

**YABANİ BUĞDAY TÜRLERİNDE BİYOKİMYASAL ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ**

Semiha GENÇALİ ERİŞEN

76357

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
(BİYOLOJİ EĞİTİMİ ANABİLİM DALI)**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

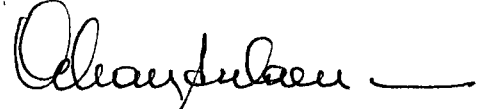
76757

Ocak 1998

ANKARA

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANLARI MERKEZİ**

Semiha ERİŞEN tarafından hazırlanan YABANI BUĞDAY TÜRLERİNDE
BİOKİMYASAL ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ adlı bu tezin Yüksek
Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Orhan ARSLAN

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalında Yüksek
Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Celâl ER

Üye : Prof. Dr. Orhan ARSLAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şenol Bal

Üye :

Üye :

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına
uygundur.

B. Atasoy

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Buğdayın Ekonomik Önemi.....	1
1.2. Buğdayın Taksonomisi ve Sitogenetiği.....	2
1.3. Yabani Buğday Türlerinin Önemi.....	4
1.4. Biyokimyasal İşaretleyiciler.....	6
1.4.1. Tohum depo proteinleri.....	7
1.4.2. Gliadin ve gluteninlerin genetik yapısı.....	8
1.4.3. İzoenzimler.....	11
1.4.4. İzoenzimlerin genetik yapısı	12
1.5. Buğdayda Protein ve İzoenzim Varyasyonu.....	13
2. MATERYAL VE METOD.....	20
2.1. Materyal.....	20
2.2. Metod.....	21
2.2.1. Asit poliakrilamit jel elektroforezi (A-PAGE).....	21
2.2.1.1. Gliadin elektroforezinde kullanılan çözeltiler.....	21
2.2.1.2. Örneklerin hazırlanması.....	21
2.2.1.3. Jellerin hazırlanması.....	22
2.2.1.4. Örneklerin yerleştirilmesi.....	22

2.2.1.5. Elektroforez aleti.....	23
2.2.1.6. Elektroforez işlemi.....	23
2.2.1.7. Jellerin boyanması.....	23
2.2.1.8. Jellerin görüntülenmesi.....	23
2.2.1.9. Jellerin değerlendirilmesi.....	24
2.2.2. Sodyumdodesilsulfat poliakrilamit jel elektroforezi	24
2.2.2.1. Glutenin elektroforezinde kullanılan çözeltiler.....	25
2.2.2.2. Örneklerinin hazırlanması.....	26
2.2.2.3. Jellerin hazırlanması.....	27
2.2.2.4. Örneklerin yerleştirilmesi.....	28
2.2.2.5. Elektroforez aleti.....	28
2.2.2.6. Elektroforez işlemi.....	28
2.2.2.7. Jellerin boyanması.....	29
2.2.2.8. Jellerin görüntülenmesi.....	29
2.2.2.9. Jellerin değerlendirilmesi.....	29
2.2.3. İzoelektrik odaklama analizi (IEF).....	29
2.2.3.1. Örneklerin hazırlanması.....	30
2.2.3.2. IEF elektroforez çözeltileri.....	30
2.2.3.3. Jellerin hazırlanması.....	31
2.2.3.4. Elektroforez aleti.....	32
2.2.3.5. Ön koşma.....	32
2.2.3.6. Örneklerin yerleştirilmesi.....	33
2.2.3.7. Elektroforez işlemi.....	33
2.2.3.8. Jellerin boyanması.....	33
2.2.3.9. Jellerin görüntülenmesi.....	33
2.2.3.10. Jellerin değerlendirilmesi.....	33

3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
3.1.	Ae. squarrosa Populasyonları (Horstepe 7. ve Gökçayır 8. Populasyonları).....	34
3.2.	Ae. speltoides spel. Populasyonları (Gürgürbaba 3. ve Beyazkule 4. Populasyonları).....	43
3.3.	Ae. speltoides lig. Populasyonları (Beyazkule 5. ve Saraççeşme 10. Populasyonları).....	46
3.4.	T. dicoccoides Populasyonları (Gürgürbaba 6. ve 21. Populasyonları).....	48
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	54
	KAYNAKLAR.....	59
	EKLER.....	65
	ÖZGEÇMİŞ.....	67

YABANI BUĞDAY TÜRLERİNDE BİYOKİMYASAL ÇEŞİTLİLİĞİN

BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Semiha GENÇALİ ERİŞEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 1998

ÖZET

Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu Şanlı Urfa Ceylanpınar Tarım İşletmesi sınırları içindeki 5 lokasyondan toplanan ikişer *Ae. squarrosa*, *Ae. speltoides* spel., *Ae. speltoides* lig. ve *T. dicoccoides* populasyonlarındaki populasyon içi ve populasyonlar arası biyokimyasal varyasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla populasyonlar Ep-1, Amp-1, Amp-2 izoenzimleri ile Gli, Glu tohum depo proteinleri olmak üzere toplam 8 lokus için taranmıştır. İzoenzimler için IEF, gliadinler için A-PAGE ve gluteninler için SDS-PAGE yöntemleri kullanılmıştır. Analizlerin sonucunda türlerin geniş varyasyona sahip oldukları tesbit edilmiştir. Özellikle Gökçayır, Saraççeşme ve Gürgürbaba lokasyonlarında yetişen türlerde oldukça zengin varyasyon vardır. Bu nedenle bu lokasyonların “Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması Projesi” kapsamında koruma altına alınması önerilmiştir. Bu çalışmada tesbit edilen varyasyon, kültüre alınmış türlerin ıslah çalışmalarında verimi, kalitesi yüksek ve hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde yeni bir gen kaynağı olarak kullanılabilecektir.

Bilim Kodu :5001018

Anahtar Kelimeler :Yabani buğday, İzoenzim, Tohum depo proteinleri, Varyasyon.

Sayfa Adeti : 67

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Orhan ARSLAN

**DETERMINATION OF BIOCHEMICAL VARIATION
IN WILD SPECIES OF WHEAT
(M.Sc. Thesis)**

Semiha GENÇALİ ERİŞEN

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
January 1998**

ABSTRACT

The objective of this study was to determine within and among population variation for two of each *Ae. squarrosa*, *Ae. speltoides* spel., *Ae. speltoides* lig. and *T. dicoccoides* populations collected from Ceylanpınar State Farm in Şanlıurfa in South Eastern Anatolia. For that purpose the populations were screened in terms of 3 isozymes Ep-1, Amp-1, Amp-2 and 2 seed storage proteins Gli, Glu covering 8 loci of the wheat genome. For isozymes IEF, for gliadins A-PAGE and for glutenins SDS-PAGE techniques were used. The analyses of the populations collected from Gökçayır Saraççeşme and Gürgürbaba locations were resulted in high level of within and among population variations. For that reason these locations were suggested as Gene Management Zones (GMZs) in the content of the project. As a result of comparison with the cultivated varieties, the variation determined in this study can be used as a genetic resource in breeding studies for improving varieties having high yield, quality and resistance to diseases.

Science code :5001018

Key Word : Wild wheat, Isozymes, Seed storage proteins, Variations.

Page number :67

Adviser : Prof. Dr. Orhan ARSLAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Orhan ARSLAN'a, araştırmayı destekleyen "Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması Projesine", tezin her aşamasındaki katkılarından dolayı; Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Genetik ve İslah Bölümü Buğday Birimi Başkanı Ziraat Mühendisi Dr. Vehbi ESER ile bölüm çalışanlarından; Biyolog Belgin GÖÇMEN ve Zir.Yük. Müh. Sibel KESKİN'e, tezin imla kurallarına uygun yazılmasında ve yazım hatalarının düzeltilmesinde yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Türk Dili ve Edebiyatı Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ülkü GÜRSOY'a, manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan ve sabır gösteren aileme ve eşim Yavuz ERİŞEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 1.1. 1993 yılı Dünya buğday üretiminde ilk 10 ülke 1

Çizelge 1.2. Gliadin ve glutenin proteinlerini kodlayan genler
ve kromozomlar üzerindeki yerleri 10

Çizelge 1.3. Bu çalışmada kullanılan protein ve
izoenzimlerin lokusları..... 13

Çizelge 2.1. Araştırmada kullanılan türlere ait bilgiler..... 20

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1.	1996 yılı Türkiye ekili tahıl alanları..... 2
Şekil 1.2.	1996 yılı Türkiye tahıl ürünleri üretimi..... 2
Şekil 1.3.	Tetraploid ve hekzaploid buğdayların oluşum şeması..... 4
Şekil 3.1.	<i>Ae. squarrosa</i> 'nın 7. populasyonundaki gliadin band desenleri..... 35
Şekil 3.2.	<i>Ae. squarrosa</i> 'nın 8. populasyonu ile <i>T. dicoccoides</i> 'in 21. populasyonundaki gliadin band desenleri..... 36
Şekil 3.3.	<i>Ae. squarrosa</i> 'nın 7. populasyonundaki glutenin band desenleri..... 38
Şekil 3.4.	<i>Ae. squarrosa</i> 'nın 8. populasyonu ile <i>T. dicoccoides</i> 'in 21. populasyonundaki glutenin band desenleri..... 39
Şekil 3.5.	7. populasyonda Amp-D1 geninin oluşturduğu band desenleri..... 40
Şekil 3.6.	7. populasyonda Amp-D2 geninin oluşturduğu band desenleri..... 41
Şekil 3.7.	8. populasyonda Amp-D2 geninin oluşturduğu band desenleri..... 42
Şekil 3.8.	<i>Ae. speltoides</i> spel.'in 3.ve 4. populasyonlarındaki glutenin band desenleri..... 44

Şekil	Sayfa
Şekil 3.9. 4. populasyonda Amp-B2 geninin oluşturduğu band desenleri.....	42
Şekil 3.10. <i>T. dicoccoides</i> 'in 6. popülasyonundaki gliadin band desenleri.....	49
Şekil 3.11. 6. populasyonda Ep-A1, Ep-B1 genlerinin oluşturduğu band desenleri.....	52
Şekil 3.11. <i>T. dicoccoides</i> 'in 6. ve 21. popülasyonlarında Ep-A1, Ep-B1 genlerinin oluşturduğu band desenleri.....	52

1. GİRİŞ

1.1. Buğdayın Ekonomik Önemi

Tarih boyunca insan beslenmesinde önemli bir yer tutan buğday, kültür bitkileri arasında dünyada ekiliş ve üretim bakımından birinci sırayı almaktadır. Danesinin nişasta, protein ve yağca zengin olması, besleme değerinin yüksek olması, taşınma, saklama ve işlenmesindeki kolaylık ve bitkinin geniş adaptasyon sınırları nedeniyle günümüzde birçok ülkenin temel besinidir. Tüm dünyada besinlerden alınan kaloringin % 20'si buğdaydan sağlanmaktadır. Avrupa'da günlük kaloringin % 30'dan fazlası buğday tarafından, Türkiye'de ise, günlük kalori tüketiminin % 53'ü ekmek ve öteki buğday ürünlerinden karşılanmaktadır. Türkiye nüfus başına buğday tüketiminin en yüksek olduğu ülkelerden birisidir (Kün, 1988).

Buğday, değişik ekolojilere uyabilen bir bitki olması nedeniyle yeryüzündeki yayılma alanı, 20° - 65° kuzey ve 22° - 45° güney enlemleri arasındadır. Ülkemizde ise çok yağışlı Rize ilimiz dışında, tüm bölgelerde yetiştirilmektedir (Kün, 1988).

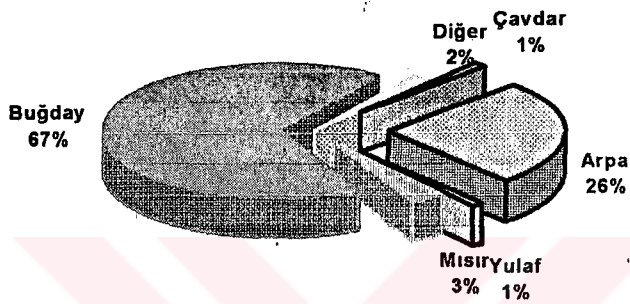
Çizelge 1. 1. 1993 yılı Dünya buğday üretiminde ilk 10 ülke (Bin ton)

ABD	Hindistan	Fransa	Kanada	Türkiye	Avustralya	Almanya	İngiltere	Arjantin	İtalya
65374	56762	29324	27825	21000	18203	15520	12753	9153	8404

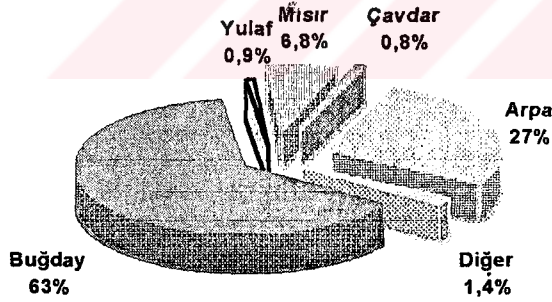
(Kaynak: FAO yılığı 1994: DİE, 1997)

Dünya buğday üretimi toplam 500 milyon ton civarında olup, Türkiye 21 milyon ton ile beşinci sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1.).

Türkiye’de tarım ekonomisinin önemli bir kısmını buğday oluşturmaktadır. 1996 yılı verilerine göre tarla bitkileri için ekim alanı 13,9 milyon hektar olarak belirlenmiştir. Bu alanın %67’lik kısmını oluşturan buğday ilk sırayı almaktadır (Şekil 1.1.). Tahıl ürünleri üretiminde de % 63’lük bir paya sahiptir (Şekil 1.2.).



Şekil 1.1 1996 yılı Türkiye ekili tahıl alanları (D.İ.E. 1996)



Şekil 1.2. 1996 yılı Türkiye tahıl ürünleri üretimi (D.İ.E. 1996)

1.2. Buğdayın Taksonomisi ve Sitogenetiği

Taksonomide buğday, *Pooideae* alt familyasındaki *Triticeae* takımının *Triticinae* alt takımının *Triticum* cinsinde yer almaktadır.

Somatik kromozom sayılarına göre buğdaylar, diploid, tetraploid ve hekzaploid olmak üzere üç grupta toplanırlar.

Buğdayın temel kromozom sayısı 7'dir. Diploid buğdayların kromozom sayıları $2n=14$ olup, genom formülleri *AA*, *BB* ya da *DD*, tetraploid buğdayların kromozom sayıları $2n=28$, genom formülleri *AABB* ve hekzaploid buğdayların kromozom sayıları $2n=42$, genom formülleri *AABBDD* 'dir.

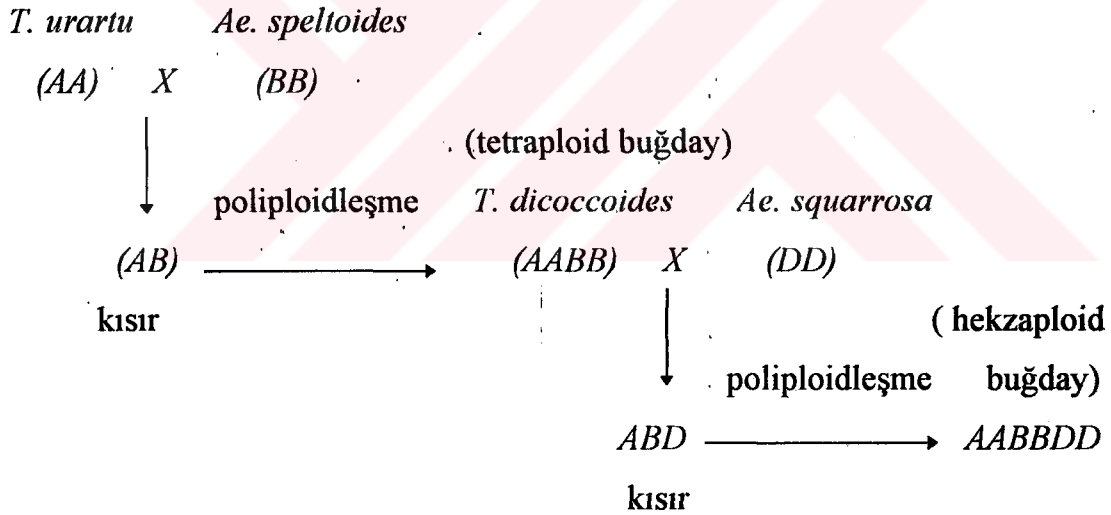
Hekzaploid buğday grubunda sadece kültür formları yer alır ve bunlar genellikle *T. aestivum* olarak ifade edilir. Tetraploid ve diploid grupta ise; hem kültür hemde yabani formlar yer alır. Tetraploid grupta; *T. durum* kültür formlarına, *T. dicoccoides*'de yabani formlara örnek gösterilebilir. Diploid grupta ise; *T. monococcum* kültür formlarına, *T. boeoticum*, *Ae. speltoides*, *Ae. squarrosa* türleri de yabani formlara örnek teşkil etmektedir.

Tetraploid buğdaylar *A* ve *B* genomlu iki diploid türün melezlenmesi ve daha sonra kromozomlarının ikiye katlanmasıyla (poliploidleşme) oluşmuştur. Araştırmacıların çoğu tarafından *A* genomunun kaynağı *T. monococcum* ve *T. boeoticum* olarak kabul edilmektedir (Kimber and Feldman, 1987; Kimber and Sears, 1987). Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarla *A* genomu vericisinin *T. urartu* olduğu ileri sürülmektedir (Dvorak et al., 1988 ; Galili et al., 1991; Takuni et al., 1991; Ciaffi et al., 1997). *B* genomunu vericisinin hangi diploid tür olduğu konusu ise hâlâ açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte *B* genomunu veren türün aynı zamanda sitoplazmik katkısının da olduğu bilinmektedir. Birçok araştırmacı tetraploid türlerdeki *B* genomunun progenitörü olarak kabul edilen *Aegilops* cinsinin *S* genomunun da (sitoplazmik section) kaynağı olduğunu savunmaktadır. Bu genomla ilişkili

türlerin önemlileri; *Ae. speltoides*, *Ae. longissima* ve *Ae. bicornis* olarak kabul edilmekle birlikte, kesin olarak hangi türün sitoplazmik vericisi olduğu bilinmemektedir (Kimber, 1973).

Tetraploid buğdaylara *Ae. squarrosa*'nın *D* genomunun eklenmesi ile de hekzaploid buğdaylar oluşmuştur (Şekil 1.3.).

Bu üç grubun oluşumunda allopoliploidinin etkili olduğu melezleme ve sitogenetik çalışmalarla gösterilmiştir. Kuşkusuz bu melezlemelerle ortaya çıkan ilk tiplerin binlerce yıllık evriminden sonra bugünkü buğday formları meydana gelmiştir (Kün, 1988).



Şekil 1.3. Tetraploid ve hekzaploid buğdayların oluşum şeması (Miller, 1987; Kün, 1988).

1.3. Yabani Buğday Türlerinin Önemi

Son yıllarda yabani buğdaylara yönelik çalışmalar hızla artmaktadır. Bu çalışmalar taksonomik, sitogenetik, evrimsel çalışmalardır. Elde edilen

sonuçlarla varyasyonun sınırlarının belirlenmesi ve bu varyasyonların ıslah çalışmalarında kullanımı amaçlanmaktadır. (Kimber and Feldman, 1987).

Bugüne kadar yapılan ıslah çalışmaları, birçok yeni çeşidin geliştirilmesini, üretilmesini ve kullanılmasını sağlamıştır. Fakat bu süre içerisinde varyasyon kaynağı olabilecek pek çok yerel populasyon da ortadan kalkmıştır. Kültüre alınan bitkilerin yabancı türlerinin zamanla ortadan kalkması genetik çeşitliliği önemli ölçüde azaltmıştır. Bunun sonucunda bazı araştırmacıların “kaybolan genetik miras” diye tarif ettiği bir durum ortaya çıkmaktadır. Yüksek verim elde etmek için mevcut materyal arasından yapay bir seçim yapılırken, bazı değerli genleri taşıyan pek çok birey farkında olmadan ayıklanıp atılabilmektedir. Böylece genetik çeşitlilik bilinmeden azaltılıp, genetik taban daraltılmaktadır (Berkes ve Kışlalıoğlu, 1990).

Kültür buğdayının genetik temelindeki bu erozyon, araştırmacıları buğdayın yabancı akrabalarındaki genetik varyasyonun kullanımı konusunda çalışmalar yapmaya yöneltmiştir (Feldman and Sears, 1981).

Genetik çeşitliliğin azalması karşısında, geleceğe yönelik ümitler yabancı türlerdeki zengin gen havuzlarının incelenmesinde yatmaktadır (Feldman and Sears, 1981; Plucknett et al., 1983).

Yabancı türlerin ekonomik değeri olan genleri içerdikleri bilinmektedir. Bunlar kültür buğdaylarına aktarılarak, yeni varyasyonların oluşturulması ve geliştirilmesi için kullanılabilirler (Kimber and Feldman, 1987).

Yabancı buğday stoklarının genetik tabanının araştırılması, gelecekteki kullanımı için materyal sağlanması açısından ilk adımı oluşturmaktadır. Şüphesiz, bu materyallerin değerine paha biçilemez. Fakat bu kaynakların

değerini arttırmak ve yabani türlerdeki varyasyonun etkin biçimde kullanımını sağlamak için türlerin tam olarak tanımlanması ve özelliklerinin anlaşılması gerekmektedir (Kimber and Feldman, 1987).

Türlerin tanımlanması ve özelliklerinin belirlenmesinde, onların morfolojik ve genetik yapılarındaki varyasyonların belirlenmesi gerekmektedir. Bu varyasyonların tesbitinde kullanılan yollardan birisi de işaretleyicilerden yararlanmaktır.

Diğer türlerde olduğu gibi buğdayda da varyasyonların tesbitinde kullanılan işaretleyiciler genel olarak 4 grupta toplanabilir (Liu, 1991).

1-Morfolojik işaretleyiciler: Gözlenebilen morfolojik karakterlerle (boy, tohum rengi gibi) ilgili bütün varyasyonları içine alır.

2-Sitolojik işaretleyiciler: Mikroskop ile ortaya konulan tüm kromozomal varyasyonları kapsar (telezomikler, translokasyonlar, C- band desenleri v.s.).

3-Biyokimyasal işaretleyiciler: İzoenzimler ve depo proteinleri gibi gen ürünlerindeki bütün varyasyonları ifade eder.

4-DNA işaretleyicileri: Genetik materyal DNA’da gözlenebilen varyasyonların tümünü içerir.

1. 4. Biyokimyasal İşaretleyiciler

Materyalin biyokimyasal yapısında var olan farklılıkları tesbit etmemizi sağlayan işaretleyicilere “biyokimyasal işaretleyiciler denir”. Bunlar proteinler ve izoenzimler olarak iki gruba ayrılırlar. Yabani türlerde genetik çeşitliliğin

belirlenmesi için bugün kullanılan en etkili araçlardan biri proteinler ve izoenzimlerdir (Nevo et al., 1991).

İdeal bir işaretleyicide aranan özellikler, işaretleyicinin yüksek polimorfizm derecesine sahip olması, kodominant kalıtım göstermesi ve çevreden etkilenmemesidir (Gale et al., 1989).

Morfolojik işaretleyiciler çevreden etkilendikleri için kullanışlı değildir. Sitolojik işaretleyicilerin ise çalışılması zordur ve yeterli bilgi sağlamazlar. Protein ve izoenzimler; kodominant kalıtım sergilediklerinden heterozigotluk kolaylıkla gösterilebilir, farklı lokuslar arasında epistatik etki yoktur, çevresel faktörlerden etkilenmezler ve Mendel kalıtımı gösterirler. Bu nedenle sitolojik ve morfolojik işaretleyicilerinden daha avantajlıdır. Az sayıda lokusa sahip oldukları için oldukça sınırlı sayıda gen hakkında bilgi verirler, fakat varyasyon çalışmaları için bu durum bir engel teşkil etmez. DNA işaretleyicilerine göre avantajı ise, daha ekonomik olması ve kolay sonuç alınmasıdır.

1.4.1. Tohum depo proteinleri

Buğday tohum depo proteinleri suda eriyebilenler (Albümin ve Globulin) ve alkolde eriyebilenler (Gliadin ve Glutenin) olarak ikiye ayrılırlar. İkinci grupta yer alan gliadin ve gluteninler, albümin ve globulinlerden daha önemlidirler.

Kodominant kalıtıma sahip gliadin ve gluteninler genellikle yabancı genetik materyalin biyokimyasal karakterizasyonunun yapılmasında kullanılmaktadır (Metakovsky et al., 1984b). Buğday endospermindeki depo proteinlerinin %80'ini gliadin ve glutenin proteinleri oluşturmaktadır.

Bunlar tohumun çimlenmesinde enerji kaynağı olarak kullanılırlar (Mifflin et al., 1980) ve her ikisi de prolamin olarak kabul edilirler (Payne et al., 1984a; Payne, 1987).

Ekmek yapım kalitesinin önemli belirleyicilerinden olan gliadin ve gluteninler çok farklı biyofiziksel özelliklere sahiptirler (Rogers et al., 1990). Glutenin ekmek hamuruna uzama özelliği veren elastik bir yapıya sahipken, gliadin yapışkandır, hamura akıcılık ve genişleme özelliği verir (Payne et al., 1984a).

Depo proteinlerinin kromozomlar üzerindeki yerlerinin belirlenmesi ve bu proteinlerin elektroforezis jelleri üzerindeki bazı bantlarının buğdayın kalite özelliklerinden bazıları ile ilişkili olduğunun bulunması, buğday un kalitesi ile ilgili farklı allelik kombinasyonların çalışılması konusunda temel sağlamıştır (William and Kazi, 1994).

1.4.2. Gliadin ve gluteninlerin genetik yapısı

Gliadinler düşük molekül ağırlığına sahip polipeptid zincirlerinden oluşmuşlardır. Düşük pH'da jel elektroforezi yapıldığında; α -, β -, ω -, γ -gliadin olmak üzere 4 ayrı gruba ayrıldığı gözlenmiştir (Bushuk and Zilkman, 1978).

Payne et al. (1984a), Metakowsky et al (1984a) ve Bietz and Burnauf (1985) ω -gliadinleri, γ -gliadinlerinin çoğunu, β -gliadinlerinden bazılarını kodlayan (*Gli-1*) genlerin 1. grup kromozomların kısa kollarında olduğunu, 6. grubun kısa kollarında yer alan genlerin (*Gli-2*) ise α -gliadinleri, β -gliadinlerinin çoğunu, γ -gliadinlerinin bazılarını kodladığını tesbit etmişlerdir.

Bunlara ek olarak ω - tip gliadin alt ünitelerini kodlayan genlerin (*Gli-3*) 1. grup kromozomların kısa kollarına lokalize olduğu Payne et al. (1988) tarafından saptanmıştır.

Glutenin ise, yüksek molekül ağırlığına sahip polipeptid zincirlerinden meydana gelmiştir (Bietz and Wall, 1972). SDS içeren poliakrilamit jel elektroforezi ile glutenin örnekleri muamele edilirse glutenin iki eşit olmayan gruba ayrılır. Bu gruplar, *LMW* (düşük moleküler ağırlıklı) (Jackson et al., 1983) ve *HMW* (yüksek molekül ağırlıklı) alt üniteleridir (Payne et al., 1981).

Gluteninin *HMW* alt üniteleri 1. grup homolog kromozomların uzun kollarına yerleşmiş olan genler (*Glu-1*) tarafından kodlanır (Bietz et al., 1975; Lawrence and Shepherd, 1980; Payne et al., 1980). Glutenin *LMW* alt ünitelerini kodlayan genler (*Glu-3*) ise 1. grup kromozomların kısa kolu üzerinde yer almaktadır (Jackson et al., 1983; Payne et al., 1984a).

Gliadin ve glutenin proteinlerini kodlayan genler, hangi alt üniteleri kodladıkları ve hangi kromozomlar üzerinde yer aldıkları Çizelge 1.2.'de verilmiştir (Payne et al. 1983).

Buğdayda bazı özel gliadin bantları ile glutenin *LMW* ve *HMW* alt ünitelerinin kalite ile ilişkileri yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur.

Çizelge 1.2. Gliadin ve glutenin proteinlerini kodlayan genler ve kromozomlar üzerindeki yerleri:

Lokus	Kromozom	Kol	Pozisyon	Kodladığı Proteinler
<i>Glu-A1</i>	1A	Uzun	Proksimal	<i>HMW</i> glutenin alt üniteleri
<i>Glu-B1</i>	1B	Uzun	Proksimal	
<i>Glu-D1</i>	1D	Uzun	Proksimal	
<i>Gli-A1</i>	1A	Kısa	Distal	LMW glutenin alt üniteleri;
<i>Gli-B1</i>	1B	Kısa	Distal	ω -gliadin; γ -gliadin;
<i>Gli-D1</i>	1D	Kısa	Distal	β -gliadin (çok az)
<i>Gli-A2</i>	6A	Kısa	Distal	α -gliadin; β -gliadin;
<i>Gli-B2</i>	6B	Kısa	Distal	
<i>Gli-D2</i>	6D	Kısa	Distal	
<i>Gli-A3</i>	1A	Kısa	Distal	ω -gliadin alt üniteleri
<i>Gli-B3</i>	1B	Kısa	Distal	
<i>Gli-D3</i>	1D	Kısa	Distal	

Kosmolok, et al. (1980), Kanada'da 3 farklı yerden toplanan 30 makarnalık buğday çeşidinin gliadin band ayırımını yapmış ve çeşitleri 42, 45 bandlarının var olup olmamasına göre iki gruba ayırmıştır. Gliadin 42 bandına sahip olanların zayıf gluten yapısında ve gliadin 45 bandına sahip olanların ise, kuvvetli gluten yapısında olduklarını, gliadin band yapılarının çevreden etkilenmediklerini bildirmişlerdir.

Payne et al. (1984b) ise, γ -gliadin 45, ω -gliadin 35 ve *LMWG-2* alt ünitesini kodlayan genlerin bir bağıllık grubu oluşturarak yüksek kalite için; γ -gliadin 42, ω -gliadin 33,35,38 ve *LMWG-1* alt ünitesinin diğer bir bağıllık grubunu oluşturarak, düşük kalite için işaretleyici olarak kullanılabileceklerini bildirmişlerdir.

Çeşitli ülkelerde 71 hekzaploid buğday hattında gliadin, HMW glutenin alt üniteleri ve 13 un kalite karakterini çalışan Campbell, et al. (1987) bazı karakterler ile özel alt üniteler arasında oldukça önemli ilişkilerin olduğunu bulmuşlardır. Gliadin 59- HMW glutenin 5 ve 10 ile hamurun dayanıklılığı arasında, Gliadin 58- HMW glutenin 2 ve 12 ile de hamurun zayıflığı arasında bir ilişki vardır.

1.4.3. İzoenzimler

Aynı kimyasal reaksiyonu katalize eden, fakat molekül yapıları, özellikle elektrik yükleri farklı olan bir enzimin değişik formlarına izoenzim (izozim) denmektedir (Ozban, 1988).

İlk gen ürünü olma özelliklerinin yanı sıra izoenzimler, oldukça elverişli ve güvenilir genetik işaretleyicilerdir (Weeden and Wendel, 1989). Genetik materyaldeki farklı özelliğin ortaya çıkarılmasında izoenzim işaretleyicilerinin kullanılmasının ana avantajı hızlı sonuç üretmesidir. (Tanksley and Orton, 1983). Çevresel farklılıkların izoenzimin ortaya çıkmasında etkili olmaması, kodominant özelliğe sahip oldukları için heterozigotluğun ayırtedilebilmesi ve binlerce formdaki izoenzimlerin birçok lokusunun aynı anda incelenebilmesi nedenlerinden ötürü genetik varyasyon çalışmaları için değerlidirler (Lewontin, 1974).

Hubby ve Lewontin, yaptıkları çalışmalarıyla elektroforetik analizin genetik polimorfizmi kolayca ortaya koyması ve yorumlaması nedeniyle vazgeçilmez işaretleyiciler olarak izoenzimlerin kullanılmasına öncülük etmişlerdir. Böylece izoenzim lokusundaki allelik varyasyonun incelenebilirliği evrim, populasyon genetiği ve biyokimyasal genetik alanlarındaki çalışmaları kökünden değiştirmiştir. İzoenzim polimorfizmi olarak adlandırılan bu

varyasyonlar meyva sineklerinden yabani bitkilere ve insana kadar bir çok organizmanın genetik çeşitliliğinin ve hayat döngülerinin her kademesindeki genetik işlemlerin araştırılmasında son 20-30 yıldan daha fazla süreden beri yaygın olarak kullanılmaktadır (Liengsiri et al., 1990).

Tahıl türlerinde izoenzimleri kodlayan genlerdeki allelik çeşitlilik, birçok temel ve uygulamalı araştırmalar (örneğin; ıslah programları, gen kodlanması, kromozomal haritalamada işaretleyici olarak kullanılması) yönünden önemlidir (Vapa and Hart, 1987).

Buğdayda izoenzim işaretleyicileri için farklı kromozom kısımları üzerine yerleşmiş ve tanımlanmış yüzden fazla yapısal gen vardır (Asiedu et al. ,1989).

1.4.4. İzoenzimlerin genetik yapıları

Koebner and Martin (1989), izoelektrik odaklama (IEF) yöntemini kullanarak, *Amp-1* izoenzim geninin 6. grup homoelog kromozomların uzun kollarında olduklarını ve aminopeptidaz-1 izoenziminin lösin, lisin, arginin, metionin, triptofan ile fenilalenin amino asitlerine karşı aktif olduklarını göstermişlerdir. *Amp-2* izoenzimi ise lisil ve arginine karşı kuvvetli, metionine karşı zayıf aktiftir. Kromozomal yerleşimi *4AL*, *4BS*, *4DS* şeklindedir.

Hart and Langston (1977), nişasta jel elektroforezi ile 7 günlük “Chinese Spring” (CS) fideleri kullanarak yapmış oldukları çalışmada, *Ep-1* geninin 7. grup homoelog kromozomların uzun kollarında lokalize olduğunu bulmuşlardır. Koebner et al. (1988), IEF yöntemi ile yaptıkları çalışma sonucunda “CS” nin *Ep- A1* lokusunun (eğer varsa) sessiz, *Ep-B1* ve *Ep-D1* aktif yapısal genlere sahip olduklarını söylemişlerdir. Aynı zamanda *Ep-1* tarafından kontrol edilen izoenzimler genç fidelerde, embriyo ve kalkancıkta

aktifken, 16 veya 40 saat ıslanmış tohumların endospermilerinde aktif olmadığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan protein ve izoenzimlerin kromozomlar üzerindeki yerleşimi Çizelge 1.3.'de. özetlenmiştir (Hart and Gale, 1990).

Çizelge 1.3. Bu çalışmada kullanılan protein ve izoenzimlerin lokusları.

Genomlar	GEN SEMBOLLERİ							
	<i>Glu-1</i>	<i>Glu-3</i>	<i>Gli-1</i>	<i>Gli-2</i>	<i>Gli-3</i>	<i>Ep-1</i>	<i>Amp-1</i>	<i>Amp-2</i>
AA	1L	1S	1S	6S	1S	7L	6L	4L
BB	1L	1S	1S	6S	1S	7L	6L	4S
DD	1L	1S	1S	6S	1S	7L	6L	4S

1.5. Buğdayda Protein ve İzoenzim Varyasyonu

Buğdayda türlerin tanımlanmasında, sınıflandırılmasında, orjininin belirlenmesinde ve özelliklerinin bilinmesinde gliadin ve glutenin proteinleri ile çeşitli izoenzimleri kullanılmaktadır. Bu amaçlarla yapılan çalışmalarda band desenlerindeki farklılıklar belirlenerek kullanılan materyaldeki varyasyon tesbit edilmektedir.

Kudo et al. (1973), *Aegilops* türlerinde (*Ae. bicornis*, *Ae. sharonensis*, *Ae. longissima*, *Ae. speltoides* ve *Ae. aucheri*) tür içi ve türler arası varyasyonu tesbit etmek için α -amilaz izoenzim elektroforezini kullanmıştır. *Ae. longissima* dışında tüm türlerde tür içi varyasyona rastlamışlardır. *Ae. speltoides*- *Ae. aucheri* türlerinde diğerlerine nazaran daha fazla oranda varyasyonun olduğunu bildirmişlerdir. Buldukları sonuçları tetraploid

buğdaylarla karşılaştırarak *Ae. speltoides*'in tetraploid buğdaylarla ilgisinin çalışmada kullanılan diğer türlerden daha yakın olduğunu belirtmişlerdir.

Nakai (1973) ise, esteraz ve asit fosfataz izoenzimi ile yapmış olduğu çalışmada esteraz açısından tetraploid türlerdeki yüksek varyasyona rağmen diploid türlerde daha düşük oranda varyasyon olduğunu bulmuştur. *Ae. speltoides* ve *Ae. sharonensis* diploid türlerinde oldukça yüksek oranda varyasyon gözlediğini bildirmiştir. Asit fosfataz izoenzimi açısından *Ae. speltoides*' in en geniş tür içi varyasyona sahip diploid tür olduğunu belirtmiştir. Tetraploid türlerde de tür içi varyasyonlar mevcut olmasına karşın incelediği iki hekzaploid türde varyasyon bulamamıştır. Esteraz izoenziminde tetraploidlerde rastlanan zengin band desenleri yanında *T. monococcum* türünün oluşturduğu desenler oldukça basittir. Özellikle Mezopotamya'dan toplanan *T. dicoccoides* ve *T. araraticum* türlerinde tür içi ve türler arasında büyük oranda varyasyon olduğunu tesbit etmiştir. *T. timopheevii* ve *T. dicoccum* gruplarında 6 farklı esteraz band deseni meydana geldiğini gözlemiştir.

Tetraploid buğday hatların da α -amilaz izoenzimi bakımından çeşitliliği analiz eden Nishikawa et al. (1975) *T. dicoccoides* ve *T. durum* buğdaylarında varyasyon olduğunu tesbit etmişlerdir. Varyasyonun en çok Kuzey Irak ve Türkiye'den toplanan *T. dicoccoides*'de olduğunu belirtmişlerdir.

Nishikawa et al. (1980) 60 *Ae. squarrosa* populasyonu ile yaptıkları α -amilaz izoenzimi elektroforez analizleri sonucunda 7 farklı band deseni meydana geldiğini rapor edilmişlerdir.

Gliadin band desenlerindeki farklılıkları *T. dicoccum*'un 428 formu ile çalışan Korovaev (1981) 21 farklı band deseninin olduğunu tesbit etmiş ve

Kuzeydoğu Anadolu gruplarının band desenleri bakımından oldukça geniş çeşitlilik gösterdiğini bildirmiştir. Balkan gruplarının band desenlerinin bu gruba oldukça yakın olduğunu; fakat γ -gliadin bölgelerinde farklılıklar gözlemlendiğini Volga gruplarının hemen hepsinde tek tip band deseninin meydana geldiğini ve Avrupa gruplarının bazılarında farklı, bazılarında ise tek tip band deseninin görüldüğünü belirtmişlerdir.

İtalyan ticari buğday çeşitlerinden 6 tanesinde poliakrilamit jel elektroforez yöntemi kullanılarak yapılan gliadin analizi sonucunda çeşitler arasında, çeşitlerin kendi içinde ve çeşitlerle anaçları arasında farklı band desenlerinin meydana geldiği gözlenmiştir (Pogna, 1982).

Nakai (1983) Anadolu'dan topladığı yabani buğdaylarda esteraz izoenzimindeki varyasyonu araştırmış ve diploid türler arasında bu enzim bakımından varyasyonun olmadığını fakat tetraploidler arasında 7 farklı band deseninin olduğunu tesbit etmiştir.

Triticum ve *Aegilops* türlerinde yapılan β -amilaz çalışmasında ise; tohum endospermi ile yapılan analizlerde 20 β -amilaz bandı tanımlanmıştır. *Triticum* türlerinden 237 populasyon ve *Aegilops* türlerinden 31 populasyonda oldukça farklı bandların meydana geldiği görülmüş ve farklılıkların yabani türlerde kültür türlerine oranla daha çok olduğu sonucuna varılmıştır (Furuta et al., 1983).

Poliakrilamit jelde IEF yöntemi kullanarak 25 *Aegilops* türünde asit fosfat az izoenzimi incelenmiş ve 5 türde tür içi varyasyonların olduğu gözlenmiştir. Bu 5 türden *Ae. caudata*, *Ae. squarrosa*, *Ae. triaristata* ve *Ae. variabilis* türlerinde 2 farklı, *Ae. speltoides*'de ise 3 farklı band deseni tesbit edilmiştir. Sonuç olarak; diploidler poliploidlerden daha geniş varyasyona sahiptirler ve

farklı genomlu diploid *Aegilops* türlerinde asid fosfataz izoenziminin band desenlerindeki farklılıklar önemlidir. Band desenlerinin poliploidlerdeki farklılıkları belirlemede ve orjinlerinin tesbitinde kullanabilir olduğunu belirtmişlerdir (Nakai and Tsuji, 1984).

Sontag et al. (1986) Finlandiya'da yetişen 35 buğday çeşidi ile yaptıkları elektroforetik analizlerde 17 farklı *HMW* gluten alt ünite kompozisyonunun meydana geldiğini ve bunların sadece 9'unda tek bir desenin olduğunu rapor etmişlerdir.

Nevo and Payne' de (1987) yaptıkları elektroforetik çalışmayla 11 yabani emmer (*T. dicoccoides*) popülasyonuna ait 231 örnek üzerinde *HMW* glutenin alt ünitelerini analiz etmişlerdir. Sonuçta; *HMW* glutenin lokusu *Glu-A1* ve *Glu-B1*' in varyasyon açısından zengin olduklarını, *Glu-A1*'de 11 ve *Glu-B1*'de 15 allel bulunduğunu fakat *HMW* glutenin alt ünitelerindeki genetik varyasyonların bazı popülasyonlarla sınırlı kaldığını belirtmişlerdir. Glutenin çeşitliliği ile biyotik (bitki örtüsü) ve fiziksel (iklim ve tuzluluk) değişkenler arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Yabani emmerdaki bu polimorfizmin çok az bir kısmını çevresel nedenlere bağlamışlar ve emmerin endosperm içeriğindeki birçok allelin ekmeklik buğdayda bulunmadığı için bunların ekmek yapım kalitesini arttırmada kullanılabileceklerini önermişlerdir.

Lagudah et al. (1987), Afganistan'da hekzaploid buğday yerel çeşitlerinde *HMW* gluten alt ünitelerinde varyasyon çalışması yapmışlardır. Örnekleri 395-3170 m. yükseklikleri arasında değişen mevkilerden toplamışlar ve varyasyonun coğrafi yer ve yükseklikle ilişkiz olduğunu bildirmişlerdir. 5 farklı mevkide 29 yerel çeşide ait örneklerde *Glu-A1* ve *Glu-B1* lokuslarının kodladığı *HMW* alt ünitelerinde allelik varyasyona rastlanırken *Glu-D1*

lokusunda ne mevkiler arasında ne de içinde varyasyon olmadığını gözlemişlerdir.

Pogna et al. (1988) İtalya'da yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitlerinde *HMW* glutenin alt ünitelerini incelemişlerdir. 120 İtalyan çeşidinin *HMW* kompozisyonlarını karşılaştırarak gruplandırmışlar ve 50 farklı kompozisyonun olduğunu tesbit etmişler. Çeşitler arasında 34 grup tanımlanmış, 14 çeşidin tek bir forma sahip olduğu ve yeni çeşitlerde gözlenen 5 kompozisyonun eskilerde olmadığı bu sebeple türleri tanımada bu alt ünitelerden faydalanılabileceği belirtilmiştir.

T. tauschii (*Ae. squarrosa*) ve *T. aestivum* ile yapılan elektroforetik analizlerde gliadin ve *HMW* gluten alt üniteleri incelenmiştir. *T. tauschii*'de gözlenen polimorfizm derecesi $Glu1 < Gli2 < Gli1$ şeklinde sıralanmıştır. Bu lokuslarda görülen yüksek polimorfizme rağmen, hekzaploid buğdayın *D* genomu ile uyan sınırlı sayıda varyant bulunabilmiştir. İki boyutlu elektroforez yöntemiyle hekzaploid buğdayın yaygın allelik formlarıyla *T. tauschii* arasındaki farklılıklar açığa çıkarılmıştır. 79 *T. tauschii* örneği incelenmiş 6 tanesi *T. aestivum*'un *D* genomunun protein kompozisyonları ile ilişkili bulunmuştur (Lagudah and Halloran, 1988).

William et al. (1993) *T. tauschii* ile yapıları çalışmada *HMW* glutenin, gliadin proteinleri ile esteraz, β -amilaz ve glukoz-fosfataz izoenzimlerindeki varyasyonu incelemişlerdir. Sonuçta; *HMW* gluten alt üniteleri ve gliadin için geniş çeşitlilik tesbit edilmişlerdir. İzoenzim değerlendirilmesinde Esteraz için ekmeklik buğdaydaki *Est-D5* ile karşılaştırıldığında *T. tauschii*'de daha çok varyasyon olduğu belirtilmiştir. Fakat β -amilaz izoenzimi açısından *T. tauschii*'deki polimorfizm daha azdır. Glukoz-fosfataz izoenziminde varyasyona rastlanmamıştır. *T. tauschii*'nin *T. aestivum*'un genetik çeşitliliğine

katkıda bulunabilecek zengin bir kaynak olduğunu yaptıkları çalışmanın sonucu olarak sunmuşlardır.

Ciaffi et al. (1997), yabani ve kültür kaplıca buğdaylarında elektroforez yöntemiyle gliadin polimorfizmini incelemişler ve çalışmalarında *Gli-1* ve *Gli-2* gen lokuslarındaki allelik varyasyonun dikkate değer olduğunu belirtmişlerdir. *T. monococcum* ile *T. boeoticum* buğdaylarının meydana getirdiği band desenleri, *T. urartu*'dan farklı olarak birbirlerine çok benzemekte olduğunu bildirmişler. Bu iki buğdaya ait birçok yerde *Gli-1* ve *Gli-2* lokuslarında aynı allellere sahip olduklarını bulmuşlardır. Bu nedenle *T. monococcum* ve *T. boeoticum*'un aynı türe ait alt türler olduğu kanısına varmışlardır. *T. urartu*'nun gliadin kompozisyonu, poliploid buğdayların *A* genomu ile *T. monococcum* ve *T. boeoticum*'a göre daha çok benzerlik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Kültür buğdaylarındaki *A* genomunun vericisi muhtemelen *T. urartu* olduğu kanaatine varmışlardır. Buğday ıslahında yüksek derecede polimorfizme sahip gliadin işaretleyicileri, diploid türlerden istenilen özelliklerin seçilmesinde yardımcı olabileceğini belirtmişler. Aynı zamanda bu lokuslardaki değerli genlerin araştırılmasında ve yabanilerdeki genlerin kültür formlarına transferinin izlenmesinde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Law and Payne (1983) biyokimyasal yapılarındaki çok büyük farklılıklardan dolayı yabani buğday türlerindeki varyasyonlar çok fazla olduğunu, proteinler ve izoenzimler için alternatif gen kaynağının buğdayın diploid ve tetraploid akrabaları olduğunu bildirmişlerdir.

Geniş adaptasyon yeteneğine sahip olmaları yabani türlere olan ilgiyi daha da arttırmaktadır. Yabani bir buğday olan *Aegilops* cinsine ait türlerin hastalıklara karşı dirençlilik, soğuğa ve böceklerle karşı dayanıklılık (Gill et al., 1986 ; Gill and Raupp, 1987) gibi önemli gen kaynaklarına sahip oldukları bilinmektedir.

Tetraploid buğdaylardan *T. dicoccoides*, *T. timopheevi* *T. durum* türleri de dayanıklılık genlerini taşımaktadırlar ve bu genler türler arası melezlemelerle kültür buğdaylarına aktarılmaktadır (McInthos, 1988).

Genetik çeşitlilik sorunu yaklaşık 20 yıldır gündemde olan bir konudur. Bu nedenle insanoglu son yıllarda tarla bitkilerinin yabani atalarının bulunduğu ülkelerde biyogenetik rezerv alanları ve gen bankaları kurmaya başlamıştır. Genetik çeşitlilik açısından Anadolu dünyanın en zengin bölgelerinden birisi olduğu gibi pek çok bitkinin kültüre alındığı yerdir (Berkes ve Kışlalıoğlu, 1990).

Bu çalışmada Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü tarafından yürütülen “Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması Projesi” kapsamında Güneydoğu Anadolu’da Şanlıurfa Ceylanpınar Tarım İşletmesindeki daha önceden belirlenen değişik yerlerden toplanan *Ae. squarrosa*, *Ae. speltoides* spel., *Ae. speltoides* lig. ve *T. dicoccoides* yabani buğday türlerine ait ikişer popülasyonda, *Gli*, *Glu* proteinleri ile *Ep-1*, *Amp-1*, *Amp-2* izoenzimleri bakımından elektroforetik analizlerle mevcut varyasyonlar tesbit edilmeye çalışılmıştır.

2. MATERİYAL VE METOD

2.1. Materyal

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen yabani buğday türlerinden *Ae. squarrosa*, *Ae. speltoides* spel., *Ae. speltoides* lig. ve *T. dicocoides*'e ait tohum örnekleri Tarım ve Köyşleri Bakanlığına bağlı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Genetik ve Islah Bölümü Gen Bankası birimi tarafından sağlanmıştır. Materyalle ilgili detaylı bilgiler aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.1.). Çalışmada kullanılan kimyasal maddelere ait bilgiler ise Ek-1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Araştırmada kullanılan türlere ait bilgiler.

Tür Adı	İli	Yöresi	T. Yılı	p. No	Örnek Sayısı	
					Gli, Glu	Ep-1, Amp-1, Amp-2
<i>Ae. squarrosa</i>	Ş. Urfa	Ceylanpınar (Horstepe)	1996	7	37	74
<i>Ae. squarrosa</i>	Ş. Urfa	Ceylanpınar (Gökçayır)	1996	8	5	10
<i>Ae. speltoides</i> spel.	Ş. Urfa	Ceylanpınar (DICO3) Gürgürbaba	1996	3	7	15
<i>Ae. speltoides</i> spel.	Ş. Urfa	Ceylanpınar (BYZK Ağıl) Beyazkule	1996	4	5	10
<i>Ae. speltoides</i> lig.	Ş. Urfa	Ceylanpınar (BYZK Ağıl) Beyazkule	1996	5	5	10
<i>Ae. speltoides</i> lig.	Ş. Urfa	Ceylanpınar (BYZK Spel 2) Saraççeşme	1996	10	5	10
<i>T. dicocoides</i>	Ş. Urfa	Ceylanpınar (DICO3) Gürgürbaba	1996	6	10	14
<i>T. dicocoides</i>	Ş. Urfa	Ceylanpınar (940302) Gürgürbaba	1994	21	4	4

T. yılı : Toplama yılı.

P. No : Populasyon numarası.

2.2. Metod

2.2.1. Asit poliakrilamit jel elektroforezi (A-PAGE)

Gliadin band desenlerini elde etmek için Bushuk and Zillman'ın (1978) ICARDA tarafından modifiye edilmiş A-PAGE yöntemi kullanıldı.

2.2.1.1. Gliadin elektroforezinde kullanılan çözeltiler

A- Alüminyum Laktat Çözeltisi (Al-laktat)

Elektroforez tampon çözeltisi olarak ve jel hazırlanmasında kullanılan Al-laktat çözeltisi % 0,125'lik olarak hazırlandı ve laktik asitle pH'sı 3.1'e ayarlandı (Bushuk and Zillman, 1978).

B- Boya Çözeltisi

Elektroforez işleminden sonra jel üzerinde meydana gelen gliadin bandlarının görülebilmesi için kullanılan boya çözeltisi, 1 g coomassie brillant blue R-250'nin 100 ml etil alkolde (%96'lık) çözülmesiyle hazırlandı. Her bir jel için 5 ml coomassie brillant blue R-250, 12 ml trikloro asetik asit (% 100'lük TCA) çözeltileri karıştırılarak saf su ile 100 ml' ye tamamlandı. Jeller hazırlanan boya çözeltisi ile boyandı. TCA ve coomassie brillant blue R-250 çözeltileri stok olarak hazırlandı.

2.2.1.2. Örneklerin hazırlanması

Analiz edilecek populasyona ait örnekler ayıklanıp her bir buğday danesi ayrı ayrı tüplere konularak numaralandı. Gliadin proteinini ekstrakte etmek için her bir buğday tanesi hassas terazide tartıldıktan sonra ezilerek un haline getirildi ve önceden numaralandırılmış ependorf tüplerine alındı. Her tüpe 20

mg buğday örneği için 100 µl 1,5 M'lık N,N - dimetilen formamidin çözeltisinden konuldu. Tüpler 10 dakika ara ile tüp karıştırıcısında beş kez karıştırıldıktan sonra sentrifuj aletinde 8000 devir/dakika hızda 15 dakika sentrifuj edildi. Çözeltinin üzerindeki gliadin örnek sıvısı temiz tüplere alındı. Hazırlanan örnek çözeltiler 0 °C'de iki hafta süre ile saklandı.

2.2.1.3. Jellerin hazırlanması

Elektroforez ortamı olarak kullanılan A-PAGE jelinin hazırlanmasında 7 g akrilamit, 0,3 gr N,N- metilen bisakrilamid ve 0,024 g askorbik asit dereceli bir silindire konularak Al-laktat çözeltisi (Bölüm 2.2.1.1. çöz. A) ile 100 ml'ye tamamlandı. Polimerleşmeyi sağlamak için 10,3 µl % 4'lük demir sülfat çözeltisi ile 115,4 µl % 3'lük hidrojen peroksit çözeltisi kullanıldı. Hidrojen peroksit çözeltisi stok olarak hazırlandı Demir sülfat çözeltisi ise her jel için yeniden hazırlandı.

Jeller polimerleştikten sonra (yaklaşık 20 dakika) taraklar çıkarıldı. Örnek gözeleri Al-laktat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanarak temizlendi ve gözelere Al-laktat çözeltisi doldurularak 1,5 mm kalınlığındaki jeller kullanıma hazır hale getirildi.

2.2.1.4. Örneklerin yerleştirilmesi

Hazırlanmış olan her bir gliadin örnek sıvısından mikropipet yardımıyla 4 µl örnek alınarak birer örnek gözesine konuldu. İlk gözeye koşma işlemi sırasında bandların hareketini izlemek amacıyla metilen yeşili boya maddesi (10g sakkoroz , 0,25 g metilen yeşili Al-laktat çözeltisi ile 18 ml'ye tamamlanır.) konuldu. İkinci ve son gözelere standart olarak Şam-1 (C1) ve Şam-3 (C3) buğdaylarının gliadin örnek sıvıları uygulandı.

2.2.1.5. Elektroforez aleti

Gliadin elektroforez işlemi için Sigma marka PC 4010-2 model bir güç kaynağı ile Sigma marka E-4266 model elektroforez aleti kullanılmıştır. Alet dikey düzenekte ve 16,5 cm x 19 cm boyutlarında iki cam kalıpta jel vermektedir.

2.2.1.6. Elektroforez işlemi

İşleme başlamadan önce elektroforez aletine Al-laktat çözeltisi (Bölüm 2.2.1.1. çöz. A) konuldu. Alet soğutucu sisteme bağlanarak ortam sıcaklığı +12 °C'ye ayarlandı. Örnekler uygulandıktan sonra jel kalıpları elektroforez aletine yerleştirildi ve üst tanka Al-laktat çözeltisi konuldu. Elektroforez işlemi her jel için 25 mA sabit akım uygulanarak yapıldı ve işleme boya maddesinin mavi bandı jelin sonuna gelinceye kadar devam edildi. Bu süre 12°C -15 °C ortam sıcaklığında 2,5 saat sürdü.

2.2.1.7. Jellerin boyanması

Elektroforez işleminden sonra jeller yeni hazırlanmış boya çözeltisi (Bölüm 2.2.1.1. çöz. B) bulunan kapların içine alındı. Burada 24 saat süre ile bekletilen jeller yıkanmak için çeşme suyu bulunan kaplara aktarıldı. Kaplardaki sular 24 saatte bir değiştirildi ve bu işlem 4-5 gün sürdürüldü.

2.2.1.8. Jellerin görüntülenmesi

Tüm işlemlerden sonra jel, bir cam levhanın üstüne yerleştirildi. Cam levha alttan aydınlatmalı beyaz ışık kaynağının üzerine yerleştirilerek fotoğrafı

çekildi. Fotoğrafların çekiminde Pentax marka Smc Pentax-F model fotoğraf makinesi ve Konica Chrome R-100 film kullanıldı.

2.2.1.9. Jellerin değerlendirilmesi

Gliadin band desenleri arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi çekilen fotoğraflar üzerinden çıplak gözle yapıldı. Aynı zamanda desenler arasındaki farklılıkları belirlemede bandların nisbi mobilitelerinden faydalanıldı.

2.2.1.9.1. Nisbi mobilitenin belirlenmesi

Gliadin band desenlerindeki bazı bandların nisbi mobilitelerinin belirlenmesinde referans olarak Şam-1 buğdayının band deseninde bulunan 42 Rm (Relative mobility) değerli band kullanılmıştır. Analiz edilen örneklerdeki band desenlerinde istenilen bandların nisbi mobilitelerini hesaplamak için bandın merkezi ile orjini arasındaki mesafe mm'lik cetvelle ölçüldü ve aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı.

$$R_m = \frac{\text{Üzerinde durulan bandın orjinden uzaklığı}}{\text{Referans bandın orjinden uzaklığı}} \times 42$$

2.2.2. Sodyumdodesilsulfat poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Glutenin elektroforezik analizlerinde SDS-PAGE yönteminin (Ng and Bushuk 1987) ICARDA tarafından modifiye edilmiş şekli kullanıldı.

2.2.2.1. Glutenin elektroforezinde kullanılan çözeltiler

A- Ayırıcı Akrilamit Çözeltisi

Glutenin alt jelinin hazırlanmasında kullanılan çözeltilerden biridir. 74,05 g akrilamid, 0,95 g N.N.- metilen bisakrilamidin kullanıldığı bu çözelti son hacmi 250 ml olacak şekilde saf su ilave edilerek hazırlandı. Daha sonra filtre kağıdından geçirilerek süzüldü. Bu çözelti stok olarak hazırlandı ve +4°C' de saklandı.

B- Yükleyici Akrilamit Çözeltisi

Üst jelin hazırlanmasında kullanılan bu çözelti 73 g akrilamid, 2 g N.N.- metilen bisakrilamid kullanılarak hazırlandı. Son hacim 250 ml olacak şekilde saf su ilave edildi. Filtre kağıdından süzüldü ve stok halinde +4 °C'de saklandı.

C-Ayırıcı Tampon Çözeltisi

Alt jelin hazırlanmasında kullanılmaktadır. 91 g tris son hacmi 250 ml olacak şekilde saf suda çözüldü. Filtre kağıdından süzülerek hidroklorik asit (HCl) ile pH=8.8'e ayarlandı. +4 °C'de stok halinde saklandı.

D-Yükleyici Tampon Çözeltisi

Üst jelin ve örnek çözeltisinin hazırlanmasında kullanılan bir çözeltidir. 6 g trisin kullanıldığı bu çözelti son hacmi 100 ml olacak şekilde saf su ilave edilerek hazırlandı. Filtre kağıdından süzüldü. HCl ile pH=6.8 olarak ayarlandı. Stok halinde +4 °C'de saklandı.

E- Uzaklaştırıcı Tampon Çözeltisi

Glutenin örnek hazırlanmasına başlanmadan önce gliadin örnek çökteltisindeki gliadinlerin yıkanarak uzaklaştırılması için uygulanan bir çözeltidir. 7,6 g tris

300 ml saf suda çözüldü ve pH'sı HCl ile 6.8 olarak ayarlandı. 5 g SDS eklendikten sonra saf su ile son hacim 500 ml'ye tamamlandı. +4 °C'de stok olarak saklandı.

F- Elektrot Tampon Çözeltisi

Elektroforez işleminde elektrot tamponu olarak kullanıldı. 30 g tris, 144 g glisin ve 10 g SDS son hacmi 1000 ml olacak şekilde saf suda çözüldü.

G- Örnek Tampon Çözeltisi

Glutenin örnek çözeltisi bileşenlerinden biri olarak hazırlanan çözelti için; 25 ml yükleyici tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. D), 4 g SDS , 0,03 g pyronin Y , 20 ml gliserol, 11,5 ml saf su kullanıldı.

H- Örnek çözeltisi

Glutenin proteinlerini açığa çıkarmak için kullanılan örnek çözeltinin hazırlanmasında 1 ml örnek tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. G), 1 ml saf su ve 0,02 ml 2-mercaptoethanol kullanıldı. Çözelti stok olarak +4 °C'de saklandı.

2.2.2.2. Örneklerin hazırlanması

Gliadin ekstraksiyonundan sonra her tüpte arta kalan çökelti içine 1000 µl uzaklaştırıcı tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.1.1. çöz. E) konuldu. Tüpler 10' ar dakika ara ile tüp karıştırıcıda 4 kez karıştırıldıktan sonra 8000 devir/dakika hızda 15 dakika sentrifüj edildi. Bu işlemten sonra çözelti boşaltıldı. Tüplerde kalan sıvının giderilmesi için kurutma kağıdının üzerine yerleştirildi.

Daha önceden tohum ağırlığı bilinen her tüpe 1 mg örnek için 10 µl örnek çözeltisinden (Bölüm 2.2.2.1. çöz. H) konularak tüp karıştırıcıda iyice

karıştırıldı. Bu işlemden sonra tüpler 60°C'deki suyun içinde 30 dakika bekletildi. 30 dakikalık süre içinde tüpler 10'ar dakika ara ile alınarak karıştırıcıda karıştırıldı. 8000 devir/ dakika hızda 15 dakika sentrifuj edildikten sonra tüplerin içindeki pembe renkli sıvı önceden hazırlanan temiz tüplere alındı. Hazırlanan örnekler 0°C'de muhafaza edildi.

2.2.2.3. Jellerin hazırlanması

Glutenin elektroforez işleminde elektroforez ortamı olarak kullanılan jeller iki ayrı kısımdan meydana gelmektedir.

Alt jel: Jel solüsyonu 26 ml ayırıcı akrilamit çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. A) , 9,75 ml ayırıcı tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. C) ve 41, 25 ml saf su karıştırılarak oluşturuldu. Jel çözeltisindeki gazların giderilmesi için 10-15 dakika vakumlandı. Vakum işleminden sonra jel çözeltisine 780 µl %10'luk SDS çözeltisi, 180 µl %10'luk amonyum persulfat (APS) çözeltisi ve 60 µl tetramethylethylenediamine (TEMED) eklendi. SDS çözeltisi stok olarak, APS çözeltisi ise her işlemde taze olarak hazırlandı. Jel döküldükten sonra kabarcıkları gidermek amacıyla bir kaç damla butanol damlatıldı.

Jel polimerleştikten sonra (yaklaşık 1,5 saat) üst kısımdaki butanol boşaltılarak saf su ile 3-4 kez yıkandı. Jel kalıplarının üst kısmına saf su ilave edilerek bu kez bir saat süreyle bekletildi. Bir saat sonunda saf su boşaltıldı ve bu kısım alttaki jele zarar vermeden kurutma kağıdı ile kurulandı. Taraklar kalıplara yerleştirilerek üst jelin dökülmesi için hazırlandı.

Üst jel: 2,5 ml yükleyici akrilamit çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. B), 5 ml yükleyici tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. D) ve 12 ml saf su

karıştırıldı. Bu çözelti 10-15 dakika vakumlandıktan sonra 200 µl %10'luk SDS çözeltisi, 135 µl %10'luk APS çözeltisi ve 30 µl TEMED ilave edildi. Çözelti daha önce alt jellerin dökülüp hazırlandığı iki jel kalıbına döküldü.

Üst jelin polimerleşmesinden sonra (yaklaşık 30 dakika) taraklar çıkartıldı ve gözeler elektrot tampon çözeltisi ile (Bölüm 2.2.2.1. çöz. F) 2-3 kez yıkanarak tekrar dolduruldu. Böylece 1,5 mm'lik iki jel analiz için hazır hale getirildi.

2.2.2.4. Örneklerin yerleştirilmesi

Önceden hazırlanan ve 0°C'de saklanan glutenin örnekleri sıcaklığı 45 °C olan suda buzları çözülene kadar (bir kaç saniye) bekletildi. Her örnek gözesine 4 µl örnek sıvısı uygulandı. Standart olarak kullanılan Şam-1 (C1) ve Şam-3 (C3) buğday örnekleri ilk ve son gözelere yerleştirildi. Aradaki gözelere popülasyonlara ait örnekler kondu.

2.2.2.5. Elektroforez aleti

Glutenin elektroforez işleminde gliadin analizinde kullanılan aletler kullanıldı (Bölüm 2.2.1.5.)

2.2.2.6. Elektroforez işlemi

Elektroforez işlemine başlamadan önce aletin alt tankı elektrot tampon çözeltisi (Bölüm 2.2.2.1. çöz. F) ile doldurularak sistem soğutucuya bağlandı. Ortam sıcaklığı 12 °C' ye ulaşınca jel kalıpları alete yerleştirildi. Üst tanka aynı çözeltiden eklendi.

Elektroforez işlemi her jel için 25 mA sabit akım uygulanarak yapıldı. 12 -15 °C'lik ortam sıcaklığında yaklaşık 2,5 saat sürdü. İşleme pembe renkli bandlar jelin alt kısmına 0.5 cm mesafeye gelinceye kadar devam edildi.

2.2.2.7. Jellerin boyanması

Elektroforez işleminden sonra jeller, bölüm 2.2.1.7.' de açıklandığı gibi boyama işlemine alındı.

2.2.2.8. Jellerin görüntülenmesi

SDS-PAGE jellerinin görüntülenmesi A-PAGE jelleri gibi yapıldı (Bölüm 2.2.1.8.).

2.2.2.9. Jellerin değerlendirilmesi

Glutenin band desenlerinin bulunduğu jeller fotoğraflandıktan sonra değerlendirme bu fotoğraflar üzerinden çıplak gözle yapıldı.

2.2.3. İzoelektrik odaklama analizi (IEF)

Bu çalışmada Endopeptidaz-1 (Ep-1), Aminopeptidaz-1 (Amp-1), Aminopeptidaz-2 (Amp-2) izoenzimleri IEF yöntemi kullanılarak analiz edildi.. Ep-1 için Koebner et al. (1988) Amp 1-2 için ise Koebner and Martin' in (1989) yöntemleri endi.

Bu sistemler, işlem basamak. (boya çözelti n hazırlanması da) bir farklılık olmadığı için birlikte anlatılmıştır.

2.2.3.1. Örneklerin hazırlanması

Buğday danesindeki izoenzimleri ortaya çıkarmak için her buğday tanesinin endosperm veya embriyo kısmı ayrıldı. Bu kısımlardan hangisi kullanılacaksa ependorf tüpüne alındı. Dövülerek un haline getirilen embriyo (veya endosperm) üzerine 20 µl saf su (standartlar için bu miktar 60 µl) ilave edilerek tüpler karıştırıcı ile 10 dakika ara ile dört kez karıştırıldı. Bu işlemden sonra 30 dakika oda sıcaklığında (20°C) bekletilen örnekler hemen kullanıldı.

2.2.3.2. IEF elektroforez çözeltileri

A- Akrilamid / N.N.- metilen bisakrilamid Çözeltisi

Jel çözeltisi bileşenlerinden olan bu çözeltiyi hazırlamak için: 4,83 g akrilamid ve 0,17 g N.N.- metilen bisakrilamid 7500 µl saf suda çözündürüldü. Çözelti stok olarak hazırlanıp +4 °C saklandı.

B- Yapıştırıcı Çözelti

Jelin cama yapışmasını sağlamak için hazırlanan çözelti 10 µl dimetildiklorasilin ile 9990 µl kloroform karıştırılarak elde edildi. Stok olarak hazırlanıp oda sıcaklığında (20°C) saklandı.

C- İtici Çözelti

Jelin jel kalıbına yapışmaması ve cama doğru itilmesini sağlayan bir çözeltidir. 200µl dimetildiklorasilin ile 9800 µl 1,1,1 trikloroetan ile hazırlandı. Stok olarak hazırlanıp oda sıcaklığında (20°C) saklandı.

D- Boya Çözeltisi

IEF'den sonra, jel üzerinde izoenzimlerin meydana getirdiği band desenlerinin görülmesi için hazırlanmaktadır. Boya çözeltisi için: 4,744 g trizma maleate, 200 ml saf suda çözöldü. Çözeltinin pH'sı sodyum hidroksit kullanılarak 5.8'e ayarlandı. 0,2 g fast black K salt 1000 µl N.N. dimetilfomamid içinde çözölerek çözeltiye ilave edildi.

İzoenzimlerin farklı substratlara sahip olmalarından dolayı boya çözeltisine Ep-1 için 0,1 gr Nα Benzol -DL- Arginin β Naftalamid (BANA) , Amp-1 için 0,1 gr lösin β Naftalamid, Amp-2 için ise 0,1 gr lisin β Naftalamid 1000 µl N.N. dimetilfomamid içinde çözölerek çözeltiye ilave edildi. Boya çözeltisi kurutma kağıdından süzölerek hazır hale getirildi ve her jel için yeniden hazırlandı.

2.2.3.3. Jellerin hazırlanması

İzoenzim analizinde poliakrilamid jel ortam olarak kullanıldı. Jeli hazırlamak için: 3000 µl akrilamid-N.N.-metilen bisakrilamid çözeltisi (Bölüm 2.2.3.2. çöz. A), 19 500 µl % 16'lık gliserol, 30 µl TEMED , 0,33 ml pH=2,5-5,0 ve 0,99 ml pH=4,2-4,9 amfolitleri kullanıldı. Bu karışım 10-15 dakika süreyle vakumlanarak gazı giderildi. Her jel için taze hazırlanan % 1'lik APS çözeltisinden 840 µl eklendi. APS çözeltisi eklendikten sonra jel kalıbına dököldü.

Kalıbın hazırlanması: 0,4 mm kalınlığında jel verebilen jel kalıba itici çözelti (Bölüm 2.2.3.2. çöz. C) 12,5 cm x 36 cm boyutlarındaki cama ise

yapıştırıcı çözelti (Bölüm 2.2.3.2. çöz. B) sürüldü. Hazırlanan jel çözeltisi bir pipet yardımıyla kalıp ile cam arasına döküldü. Jeller polimerleştikten sonra (yaklaşık 45 dakika) cam kaldırılarak kalıptan ayrıldı. Cama yapışık olan jel ön koşma işlemine alındı.

2.2.3.4. Elektroforez aleti

Analizlerin yapılmasında Bio-Rad marka Power PAC 3000 model güç kaynağı ile Bio-Rad marka Bio-Phoresis TM Horizontal Elektrophoresis model elektroforez aleti kullanıldı. Alet 12,5 cm x 36 cm boyutlarında tek jel verebilen yatay düzeneğe sahiptir.

2.2.3.5. Ön koşma

Jel üzerinde elektrik alan oluşturan ön koşma işlemine başlamadan önce sistem soğutucuya bağlanarak ortam sıcaklığı +4 °C'ye ayarlandı. Jel uzunluğunda ve 0,5 cm eninde 3 MM kromotograf kağıtları elektrot solüsyonları ile ıslatılarak jelin anot ve katot kutbuna yerleştirildi. Jelin anot kutbuna gelen kısmı için 0,05 M'lık asetik asit, katot kutbuna gelen kısmı için ise 1 M'lık glisin kullanıldı.

Ön koşma işlemi için güç kaynağına 1000 Volt / saat ve her 1cm jel genişliği için 1 W'lık değerler girilerek başlandı. Güç kaynağında 500 Volt / saat değeri okununca sistem kapatıldı. Böylece ön koşma işlemi tamamlandı. Jel üzerindeki şeritler, jel bozulmadan alınarak örneklerin yerleştirilmesine hazır hale getirildi.

2.2.3.6. Örneklerin yerleştirilmesi

Örneklerin konulması için 0,5cm x 1cm boyutlarındaki 3 MM kromotograf kağıtları jelin katot kutbuna gelen kısmına eşit aralıklarla jele paralel olarak yerleştirildi. Her örnekten mikropipet yardımıyla 15 µl alınarak kağıt üzerine uygulandı. Standart olarak Bezostaya-1 ve Gerek 79 buğday örnekleri kullanıldı.

2.2.3.7. Elektroforez işlemi

İşlem sırasında ortam sıcaklığı +4 °C'de tutuldu. Güç kaynağına 1334 Volt / saat ve her 1cm jel genişliği için 1W'lık değer girildi. Elektroforez işlemi yaklaşık bir saat sürdü.

2.2.3.8. Jellerin boyanması

Elektroforez işleminden sonra cam üzerindeki jeller boya çözeltisi (Bölüm 2.2.3.2. çöz. D) bulunan boyama kaplarına konuldu. Bir gün süreyle boyada bekletilen jeller, çeşme suyu ile yıkanarak kurumaya bırakıldı.

2.2.3.9. Jellerin görüntülenmesi

İzoenzim band desenlerinin görüntülenmesi için jelin bulunduğu cam beyaz ışık kaynağının üstüne yerleştirilerek fotoğrafları çekildi.

2.2.3.10. Jellerin değerlendirilmesi

İzoenzim band desenlerinin değerlendirilmesi çıplak gözle hem kurutulan jeller hem de çekilen fotoğraflar üzerinden yapıldı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

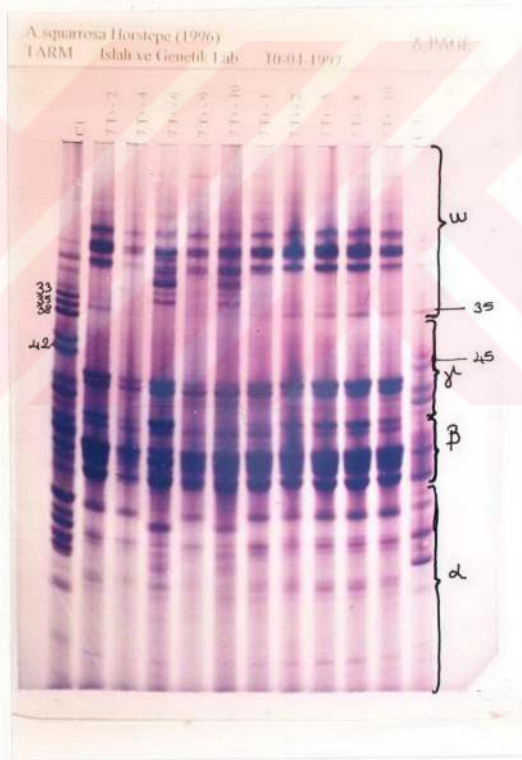
Bu çalışmada ele alınan *Ae. squarrosa*, *Ae. speltoides* spel., *Ae. speltoides* lig. ve *T. dicoccoides* populasyonlarına ilişkin *Gli*, *Glu*, *Ep-1*, *Amp-1*, *Amp-2* analiz sonuçları aşağıda sunulmuştur.

3.1. *Ae. squarrosa* Populasyonları (Horstepe 7. ve Gökçayır 8. Populasyonları)

Gliadin analiz sonuçları: *Ae. squarrosa* populasyonlarında yapılan gliadin elektroforez sonuçlarına göre; 7. populasyondan alınan 37 örnekte farklı band desenlerinin meydana geldiği görülmüştür. Temel farklılıklar *Gli-D1* geninin oluşturduğu ω -gliadin bölgesinde olup bu bölgede 5 ayrı desen tesbit edilmiştir. Bazı örneklerde ise ω -gliadin bölgesi band desenleri 5 farklı desenden biri ile benzer olmasına rağmen, α -gliadin ve β -gliadin bölgelerindeki band desenlerinin farklı olmasıyla birbirlerinden ayrıldıklarından 7. populasyonda 6 farklı desen oluştuğu görülmüştür (Şekil 3.1).

ω -gliadin bölgesindeki 33, 35, 38 tripletinin oluşmadığı gözlenmiştir. Fakat örneklerin bazılarında 33 nolu bazılarında ise 35 nolu bandlara ayrı ayrı rastlanmıştır. Bu bölgedeki asıl farklılıklar tripletin üstündeki kısımda oluşan farklı sayıdaki bandlardan kaynaklanmaktadır. γ -gliadin bölgesinde ise 2 ayrı band deseni göze çarpmaktadır. Band desenleri arasındaki farklılık 42,45 nolu bandların hemen altına rastlayan bölgededir. Bu bölgede farklı desenlerden birinde 2'li, diğerinde 3'lü band vardır. Ayrıca örneklerde 42 ve 45 nolu bandların oluşmadığı gözlenmiştir. γ -gliadin bölgesinde, 3'lü band desenine sahip örnekler β -gliadin bölgesinde de farklılık göstermektedir. Bu farklılık mobiliteleri 55 ve 57 olan iki

bandın birlikte bazı örneklerde görülmesine karşın, bazılarında sadece 57 mobiliteli band görülmektedir. Sadece 57, mobiliteli banda sahip örneklerde bu bandın altında diğerlerinde olmayan 59 mobiliteli bir bandın meydana geldiği gözlenmiştir. α -gliadin bölgesinde de 2 farklı tip band deseninin olduğu görülmüştür. Band desenlerinden birinde oluşan ilk bandın mobilitesi 76 iken diğerinde ilk oluşan band 78 mobiliteye sahiptir ve bu desende daha fazla sayıda band vardır.



Şekil 3.1. *Ae. squarrosa*'nın 7. popülasyonundaki gliadin band desenleri.

8. popülasyondan 4 örnek alınarak yapılan analizde ise 3 farklı band deseninin oluştuğu görülmüştür (Şekil 3.2.). Bu üç desen arasındaki temel farklılık β -gliadin bölgesindedir. Bu bölgede gözlenen üçlü kalın bandın üstünde 1. desende 54 mobiliteli bir band bulunurken, 2. desende bu mobiliteye sahip band yoktur. 3. desende ise 54 mobiliteli bandın hizasında 2'li bir bandın olduğu görülmüştür. ω -gliadin, γ -gliadin ve α -gliadin bölgelerine bakıldığında; 4 örnekten 2'sinin aynı desene sahip olduğu görülmüştür. Diğer 2 örnekte ise; daha fazla sayıda bandın meydana gelmesinden kaynaklanan farklı bir desenin olduğu gözlenmiştir.



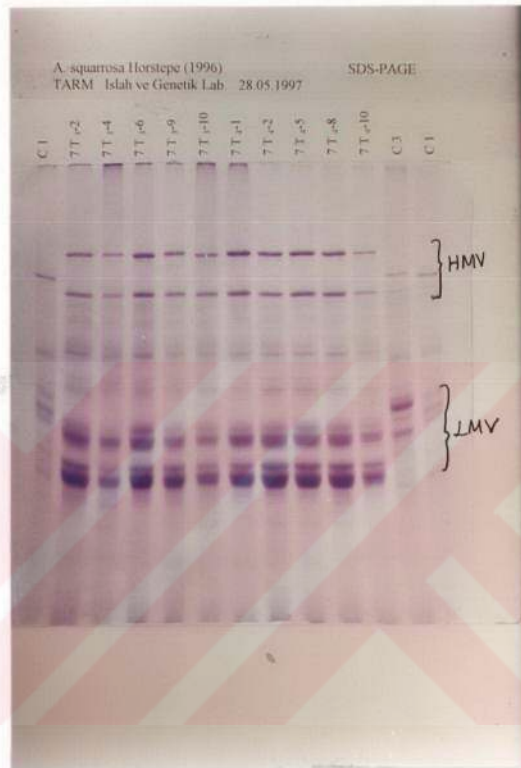
Şekil 3.2. *Ae. squarrosa*'nın 8. popülasyonu ile *T. dicoccoides*'in 21. popülasyonundaki gliadin band desenleri.

Sekizinci populasyonda da 7. populasyon gibi 33,35,38. tribleti ile 42,45 nolu bandlara rastlanmazken, 59 mobiliteli bandın 4 örnekte de olduğu görülmüştür.

Ae. squarrosa'nın 7. ve 8. populasyonların her ikisinde de populasyon içi zengin varyasyonlar olduğu gözlenmiştir. Populasyonlar arasında ise; örnek sayılarındaki orantısızlığa rağmen, varyasyon olduğu söylenebilir. Çünkü 8. populasyonda α -gliadin bölgesinde gözlenen 2 farklı band deseni 7. populasyondan alınan 37 örnekten hiç birinde gözlenmemiş ve örneklerin bu 2 band deseninden farklı desenler oluşturduğu görülmüştür. β -gliadin bölgesinde de farklılıklar mevcuttur. γ -gliadin bölgesinde ise iki populasyon arasında bir farklılık yoktur. Sadece ω -gliadin bölgesi de varyasyon gözlenmemiştir. Çünkü 7. populasyonda görülen 5 desenden ikisi 8. populasyonda da vardır. 8. populasyondan daha fazla sayıda örneği analiz etmek mümkün olsaydı, diğer 3 desenin de görülme ihtimali olabilirdi.

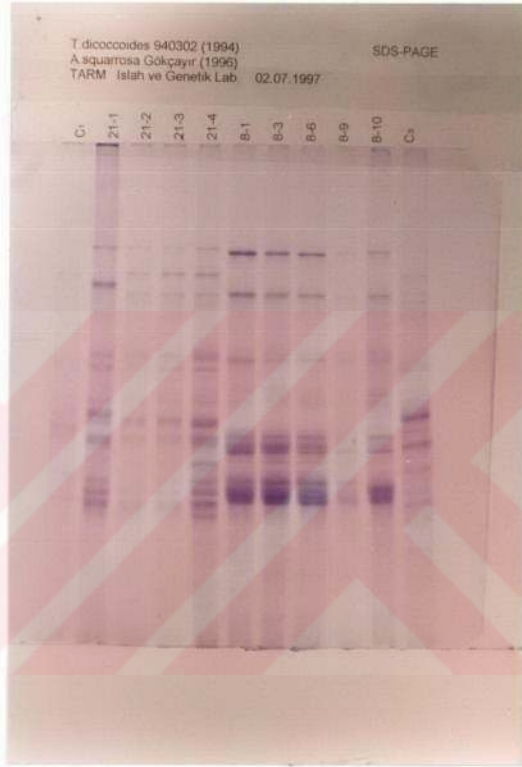
Glutenin analiz sonuçları: Glutenin elektroforez sonuçlarına baktığımızda 7. ve 8. populasyonlara ait örneklerde gluteninin *HMW* alt ünitesinde 2 + 10 alt ünitesi bulunmaktadır. *LMW* glutenin alt ünitesinde ise; 7. populasyonda genel olarak *LMWG-2* alt ünitesine rastlanırken, bazı örneklerde *LMWG-1* olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 3.3). 8. populasyona ait örneklerin tümünde ise; *LMWG-2* alt ünitesinin oluştuğu görülmüştür (Şekil 3.4).

HMW glutenin alt ünitesinde her iki populasyonda da populasyon içinde varyasyon yoktur. *LMW* glutenin alt ünitesinde ise; 7. populasyonda populasyon içi varyasyonlar mevcutken, 8. populasyonda varyasyona rastlanmamıştır. İki populasyon arasında *LMW* alt ünitesinde varyasyon varken, *HMW* alt ünitesinde populasyonlar arasında bir farklılık yoktur.



Şekil 3.3. *Ae. squarrosa*'nın 7. populasyonundaki glutenin band desenleri.

Ae. squarrosa populasyonlarında gliadinde yüksek oranda varyasyon varken, gluteninde sadece LMW alt ünitesinde 7. populasyonda varyasyona rastlanmıştır. HMW glutenin alt ünitesinde ise varyasyon yoktur. Gliadin ve glutenin bakımından ele alınan örnekler, ekmek yapım kalitesinde yüksek kalite işaretleyici olarak kullanılan gliadin 35, gliadin 59 bandlarına ve LMWG-2 alt ünitesine sahiptir. Bu nedenle ıslah çalışmaları için değerli bir potansiyel oluşturmaktadır.



Şekil 3.4. *Ae. squarrosa*'nın 8. popülasyonu ile *T. dicoccoides*'in 21. popülasyonundaki glutenin band desenleri.

Endopeptidaz-1 analiz sonuçları: Yedinci popülasyondan alınan 74 örneğin endospermiyle yapılan analizden elde edilen sonuçlarda; *D* genomunun 7. kromozomunun uzun kolu üzerinde olduğu bilinen *Ep-D1* geni

tarafından 2 farklı band deseni oluşturulduğu gözlenmiştir. Birinci band deseni 2 bandeden, ikinci band deseni ise tek bandeden oluşmaktadır.

8. popülasyona ait 10 örnekten alınan sonuçlar da aynıdır. Aynı zamanda her iki popülasyonda da bazı örneklerde hiç band oluşmadığı görülmüştür.

Bu sonuçlara dayanılarak, çalışılan popülasyonlar içinde *Ae. squarrosa*'da *Ep-1* izoenzimi açısından popülasyon içi varyasyonun oldukça yüksek olduğu, buna karşın, iki *Ae. squarrosa* popülasyonunun birbirinden farklı olmadıkları görülmüştür.

Amino peptidaz-1 analiz sonuçları: *Ae. squarrosa* popülasyonlarının ikisinde de *Amp-D1* geninin tek bir band deseni oluşturduğu ve bunun da bir bandeden meydana geldiği görülmüştür.

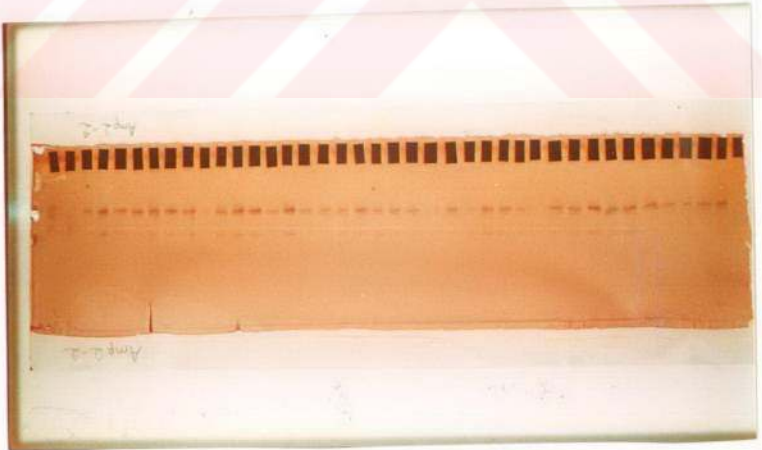


Şekil 3.5. 7. popülasyonda *Amp-D1* geninin oluşturduğu band desenleri.

Fakat 7. populasyonda, bu band desenine sahip örneklerde, band mobilitelerinin farklı olmasından kaynaklanan bir değişiklik tesbit edilmiştir. 8. populasyonda ise, tek band deseninin yanı sıra bazı örneklerde hiç band oluşmadığı gözlenmiştir.

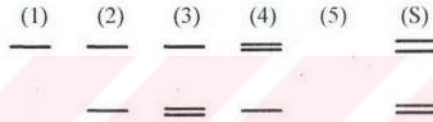
İki populasyon arasında *Amp-1* izoenzimi açısından bir farklılık olduğu görülmüştür. Bu farklılık 7. populasyondaki band deseninde gözlenen değişiklikten ve 8. populasyonda bazı örneklerde band görülmemesinden kaynaklanmaktadır. Her iki populasyonda da populasyon içi varyasyon olduğu gibi iki populasyon arasında da varyasyon vardır.

Aminopeptidaz-2 analiz sonuçları: Yedinci populasyonda 4. kromozomun uzun kolunda yer aldığı bilinen *Amp-D2* geni 2 ayrı band deseni meydana getirmiştir. Bu band desenlerinin birincisinde 2 band, ikincisinde 1 band vardır. 74 örnekten sadece 2 tanesinde band oluşmamıştır (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6. 7. populasyonda *Amp-D2* geninin oluşturduğu band desenleri.

Sekizinci populasyonda ise, dört farklı band deseni olduğu görülmüştür. Band desenlerinden ikisi, 7. populasyonda gözlenen tekli ve ikili bandlardan meydana gelmektedir. Üçüncü ve dördüncü band desenlerinde üç band vardır. Bu iki band deseni arasındaki fark ise, ikili band kısımlarının birinde aşağıda diğeri ise, bu kısmın yukarıda oluşmasıdır (Şekil 3.7.). Sekiz örnekten birinde ise band yoktur.



Şekil 3.7. 8. populasyonda *Amp-D2* geninin oluşturduğu band desenleri (1,2,3,4,5). S; Bezostaya-1.

Sonuç olarak, *Amp-2* izoenzimi bakımından *Ae. squarrosa* populasyonların ikisinde de populasyon içi varyasyon yanında iki populasyon arasında da varyasyon mevcuttur. Özellikle 8. populasyonda gözlenen varyasyon oranı oldukça yüksektir. Populasyonlar arasındaki varyasyon sekizinci populasyonda rastlanan üçlü band desenlerinden kaynaklanmaktadır. Bu iki populasyon için dikkati çeken bir nokta da çok az sayıda örnekte band oluşmamasıdır.

Çalışılan izoenzimlerin *Ae. squarrosa* populasyonlarındaki polimorfizm dereceleri şöyledir: *Amp-2* > *Amp-1* > *Ip-1*. İzoenzim analizlerinde, bazı örneklerde hiç band oluşmaması daha önce de rapor edilmiştir. Bunlar null fenotip olarak adlandırılmaktadır (Koebner et al., 1988; William et al., 1993). Böyle bir durumun oluşması için iki neden olduğu ileri sürülmektedir. Biri genin bulunmaması, diğeri ise genin var olmasına karşın sessiz kalması (ürün oluşturmaması) ihtimalidir (Koebner et al., 1988).

3.2. *Ae. speltoides spel. Populasyonları* (Gürgürhaba 3. ve Beyazkule 4. Populasyonları)

Gliadin analiz sonuçları: Üçüncü populasyondan alınan 7 örnek ve 4. populasyondan alınan 5 örnek ile yapılan gliadin analiz sonuçlarında her örnekte birbirinden farklı band desenleri olduğu ve band desenlerindeki farklılıkların tüm bölgelerde olduğu gözlenmiştir. 3. populasyonda 3 örnekte, 4. populasyonda ise 2 örnekte, 42 nolu band vardır. 58 nolu bandın ise her iki populasyonda da ikişer örnekte olduğu görülmüştür. 59 nolu band 3. populasyonda 3 örnekte gözlenirken, 4. populasyonda ise sadece 1 örnekte vardır.

Ae. speltoides spel. populasyonlarında populasyon içinde zengin varyasyon gözleendiği gibi, iki populasyon arasında da geniş varyasyon gözlenmiştir.

Glutenin analiz sonuçları: Gliadinde olduğu gibi glutenin elektroforez analizlerinde de, her örnekte *HMW*, *LMW* alt ünitelerinde farklı bir band deseninin meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 3.8.). Bunun sonucunda da, her iki populasyonda populasyon içi zengin varyasyon mevcuttur. İki populasyon arasında da populasyon içinde olduğu gibi zengin varyasyon vardır.

Endopeptidaz-1 analiz sonuçları: *Ae. speltoides spel.*'e ait 3. populasyonundan 15 ve 4. populasyonundan 10 örnek alınarak yapılan analizlerde elde edilen sonuçlara göre, *B* genomunun 7. kromozomdaki *Ep-B1* geninin farklı band desenleri oluşturduğu gözlenmiştir. İki farklı band deseninden birinde iki band diğ erinde tek band olduğu ve bazı örneklerde de band oluşmadığı görülmüştür.

Ae. speltoides spel.'in her iki popülasyonunda da popülasyonlar içindeki yüksek varyasyona rağmen, iki popülasyon arasında *Ep-1* izoenziminin oluşturduğu band desenleri bakımından bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 3.8. *Ae. speltoides* spel.'in 3. ve 4. popülasyonlarındaki glutenin band desenleri.

Aminopeptidaz-1 analiz sonuçları: Her iki popülasyondan alınan örneklerde, *Amp-1* izoenzimini kodlayan *Amp-B1* geninin tek tip band deseni oluşturduğu ve bununda tek bandlı olduğu görülmüştür. Tüm örneklerde bu band deseni

görüldüğünden popülasyonlar içinde ve iki popülasyon arasında varyasyon yoktur sonucuna varılmıştır.

Aminopeptidaz-2 analiz sonuçlar: 3. popülasyonda 15 örnekle yapılan analizde, *B* genomunun 4. kromozomunun kısa kolunda bulunan *Amp-B2* geninin, 3 bandeden oluşan tek tip band deseni meydana getirdiği ya da band oluşturmadığı gözlenmiştir.

4. popülasyona ait 10 örnekten elde edilen sonuçlar göre ise; 3 ayrı band deseninin mevcut olduğu söylenebilir. Birinci band deseninin iki bandeden, ikinci ve üçüncü band desenlerinin üç band oluştuğu görülmüştür. Şekil 3.9. da görüldüğü gibi ikinci ve üçüncü band desenleri arasındaki farklılık, bandların sahip olduğu mobilite farkından kaynaklanmaktadır.



Şekil 3.9. 4. popülasyonda *Amp-B2* geninin oluşturduğu band desenleri (1,2,3). S: Bezostaya-1

Her iki popülasyonda da varyasyon olduğu tesbit edilmiştir. Dördüncü popülasyondaki varyasyon oranı daha yüksektir. Popülasyon içi varyasyonun yanı sıra 4. popülasyondaki, iki bandeden oluşan band deseni ile üç bandlı desendeki mobilite farkının neden olduğu değişiklik ve 3. popülasyonda bazı örneklerde band oluşmaması, iki popülasyon arasında da bir farklılık oluşmasına neden olmuştur. Sonuç olarak popülasyonlar arasındaki varyasyon oranının yüksek olduğu gözlenmiştir.

Ae. speltoides spel. populasyonlarında hem gliadin hem de glutenin için oldukça yüksek oranda genetik çeşitlilik tesbit edilmiştir. İzeenzimlerde gözlenen polimorfizm derecesi ise *Amp-2* > *Ep-1* > *Amp-1* şeklindedir.

3.3. *Ae. speltoides* lig. Populasyonları (Beyazkule 5. ve Saraççeşme 10. Populasyonları)

Gliadin analiz sonuçları: *Ae. speltoides* lig.'ya ait 5. ve 10. populasyonlardan 5'er örnek alınarak yapılan analizlerde de *Ae. speltoides* spel. populasyonlarından elde edilen sonuçlarla paralel sonuçlar elde edilmiştir. Gliadinin dört bölgesinde de farklı band desenlerinin olduğu ve 5. populasyonda 3, 10. populasyonda da 2 örnekte 42 nolu bandın olduğu gözlenmiştir. 5. ve 10. populasyonlarda birer örnekte 58 ve 59 nolu bandlara rastlanmıştır.

Ae. speltoides lig.'nın iki populasyonunda da populasyon içinde zengin varyasyon gözlenmiştir. İki populasyon arasında da geniş çeşitlilik mevcuttur.

Glutenin analiz sonuçları: Glutenin analizleri sonucunda da populasyonlardan alınan örneklerde, *HMW* ve *LMW* glutenin alt ünitesinde farklı band desenlerinin olduğu görülmüştür. Her iki populasyonda populasyon içinde gözlenen geniş varyasyon gibi, populasyonlar arasında da yüksek varyasyona rastlanmaktadır.

Endopeptidaz-1 analiz sonuçları: *Ae. speltoides* lig.'nın iki populasyonundan 10'ar örnek alınarak yapılan analizde, her iki populasyonda da iki ayrı band deseni olduğu ve bazı örneklerde band meydana gelmediği gözlenmiştir. İki ayrı band deseninin birinde iki band diğerinde tek band olduğu görülmüştür.

Populasyonlar içindeki yüksek varyasyon oranına rağmen, iki *Ae.speltoides* lig. populasyonu arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

Aminopeptidaz-1 analiz sonuçları: *Ae. speltoides* lig.'nın 5. ve 10. populasyonlarının ikisinde de tek bir band deseni meydana gelmiştir. Bu band deseninde bir band vardır. Fakat 10. populasyondaki bazı örneklerde band olmadığı gözlenmiştir.

Amp-1 izoenzimi açısından 5. populasyonda varyasyon olmamasına rağmen 10. populasyondaki bazı örneklerde band oluşmaması bu populasyonda hem populasyon içi varyasyonun ve hem de iki populasyon arası varyasyonun varlığına işaret etmektedir.

Aminopeptidaz-2 analiz sonuçları: *Amp-2* izoenzimi için yapılan analizde, jel üzerinde bandların oluştuğu görülmüştür. Fakat band desenleri tam olarak tesbit edilemediğinden denemeler tekrarlanmıştır. Denemelerde, diğer türlere ait örneklerde *Ae. speltoides* lig. ile aynı jel üzerinde yürütülmüştür. Analiz sonucunda diğer türlere ait örneklerde net band desenleri oluşurken, *Ae. speltoides* lig.' ya ait örneklerde ise varyasyon tesbiti için yeterli netlikte bandlar oluşmamaktadır.

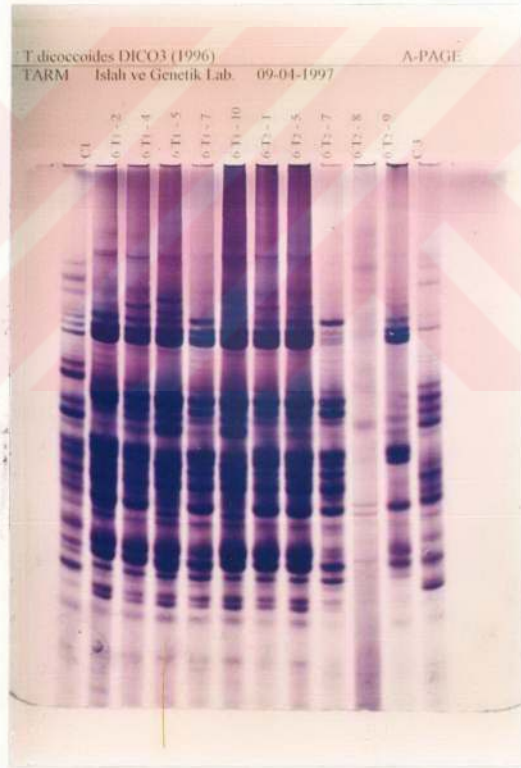
Ae. speltoides lig. populasyonlarında da gliadin ve gluteninin için zengin varyasyonlar vardır. İzoenzimler arasında *Ep-1*'de gözlenen varyasyon derecesi *Amp-1*'de gözlenene göre daha yüksektir. *Amp-2* için yapılan analizler de sonuç elde edilemediğinden karşılaştırma imkanımız yoktur. Bazı örneklerde görülen band oluşmamasının nedeni *Ae. squarrosa*'da da açıklandığı gibi genlerin bulunmaması veya sessiz kalması sonucudur.

Ae. speltoides alt türlerinde (*Ae.speltoides* spel.; *Ae. speltoides* lig.) bazı örneklerde gliadin 42, 58 bandlarına rastlanmıştır. Bunlar düşük kalite işaretleyicileri olarak kabul edilmektedir. Fakat bunun yanında bazı örneklerde yüksek kaliteyi gösteren işaretleyici gliadin 59 bandı mevcuttur. Proteinler bakımından diğer türlere göre daha zengin varyasyonlar görülmektedir. Bunun nedeni; bu türlerde görülen yabancı döllenme yetenekleri olabilir. Bu türler yabancı döllendikleri için heterozigotluk oranı yüksektir. Bu nedenle daha sağlıklı sonuçlar elde etmek için bu türleri uzun dönemli analizlerden geçirmek gerekmektedir.

3.4. *T. dicoccoides* Populasyonları (Gürgürbaba 6. ve 21. Populasyonları)

Gliadin analiz sonuçları: *A* ve *B* genomlarına sahip tetraploid bir buğday olan *T. dicoccoides*'in 6. populasyonu ile yapılan gliadin elektroforez sonuçlarında 8 örnekte 4 farklı band deseninin meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 3.10.). Band desenleri arasındaki ana farklılıklar ω ve β -gliadin bölgelerinde olup γ ve α -gliadin bölgelerindeki farklılıklar daha azdır. ω -gliadin bölgesindeki rastlanan band desenlerinden birincisinde 3 belirgin band, ikincisinde 4 belirgin band varken üçüncü desende 5 belirgin band mevcuttur. Bu bandlar oldukça koyu renge sahiptirler ve son iki band kaynaşmış durumdadır. Dördüncü desenin farkı ise bir bandı belirginken diğerlerinin açık renkte olmasıdır. Ayrıca diğerlerinde kaynaşmış görünen ikili band bu desende net olarak birbirlerinden ayrı gözükmetedir. γ -gliadin bölgesinde, band yoğunluklarından kaynaklanan farklılıklar olduğu görülmüştür. β -gliadin bölgesinde ise 3 farklı desen vardır. ω -gliadin bölgesi değişik olan iki tip bu bölgede aynı band desenine sahiptir. 3 desen arasındaki değişiklik; bir örnekte 72 mobiliteli bandın altında ince bir band oluşmuşken, diğer iki desende bu bandın oluşmamasıdır. Diğer iki desen arasındaki farklılık ise; desenlerden birinde 69 mobiliteli koyu ve kalın bir banddan sonra daha az yoğunluğa ve

belirginliğe sahip bir band varken, diğer desende koyulukları aynı ve birbirine daha yakın olan iki band vardır. α -gliadin bölgesindeki farklılık, 78 mobiliteli bandın olduğu bölgededir. Bir örnekte bu kısımda ikili bir band varken diğer desende kalınca bir band vardır. Bir örnekte ise bu ikili band deseni ikili ve tekli band desenlerinin arasında gibi görülmektedir. Muhtemelen bu band ikili bir bandtır. Ancak bazı örnekler de bu bant çifti belirgin olarak ayrılmamıştır.



Şekil 3.10. *T. dicoccoides*'in 6. popülasyonundaki gliadin band desenleri.

21. popülasyondan ele alınan 3 örnekte de farklı band desenleri mevcuttur (Bkz. s.37 Şekil 3.2). γ -gliadin bölgesinde iki örnekte ince iki şerit halinde gözlenen bandlar diğer örnekte yoktur ve bu şeride sahip iki örneğin birinde β -gliadin bölgesinde 57 mobiliteli bir band varken, diğerinde ise 57 ve 59 mobiliteye sahip ikili bir band vardır.

Her iki popülasyonda da 42 nolu bandlara ve 33,35,38, tribletine rastlanmamıştır. Fakat 6. popülasyon da tripletin olduğu bölgede farklı mobilitelere sahip 3'lü kalın bandlar vardır ve 35, 45 nolu bandların oluştuğu görülmüştür. İki popülasyonda da 59 nolu band vardır.

Her iki popülasyonda da popülasyon içi varyasyon mevcuttur. 21. popülasyonda band desenleri arasındaki küçük farklılıklardan dolayı düşük oranda varyasyon olmasına rağmen, 6. popülasyonda oldukça yüksek varyasyon vardır. Popülasyonlar arasında da varyasyon mevcuttur. ω -gliadin bölgesinde 21. popülasyonda oluşan band deseni, 6. popülasyondaki band desenlerinden hiç biriyle benzeşmemektedir. Özellikle, ω -gliadinlerini sentezleyen *Gli-1* genlerinin meydana getirdiği band desenlerindeki farklılıklar, hem popülasyon içi hemde popülasyonlar arasında varyasyona neden olmuştur.

3.4.2. Glutenin analiz sonuçları: *T. dicoccoides*'in 6. popülasyonda *HMW* gluten alt ünitesinde $2 + 6 + 9$ band deseni ile $2 + 6a + 6 + 9$ band deseninin oluştuğu görülmüştür. 21. popülasyonda ise bu iki farklı band deseninden başka $2 + 7$ band deseni de mevcuttur (Bkz. s.40, Şekil 3.4.) fakat $2 + 6a + 6 + 9$ band deseninde 21. popülasyonda 6a ile 6 arasındaki mesafe 6. popülasyonda gözlenen mesafeden biraz daha fazladır. *LMW* glutenin alt ünitesinde ise, 6. popülasyonda hem *LMWG-1* hemde *LMWG-2* alt üniteleri varken, 21. popülasyonda *LMWG-1* alt ünitesi oluşmuştur.

HMW gluten alt ünitesinde her iki popülasyonda da popülasyonlar içinde ve popülasyonlar arasında varyasyon mevcuttur. *LMW* glutenin alt ünitesinde de popülasyonlar arasında varyasyon vardır. Fakat popülasyon içi varyasyona sadece 6. popülasyonda rastlanmıştır.

HMW glutenin alt ünitesinde rastladığımız 6 numaralı bandın üstünde yoğunluğu az olan ve 6a olarak numaralandırdığımız banda, incelenen literatürlerin hiç birinde rastlanmamıştır. Muhtemelen bu band, yeni bir banddır.

Tetraploid bir buğday olan *T. dicoccoides*'de, gliadinde gözlenen varyasyon derecesi gluteninde gözlenenden çok daha fazladır. Bununla birlikte *T. dicoccoides*' in her iki popülasyonunda yüksek kalite işaretleyicileri olan gliadin 35, 45, ve 59 bandları ve *LMWG-2* glutenin alt ünitesi mevcuttur. Düşük kalite işaretleyicilerinden *LMWG-1* glutenin alt ünitesine rastlanmasına rağmen, gliadin 42 bandı ile 33, 35, 38 tripletine hiçbir örnekte rastlanmamıştır. *T. dicoccoides* popülasyonları sahip oldukları zengin varyasyonlar ve yüksek kalite işaretleyicileri ile ıslah programları için iyi birer kaynaktır.

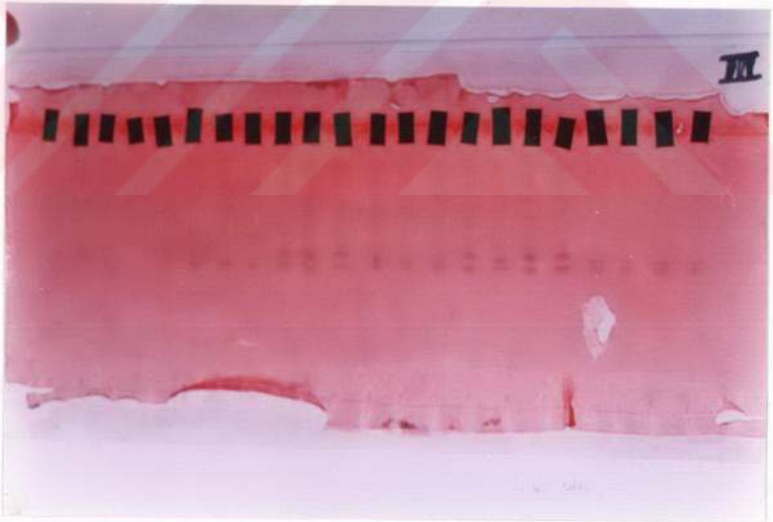
Endopeptidaz-1 analiz sonuçları : Altıncı popülasyondan alınan 14 örnekte dört farklı band deseninin oluştuğu görülmüştür. Bu band desenlerinin üçünde iki band mevcuttur. Üç band deseni arasındaki farklılık bandların farklı mobilitelerde olmalarından kaynaklanmaktadır. Dördüncü band deseninin profili ise; farklı sayıda (dört banddan) banddan oluşmasından ileri gelmektedir, (Şekil 3.11.).

21. popülasyonda 4 örnek üzerinde çalışılmış ve *Ep-1* için bir banddan oluşan desen meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 3.12.).

(1)	(2)	(3)	(4)	(S)
—	—	—	==	==
—	—	—	==	—

Şekil 3.11. 6. populasyonda *Ep-A1*, *Ep-B1* genlerinin oluşturduğu band desenleri (1,2,3,4). S: Bezostaya-1

21. populasyonda varyasyon olmamasına karşılık 6. populasyonda varyasyon oranı çok yüksektir. İki populasyon arasında band desenleri bakımından hiçbir benzerlik yoktur. Populasyonlar arasındaki varyasyon oldukça yüksektir.



Şekil 3.12. *T. dicoccoides*'in 6. ve 21. populasyonlarında *Ep-A1* ve *Ep-B1* genlerinin oluşturduğu band desenleri.

Aminopeptidaz-1 analiz sonuçları: *T. dicoccoides*'in iki popülasyonunda da aynı band deseninin olduğu görülmüştür. Bu band deseni de bir banddan meydana gelmektedir. Bu nedenle ne popülasyonlar içi ne de popülasyonlar arası varyasyon mevcuttur.

Aminopeptidaz-2 analiz sonuçları: Her iki popülasyonda *Amp-2* izoenzimi için yapılan analizlerde, 3 bandlı bir desen meydana geldiği ve tüm örneklerde bu band deseninin olduğu görülmüştür.

Amp-1'de olduğu gibi *Amp-2* açısından iki *T. dicoccoides* popülasyonunda, popülasyon içi ve popülasyonlar arası varyasyon yoktur.

İzoenzimlerden *Ep-1* izoenziminde, hem popülasyon içi hem de popülasyonlar arasında gözlenen zengin varyasyona rağmen, *Amp-1* ve *Amp-2* izoenzimleri bakımından varyasyona rastlanmamıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genetik varyasyonlar, bitki ıslahının temelini oluşturmaktadır. Varyasyon ne kadar geniş olursa, istenilen özelliklerin elde edilmesi de o oranda kolay olacaktır. Yabani türler de, sahip oldukları gen havuzları ile bu konudaki en iyi kaynağı teşkil etmektedir (Nevo, 1983).

Bu çalışmada; yabani buğday türlerinde biyokimyasal yapılar incelenerek populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyonların tesbit edilmesi amaçlanmıştır. Yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar, aşağıda verilmiştir.

Ae. squarrosa'nın 7. populasyonunda; *HMW* glutenin alt üniteleri dışında tüm sistemlerde, populasyon içi varyasyon mevcuttur. 8. populasyonda ise; gliadin ve izoenzimlerde populasyon içi varyasyon varken, gluteninin her iki alt ünitesinde de varyasyon mevcut değildir. Populasyonlar arasında ise; *Ep-1* ve *HMW* glutenin alt üniteleri hariç, diğer sistemlerde populasyonlar arası varyasyon vardır. 8. populasyonda gözlenen varyasyon zenginliği, 7. populasyonda gözlenenden daha fazladır.

Ae. speltoides spel. populasyonlarında; gliadin, glutenin, ve *Amp-2* sistemleri bakımından populasyon içi ve populasyonlar arasında varyasyon varken, *Ep-1* bakımından sadece populasyon içi varyasyon vardır. *Amp-1* izoenzimi için ise populasyonlar içi ve arasında bir varyasyon tesbit edilmemiştir. 4. populasyonda gözlenen populasyon içi varyasyon, 3. populasyonda gözlenen varyasyona göre daha zengindir.

Ae. speltoides lig. 5. ve 10. populasyonlarında, gliadin ve glutenin açısından populasyon içi ve arasında zengin varyasyon vardır. *Ep-1* için sadece populasyon içi varyasyon mevcuttur. *Amp-1* bakımından ise; 10. populasyonda

varyasyona rastlanırken 5. populasyonda varyasyon yoktur. 10. populasyondaki varyasyon 5. populasyonda gözlenen varyasyondan daha geniştir.

T. dicoccoides'e ait 6. populasyonunda ve populasyonlar arasında, *Amp-1* ve *Amp-2* sistemleri dışındaki tüm sistemlerde varyasyon vardır. 21. populasyonda ise; gliadinde ve *HMW* glutenin alt ünitesinde varyasyon varken *Ep-1* ve *LMW* glutenin alt ünitesinde bir varyasyona rastlanmamıştır. Bu nedenle; 6. populasyondaki varyasyon, 21. populasyonda gözlenenden çok daha geniştir.

Ae. squarrosa ve *T. dicoccoides* populasyonlarında; ekmek yapım kalitesinde yüksek kalite işaretleyici olarak kullanılan gliadin 35, 59 ile gliadin 45 (*T. dicoccoides*'de görüldü) bandlarının ve *LMWG-2* glutenin alt ünitesinin olduğu görülmüştür. Bu türler, kültür formlarında ekmek yapım kalitesini arttırmak için kullanılabilir.

Sonuç olarak; genelde ele alınan populasyonlarda varyasyon olduğu tesbit edilmiştir. Birçok araştırmacı da yapmış oldukları protein ve izoenzim analizlerinde, gerek kültür formlarında gerekse yabani formlarda protein ve izoenzimler açısından varyasyonun olduğunu rapor etmişlerdir.

Aegilops türlerinde α -amilaz izoenzimi ile yapılan elektroforetik analizlerde, türler arasında ve türler içinde varyasyonun olduğu Kudo et al.(1973) tarafından bildirilmiştir. 25 *Aegilops* türünde poliakrilamit jelde asit fosfataz izoenzimindeki tür içi varyasyonu belirlemek amacıyla elektroforetik analizler yapan Nakai ve Tsuji (1984) 5 türde varyasyonların olduğunu tesbit etmiştir. Bu çalışmada da *Aegilops* türleri için endopeptidaz-1, aminopeptidaz-1 ve 2'de yapılan analizlerde paralel sonuçlar elde edilmiştir.

Nakai'de (1973) esteraz ve asit fosfataz izoenzimleri ile yaptığı analizlerde; esteraz izoenzimi açısından tetraploid türlerde gözlenen varyasyonun, diploid türlerde gözlenene nazaran daha fazla olduğunu; fakat *Ae. speltoides* ve *Ae. sharonensis* diploidlerinde, oldukça yüksek varyasyona rastladığını belirtmiştir. Asit fosfataz için ise; en yüksek varyasyonun *Ae. speltoides* türünde olduğunu gözlemiştir. Bu araştırmada da Ep-1 izoenzimi bakımından en çok varyasyona, tetraploid *T. dicoccoides* türünde rastlanırken, aminopeptidaz-1 ve 2 açısından varyasyona rastlanamamıştır. Diploidlerde ise varyasyon oranı bu izoenzimler için oldukça yüksektir.

α -amilaz ile yapılan diğer bir çalışmada da yabani türlerdeki varyasyonun kültür türlerindeki varyasyona oranla daha yüksek olduğu ve en yüksek varyasyonun Kuzey Irak ve Türkiye'den toplanan türlerde olduğu rapor edilmiştir (Nishikawa et al., 1975). Furuta et al.'de (1983) *Triticum* ve *Aegilops* türlerinde β -amilaz ile yaptıkları analizlerde, yabanilerdeki varyasyonun kültür türlerine oranla daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yabanilerdeki bu varyasyon, ıslah çalışmaları için oldukça elverişli bir kaynak teşkil etmektedir. Bu çalışmada ise sadece yabani türler kullanıldığı için bir karşılaştırma yapılamamıştır. Fakat yabanilerde rastlanan varyasyon derecesi oldukça yüksektir.

İran, Afganistan ve Pakistan'dan toplanan *Ae. squarrosa*'da α -amilaz izoenziminin 7 farklı band deseni oluşturduğu gözlenmiştir (Nishikawa et al., 1980). Bu çalışmada kullanılan ve Türkiye' de yetişen *Ae. squarrosa* türünde ise; çalışılan üç izoenzimde de 3 farklı desenin meydana geldiği görülmüştür.

Nakai (1983), Anadolu'dan topladığı yabani buğdaylarda esteraz izoenzimi için yaptıkları elektroforetik analizlerde; diploid türlerde varyasyona

rastlamazken, tetraploidlerde 7 farklı desen tesbit etmiştir. Yapılan bu araştırmada ise; çalışılan üç izoenzimde de diploidler için varyasyona rastlanmıştır. *T. dicoccoides*'de sadece endopeptidaz için varyasyon gözlenmiştir. Çalışılan enzimlerin farklı olmasından dolayı, değişik netice elde edilmiş olabilir. Bu nedenle araştırmaların hep aynı izoenzimlerle yapılması yerine farklı izoenzimlerin kullanılması, değişik verilerin elde edilmesi açısından yararlı olabilir. Böylece farklı kromozomların farklı lokusları test edilmiş olacaktır.

T. dicoccoides'e ait 11 populasyonda; *HMW* gluten alt ünitelerinde *Glu-A1* ve *Glu-B1* lokusları açısından oldukça zengin varyasyonun mevcut olduğu, fakat varyasyonun bazı populasyonlarla sınırlı kaldığı Nevo and Payne'nin (1987) yapmış olduğu araştırmada ortaya konmuştur. Bu araştırmada da sadece iki populasyon analiz edilmiş ve bir populasyonda varyasyon gözlenirken diğerinde bir farklılığa rastlanmamıştır.

Lagudah and Halloran (1988), gliadin ve glutenin *HMW* alt ünitelerinde yaptıkları analizlerde; *T. tauschii* (*Ae. squarrosa*) ve *T. aestivum*'un *D* genomu arasındaki farklılıkları ortaya koymuşlardır. *T. tauschii*'de gözlenen polimorfizm derecesini $Glu-1 < Gli-2 < Gli-1$ olarak sıralamışlardır. Bu çalışmada *Ae. squarrosa* ile yapılan gliadin ve glutenin elektroforez sonuçlarında da en çok varyasyona *Gli-1*'de rastlanmıştır. Fakat *HMW* gluten alt ünitesinde analiz edilen iki populasyonda da varyasyona rastlanmamıştır.

T. tauschii'de William et al. (1993) tarafından yapılan diğer bir araştırmada da *HMW* gluten alt ünitelerinde ve gliadinde geniş çeşitliliğe rastlanmıştır. Çalıştıkları izoenzimlerden esteraz ve β -amilazda varyasyon olduğunu, glukoz-fosfatazda ise; herhangi bir varyasyonun olmadığını bildirmişlerdir. Bu

araştırmada da gliadindeki zengin varyasyonlara rağmen, *HMW* gluten alt ünitesinde varyasyona rastlanmamıştır. İzoenzimlerde ise; çalışılan üç izoenzimde de varyasyona rastlanmıştır.

Kültür formlarında rastlanan genetik erozyonun önüne geçmek ve daha verimli türler oluşturmak için, yabancı türlerde mevcut olan bu zengin varyasyon kullanılabilir. Böylece yüksek verimli, kaliteli, hastalıklara, soğuğa, kurağa ve böceklerle dayanıklı çeşitler geliştirilebilir.

Bu amaçla gerçekleştirilen Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü tarafından yürütölen “Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması Projesi” kapsamında “Buğday Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması alışması” Dünya’daki ilk pilot çalışmadır. Bu alışma sonucunda Ceylanpınar Tarım İşletmesinde önceden belirlenen ve koruma altına alınması düşünölen yerlerden toplanan örnekle varyasyon bakımından değerlendirilmiş, elde edilen bulgular ışığında Gökçayır, Saraeēme ve Gürgörbaba lokasyonlarının koruma altına alınması önerilmiştir.

Bu sonuçlar proje kapsamında Ceylanpınar Tarım İşletmelerinde yürütölen “Buğday Gen Kaynaklarının Yönetim Alanları”nın belirlenmesinde kullanılacaktır. Bu lokasyonlarda belirlenen varyasyonun ıslah çalışmalarında kullanılır hale getirilmesi için gerekli çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Asiedu, R., Kazi, A. Mujeeb and Kuile, N. ter, 1989, Marker assisted introgression of alien choromatin in to wheat, 133-144, Kazi, A. Mujeeb and Sitch L.A., *2nd Intl. Symp. on Genetic Manipulation in Crops, CIMMYT and IRRI*.
- Berkes, F. ve Kışlıoğlu, M., 1990, Ekoloji ve Çevre Bilimleri, *Remzi Kitabevi*, 234-251, İstanbul.
- Bietz, J.A. and Wall, J.S., 1972, Wheat glutenin subunits: molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, *Cereal Chem.* 49: 416-430.
- Bietz, J.A., Shepherd, K.W. and Wall, J.S., 1975, Single-kernel analysis of glutenin: use in wheat genetics and breeding, *Cereal Chem.*, 52: 513-532.
- Bietz, J.A. and Burnauf, T., 1985, Chromosomal control of wheat gliadin: analysis by reversed-phase high performance liquid chromatography, *Theor. Appl. Genet.*, 70: 599-609.
- Bushuk, W. and Zillman, R.R., 1978, Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. 1. apparatus, method and nomenclature. *Can., J. Plant Sci.*, 58: 505-515.
- Ciaffi, M., Dominski, L. and Lafiandra, D., 1997, Gliadin polymorphism in wild and cultivated einkorn wheats, *Theor. Appl. Genet.*, 94: 68-74.
- D.İ.E., 1996, 1996 yılı Türkiye'de tahıl ekili alanları ve üretimi verileri.
- D.İ.E., 1997, Tahıllar; ekili alan, üretim ve verim , 1976-1995 verileri.
- Dvorak, J., McGuire P.E., Cassidy, B., 1988, Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment lenght of repeated nucleotide sequences, *Genome*, 30: 680-689.
- FAO, 1994 yıllığı, Buğday üretimi 1986-1993 verileri, s : 657.
- Feldman, M. and Sears, E.R., 1981, The wild gene resources of wheat, *Scientific Amer.*, 244:102-112.

- Furuta, Y., Nishikawa, K., Yamada, T. and Ishimoto, M., Variation in beta-amylase isozymes in wheat, *Japanese-Journal of Genetics*, 58 (6), 641.
- Gale, M.D., Sharp, P.J., Chao, S., and Law, C.N., 1989, Application of genetic markers in cytogenetic manipulation of the wheat genomes, *Genome*, 31: 137.
- Galili, S., Galili, G. and Feldman, M., 1991, Chromosomal location of genes for Rubisco small subunit and Rubisco-binding protein in common wheat, *Theor. Appl. Genet.* 81: 98-104.
- Gill, B.S., Raupp, W.J., Sharma, H.C., et al. 1986, Resistance in *Aegilops squarrosa* to wheat leaf rust, wheat powdery mildew, greenbug and Hessian fly. *Plant Dis*, 70:553-556.
- Gill, B.S. and Raupp, W.J., 1987, Direct gene transfers from *Aegilops squarrosa* L. to hexaploid wheat, *Crop Sci.*, 27:445-450.
- Hart, G.E. and Langston, P.J., 1977, Chromosomal location and evolution of isozyme structural genes in hexaploid wheat, *Heredity*, 39: 263-267.
- Hart, G.E. and Gale, M.D., 1990, Genetic Maps: Locus Map of Complex Genome, 5th ed., (Ed. S.J. O'Brien), *Cold Spring Harbour Lab. Press*, Book 6, 28-28.
- Jackson, E.A., Holt, L.M. and Payne, P.I., 1983, Characterisation of high-molecular-weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal location of their controlling genes, *Theor. Appl. Genet.*, 66: 29-37.
- Liu, C., 1991, Biochemical Marker Genes in Hexaploid Wheat, *Triticum aestivum*, A Dissertation Submitted for The Degree of Doctor of Philosophy of The University of Cambridge, *St. Edmund's College*, Cambridge.
- Kimber, G., 1973, The relationship of the S genome diploids to polyploid wheats, *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, Univ. of Missouri, Columbia, (E.R. Sears and L.M.S. Sears, eds.) pp: 81-85.
- Kimber, G. and Feldman, M., 1987, Wild wheat: An introduction, special report 353, *College of Agriculture, Univ. of Missouri*, Colombia, USA.

- Kimber, G. and Sears E.R., 1987, Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat, Heyne E.G. (ed) Wheat and wheat improvement, *American Society of Agronomy*, Madison, Winconsin, USA, 154-164.
- Koebner, R.M.D., Miller, T.E., Snape, J.W. and Law, C.N., 1988, Wheat endopeptidase genetic control, polymorphism, intrachromosomal gene location and alien varriation, *Genome*, 30: 186-192.
- Koebner, R.M.D. and Martin, P.K., 1989, Chromosomal control of the aminopeptidases of wheat and its close relatives, *Theor. Appl. Genet.*, 59: 25-31.
- Korovaev, A.N., 1981, Characteristics of ecological and geographical groups of *T. didocum* schubl. in respect of the gliadin electrophoretic banding patterns, *Leningrad, VIR*, 114:28-30, USSR.
- Kudo, S., Furuta, Y. and Nishikava, K., 1973, Interspesific and intraspecific variation of alpha-amylase isozymes in five species of section sitopsis of *Aegilops*, *Journal of Genetics*, 48 (6), 427, Japanese.
- Kün, E., 1988, Serin İklim Tahılları, *A.Ü. Ziraat Fakiltesi Yayınları*:1032, Ders Kitabı:299, Ankara.
- Lagudah, E.S., Flood, R.G. and Halloran, G.M., 1987, Variation in high molecular weight glutenin subunits in landraces of hexaploid wheat from Afghanistan, *Euphytica*, 36 (1), 3-9.
- Lagudah, E.S. and Halloran, G.M., 1988, Phylogenetic relationships of *T. tauschii* the D genome donor to hexaploid wheat, 1. variation in HMW subunits of glutenin and gliadins, *Theor. Appl. Genet.*, 75 (4), 592-598.
- Law, C.N. and Payne, P.I., 1983, Genetical aspects of breeding for improved grain protein content and type in wheat, *J. Cereal Sci.*, 1: 79-93.
- Lawrence, G.J. and Shepherd, K.W., 1980, Variation in glutenin protein subunits of wheat, *Aust. J. Biol. Sci.*, 23: 221-233.
- Leingsiri, C., Piewluang, C. and Boyle, T.J.B., 1990, Starch gel electrophoresis of tropical trees, *A Manual Petawawa National Forestry Institute, Chalk River, Ontario*, 1-5, Canada.

- Lewontin, R.C., 1974, The genetic basis of evolutionary change, *Columbia Univ. Press*, New York.
- McIntosh, R.A., 1988, Catalogue of gene symbols for wheat, *Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium*, July 13-19.
- Metakovsky, E.V., Novoselskaya, E., Kopus, M.M., et al., 1984a, Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, *Theor. Appl. Genet.*, 67: 558-559.
- Metakovsky, E.V., Novoselskaya, E., Kopus, M.M., et al., 1984b, Genetic analysis of gliadin components in winter wheat using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.*, 69:31-37.
- Miflin, B.J. Byers, M., Field, J.M. and Faulkes, J.A., 1980, The isolation and characterisation of proteins extracted from whole milled seed, gluten and developing protein bodies of wheat, *Ann. Technol. Agric.*, 29: 133-144.
- Miller, T.E., 1987, Wheat Breeding: Its Scientific Basis, (Ed. FGH Lupton), *Chapman and Hall*, 1-28, London.
- Nakai, Y., 1973, Isozyme variations in *Aegilops* and *Triticum*, II. Esterase and acid phosphatase isozymes studied by the gel isoelectrofocusing method, *Seiken-Ziho*, 24:45-73.
- Nakai, Y., 1983, Morphological characteristics and isozyme variations of esterase in wild wheats collected from Anatolia, Turkey, *Seiken-Ziho*, 31: 1-13.
- Nakai, Y. and Tsuji, S., 1984, A polyacrylamide gel isoelectrofocusing study of acid phosphatase isozymes of *Aegilops* species with reference to their numerical taxonomy, *Seiken-Ziho*, 32:1-8.
- Nevo, E. and Payne, P.I., 1987, Wheat storage proteins: diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel, I. Geographical patterns and ecological predictability, *Theor. Appl. Genet.*, 74 (6), 827-836.
- Nevo, E., Meir, I.N., Beiles, A., et al., 1991, Natural selection of allozyme polymorphism: micro-geographical spatial and temporal ecological differentiations in wild emmer wheat, *Israel Journal of Botany*, 40: 419-449.

- Ng, P.K.W. and Bushuk, W., 1987, Glutenin of marquis wheat as a reference for estimating molecular weights of glutenin subunits by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, *Cereal Chem.*, 64: 324-327.
- Nishikawa, K., Kudo, S. and Furuta, 1975, Variation in alpha-amylase isozymes and differentiation of tetraploid wheat, *Journal of Genetics*, 50 (6), 484, Japanese.
- Ozban, N., 1988, Hücre, İstanbul Üniversitesi Yayınlarından Sayı:3499, Fen Fakültesi, No:204, *Fen Fakültesi Basımevi*, İstanbul.
- Payne, P.I., Law, C.N. and Mudd, E.E., 1980, Control by homoeologous group 1 chromosomes of the h.m.w. subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm, *Theor. Appl. Genet.* 58: 113-120.
- Payne, P.I., Holt, L.M. and Law, C.N., 1981, Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Part I: allelic variation in subunits amongst varieties of wheat, *Theor. App. Genet.* 60: 229-236.
- Payne, P.I., Holt, L.M., Thompson, R.D., et al., 1983, The HMW subunits of glutenin: classical genetics, molecular genetics and the relationship to bread making quality, *Proc. 6th International Wheat Genetics Symposium, Kyoto*, 827-843, Japan.
- Payne, P.I., Holt, .M., Jackson, E.A. and Law, C.N., 1984a, Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 304: 359-371.
- Payne, P.I., Holt, .M., Jackson, E.A. and Law, C.N., 1984b, Genetic linkage between endosperm storage protein genes on each of the short arms of chromosomes 1A and 1B in wheat, *Theor. Appl. Genet.* 67: 235-243.
- Payne, P.I., 1987, Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant Physiol*, 38: 141-153.
- Payne, P.I., Holt, L.M. Krattiger, A.F. and Carrillo, J.M., 1988, Relationship between seed quality characteristic and HMW glutenin subunits composition determined using wheat grown in Spain, *Cereal Sci.*, 7: 229-235.

- Plucknett, D.L., Smith, N.J.H., Williams, J.T. and Anishetti, N.M., 1983, Crop germplasm conservation and developing countries, *Science*, 220: 163-169.
- Pogna, N.E., Peruffo, A-dal-B., Boggini, G. and Corbellini, M., 1982, Analysis of wheat varieties by gliadin electrophoregrams II. nature, origin and quality of biotypes present in six Italian common wheat varieties, *Genetica-Agraria*, 36:143-154.
- Rogers, W.J., Rickatson, J.M., Sayers, E.J. and Law, C.N., 1990, Dosage effects of chromosomes of homoeologous in hexaploid wheat, *Theor. Appl. Genet.* 80: 281-287.
- Sontag, T. Salovaara, H. and Payne, P.I., 1986, The high molecular weight glutenin subunit compositions of wheat varieties bred in Finland, *Journal of Agricultural Science*, 58 (4), 151-156, Finland.
- Takuni, S., Nasuda, S., Liu, Y.G., Tsunewaky, K., 1993, Wheat phylogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA, 1. Einkorn wheat, *Jpn J Genet.*, 68: 73-79.
- Tanksley, S.D. and Orton, T.J., 1983, Isozymes in plant genetics and breeding, Part A, *Elsevier Sci.*, 109-138, Amsterdam.
- Vapa, L. and Hart, G.E., 1987, Genetic variation in enzyme phenotypes among Yugoslav wheat cultivars, *Plant Breeding*, 98: 273-280.
- Weeden, F. N. and Wendel, F.J., 1989, Genetics of plant isozymes, "Isozymes in plant biology", *Chapman and Hall*, 46-72., London.
- William, M.D.H.M. and Kazi, A. Mujeeb, 1994, Applications of biochemical markers in wheat wide crosses, "Utilizing wild grass biodiversity in wheat improvement", Eds: A. Mujeeb Kazi and G.P. Hettel, *CIMMYT*, 76-92.
- M., Pena, R.J. and Kazi, A.Mujeeb, 1993, Seed protein and isozyme variations in *T. tauschii* (*Ae. squorrasa*), *Theor. Appl. Genet.*, 87: 257-263.

EKLER**ÇALIŞMADA KULLANILAN KİMYASALLARIN LİSTESİ**

N,N - dimethyle formamide (C_3H_7NO)	(Sigma D-4254)
Aluminium lactate ($C_9H_{15}AlO_9$)	(Fluka 69812)
Lactik acid ($C_3H_6O_3$)	(Merck K 22331466)
Coomassie brilliant blue R-250 ($C_{45}H_{44}N_3O_7S_2Na$)	(Sigma B-0149)
Trichloroacetic acid TCA ($C_2HCl_3O_2$)	(Sigma ultra T-9159)
Ethanol (C_2H_5OH)	(Merck K 21999371 526)
Acrylamide (C_3H_5NO)	(Sigma A-9099)
N.N- methylene bisacrylamide ($C_7H_{10}N_2O_2$)	(Sigma M-2022)
L-Ascorbic acid (C Vitamini) ($C_6H_7O_6Na$)	(Sigma A- 0278)
Demir sülfat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	(Sigma F- 8263)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	(Sigma- 5881)
Trizma-Base (Tris) ($C_4H_{11}NO_3$)	(Bio-Rad 161-0716)
Hidrochloric acid (HCl).	(Merck 2500 23226314 632)
Glycine ($C_2H_5NO_2$)	(Sigma G-88-98)
Sodium dodecyl sulfate (SDS) ($C_{12}H_{25}O_4SNa$) (Lauryl Sulfate Sodium Salt)	(Merck 822052)
Pyronin Y ($C_{17}H_{19}N_2OCl$)	(Sigma P-2345)
Glycerol ($C_3H_8O_3$)	(Sigma G-5516)
2- mercaptoethanol (C_2H_6OS)	(Merck 805740)
Ammonium per sulfate (APS) ($(NH_4)_2S_2O_8$)	(Sigma A-3678)
Tetra methylethylene di amide(TEMED)($C_6H_{16}N_2$)	(Sigma T-9281)
1- butanol ($C_4H_{10}O$)	(Sigma BT-105)
Trizma maleate ($C_4H_{11}NO_3-C_4H_4O_4$)	(Sigma T-3128)
Sodyum Hidroksit (NaOH)	(Sigma S-5881)
Fast Black K salt ($C_{14}H_{12}N_5O_4 \cdot 1/2 ZnCl_4$)	(Sigma F-7253)

N α Benzoyl -DL-Arginine β Naphthylamide (C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₂ .HCl)	(Sigma B- 4750)
Leucine β Naphthylamide (C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O)	(Sigma L- 1635)
Lysine β Naphthylamide (C ₁₆ H ₂₂ N ₃ O.HCO ₃)	(Sigma L- 6259)
Acetic acid (HOAC)	(Merck 2500 K 20990956 426)
1,1,1-Trichloro-ethane (C ₂ H ₅ Cl ₃)	(Sigma T- 4678)
Chloroform (CHCl ₃)	(Sigma C- 2432)
Dimethyl dichlorosilane solisyonu	(Apligene Cat. 130371)
Methyl green (C ₂₇ H ₃₅ N ₃ BrCl.ZnCl ₂)	(Sigma M- 8884)
Sucrose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	(Sigma S- 2395)



ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Sakarya Hendek'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Akyazı'da tamamladı. 1989 yılında Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Biyoloji Anabilim Dalı'na öğrenci olarak girdi. 1994 yılında Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün açmış olduğu Yüksek Lisans Programına katılmaya hak kazandı. Ocak 1995'de Milli Eğitim Bakanlığı tarafından öğretmen olarak atandı. Halen Ankara Ostim İlköğretim Okulu'nda öğretmenlik yapmaktadır. Evli olup, İngilizce bilmektedir.