

Burcu ÇETİN¹
Süer YÜCE²

¹ Dr., Celal Bayar Üniversitesi,
Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Manisa
burcu.cetin@bayar.edu.tr

² Prof. Dr., Ege Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü,
Bornova, İzmir

***Triticum dicoccoides* ile *Triticum durum* Melezlerinin F₄ Neslinde ve Ebeveynlerinde RAPD Yöntemiyle Genotip Belirlenmesi**

Genotype identification of the F₄ generations and
parents in the *Triticum dicoccoides* and *Triticum durum*
hybrids by using RAPD markers

Alınış (Received): 11.11.2008 Kabul tarihi (Accepted): 02.01.2009

Anahtar Sözcükler:

RAPD (Rastgele Amplifiye Edilmiş
Polimorfik DNA), PCR (Polimeraz
Zincir Reaksiyonu), *Triticum
dicoccoides*, *Triticum durum*

Key Words:

RAPD (Random Amplification of
Polymorphic DNA), PCR
(Polymerase Chain Reaction),
Triticum dicoccoides, *Triticum
durum*

ÖZET

Buğday insan beslenmesinde önemli bir bileşendir. Bu nedenle buğdayın kalite ve kantitesini artırmak için birçok ıslah çalışması yapılmaktadır. Bugün genotipik yapıların gözlemine mümkün kılan çeşitli moleküler markörler kullanılmaktadır. Bu araştırmada, makarnalık buğday (*Triticum durum*) ve yabani buğday (*Triticum dicoccoides*) ekonomik beslenme ve yüksek protein içeriği açısından önemleri nedeniyle kullanıldı ve bu türlerin hibritleri RAPD markörleri kullanılarak analiz edildi. Yirmi RAPD primerinin ön analiz sonuçlarına dayalı olarak önemli bantlar veren 6 primer (OPA-02, OPA-04, OPA-06, OPB-03, OPB-04, OPB-05) genetik polimorfizmi ve genotipleri belirlemek için seçilip kullanıldı. Elektroforetik bantlar Kluster yöntemine göre (jump) analiz edildi. Türler arasındaki genotip uzaklıklar dendogramlarla belirlendi. Araştırma sonucunda, *Triticum dicoccoides*' in diğer kültür ebeveynleri ve melez döllerinden ayrı bir grup oluşturduğu gözlemlendi. Bu veriler gelecek ıslah çalışmaları için bir temel oluşturmaktadır.

ABSTRACT

Wheat is an important element of the human diet. For this reason, in order to increase the quality and the quantity of the wheat, many breeding studies are being carried out. Today, the various molecular markers that enables the observation of the genotype structures are in use. In this research, the durum wheat (*Triticum durum*) and wild wheat *Triticum dicoccoides* were used because of their economical and dietary importance and high protein content respectively. Their hybrid offsprings were analyzed by using RAPD markers. Six primers providing significant bands (OPA-02, OPA-04, OPA-06, OPB-03, OPB-04, OPB-05) were selected and used in RAPD analysis to determine the genetic polymorphism and identifying the genotypes, based on preliminary results of 20 RAPD primers. The electrophoretic data were analyzed by cluster method (Jump). Genotype distances among the species were revealed by dendograms. According to the results, it was determined that *T. dicoccoides* formed an other group different from the cluster parents and hybrid offsprings. This data forms a basis for the future breeding studies.

GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık %35'inin temel besini olan buğday, tüm dünyada besinlerden alınan kalorisinin %20'sini sağlamaktadır (Çölkesen, 1995). Besin olarak kullanımı, ekme, makarna yapımından bulgur, irmik yapımına kadar çok geniş bir alanı kapsar. Kültür bitkileri arasında danesinin uygun beslenme değeri, taşınma, saklanma, işlenmesindeki kolaylık ve bitkisinin geniş adaptasyon sınırları nedeniyle, dünyada ekiliş ve üretim bakımından ilk sırada yer alan tahıl ürünüdür.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de gerek ekim alanı gerekse üretim bakımından buğdayın önemi büyüktür. Bu nedenle buğday üretiminde az bir üretim artışı bile yüksek değer artışlarına neden olmaktadır. Hızla artan Dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak için bitki genetik mühendisliği tekniklerinden yararlanılarak uygulanan bitki ıslahı yöntemleri ile hastalıklara dayanıklı, verim gücü ve kalitesi yüksek yeni çeşitler elde edilmeye çalışılmaktadır.

Günümüzde ıslah çalışmalarında ürün miktarında artış yanında, kaliteye de önem verilmektedir. Yüksek protein içerikli yabancı buğdayların, protein ıslahı açısından önemli bir potansiyel içerdikleri bilinmektedir (Turgut ve ark., 1984). Özellikle makarna sanayinde, bulgur ve kuskus yapımında kullanılan durum buğdaylarında protein miktarının yüksek olması en önemli kalite kriterini oluşturur. Bu nedenle; **T. dicoccoides** ile bazı durum buğday çeşitleri arasında gerçekleştirilen melezlerde tanede protein oranı bakımından genotipik değişkenliği belirleyerek bu melezlerde daha yüksek protein oranına sahip hatları seçebilmek için sürekli olarak araştırılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda **T. durum** X **T. dicoccoides** melezlerinde tanede daha yüksek protein ve diğer arzu edilen özellikler bakımından yapılacak seçimlerin bu gibi özellikleri tanımlayan genlerin bitkinin veriminde herhangi bir kayıp olmadan döllere geçebileceği bildirilmiştir (Tosun ve Altınbaş, 1999).

Protein miktarının artırılması gibi kantitatif karakterler üzerine yapılan ıslah çalışmalarında, fenotipin gözlenmesi yetersiz kaldığından, bugün genotipik yapıyı gözlemeyi sağlayan çeşitli moleküler markörler kullanılmaktadır. Bitki ıslahında bu markörlerden kalitatif ve kantitatif karakterlere göre yapılan seleksiyonda, genetik ve bağlantı (linkage) haritalamalarında, çeşit tanımlanmasında, F₁ hibrid tohumluklarının kontrolünde, genotipler arasındaki genetik uzaklıkların ve çeşitliliğin belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Demir ve ark., 1999).

Moleküler markörler, enzimlerin veya DNA'nın analiz edilmesiyle elde edilirler. Yaygın olarak kullanılanları; izoenzimler, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism; Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi), PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir

Reaksiyonu)'a dayalı geliştirilmiş çok sayıda RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA; Rastgele amplifiye edilmiş polimorfik DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms; Amplifiye Edilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmleri), DAF (DNA Amplification Fingerprinting; Amplifiye Edilmiş DNA Parmakizi) v.d. gibi moleküler markörlerdir (Staub ve ark., 1996).

İzoenzimler; moleküler yapısı fark göstermesine karşın aynı işlevi üslenmiş olan enzimlerdir. İzoenzim analizleri, DNA markörlerine nazaran daha kolay ve ucuzdur. Ancak açının gösteren lokus sayısının izoenzimlerde kısıtlı olması araştırmacıları RFLP ve RAPD tekniklerine yönlendirmiştir (Üstün ve ark., 1996).

RFLP: DNA'nın yaklaşık her yüz baz çiftindeki nükleotid dizisi bireylerde değişiklik gösterir (DNA polimorfizmi). Sonuç olarak, DNA üzerinde bulunan bir restriksiyon enzimi tanıma dizini, diğerinde bulunmayabilir. Bu durumda, restriksiyon fragman büyüklükleri bu bölge için farklıdır (Lüleci ve ark., 2000). Bu özellikten yararlanılarak farklı veya aynı tür içerisindeki bitkilere, açınım gösteren genotiplere ait DNA'lar teşhis edilmektedir.

Genotipler arasındaki genetik uzaklıkların ve çeşitliliğin belirlenmesinde RFLP tekniği, maliyetinin yüksek olması, yöntemin uzun süre alması RAPD'ye göre daha fazla miktarda DNA'ya ve teknik deneyime gereksinim duyması ve radyoaktif madde kullanımı gibi dezavantajları nedeniyle daha az kullanılmakta olup, yeni bir teknik olarak RAPD tekniği bugün en sık kullanılan tekniklerden biri haline gelmiştir (Gallego ve Martinez, 1996).

RAPD tekniği; genomik DNA'nın rastgele seçilmiş primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltılması ve amplifiye olan DNA bantlarının elektroforez işlemiyle ayrılıp değerlendirilmesi işlemlerini içerir ve elektroforez sonucunda elde edilen bant desenleri çeşitlere özgü olması nedeniyle genotiplerin tanımlanmasında kullanılır.

RAPD metodu ile çeşitli buğday genotiplerinin tanımlanması, genetik farklılıklarının belirlenmesi, agronomik özelliklere sahip türlerin etiketlenmesi ve yanlış sınıflandırılmış germplazm koleksiyonlarının yeniden düzen-

lenmesi ile ilgili bir çok çalışma yapılmış ve RAPD'nin güvenilir, kısa zamanda uygulanabilen, ekonomik bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Çobanoğlu ve ark.1994; McDonald ve ark.1997; Fahima ve ark. 1999, Cao ve ark. 1999,).

Bu çalışma çerçevesinde, makarna, bulgur ve kuskus yapımında kullanılan, beslenme açısından son derece önemli olan durum buğdayları ile, yüksek protein içeriğine sahip yabani tetraploid buğday olan ***Triticum dicoccoides***'in ve bunların melez döllerinin genetik yapısı RAPD markörleri aracılığı ile analiz edilerek bu konuda yapılacak ıslah çalışmalarına temel veriler elde edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyalleri

Çalışmanın materyalini oluşturan genotiplerden; melezlerde ebeveyn olarak kullanılan buğday çeşitleri Ege-88 ve Gediz-75, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilip tescil ettirilmiş iki makarnalık çeşittir. Diğer ticari çeşit ise Meksika'da bulunan Uluslararası Mısır ve Buğday Araştırma Merkezi (CIMMYT)'den sağlanan Yavaros genotipidir. Ortak ebeveyn olarak melezlerde yer alan yabani tetraploid buğday (***T. dicoccoides*** Korn.) Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesindeki Gen Bankasından temin edilmiş ve 1995 yılında, sözü edilen üç ticari makarnalık buğday çeşidi ile ayrı ayrı melezlenmiştir. Dördüncü döl nesli (F₄) çalışmaya materyal olarak dahil edilmiştir.

Ebeveynlerden ***T. dicoccoides*** sera koşullarında Mitscherlich saksılarında, diğer örnekler ise 1999-2000 yılı deneme planına göre tarla koşullarında yetiştirme tekniğine uygun önlemler alınarak yetiştirilmişlerdir.

DNA Ekstraksiyonu

On-onbeş cm uzunluğundaki buğday genç fidelerinden, her bir çeşitten toplam 2 gr olacak şekilde toplanan taze yapraklar, meydana gelebilecek herhangi bir degradasyonu önlemek için alimünyum folyoya sarılarak, sıvı azot içinde laboratuvara getirilmiştir. DNA'nın elde edilmesinde Doyle ve Doyle (1990)'da belirtilen yöntem kullanılmıştır. Örneklerdeki DNA miktar ve kalite tayinleri için spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. DNA

miktarlarını ölçülmesinden sonra PCR işlemi için, örnekler OD sonuçlarından hesaplanan DNA miktarlarına göre µl' sinde 2 ng DNA olacak şekilde filtre edilmiş ve ultra saf su ile seyreltilmiştir.

RAPD Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu için her bir tüpte toplam hacim 14 µl olacak şekilde; 8 ng genomik DNA'dan 4 µl, her bir dNTP' den 100 µM içeren dNTP karışımından 1,2 µl, 15 ng içeren primerden 1 µl (Operon Technologies, Alameda, ABD), 1XTaq DNA polimeraz tampundan 1.5 µl, 0,2 ünite Taq DNA polimeraz enzimi ve 7,1 µl H₂O sırası ile pipetlenmiştir. PCR işlemi için 10 baz uzunluğunda Operon Teknolojisi'ne (Alameda, ABD) ait 20 farklı primer kullanılmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu esnasındaki sıcaklık uygulamaları ve süreleri sırasıyla; 30 sn. 94 °C, 25 sn. 94 °C, 45 sn. 35 °C, 1 dk. 72 °C, 5 dk. 72 °C olarak 35 döngü uygulanmıştır.

Agaroz Jel Elektroforezi

PCR işleminde amplifiye olmuş DNA'lar %1,5'lik agaroz jel elektrofrezinde 50XTAE elektrot tampon çözeltisinde 100 V' da koşturulmuşlardır.

DNA'lar görünür hale getirilip değerlendirilmesi için jel, Ethidium bromide stok çözeltisi konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde hazırlanmış, 10µl/ml Ethidium bromür içeren su içinde 30 dk. boyunca çalkalanmıştır, ardından fazla boyayı uzaklaştırmak için jel 15 dk. saf suda yıkanmıştır.

Bantlar U.V. ışık altında gözlenmiş ve polaroid 667 film kullanılan fotoğraf makinesi ile jelin fotoğrafı çekilmiştir.

Bantların Değerlendirilmesi

UV ışık altında incelenen jelde çeşitlerin bant desenlerine bakılarak, bantların olup olmasına göre, (olanların var "1"; olmayanların yok "0" olarak) veri haline getirilen bantlar Jump istatistik bilgisayar programı ile değerlendirilerek, çeşitlere ait dendogramlar elde edilmiştir.

Çeşitler arasındaki polimorfizm ve monomorfizm oranları Nei ve Li (1979)'a göre aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmıştır.

$$F=2 M_{xy}/(M_x+M_y)$$

F : benzerlik oranı

M_{xy} : İki çeşit arasındaki ortak bant sayısı

M_x : İki çeşidin toplam bant sayısı

M_y : İkinci çeşidin toplam bant sayısı

1-F : Polimorfizm oranı

ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmada 10 baz uzunluğunda 20 farklı primer kullanılmış bunlardan 6 primerde bantlar değerlendirilebilir olarak gözlenmiştir. RAPD analizi sonucunda değerlendirmeye alınan 6 primer toplam 48 adet bant vermiştir. Bu bantlardan 31 adedi polimorfik, 17 adedi monomorfik bantlardır.

Ortalamalar alınarak değerlendirildiğinde; ortalama polimorfik bant sayısı 5,16; ortalama monomorfik bant sayısı 2,83 olarak hesaplanmıştır.

Primerler değerlendirildiğinde; en fazla polimorfik bant veren primer OPA-04, en az polimorfik bant veren primer OPA-02; en fazla

monomorfik bant veren primer OPB-03, en az monomorfik bant veren primerlerin ise OPB-04 ve OPB-05 olduğu gözlenmiştir (Çizelge 1).

Bant desenlerinde yaralanılarak Nei ve Li (1979) a göre hesaplanan polimorfizm ve monomorfizm oranları Çizelge 2.'de özetlenmiştir.

Çeşitlerin oluşturdukları bant desenlerine bakılarak bantların olup olmamasına göre, olanların "1", olmayanların "0" olarak değerlendirildiği Jump istatistik bilgisayar programında değerlendirilmeleri yapılarak, aralarındaki genetik ilişkileri açıklayan dendogramlar elde edilmiştir.

Tüm çeşitlerin birlikte değerlendirildiği Kluster sonucunda **T. diccoides** çeşidi tüm çeşit ve melezlerden en uzak, Ege 88 çeşidinin ise ikinci derece uzak olduğu gözlenmiştir. Yavaros çeşidi ile Yavaros X **T. diccoides** melezi de yakın bir grup oluşturmuştur. Gediz 75 çeşidi ile Ege 88 X **T. diccoides** melezi aynı grup içinde yer almıştır. Gediz 75 X **T. diccoides** melezinin bu gruba katıldığı görülmektedir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Genotiplerin uygulanan primerlerle verdikleri bant sayıları

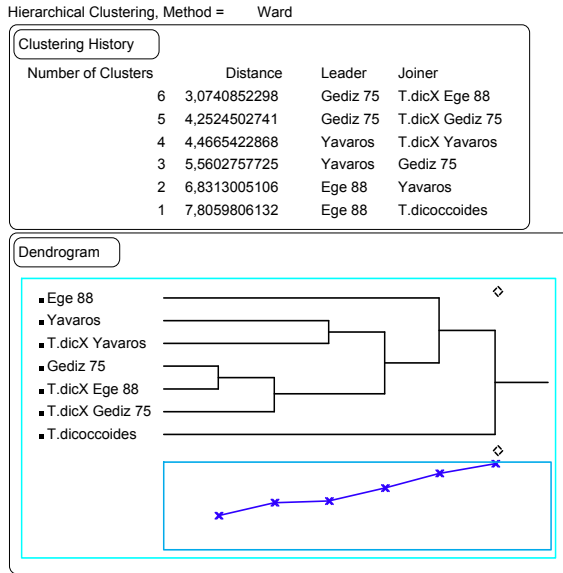
	OPA-02	OPA-04	OPA-06	OPB-03	OPB-04	OPB-05
Ege 88	6	11	5	7	3	4
Yavaros	5	6	6	7	3	5
Gediz 75	5	4	5	7	6	6
Ege 88 X						
<i>T. diccoides</i>	5	3	3	7	6	5
Yavaros X						
<i>T. diccoides</i>	5	3	7	9	3	5
Gediz 75 X						
<i>T. diccoides</i>	5	4	5	9	6	5
<i>T. diccoides</i>	5	0	0	9	6	4

Çizelge 2. Genotiplere ait DNA bakımından benzerlik ve farklılık oranları

Çeşitler	Ege 88	Yavaros	Gediz 75	Ege 88 X <i>T. diccoides</i>	Yavaros X <i>T. diccoides</i>	Gediz 75 X <i>T. diccoides</i>
Yavaros	B= 0,92 F= 0,07					
Gediz 75	B= 0,84 F= 0,17	B= 0,90 F= 0,10				
Ege 88X <i>T. diccoides</i>	B= 0,79 F= 0,21	B= 0,83 F= 0,17	B= 0,92 F= 0,08			
Yavaros X <i>T. diccoides</i>	B= 0,83 F= 0,17	B= 0,89 F= 0,12	B= 0,85 F= 0,15	B= 0,84 F= 0,15		
Gediz75 X <i>T. diccoides</i>	B= 0,78 F= 0,21	B= 0,80 F= 0,20	B= 0,81 F= 0,19	B= 0,82 F= 0,17	B= 0,74 F= 0,26	
<i>T. diccoides</i>	B= 0,68 F= 0,32	B= 0,56 F= 0,43	B= 0,61 F= 0,39	B= 0,60 F= 0,40	B= 0,52 F= 0,48	B= 0,62 F= 0,38

B: Benzerlik, F: Farklılık Oranları

Çizelge 3. Tüm çeşitlerin birlikte Kluster sonucu



TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada *T. dicoccoides* ile durum buğday melez döllerinin ve ebeveynlerin genetik yapısı RAPD markörleri aracılığı ile analiz edilmiştir. RAPD analizi sonucunda değerlendirilebilir bantlar veren 6 primer genetik polimorfizmi saptamada ve genotiplerin tanımlanmasında başarılı ve etkin olmuştur. Elde edilen bant desenlerinden yararlanılarak oluşturulan dendrogramlar ile incelenen makarnalık buğday çeşitleri ile *T. dicoccoides*'in genetik uzaklıkları belirlenmiştir.

Kullanılan 22 farklı primerden 6 tanesi; OPA-02, OPA-04, OPA-06, OPB-03, OPB-04, OPB-05 değerlendirilebilir toplam 48 adet bant vermişlerdir ve bu bantlardan 31 adedi polimorfik, 17 adedi monomorfik bantlardır. Bu bantlardan en çok bant veren primer OPB-03, en az bant veren primerlerin ise OPA-04 ve OPA-06 olduğu, en fazla polimorfik bant veren primer OPA-04, en az polimorfik bant veren primer OPA-02; en fazla monomorfik bant veren primer OPB-03, en az monomorfik bant veren primerlerin ise OPB-04 ve OPB-05 olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ortalamalar alınarak değerlendirildiğinde, ortalama polimorfik bant sayısı 5,16; ortalama monomorfik bant sayısı 2,83 olarak hesaplanmıştır.

Benzer bir çalışmada OP-D, OP-F, OP-K, OP-L, OP-M, OP-N ve OP-S primerleri kullanarak 24 Arpa genotipinde genetik benzerlikler

ve farklılıklar belirlenerek ıslah çalışmaları için sunulmuştur (Ordan, 1998).

Elde edilen sonuçlara göre Ege 88, Yavaros, Gediz 75 çeşitleri arasında genetik benzerlikler yüksek değerler göstermiştir (Yavaros - Ege 88: 0,92, Yavaros - Gediz 75: 0,90, Gediz 75 - Ege 88: 0,84). Bu çeşitler köken olarak CIMMYT kuruluşu ile işbirliği çerçevesinde temin edilen Meksika kökenli materyalden geliştirilmiş olan çeşitlerdir, bu nedenle teorik olarak benzer sekansları içermeleri beklenebilir. Nitekim Çizelge 3'de görüldüğü gibi en yüksek genetik benzerlikler kültür ebeveyn genotiplerini kapsamaktadır.

Melez döller ise ebeveynler ve diğer melez döller ile ortalama olarak 0,82 düzeyinde bir benzerlik göstermektedir. Buna karşılık, genetik köken olarak en uzak genetik yapı içeren *T. dicoccoides* ise, kültür ebeveynleri ve melez döller ile 0,52-0,68 arasında varyasyon gösteren düşük bir benzerlik göstermektedir.

Diğer taraftan Kluster analizi sonuçlarının değerlendirilmesinde de *T. dicoccoides* diğer kültür ebeveynleri ve melez döllerinden ayrı bir grup oluşturmuştur (Çizelge 3.).

Kluster analizinde beklenmedik bir bulgu Ege 88 X *T. dicoccoides* ile ilgili Klusterda izlenmektedir. Ege 88 X *T. dicoccoides* F₄ dölü Gediz 75 ile yakın bir genetik grup oluşturmuştur. Yukarıda belirtildiği gibi Ege 88 ve Gediz 75 Meksika kökenli genetik benzer çeşitler olduğundan ortak bir DNA fragmentinin F₄ dölünde yer almış olması ve PCR işleminde tesadüf olarak bu fragmentin amplifiye edilmiş olması mümkündür. Böyle bir durum Ege 88 X *T. dicoccoides* dölünün Gediz 75 çeşidi ile aynı grup içinde değerlendirilmesine neden olmuş olabilir.

Autogam türler, ıslah çeşitleri ve kendilenmiş hatlar homojendir. Saf hatların bireyleri ise büyük ölçüde identik sekanslar içerir ve aynı bant desenini verirler. Büyük ölçüde repetitif sekanslar içeren türler ise çoğunlukla zengin bir polimorfizm gösterirler. Örneğin arpa genomunda negatif sekans oranı tüm DNA'nın %95'ini oluşturur ve bu nedenle arpada bir polimorfizm vardır. Mısır bitkisinde, yabancı döllenen bir tür olmasının yanında genomunda transpozon içermesi nedeniyle özellik-

le yüksek bir polimorfizm görülür, ancak örneğin, domates, soya gibi birçok autogam bitki (kendine döllen) türlerinde olduğu gibi buğdayda da düşük düzeyde polimorfizme rastlanmaktadır (Linnert, 1997).

Bütün bu nedenlerle buğdayda polimorfizmin ayrıntılanması ve belirlenmesi için daha çok sayıda primer kullanılması gerektiği söylenebilir.

Bu çalışma çerçevesinde kullanılan primerler Ege 88 X **T. dicoccoides** melezi ile ilgili değerlendirmelerde yetersiz kalmış olabilir. Diğer taraftan elde edilen genetik benzerlikler ve Kluster analizi sonuçları çalışmada kullanılan materyal ile ilgili ve ıslah çalışmalarında değerlendirilebilecek sonuçlar vermiştir. Buğday çeşit ayrımında ve özellikleri üzerinde

dendogram analizleri ile birçok araştırmada başarılı sonuçlar bildirilmiştir (Vierling ve Nguyen, 1992; Castagna ve ark., 1994; Cadalen ve ark., 1997).

Sonuç olarak bu çalışma çerçevesinde ele alınan ebeveynler ve melez dölleri ile ilgili genetik analizler, RAPD markörleri aracılığıyla yapılmış, genetik benzerlikler ve Kluster analizleri bazında genotipler ile ilgili genetik bilgiler irdelenmiştir. Melez dölleri açısından ele alınan F₄ döl generasyonu, önemli ölçüde durulmuş hat niteliğinde olduğundan ebeveynler ile ilgili kıyaslamalarda çok belirgin farklılıklar göstermemiştir. Ancak Ege 88 x **T. dicoccoides** melez dölünde olduğu gibi bazı durumlarda **T. dicoccoides** ebeveyninin genetik etkisi F₄ döl generasyonunda belirgin olarak izlenebilmiştir (Çizelge 3).

KAYNAKLAR

- Cadalen, T., Boeuf, C., Bernard, S., Bernard, M. 1997. An Intervarietal molecular marker map in *Triticum aestivum* L. Em. Thell. and comparison with a map from wide cross. *Theor. Appl. Genet.* 94:367-377.
- Castagna, R., Maga, G., Perenzim, M., Heun, M., Salamini, F.. 1994. RFLP-based genetic relationships of Einkorn wheats. *Theor. Appl. Genet.* 88:818-823.
- Cao, W., G. Scoles, P. Hucl, R.N. Chibbar. 1999. The use of RAPD analysis to classify *Triticum* accessions. *Theoretical and Applied Genetics*, 98 (3-4): 602-607.
- Çobanoğlu, G., F. Gürel, Ş. Arı, E. Arıcan, N. Gözükırmızı. 1994. Arpa germplazmasının moleküler düzeyde tanımlanması, s.93-98, v:2. Tarla Bitkileri Kongresi (1994) Bildirileri, İzmir.
- Çölkesen, M. 1995. Harran ovasında buğday tarımı ve sorunları üzerine yapılan araştırma ve gözlemler. *Harran Üni., Zir. Fak. Der.*, 1 (1): 117-131.
- Demir, İ., S. Yüce, G. Bilgen, B. Tanyolaç, İ. Oğuz. 1999. Bazı genotiplerin tanımlanmasında DNA parmak izleri üzerinde araştırmalar. DPT Proje No:97 DPT 06, İzmir.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 465-472.
- Fahima, T., G.L. Sun, A. Behavar, T. Krugman, A. Beiles, E. Nevo. 1999. RAPD polimorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theoretical and Applied Genetics*. 98 (3-4): 434-447.
- Gallego, F.J. and I. Martinez. 1986. Molecular typing of rose cultivars using RAPDs. *Journal of Horticultural Science*. 71(6):901-908.
- Linnert, G..1997. DNA Marker in der Pflanzenzüchtung. In: Odenbach, W., *Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung*. S. 334-347.
- Lüleci, G., M. Sakızlı, Ö. Alper. 2000. DNA Amplifikasyonu (Polimeraz Zincir Reaksiyonu, PCR) s. 72-73. In: *Renkli Genetik Atlası*, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul.
- McDonald, M.B., L.J. Elliot, P.M. Sweeney, R.H. Ellis(ed.), M. Black (ed.), A.J. Murdoch (ed.) T.D. Hong.1995. DNA extraction from dry seeds for RAPD analyses. Basic and applied aspects of seed biology. *Proceedings of the Fifth International Workshop on Seeds on 10-15 September*. Pages: 747-753. UK.
- Nei, and Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 76:5269-5273.
- Ordon, F. 1998. Markergestützte Selektion in der Resistenzzüchtung beim Getreide-unter besonderer Berücksichtigung des Pathosystems Gerste (*Hordeum vulgare* L.)- Bymoviren (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). Shaker Verlag.131. Aachen.
- Staub, J.B., F.C. Serquen, M. Gupta. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science*. 31(5): 729-740.
- Tosun, M. ve M. Altınbaş. 1999. Makarnalık buğday (*T. durum* Desf.) ile yabani tetraploid buğday (*T.dicoccoides* Korn.) melezlerinde tanede protein oranı için genotipik varyabilite ve heterosis. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 36:1-2-3.
- Turgut, İ., S. Yüce, R. Marquar. 1984. Protein Contents and Aminoacid Pattern of Turkish Wild Wheats. *Plant Research and Dev.*,19.7-13.
- Üstün, A., R.L. Smith, A. Gülümser. 1996. Moleküler markörler ve bitki ıslahında kullanımları. *O.M.Ü.Z.F. Dergisi*. 11(2):249-263.
- Vierling, RA. and Nguyen, HT. 1992. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theor Appl Genet*. 84: 835-838.