup S 32, S 129 ve S 280 primerlerinden (Şekil 1), en büyük bant ağırlığı ise 4000 bp olup S 125 primerinden elde edilmiştir (Şekil 2). En yüksek polimorfizm yüzdesi % 100 ile S 56, S 122 ve S 161 primerlerinden, en düşük polimorfizm yüzdesi ise % 28.5 ile S 169 primerinden elde edilmiştir. Diğer primerlerin polimorfizm yüzdesi ise % 33.3 ile % 90 arasında değişim göstermiştir. Primer başına düşen bant sayısı 2 ile 12 arasında değişmiştir.

Çizelge 3. Makarnalık buğday çeşitlerinde primerlerden elde edilen bantların özellikleri

Primer Adı	Bant Büyüklüğü	Polimorfik Bant Sayısı	Monomorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı
S 21	800-2500 bç	6	6	12	% 50.0
S 22	590-2050 bç	8	1	9	% 88.8
S 32	300-1300 bç	3	3	6	% 50.0
S 34	1000-2500 bç	3	1	4	% 75.0
S 35	700-900 bç	1	1	2	% 50.0
S 56	500-2950 bç	12	-	12	% 100
S 120	800-2500 bç	-	7	7	-
S 122	950-2000 bç	6	-	6	% 100
S 125	400-4000 bç	9	2	11	% 81.0
S 126	400- 3000 bç	6	2	8	% 75.0
S 127	600-1500 bç	9	1	10	% 90.0
S 128	800-2100 bç	3	2	5	% 60.0
S 129	300-2000 bç	9	2	11	% 81.0
S 130	900-1500 bç	2	4	6	% 33.3
S 132	450-2000 bç	8	1	9	% 88.8
S 134	1000-1500 bç	1	2	3	% 33.3
S 135	650-1500 bç	4	1	5	% 80.0
S 138	400-1700 bç	2	2	4	% 50.0
S 151	850 2200 bç	2	10	12	% 83.3
S 156	800-3000 bç	6	3	9	% 66.6
S 161	1300-2800 bç	7	-	7	% 100
S 169	800-1600 bç	2	5	7	% 28.5
S 248	900-3000 bç	3	4	7	% 42.9
S 271	400-3000 bç	3	2	5	% 60.0
S 280	300-1500 bç	2	3	5	% 40.0
S 418	795-3000 bç	7	2	9	% 77.7
S 443	500-1400 bç	2	3	5	% 40.
S 461	600-2000 bç	3	1	4	% 75.0
Toplam		129	71	200	Ort: % 66.7
Polimorfik primerlerden elde edilen toplam bant sayısı				193	



Şekil 1. S 32 primerine ait jel görüntüsü.



Şekil 2. S 125 primerine ait jel görüntüsü.

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

En çok bant elde edilen primerler S 21, S 56 ve S 151 primerleri olup, bunlardan 12 adet bant elde edilmiştir. En az bant veren primer ise 2 adet bant oluşumu ile S 35 primeri olmuştur. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 7.14 (193/27), polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 4.77 (129/ 27) olarak belirlenmiştir.

Araştırmalarında en yüksek ve en düşük polimorfizm oranları bakımından ise buğday bitkisinde SSR yöntemi ile yürüttükleri çalışmalarında Doğrar ve ark. (2000) çalıştıkları primerlerde 0.609-0.872, RAPD yöntemi ile Atak (2004) % 60- % 100 ve AFLP yöntemi ile Altıntaş ve ark. (2008) % 26 - % 58 arasında polimorfizm belirleyerek çalışmamızdaki bulgulara yakın değerler bulmuşlardır. Araştırmada elde edilen 2-12 bant sonucu buğday bitkisiyle yürütülen RAPD çalışmalarında, Liu ve ark.(1999) ve Bibi ve ark.(2009)'nın sırasıyla 6-12 ve 1-11 bant bulgularını destekler niteliktedir. Ayrıca, Grewal ve ark. (2007) primer başına 5.30 bant ve Tonk ve ark. (2008) ortalama polimorfik bant sayısını 3.5 oranında saptayarak çalışmamızdaki sonuçlara benzer değerler bulmuşlardır.

Dendrogramın elde edilmesi için incelenen jelde bant desenlerine bakılarak, polimorfik primerlerden elde edilen PCR ürünlerine ait bant desenlerinden elde edilen bant matrisleri yardımıyla oluşturulan benzerlik matrisine ait değerler Çizelge 4'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde en yüksek benzerliğin 0.874 oranı ile Çakmak-79 ile Kızıltan-91 çeşitleri arasında olduğu görülmektedir. Diğer en yüksek benzerlikler ise Kızıltan-91 – Altıntaş-95 ve Yelken - Çeşit-1252 çeşitleri arasında sırasıyla 0.873 ve 0.861 oranı ile saptanmıştır. Elde edilen verilere göre en düşük benzerlik oranı ise 0.434 ile Ege-88 ile Ankara-98, 0.500 değeri ile Yelken ve Ankara-98 ve 0.504 oranı ile Pınar-2001 ve Ankara-98 çeşitleri arasında saptanmıştır. Bu durumda elde edilen sonuçlara göre, birbirine en yakın çeşitler Çakmak-79 ve Kızıltan-91, birbirine en uzak çeşitler ise Ege-88 ve Ankara-98 çeşitleri olmuştur. Çeşitlere ait pedigriler incelendiğinde ise (Çizelge 1), Ankara-98 ve Gediz -75 çeşitlerinin pedigrilerinde TC^{*2}'yi ortak anaç olarak paylaştıkları görülmektedir. Ayrıca Gediz-75'in Ankara-98'in anaçlarından biri olduğu ve iki çeşit arasında 0.609 oranında bir benzerlik olduğu çizelgede görülmektedir. Bunun yanı sıra Gediz-75 ve Ege-88 çeşitleri diğer bir ortak ataya (Jori) sahip olup, 0.517 oranında birbirine benzemektedirler. Çakmak-79, Kızıltan-91, Selçuklu-97 çeşitlerinde ise 61-130/UVY162 ortak anaç iken, 61-130 anacının ise Çakmak-79, Kızıltan-91, Selçuklu-97 çeşitlerinin yanı sıra Çeşit-1252 çeşidinin de ortak anaç olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Benzer çeşitlerle yaptığı RAPD-PCR sonucunda çalışmamızdaki sonuca paralel olarak Karcicio (2006), çalışmasında

Kızıltan-91 ve Çakmak-79 çeşitlerinin birbirine yakın çeşitler olduğunu ve dendrogramda aynı grupta yer aldığını bildirmiş, bunun nedeninin de bu iki çeşidin pedigrilerinde iki ortak anacı (61-130/ÜVY-162) paylaşması olduğunu belirtmiştir. Aynı çalışmada Pınar-2001 ile Ankara-98 çeşitleri arasında çalışmamızdaki sonuca benzer olarak düşük benzerlik oranı saptanmıştır.

Çizelge 4. Makarnalık buğday çeşitlerine ait benzerlik matrisi değerleri

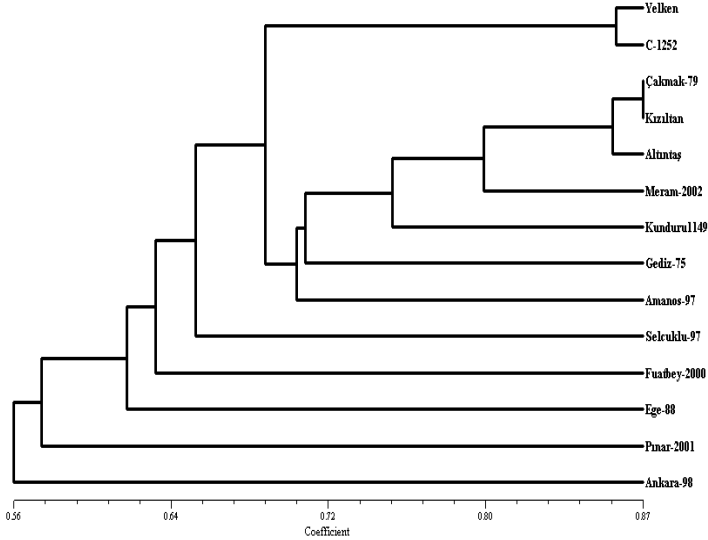
G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1.00													
2	0.861	1.0												
3	0.662	0.622	1.0											
4	0.709	0.653	0.580	1.0										
5	0.679	0.716	0.705	0.658	1.0									
6	0.679	0.742	0.667	0.644	0.874	1.0								
7	0.628	0.679	0.641	0.604	0.707	0.744	1.0							
8	0.600	0.667	0.626	0.558	0.720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

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

Elde edilen benzerlik indeksi baz alınarak oluşturulan dendrograma (Şekil 3) göre ise çalışılan makarnalık buğday genotipleri 6 kolda (grup) toplanmışlardır. Birinci kolda Ankara-98 çeşidi yer almış olup, diğer çeşitlerle 0.560 oranında benzerlik göstermektedir. İkinci kolda yer alan Pınar -2001 ile diğer çeşitler arasında 0.540, üçüncü kolda yer alan Ege-88 ile diğer çeşitler arasında 0.620 oranında benzerlik saptanmıştır. Dördüncü ve beşinci kolda sırasıyla Fuatbey-2000 ile Selçuklu-97 çeşitleri yer almış ve diğer çeşitlerle aralarında 0.640 ile 0.710 oranında benzerlik belirlenmiştir. Diğer tüm çeşitler altıncı kolda yer almışlardır. Altıncı kolda kendi içerisinde başlıca iki alt kola ayrılmakta olup, altıncı kolun birinci kolunda Amanos-97, Gediz-75, Kunduru-1149, Meram-2002, Altıntaş-95, Kızıltan-91 ve Çakmak-79 çeşitleri, ikinci dalında ise Yelken ve Çeşit-1252 çeşitleri bulunmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen benzerlik matrisi değerleri 0.434-0.874 arasında değişmiştir. RAPD-PCR yöntemi kullanılarak buğday bitkisi üzerinde yapılan diğer çalışmalarda ise benzerlik indekslerini, Castagna ve ark. (1997) 0.432- 0.982 (ortalama 0.718), Karcicio (2006) 0.276-0.778 ve Cenkeci ve ark. (2007) ise 0.388 -0.714 arasında bulduklarını bildirmektedirler. Saptanan bu değerler araştırmamızda saptanan 0.433-0.874 değerleri ile göreceli yakındır. Ayrıca RAPD yöntemi ile buğday çeşitleri üzerinde yürüttükleri çalışmalarında benzerlik indekslerini Bedö ve ark. (2000) 0.03-0.74, Szucks ve ark (2000) 0.03-0.18 oranlarında belirleyerek araştırmada saptanan değerlerden daha küçük değerler bildirirken, Mukhtar ve ark. (2002) 0.756-0.927 değerleri ile daha yüksek değerler bulmuşlardır.

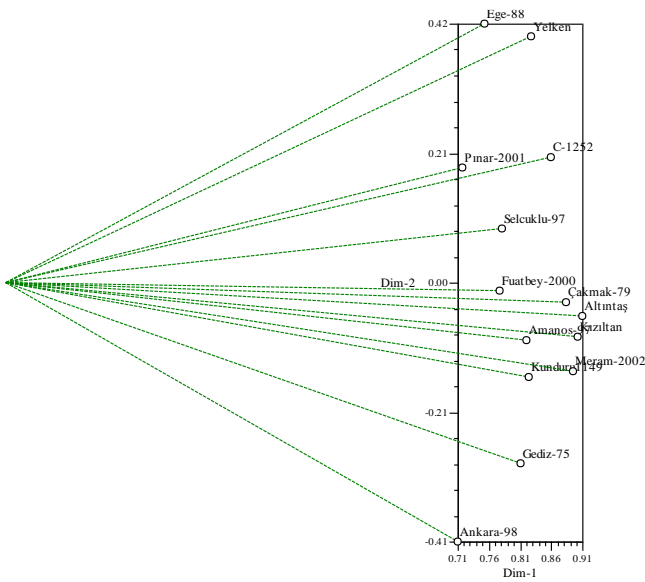
Araştırmada elde edilen dendrogramda ise çalışılan makarnalık buğday çeşitleri 6 grupta toplanmışlardır. Bu bulgu Abbas ve ark. (2008)'nin yaptıkları RAPD-PCR sonucu elde ettikleri dendrogramda çalıştıkları buğday genotiplerinin 6 grupta toplandıkları bulgularına benzer niteliktedir. Bunun yanı sıra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



Şekil 3. Makarnalık buğday çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram

Araştırmada elde edilen “Temel Bileşenler Analizi (PCA)” sonucu Şekil 4’de görülmektedir. Bu sonuçlara göre çeşitler arasında genetik varyasyon bakımından Fuatbey-2000, Çakmak-79, Altıntaş-95, Kızıltan-91, Amanos-97, Meram-2002 ve Kunduru-1149 çeşitleri aynı grupta toplanırlarken, diğer çeşitler genetik benzerlik eşitliğinden elde edilen dendrograma benzer şekilde farklı gruplar oluşturmuşlardır. Ancak Gediz-75, Yelken ve Çeşit -1252 çeşitleri dendrogramda aynı grupta yer almasına rağmen PCA sonucu farklı bölgelerde yer almışlardır. Bunun sebebinin çeşitlerin çok farklı coğrafi bölgelerden getirilmesi veya farklı genetik içeriğe sahip anaçların kullanılması olarak açıklanmaktadır (Karcicio 2006). Çizelge 1 incelendiğinde de görüleceği gibi Gediz-75 İzmir, Yelken Konya ve Çeşit-1252 ise Ankara illerinde bulunan Tarımsal Araştırma Enstitülerinden temin edilmiş olup, bu farklı coğrafi yörelerde yetiştirilmesi önerilmektedir. Bunun yanı sıra çeşitler farklı anaçları da içermektedirler (Çizelge 1). Ayrıca değişik ekolojik ortamların RAPD- polimorfizminin ortaya çıkmasında etkili olduğu Nevo ve ark. (2002) tarafından bildirilmektedir.

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



Şekil 4. Makarnalık buğday çeşitlerine ait temel bileşenler analizi

Sonuç

Çalışmamızda toplam 45 RAPD primeri kullanılmış ve makarnalık buğdaylarda 28'i polimorfik olarak saptanmıştır. Dendrogram bilgisine bakarak araştırmada kullanılan makarnalık buğday çeşitlerinin 6 grupta toplandığını söyleyebiliriz. Dendrogram sonuçlarında aynı grupta yer alan bazı çeşitlerin ortak bir atayı (Çakmak-79, Kızıltan-91, Kunduru-1149, Çeşit-1252), bazılarının ise ortak bir coğrafi özelliği (Çeşit-1252, Çakmak-79, Kızıltan-91 (Ankara), Yelken, Meram-2002 (Konya) Altıntaş-95 ve Kunduru (Eskişehir)) paylaştığı görülmektedir. Farklı coğrafi bölgelerden gelen ve atasal bağı bulunmayan çeşitlerin aynı grupta yer almasının nedeninin uygulanan ıslah programlarının bir sonucu olduğunu söyleyebiliriz. Çünkü ıslah programları belirli genetik özelliklerin seçilmesine yönelik yapılmaktadır. Bu durum, çeşitler arasında ortak bir ata olmasa da benzer bir genetik yapının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Karcicio 2006).

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

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

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

Kaynaklar

- Abbas, S.J., S.R.U. Shah, G.Rasool and A. Iqbal. 2008 a. Analysis of Genetic Diversity in Pakistan Wheat Varieties By Using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Primers American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 2(1): 29-33.
- Akkaya, M.S., Doğrar, A. İncirli, E.E. Hakkı, E. B. Büyükcinal ve H. Bilgiç. 1999. Türkiye Makarnalık Buğday Çeşitlerinde DNA belirleyicileri Kullanarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Hububat Sempozyumu. 8-11 Haziran 1999. Konya. 143-145.
- Altıntaş, S., F. Toklu, S. Kafkas, B. Kılan, A. Brandolini and H. Özkan. 2008. Estimating Genetic Diversity in Durum and Bread Wheat Cultivars From Turkey Using AFLP and SAMPL Markers. Plant Breeding 127: 9-14.
- Atak, M. 2004. Farklı Triticale Hatlarının Morfolojik ve DNA Markörleriyle Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi (Yayınlanmamış).106 s.
- Bedo, Z., L. Szunics, L. Lang, Lu. Szunics, O. Veisz, I. Karsai, Gy. Vida, P. Szücs, A. Juhasz, M. Gal, Sz. Bencze, M. Megyeri, K. Puskas and C. S. Horvath. 2000. Genetic Diversity in Durum Wheat. Annual Wheat Newsletter. Vol:46. <http://wheat.pw.usda.gov/gpages/awn/>
- Bhutta, W. M. 2006. Biochemical and Molecular Characterization of Wheat Genotypes Determined By RAPD Analysis. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Plant Soil Science, 57(4):335-341.
- Bhutta, W.M., J. Akhtar, M. Ibrahim and A. Shahzad. 2006. Genetic Variation Between Pakistan Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes As Revealed By Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. South African Journal of Botany. 72: 280-283.
- Bibi, S., U. Dahot, I. A. Khan, A. Khatri and M.H. Naqvi. 2009. Study of Genetic Diversity (*Triticum aestivum* L.) Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Pakistan Journal of Botany. 41(3):1023-1027.
- Bilgin, O. 2001. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarında Genetik Uzaklıklar, Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi. Doktora Tezi.
- Castagna, R., S. Gnocchi, M. Perenzin and M. Heun. 1997. Genetic Variability of the Wild Diploid Wheat *Triticum Urartu* Revealed By RFLP and RAPD Markers. Theor Appl Genet 94: 424-430.
- Cenkci, S., M. Konuk and Y. Eren. 2007. Genetic Diversity in Some Wild (*Triticum* L. and *Aegilops* L.) and Cultivated (*Triticum aestivum* L. and *Triticum durum* Desf.) Wheat Species of Turkey. Asian Journal of Plant Sciences. 2:1-7.
- Chen, H. B., J. M. Martin, M. Lavin and L. E. Talbert. 1994. Genetic Diversity in Hard Red Spring Wheat Based on Sequence-Tagged-Site PCR Markers Crop Science.34(6): 1628-1632.
- De Bustos, A., C. Casanova, C. Soler and N. Jouve. 1998. RAPD Variation in Wild Populations of Four Species of the Genus *Hordeum* (Poaceae). Theor. Appl. Genet, 96: 101-111.
- Doğrar, N., S. Akın-Yalın and M.S. Akkaya. 2000. Discriminating Durum Wheat Cultivars Using Highly Polymorphic Simple Sequence Repeat DNA Markers Plant Breeding 119:360-362.
- Grewal, S., P. Kharb, R. Malik, S. Jain and R.K. Jain. 2007. Assessment of Genetic Diversity Among Some Indian Wheat Cultivars Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Indian Journal of Biotechnology. Vol: 17(6): 18-23.
- Gupta, P. K., R.K. Varshney, P. C. Sharma and B. Ramesh. 1999. Review. Moleküler Markers and Their Application in Wheat Breeding. Plant Breeding, 118: 369-390.

- Joshi, C.P. and H. T. Nguyen. 1993. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Analysis Based Intervarietal Genetic Relationships Among Hexaploid Wheats. *Plant Science*. 93(1-2): 95-103.
- Karcicio, M. 2006. Yerel Durum Buğdayı Çeşitlerinde (*Triticum durum* Desf.) RAPD-PCR Tekniği ile Genetik Çeşitlilik Analizi Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 80s.
- Liu, Z.Q., Y. Pei and Z.J. Pu 1999. Relationship Between Hybrid Performance and Genetic Diversity Based on RAPD Markers in Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Plant Breeding* 118:119-123.
- Malaki, M., M.R. Naghavi, H. Alizadeh and F. Tabatabaei. 2008. Analysis of Genetic Diversity in Wild Diploid Wheat *Triticum boeoticum* From West of Iran Using RAPD and AFLP Markers. 11th. International Wheat Genetics Symposium, 24-29 August 2008. Brisbane, Austria.
- Maric, S., S. Bolaric, J. Martincic, I. Pejic and V. Kozumplik. 2004. Genetic Diversity of Hexaploid Wheat Cultivars Estimated By RAPD Markers, Morphological Traits and Coefficients of Parentage *Plant Breeding* 123, 366-369.
- Mukhtar, M.S., M.U. Rahman and Y. Zafar. 2002. Assessment of Genetic Diversity Among Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars From A Range of Localities Across Pakistan Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis *Euphytica* 128: 417-425.
- Nevo, E., A. B. Korol, A. Beiles, and T. Fahima. 2002. Evolution of Wild Emer Wheat and Wheat Improvement. Springer- Verlag, Berlin, Almanya.
- Pujar, S., S.A. Tamhankar, V.S. Rao, V. S. Gupta, S. Naik and P.K. Ranjekar. 1999. Arbitrarily Primed PCR Based Diversity Assesment Reflects Hierarchical Grouping of Indian Tetraploid Wheat Genotypes. *Theo. Appl. Genet.* 99(5):868-876.
- Rohlf, F. J. 2005. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2. 2. Department of Ecology and Evolution State University of New York. Stony Brook, NY 11794-5445. ISBN:0-95031-31-3. 42 p.
- Sawalha, K., H. Eideh, Sa'ad Laham, H. Hasasneh and B. Mezeid. 2008. Genetic Diversity Studies on Wheat Landraces in Palestine Using RAPD Markers in Comparison to Phenotypic Classification. *Journal of Applied Biological Sciences* 2 (1): 29-34.
- Shoab, A. and M. I. E. Arabi. 2006. Genetic Diversity Among Syrian Cultivated and Landraces Wheat Revealed By AFLP Markers *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 901-906.
- Sun, Q., Z. Ni, Z. Liu, J. Gao and T. Huang. 1998. Genetic Diversity in Elite Wheat Cultivars Revealed By Random Amplified Polymorphic DNA. *Annual Wheat Newsletter*. Vol:44. <http://wheat.pw.usda.gov/gpages/awn/>
- Szucs, P., A. Juhasz, I. Karsai, L.Lang, O. Veisz and Z. Bedo. 2000. Use of Molecular Markers For Studying Genetic Diversity in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Genetics and Breeding* 54: (1) 25-33; 44 Ref.
- Taghian, A.S. and A. Abo-Elwafa. 2003. Multivariate and RAPD Analysis of Drought Tolerance in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Assiut Journal of Agricultural Sciences*. 34(5):1-22.
- Tahir, N.A. 2008. Assesment of Genetic Diversity Among Wheat Varieties in Sulaimanyah Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 1(4): 159-164.
- Tavale, S. T. 2001. Molecular Analysis of Wheat Genome Using ISSR and RAPD Markers. A Thesis Submitted To The University of Pune For The Degree of Master of Science (Partly By Papers and Partly By Research) In Chemistry (Biochemistry) (Unpublished) 72s.
- Tonk, F. A., R. R. Akçalı, M. A. Furan ve S. Yüce. 2008. Bazı Makarnalık Buğday Çeşitleri ile Yeni Geliştirilen Hatlarda Genetik İlişkilerin RAPD Markörleriyle İncelenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 45 (2): 85-90.
- Wang, T., Q. Huang and W. Feng. 2007. RAPD and SSR Polymorphisms in Mutant Lines of Transgenic Wheat Mediated By Low Energy Ion Beam. *Plasma Science and Technology*, Vol.9, No.5,643-648.