

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

Bazı Türk Yazlık Ekmeklik Buğday Çeşitleri Arasındaki Genetik Farklılığın SSR Markörleriyle Belirlenmesi

Merve Dilek GEBOLOĞLU, Mehmet Alp FURAN*

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Van, Türkiye
*e-posta: alpforan@yu.edu.tr; Tel: +90 (432) 444 50 65 / 22664

Özet: Tahıllar içerisinde buğday, ilk çağlardan beri kültürü yapılan ve stratejik önemi yüksek olan bir besin kaynağıdır. Nüfusun artmasıyla birlikte birim alandan alınan verimi artırma ihtiyacı doğmuştur. Buğdayda birim alandan alınan verimi arttırmak çeşitli ıslah yöntemleri ile mümkün olabilir. Gen kaynaklarının genetik benzerlik-farklılıklarının bilinmesi bitki ıslahı açısından oldukça önemlidir. Son yıllarda buğdayda yapılan çalışmalarda moleküler markör yöntemleri sıklıkla tercih edilmektedir. Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 23 adet ekmeklik buğday çeşidinin moleküler karakterizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 32 adet SSR primeri kullanılarak spesifik DNA bölgelerinin çoğaltılması sağlanmış ve kapillar yöntemle elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan moleküler markör analizi sonucunda çeşitler arasındaki genetik benzerlik ve farklılıklar moleküler düzeyde ortaya konmuştur. Ayrıca bu çalışmayla moleküler markör kullanımının ıslah çalışmaları için önemi ve gerekliliği bir kez daha vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Buğday çeşidi, Genetik Farklılık, Kapillar elektroforez, SSR primeri

Abstract: Wheat in grain, is a food source with high strategic importance and it was cultured since ancient times. Since the increase of population in the world, it was necessary in order to increase the yield per unit area. Increasing yield per unit area of wheat, can be achievable by various breeding methods. Knowing the genetic similarities - differences of plant genetic resources are very important for breeding. In recent years, molecular marker methods are often preferred in wheats. This study was aimed to molecular characterization of 23 bread wheat varieties which collected from different regions of Turkey using capillary electrophoretic method for 32 SSR primers. As a result of molecular marker analysis the genetic similarities and differences between the varieties are revealed at the molecular level. In addition, this study emphasizes once again the importance and necessity of using molecular markers for breeding studies.

Keywords: Wheat varieties, Genetic diversity, Capillary electrophoresis, SSR primer

Determination of Genetic Diversity Among Some Turkish Spring Bread Wheat Varieties Using SSR Markers

Giriş

Buğday (*Triticum aestivum*), çeltik (*Oryza sativa* L.), mısır (*Zea mays* L.), arpa (*Hordeum vulgare* L.) tüm dünyadaki nüfusun günlük kalori ihtiyacının yaklaşık %80'ini karşılayan ve tarımı en çok yapılan tahıl türleridir (Okyay 2009). Tahıllar içerisinde buğday, ilk çağlardan beri kültürü yapılan ve stratejik önemi yüksek olan besin kaynağıdır. Dünya nüfusunun yaklaşık %35'inin temel besin kaynağı olarak kullanılırlar. Ayrıca günlük ihtiyaç duyulan kalori miktarının yaklaşık %20'sini karşılamaktadır. Buğdaydan, insan ve hayvan beslenmesinde de yararlanılmaktadır (Dede 2007). Buğday adaptasyon yeteneğinin yüksek, yetiştirilmesi-taşınması-depolanması kolay kültüre alınan ilk bitki olması nedeniyle geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Buğday, insan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında ekim alanı ve üretim miktarı bakımından Dünya'da ve ülkemizde önemli bir yere sahiptir (Yağdı 2004). TÜİK 2015 verilerine göre; 7866.8874 hektar ekim alanında 22.6 milyon ton buğday üretilmiştir (TÜİK 2015). Buğdayın

kimyasal bileşiminde; %65-75 oranında karbonhidrat, %7-18 oranında protein, %8-14 oranında su, %8-14 oranında lipit, %1-2 oranında mineral maddeler ve iz miktarda da vitamin ve enzimler vardır. Ekmek üretiminde buğdayın tercih edilme nedeni bileşimindeki proteinlerin yaklaşık %85'ini gluten proteinlerinin (Glutenin ve gliadin) oluşturmasıdır (Akyürek 2014). Ekmeklik buğday, [*Triticum aestivum* L. $2n=6x=42$ (AABBDD)] her biri farklı atadan elde edilen üç genomu (A, B ve D) içeren alloheksaploid bir bitkidir (Poehlman 1987). Ekmeklik buğday genomu 16×10^9 bp'den oluşur (Bennet ve Leitch 1995). Smith ve Flavell (1975), buğday genomunun %80'inden fazlasının defalarca tekrarlanmış DNA sekansları içerdiğini belirlemişlerdir. Moleküler markörler değişik metodlarla tespiti yapılabilen polimorfik DNA sekans-kodlama bölgeleridir (Metin 2012). Markör sisteminde bulunması gereken özellikler; kolay, hızlı ve ekonomik tespit edilebilmesi, polimorfik olması, kodominant kalıtım göstermesi, genomda düzgün bir şekilde dağılmış olması, ön sekans bilgisi olmayan genoma da uygulanabilmesi olarak açıklanabilir. Moleküler markörlerden, bitkilerde gen kaynaklarının özelliklerinin belirlenmesinde- genetik incelemelerde, bitki organizmalarında detaylı fiziksel ve genetik kromozom haritalarının çıkarılmasında, transgenik bitkilerin belirlenmesinde, bitkilerde istenilen özelliklerin seleksiyon yolu ile seçilmesi ve klasik ıslah çalışmalarında başarıyı artırması gibi birçok alanda yararlanılmaktadır (Gupta ve ark. 1999; Atak 2004). Moleküler markörler; kontrollü tozlanmış melezlerin soylarını saptamak (Neale ve ark. 1992), önemli genotiplerin etiketlenmesi (Adams ve ark. 1988), bitki yetiştiriciliğinde genetik kaynakların kullanılması, aksesyonlar arasında ve içinde genetik farklılığın değerlendirilebilmesi (Melchinger 1999) için bitki ıslahçılara imkan sağlar. Son yıllarda yapılan moleküler karakterizasyon çalışmalarında basit dizi tekrarlarına bağlı olarak geliştirilmiş mikrosatelit markörleri, diğer markör sistemlerine göre avantajlı olması nedeniyle daha sık tercih edilmektedir (Dede 2007). Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanmış ve Türkiye'de yaygın olarak ekimi yapılan 23 yazlık ekmeklik buğday çeşidi arasındaki genetik farklılık ve benzerlikler SSR markörleriyle belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bu araştırma, 2016 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışma materyalini oluşturan Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış 23 yazlık buğday çeşidi ve ıslah edildiği kuruluşlara ait bilgiler çizelge 1'de verilmiştir. DNA analizleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ne ait Uygulamalı Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. DNA'ların elde edilmesinde Doyle ve Doyle (1987) metoduna göre CTAB izolasyon yöntemi kullanılmıştır. PCR reaksiyonunda her örnekten eşit miktarda DNA kullanılmasını garantilemek amacıyla izole edilen çift iplikli DNA miktarının tayini Thermo NanoDrop 2000 cihazında yapılmış ve elde edilen ölçümler sonucunda hesaplanan DNA miktarı, PCR analizinde kullanılacak SSR markörleri için μ l'de 10 ng olacak şekilde TE (Tris-EDTA) tamponu ile seyreltilmiştir. PCR işlemi için, her tüpte toplam hacim 15 μ l olacak şekilde; 50 ng genomik DNA, 200 μ M dNTP, ileri ve geri olmak üzere (F + R) 1 +1 pmol / primer, 10X buffer ve 25 mM $MgCl_2$, 5U/ μ l Taq DNA polimeraz enziminden oluşmaktadır. PCR işlemi için ticari olarak sentezlenmiş uzunlukları 17-24 baz arasında değişen 103 SSR primeri başlangıçta tek genotipte denenmiş, screening sonuçlarına göre polimorfik ve tekrar edilebilir bant desenleri veren 32 adet SSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerler ve baz dizilişleri çizelge 2'de verilmiştir.

Kapiler jel elektroforezinde PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla 25-500 bp (15 ng/ml) size marker ve 15-600 bp alignment marker (20ng/ml) kullanılmıştır. Bant uzunluklarının maximum 500 bp olarak beklenmesinden dolayı OL1200 metodu kullanılmıştır. Elektroforez işlemi için Qiagcell Screengal 1.4 yazılımı kullanılmıştır. Yazılım içerisinde injektion time 17 sn olarak ayarlanmış ve High Resulation DNA 1200 örneklik kit kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan 23 buğday çeşidi

Genotip	İslah Edildiği Kuruluş
Adana 99	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1999
Alibey	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Basribey 95	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1995
Beşköprü	Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1997
Cemre	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi/2008
Çukurova	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1986
Cumhuriyet 75	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1975
Doğankent 1	Suriye-ICARDA/1991
Hanlı	Mısır Araştırma Enstitüsü Sakarya
Karacabey 97	Mısır Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1997 Sakarya
Karacadağ 98	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi/1998
Karatoprak	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Kaşif Bey 95	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1995
Menemen	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Meta 2002	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü/2002
Nurkent	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi/2000
Osmaniyem	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Pamukova 97	Mısır Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1997 Sakarya
Seri 82	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Seyhan 95	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1995
Tahirova 2000	Mısır Araştırma Enstitüsü/2000 Sakarya
Yüreğir 89	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1989
Ziyabey 98	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü/1998

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan 32 SSR primerinin isimleri, sekansları, toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve PIC değerleri

Lokus	Sekans	T*	P*	P%	PIC
XGWM11	GGATAGTCAGACAATTCTTGTG GTGAATTGTGTCTTGTATGCTTCC	10	10	100	0.46805293
XGWM18	TGGCGCCATGATTGCATTATCTC GGTTGCTGAAGAACCTTATTTAGG	3	3	100	0.994328922
XBARC187	GTGGTATTTAGGTGGAGTTGTTTTA CGGAGGAGCAGTAAGGAAGG	7	7	100	0.219551715
XBARC263	GGAAGCGCGTCAGCACTAGGCAAC GGCTTCTAGGTGCTGCGGCTTTTGTGTC	7	7	100	0.387523629
XGWM148	GTGAGGCAGCAAGAGAGAAA CAAAGCTTGACTCAGACAAA	3	3	100	0.442344045
XGWM630	GTGCCTGTGCCATCGTC CGAAAGTAACAGCGCAGTGA	7	7	100	0.381852552
XGWM319	GGTTGCTGTACAAGTGTTACAG CGGGTGCTGTGTGTAATGAC	7	7	100	0.462597894
XGWM55	GCATCTGGTACACTAGCTGCC TCATGGATGCATCACATCCT	3	3	100	0.525519849
XBARC186	GGAGTGTCGAGATGATGTGGAAAC CGCAGACGTCAGCAGCTCGAGAGG	11	11	100	0.369822994
XGWM234	GAGTCCTGATGTGAAGCTGTTG CTCATTGGGGTGTGTACGTG	4	4	100	0.530245747
WMC156	GCCTCTAGGGAGAAAATAACA TCAAGATCATATCCTCCCCAAC	5	4	80	0.325519849

(Çizelge 2 devamı)

WMC326	GGAGCATCGCAGGACAGA GGACGAGGACGCCTGAAT	8	7	87.5	0.4213138
WMC327	TGCGGTACAGGCAAGGCT TAGAACGCCCTCGTCGGA	6	6	100	0.262129805
WMC261	GATGTGCATGTGAATCTCAAAAGTA AAAGAGGGTCACAGAATAACCTAAA	5	5	100	0.371266541
WMC276	GACATGTGCACCAGAATAGC AGAAGAACTATTCGACTCCT	10	10	100	0.270510397
WMC27	AATAGAAACAGGTCACCATCCG TAGAGCTGGAGTAGGGCCAAAG	4	4	100	0.388468809
WMC63	GTGCTCTGGAAACCTTCTACGA CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA	6	6	100	0.424700693
WMC96	TAGCAGCCATGCTTAGCATCAA GTTTCAGTCTTTCACGAACACG	7	7	100	0.377801782
WMC44	GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG TGTTGCTAGGGACCCGTAGTGG	5	3	60	0.435916824
WMS108	ATTAATACCTGAGGGAGGTGC GGTCTCAGGAGCAAGAACAC	5	4	80	0.434782609
WMC175	GCTCAGTCAAACCGCTACTTCT CACTACTCCAATCTATCGCCGT	2	2	100	0.269376181
WMC153	ATGAGGACTCGAAGCTTGGC CTGAGCTTTTGC GCGTTGAC	12	12	100	0.188563327
WMC154	ATGCTCGTCAGTGTGCATGTTTG AAACGGAACCTACCTCACTCTT	2	2	100	0.791115312
WMC322	CGCCCCACTATGCTTTG CCCAGTCCAGCTAGCCTCC	8	8	100	0.498582231
WMS30	ATCTTAGCATAGAAGGGAGTGGG TTCTGCACCCTGGGTGATTGC	3	2	66.7	0.661625709
WMS375	ATTGGCGACTCTAGCATATACG GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC	3	3	100	0.112161311
WMC25	TCTGGCCAGGATCAATATTACT TAAGATACATAGATCCAACACC	3	3	100	0.419029616
WMC147	AGAACGAAAGAAGCGCGCTGAG ATGTGTTTCTTATCCTGCGGGC	7	7	100	0.480691331
WMC445	AGAATAGGTTCTTGGGCCAGTC GAGATGATCTCCTCCATCAGCA	5	5	100	0.330056711
WMC47	GAAACAGGGTTAACCATGCCAA ATGGTGCTGCCAACAACATACA	6	6	100	0.442659105
WMC43	TAGCTCAACCACCACCCTACTG ACTTCAACATCCAAACTGACCG	1	1	100	0,243856333
WMC97	GTCCATATATGCAAGGAGTC GTACTCTATCGCAAAACACA	4	4	100	0.200378072
Toplam		179	174		
Ortalama		5.59	5.43	96.07	

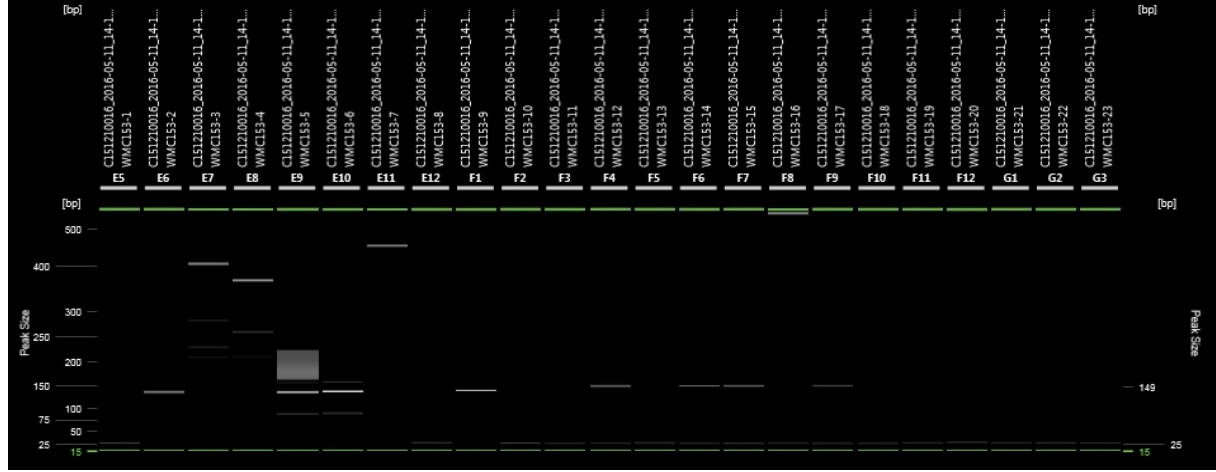
* T, toplam bant; P, Polimorfik bant; PIC: Polimorfizm bilgi içeriği.

İstatistiksel analiz

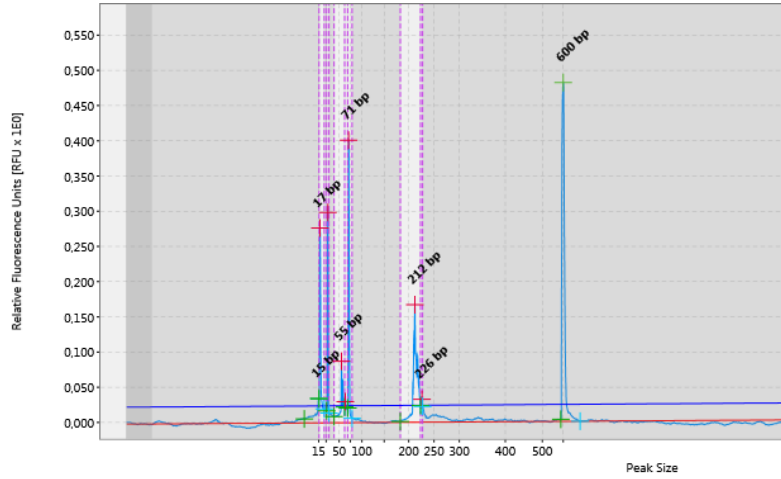
Genotipler arasındaki genetik benzerlik ve genetik uzaklık değerlerinin hesaplanmasında, SSR bantlarının sayılması ve varlıklarına göre bant adetlerinin rakamsal olarak değerlendirilmesi ile hazırlanmış olan binari veri matrisinden faydalanılarak Nei and Li (1979)'nin aşağıdaki formülü kullanılmış ve NTSYS-pc 2.0 (Rohlf 1998) software programı aracılığıyla genotiplere ait dendrogram elde edilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriğinin hesaplanmasında $PIC = 1 - \Sigma p_i^2$. Formülü kullanılmıştır (Riek 2001).

Bulgular ve Tartışma

Görüntü alınan DNA fragmentlerinin değerlendirilmesi amacıyla Qiaxcell Screengel 1.4 yazılımı kullanılmıştır. Bantların hizalama işlemleri alignment marker (hizalama markör) ile gerçekleştirilmiştir. Her bir bant için yazılımda verilen ng/ml oranlarındaki konsantrasyonlarına bağlı olarak verilen pik değerleri alınıp, PCR ürünlerinden elde edilen bantların baz uzunluklarının belirlenmesi işlemi de Qiaxcell Screengel yazılımı ile elde edilmiştir. Var olan bantların allel bölgelerine göre binomial veriler bantların baz uzunluklarına göre elde edilmiştir. Yazlık çeşitler arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla kullanılan 32 SSR primerinin kapiler jel elektroferezindeki görüntüleri ve elde edilen konsantrasyona bağlı uzunluk değerlerini temsili jel görüntüleri şekil 1 ve şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 1. WMC153 primerinin kapiler jel elektroferezindeki görüntüsü.

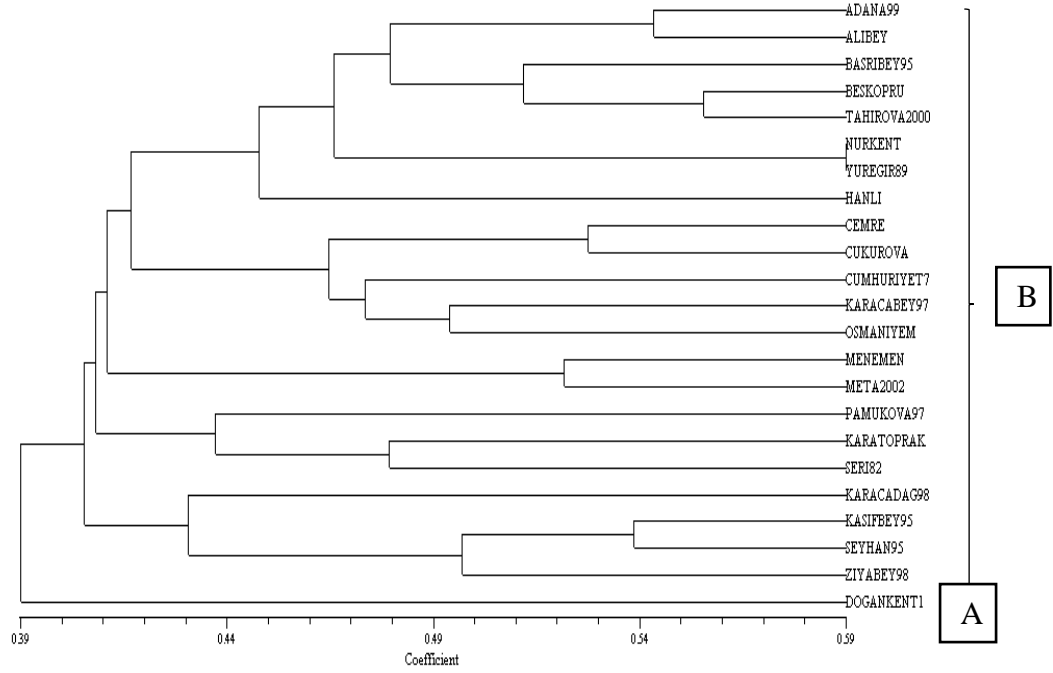


Şekil 2. Konsantrasyona bağlı uzunluk değerleri jel peak görüntüsü.

WMC327 Primerinin Adana 99, Alibey, Basribey95, Beşköprü, Cemre, Çukurova, Cumhuriyet 75, Doğankent 1, Hanlı, Karacabey 97, Karacadağ 98 ve Karatoprak çeşitlerinde gösterdiği pik değerleri

Çalışmada 32 SSR primeri kullanılmış, çalışma sonucunda yapılan analizlerde 174 polimorfik 5 monomorfik olmak üzere toplamda 179 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Primer başına ortalama 5.59 bant olmak üzere 1 (WMC43) ile 12 (WMC153) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 2). Ortalama polimorfik bant sayısı primer başına 5.43 olmak üzere maksimum polimorfik bant sayısı (12 bant) WMC153 primerinden elde edilirken, minimum polimorfik bant sayısı (1 bant) WMC43 primerinden elde edilmiştir

(Çizelge 2). Polimorfizm yüzdesi tüm genotiplere arasında %96.07'lik bir ortalama ile %60'tan % 100'lere varan bir değişim göstermektedir.



Şekil 3. SSR markörleri ile yapılmış 23 buğday genotipine ait dendrogram.

23 yazlık buğday çeşidinden elde edilen bantların oluşturduğu binary veri setine uygun olarak hazırlanmış dendrogram incelendiğinde (Şekil 3) genotipler A ve B olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Doğankent 1 genotipi tek başına A grubunda yer alırken diğer genotipler ise B grubuna dahil olmuştur. B grubunda yer alan genotipleri ise 5 ayrı alt grup altında değerlendirmek mümkün olmuştur. Doğankent 1 çeşidinin diğer yazlık buğday çeşitlerinden ayrıldığı görülürken Adana 99, Alibey, Basribey 95, Beşköprü, Tahirova 2000, Nurkent, Yüreğir89 ve Hanlı çeşitlerinin birbirlerine yakın ortak bir grup oluşturdukları yine aynı şekilde Cemre, Çukurova, Cumhuriyet 75, Karacabey 97 ve Osmaniye çeşitlerinin bir diğer alt grubu oluşturduğu görülmektedir. Menemen ve Meta 2002 çeşitlerinin birlikte yer alması yanı sıra Pamukova97, Karatoprak, Seri 82 çeşitlerinin bir arada yer aldığı, Karacadağ 98, Kaşifbey 95, Seyhan 95 ve Ziyabey 98 çeşitlerinin ise birlikte aynı grup altında toplandığı görülmüştür. Yapılan analizler sonucunda çeşitler arasındaki genetik farklılığın toplandıkları bölgelerden kaynaklandığı görülmektedir. A grubuna ait tek genotip olan Doğankent 1 çeşidine bakıldığında ıslah edildiği kuruluşun Suriye/ICARDA olduğu görülmektedir. B grubuna ait genotiplere bakıldığında, çeşitlerin ıslah edildikleri kuruluşların Türkiye genelindeki kuruluşlar olduğu görülmektedir. Bununla birlikte tüm primerlerin oluşturduğu dendrograma bakıldığında, aynı alt gruba giren Menemen ve Meta 2002'nin aynı yerde ıslah edildikleri görülmektedir (Çizelge 1). Oluşturulmuş Dendrogram göz önüne alındığında farklı bölge çeşitlerinin de aynı alt gruplarda bulunması, genetik farklılıkta coğrafik bölgelerden başka etkenlerin de olduğunu göstermektedir. Strelchenko ve ark. (2004), 22 farklı ülkeden topladığı 78 yerel çeşitte SSR markörleriyle farklılığı belirlemeye çalışmış, sonuçta genetik farklılığa baktıklarında aynı coğrafik bölgeden gelen genotiplerin aynı alt gruplara girdiğini; farklı coğrafik bölgelerden alınan çeşitlerinde aynı alt gruba girebildikleri gibi farklı alt gruba da girebildiklerini belirtmişlerdir. Bu durum genetik tabandaki çeşitliliğin sonucu olarak açıklanabilir.

Sonuç

Buğday geniş adaptasyon yeteneğine sahip olması ve insan beslenmesinde sıklıkla kullanılması nedeniyle oldukça önemli bir bitkidir. Ayrıca dünyada ve Türkiye'de ekiliş-üretim sıralamasında ilk sıralarda yer almaktadır. Ancak son yıllarda buğdayda genetik varyasyon daralmaktadır. Bu çalışma buğdayda daralan genetik varyasyona çözüm olabilecek bazı Türk yazlık ekmeklik buğday çeşitlerinin seçiminin

kolaylaştırılması ve bu çeşitlerle ileride yapılabilecek ıslah çalışmalarına faydalı veriler sağlaması açısından önemlidir. Bu çalışma da bu yönüyle ileriki bitki ıslah programlarında kullanılabilir olma niteliği taşımaktadır. Bu çalışma sayesinde ülkemiz açısından oldukça büyük öneme sahip yazlık ekmeklik buğday çeşitlerinin DNA parmak izlerinin kapılar elektroforetik yöntemle belirlenmesi faydalı bir zemin oluşturmuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre yazlık ekmeklik buğday çeşitlerinin tanımlama ve sınıflandırmalarının yapılabilmesi için SSR markörlerinin kullanılabilmesinin yararlı ve kullanışlı olduğu kanıtlanırken, bu çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında, belirli özelliklere ve genlere yönelik yürütülmesi planlanacak yeni ıslah projeleri için faydalı sonuçlar kullanılabilir veriler haline getirilmiştir.

Kaynaklar

- Akyürek S (2014). Değişik Fenolojik Özelliklere Sahip Buğday Çeşitlerinde Süne Zararının Verim ve Kalite Üzerine Etkisi ve Genetik Farklılıkların Belirlenmesi. (Doktora Tezi) Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.
- 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.
- Bennett MD, Leitch IJ (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann. Bot.*, 76: 113-176.
- Dede B (2007). Mikrosatellit DNA Belirleyicileri Kullanarak Yerel Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Tanımlanması (Yüksek Lisans Tezi). Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilim. Enstitüsü, Tokat.
- De Riek J, Calsyn E, Everaert I, Van Bocksteal E, De Loose M (2001). AFLP based alternative for the assessment of the distinctness, uniformity and stability of sugar beat varieties. *Theor. Appl. Genet.* 103: 1254-1256.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19: 11-15.
- Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC, Ramesh B (1999). Review. Moleküler Markers and Their Application in Wheat Breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.
- Melchinger AE (1999). The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. Genetic diversity and heterosis (Editor: . In J.G. Coors and S. Pandey) *CSSA*, Madison, WI. S:99-118.
- Metin A (2012). Nohut Çeşitlerinde SSR Varyasyonu ve Genetik İlişkilerin Değerlendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yozgat.
- Neale DB, Devey ME, Jermstad KD, Ahuja MR, Alosi MC, Marshall KA (1992). Use of DNA markers in forest tree improvement research, *New. For.*, 6: 391-407.
- Nei M, Li WH (1979), Mathematical model for studying variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 76: 5269-5273.
- Okyay VV (2009). Akdeniz Bölgesine Uygun Ekmeklik Buğdaylarda (*Triticum aestivum* L.) D-genomundaki Değişimlerin SSR Markörleri Yoluyla Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antakya/Hatay.
- Poehlman JM (1987). *Breeding Field Crops* 3rd edition. AVI, Westport, Connecticut.
- Prasad M, Varshney RK, Roy JK, Balyan HS, Gupta PK (2000). The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 584-592.
- Rohlf FJ (1998). *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, Version 2.0, User's Guide. New York: Exeter Software.
- Smith DB, Flavell RB (1975). Characterisation of the wheat genome by renaturation kinetics. *Chromosome*, 50: 223-242.
- Strelchenko P, Street K, Mitrofanova O, Mackay M, Balfourier F (2004). Genetic diversity among hexaploid wheat landraces with different geographical origins revealed by microsatellites: Comparison with AFLP and RAPD. 4th International Crop Science Congress, Eylül 2004, Brisbane/Avustralya.
- TÜİK (2015). Bitkisel ürün istatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. Erişim Tarihi: 4.06.2016.
- Yağdı K (2004). Bursa Koşullarında Geliştirilen Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Hatlarının Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 18(1): 11-23.