

## Tritikale (X *Triticosecale* Wittmack) Genotiplerinin ISSR-PCR Yöntemi ile Moleküler Düzeyde Tanımlanması

Demet ALTINDAL<sup>1</sup>

Nüket ALTINDAL<sup>2,\*</sup>

İlknur AKGÜN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fethiye Ali Sıtkı Mefharet Koçman Meslek Yüksekokulu, Muğla, Türkiye

<sup>2</sup> Uşak Üniversitesi, Sivaslı Meslek Yüksekokulu, Uşak, Türkiye

<sup>3</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye

\*Sorumlu yazar: E-mail: nuketaltindal@gmail.com

Geliş Tarihi (Received): 31.08.2016

Kabul Tarihi (Accepted): 02.08.2017

Bu çalışmada, ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan dört tritikale çeşidi ve dört tritikale hattı arasındaki genetik uzaklık basit (sekans) baz dizilimi arası tekrarlamalar (ISSR) metodu ile incelenerek; kullanılan 16 primerden 14'nün polimorfik bant verdiği görülmüştür. Çalışmada kullanılan genotiplerdeki ortalama polimorfizm oranı ise % 42.27 olarak belirlenmiş; ayrıca, toplamda 97 bant ve 41 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 6.9 ve polimorfik bant sayısının 2.9 olarak saptandığı, bu çalışmada kullanılan tritikale genotipleri arasındaki benzerlik oranlarının % 44-89 arasında olduğu ortaya konulmuştur. Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu (UPGMA) analizi sonucunda birbirine genetik benzerlik bakımından en uzak olan çeşitler Tacettinbey ile Tatlıcak 97, en yakınlar ise SDÜ-43 ve Tacettinbey olarak bulunmuştur. Öte yandan, gösterdikleri genetik varyasyon bakımından Karma 2000, Tacettinbey çeşidi ile SDÜ-43 hattı aynı gruba girmişlerdir. Bu çalışma ile Türkiye'de tescilli edilmiş tritikale çeşitleri arasında belirgin ve amaca uygun bir genetik varyasyonun bulunduğu ortaya konularak, çeşit adayları olabilecek potansiyele sahip hatların ıslahında, uygun metodların seçilmesi ve bu bakımdan genotipik benzerlik/farklılıkların saptanmasında ISSR-PCR yönteminin oldukça güvenilir ve yararlı bir teknik olduğu anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Tritikale, ISSR-PCR, genetik uzaklık, polimorfizm

### Molecular Characterization of Triticale Genotypes (X *Triticosecale* Wittmack) Based on ISSR-PCR

In this study, genetic distance among 4 tritikale cultivars cultivated in our country and 4 tritikale lines was examined using the inter simple sequence repeat (ISSR-PCR) method and the 14 of used 16 primers gave polymorphic bands. The average polymorphism rate in the genotypes used in the study was determined as 42.27 %; in addition, in total, 97 bands and 41 polymorphic bands were obtained. Research results showed that the average number of bands per polymorphic primer and the number of polymorphic bands was 6.9 and 2.9, respectively and the similarity ratios between the genotypes used in this study were found to be between 44-89 %. According to the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) analysis results, in terms of genetic similarity, Tacettinbey and Tatlıcak 97 varieties were the most distant, but SDÜ-43 and Tacettinbey varieties were the closest among the genotypes. On the other hand, In terms of genetic variation, Karma 2000, Tacettinbey variety and SDÜ-43 line placed in the same group. In this study, establishing to be in attendance of a genetic variation evident and accord with the aim among tritikale varieties registered in Turkey, it was understood that ISSR-PCR method was quite reliable and a beneficial technic in selecting of the appropriate methods and from this viewpoint in determining of genotypic the similarity / diversity in the breeding of the line to be the candidate variety.

**Key words:** Triticale, ISSR-PCR, genetic distance, polymorphism

#### Giriş

Dünyada yetiştirilen bitki desenleri arasında daha çok tahıl üretimi yapılmaktadır. Hayvansal gıdaların pahalı olması ve depolanmasının güçlüğü nedeniyle bitkisel gıda maddelerinin üretimi ön plana çıkmaktadır. Bitkisel gıdalar içinde tahıllar önemli bir besin kaynağı olup, tritikale de bunlar arasında önemli bir tahıl türüdür. Bitki olarak

çavdara, tane olarak buğdaya benzeyen tritikalenin verimi optimum koşullarda buğdaydan daha yüksektir. Tritikalenin kalite özellikleri henüz istenen düzeye getirilememiştir. Buğdaya göre tanesinin protein içeriği yüksek (Alp, 2009), fakat gluten miktarı ve kalitesi düşüktür (Furan ve ark., 2005). Bu nedenle ekmek yapımı için tek başına yeterli olmayıp, tanesi tahıl ürünlerine katkı olarak

tane ve yeşil ot olarak hayvan beslemede kullanılmaktadır. Ayrıca tanelerinin fosfor, mangan, demir ve bakır içeriği de oldukça yüksektir (Çiftçi ve ark., 2003). Tritikale olumsuz çevre koşullarına diğer tahıllardan daha fazla dayanıklı olduğu için, yetiştiriciliğinde girdisi az olmakta ve dolayısıyla çevreyi koruma özelliği ön plana çıkmaktadır.

Tritikale beslenme sorunlarını çözmeye alternatif bir tahıl olarak görülmektedir. Artan dünya nüfusunun yeterli ve dengeli bir şekilde beslenebilmesi için birim alandan en yüksek verimi ve kaliteyi veren genotiplerin geliştirilmesi büyük önem arz etmekte ve bu konuda çalışmalar hızlı bir şekilde devam etmektedir. Dolayısıyla sınırlı ilerlemeler, yeni çeşitlere olan talebi artırmıştır. Bu amaçla genotiplerde varyasyon oluşturulmakta ve seleksiyon yoluyla seçim yapılmakta ve kaliteli, verimli, hastalıklara ve zararlılara dayanıklı yeni çeşitler elde edilebilmektedir.

Islah çalışmalarında önemli bir rol oynayan moleküler çalışmalar içinde ISSR yöntemi DNA çalışmalarında etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem bitkilerde gizlenen varyasyonu belirlemede güvenilir ve hızlı sonuç ulaşılan araçlardan birisidir (Shufang vd., 2010).

Bitki ıslahı çalışmalarında, genetik olarak çok benzer olan bireylerin melezlemede kullanılmasını önlemek ve uzun süreli seleksiyon riskinin azaltılması ve genetik kaynakların korunması bakımından kullanılan ebeveynlerin benzerliği hakkında önceden bilgi sahibi olunması önem arz etmektedir (Sun ve ark., 2003).

Buğday x çavdar melezinin amfidiploidi olan tritikalede, morfolojik, fizyolojik karakterler ve diğer bazı özellikler ıslah kriteri olarak ele alınmaktadır. Yeni geliştirilen çeşitlerin farklılık, yeknesaklık ve durulmuş, tarımsal kriterler, verim kalite özellikleri belirlenmektedir.

Tarımsal bakımından önemli olan verim, kalite, soğuğa ve kurağa tolerans, hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi özellikler eklemeli çok genle idare edilen kantitatif karakterler olarak bilinmektedir. Kantitatif karakterler çevre şartlarından daha fazla etkilenmektedir (Şehirli ve Özgen, 1988; Bilgin, 2001).

Bitki boyu, kardeşlenme, verim ve verim unsurları, kalite, bazı hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık gibi birçok karmaşık özelliklerin (kantitatif

karakterler) ıslahında moleküler markırlar kullanılmaktadır. Moleküler markır teknikleri bitki kalıtımı ve ıslahı için, DNA düzeyinde varyasyonun belirlenmesinde, klasik ıslah metodunda seleksiyon uygulayarak başarı şansını artırmaktadır. Ayrıca, genom haritası (Souza ve ark., 2008), genetik kalıtım, gen işlevlerin belirlenmesi ve çeşitlerin genetik farklılıklarının analizi gibi genetik incelemelerde kullanılmaktadır (Souza ve ark., 2008; Mondini ve ark., 2009).

Bu çalışmada, moleküler tekniklerin kullanılması bilinen klasik ıslah çalışmalarının yanında çalışmaları hızlandırması, başarı şansını artırması ve onları daha etkin kılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte mevcut çalışma geniş bir kullanım alanı olan tritikalenin sahip olduğu çeşitliliğin ISSR-PCR yöntemi ile tespiti ve Türkiye açısından ekonomik değeri olan tritikale çeşitlerini geliştirmeye yönelik ıslah programlarına katkıda bulunmak amacıyla yapılmıştır. Tritikale hatlarının moleküler karakterizasyonunun yapılarak yeni çeşitlerin geliştirilmesinde daha etkin olarak kullanılması başarı şansını artıracaktır. Araştırmada, moleküler markır tekniği kullanılarak, 4 tritikale hattı ile Türkiye’de tescil edilmiş ve üretim programında yer alan 5 standart tritikale çeşitlerinden oluşan toplam 9 genotip arasındaki genetik çeşitlilik ISSR yöntemi ile incelenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülen tritikale araştırmaları sonucunda çeşit adayı olabilecek dört tritikale hattı (SDÜ-21, SDÜ-28, SDÜ-43, SDÜ-64) ile Türkiye’de yaygın olarak üretimi yapılan beş tritikale çeşidinden (Alper Bey, Karma 2000, Tatlıcak 97, Tacettinbey, Presto) oluşan toplam dokuz genotip materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 1).

ISSR-PCR analizi için Doyle ve Doyle (1987)’nin çalışmalarında ifade ettiği izolasyon yöntemiyle elde edilen DNA’ların miktarları spektrofotometrik olarak 260/280 nm dalga boyunda ölçülmüş, protein ve RNA kontaminasyonu olup olmadığı incelendikten sonra PCR karışımında kullanılmıştır.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan tritikale genotiplerinin pedigri ve orijinleri  
Table 1. The pedigree and origins of triticale genotypes used in the study

No	Hat	Pedigri	Orijin	İsahçı Kuruluş
1	Alper Bey	Triticale	BDUTAE	Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü
2	Karma 2000	Triticale	GKTAE	Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü.
3	Tatlıcak 97	Triticale	BDUTAE	Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü
4	Tacetinbey	-	-	Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
5	Presto	Triticale	GKTAE	Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü
6	SDÜ-21	Hare 263/Civet"S"	CIMMYT	-
7	SDÜ-28	Uron 1	CIMMYT	-
8	SDÜ-43	Urss // 3814 Misi X 27181	CIMMYT	-
9	SDÜ-64	Kiss-Urss 3310 X "S" X 23348	CIMMYT	-

PCR işleminde, her tüpte toplam 25 µl'lik optimum PCR karışımı için stok olarak 20 ng DNA, 50 mM 10X buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 mM dNTP, 20 µM primer ve 5U/ µl Taq DNA polimeraz kullanılmıştır (Altındal, 2014a). Ayrıca ISSR-PCR metodunda LOL, PHV ve UBC setlerine ait 16 adet primerden (Altındal, 2014b; Çizelge 2) tarama sonucu 14 adet primer araştırma materyalinde polimorfik bant üretmesi nedeniyle çalışmamızda kullanılmıştır. BIO-RAD Cyler Thermal marka PCR cihazında 94

°C'de 3 dakika 1 döngü, 94 °C'de 30 saniye ile 38-59 °C'de (Çizelge 2) 45 saniye, 72 °C'de 1 dakika 35 döngü, 72 °C'de 10 dakika uygulamadan sonra 4 °C sıcaklıkta program sonlandırılmıştır. PCR işlemi sonrasında çoğaltılan DNA'lar elektroforezde % 2'lik agaroz jelde (Etidium bromid içeren), 1X TBE tamponu kullanılarak 120 V da 120 dakika yürütülmüştür. Daha sonra aplike olan bantlar UV ışık altında görüntülenmiş ve fotoğrafı çekilmiştir. ISSR-PCR reaksiyonları üç kez tekrar edilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin nükleotid sekansları ve Tm dereceleri  
Table 2. Nucleotide sequences and Tm degrees of ISSR primers used in the study

No	Primer	Nükleotid sekansı (5'-3')	Tm dereceleri (°C)
1	LOL-3	(CA) <sub>6</sub> AC	41.0
2	LOL-4	(CA) <sub>6</sub> GT	41.0
3	LOL-5	(GA) <sub>6</sub> GG	44.0
4	LOL-8	(GT) <sub>6</sub> CC	44.0
5	LOL-9	(CAC) <sub>3</sub> GC	38.0
6	LOL-10	(GAG) <sub>3</sub> GC	38.0
7	PHV-4	GGC(GT) <sub>8</sub>	59.0
8	PHV-5	ACG(CA) <sub>8</sub>	57.0
9	PHV-6	CCA(CT) <sub>8</sub>	57.0
10	UBC-807	(AG) <sub>8</sub> T	50.0
11	UBC-810	(GA) <sub>8</sub> T	50.0
12	UBC-811	(GA) <sub>8</sub> C	52.0
13	UBC-812	(GA) <sub>8</sub> A	50.0
14	UBC-814	(CT) <sub>8</sub> A	54.0
15	UBC-826	(AC) <sub>8</sub> C	52.0
16	UBC-854	(CT) <sub>8</sub> RG	55.0

Jeller üzerinde gözle görülebilen ve kolaylıkla sayılabilen bantlar var ve yok (1/0) olarak kaydedilmiştir. Oluşturulan veri matrisi Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS-pc ver. 2.2) (Rohlf, 1991) programı kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca tritikale genotipleri arasındaki genetik varyasyonu incelemek amacıyla temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır.

#### Araştırma Bulguları ve Tartışma

Çalışmada kullanılan primerlerden 14 tanesi tekrarlanabilir ve güvenilir polimorfik ISSR-PCR ürünleri vermiştir. Amplifikasyon gösteren bu primerlerin bant özellikleri Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3'e göre tritikale genotiplerinde amplifikasyon gösteren 14 adet primerden toplam 97 adet bant elde edilmiştir. Amplike olan bu bantlardan 41'i polimorfik bant vermiştir. Toplam polimorfizm oranı % 42.27 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin bant özellikleri

Table 3. Band characteristics of ISSR primers used in the study

Primer	Toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı	Polimorfizm (%)
LOL-3	7	3	42.86
LOL-4	5	2	40.00
LOL-5	5	2	40.00
LOL-9	5	3	60.00
LOL-10	8	2	25.00
PHV-5	8	2	25.00
PHV-6	8	3	37.50
UBC-807	8	4	50.00
UBC-810	7	3	42.86
UBC-811	9	3	33.33
UBC-812	6	4	66.67
UBC-814	6	3	50.00
UBC-826	7	4	57.14
UBC-854	8	3	37.50
Toplam	97	41	42.27

Araştırmamızdaki sonuca benzer olarak çeltikte % 46.02 (Qian ve Hong, 2001) ve % 82.67 (Mengistu, 2011), arpada % 83.00 (Fernandez ve ark., 2002), buğdayda % 34.20 (Milad ve ark., 2011) ve mısırdaki % 72.73 (Ziarovska ve ark., 2013) oranlarında polimorfizm belirlemiştir.

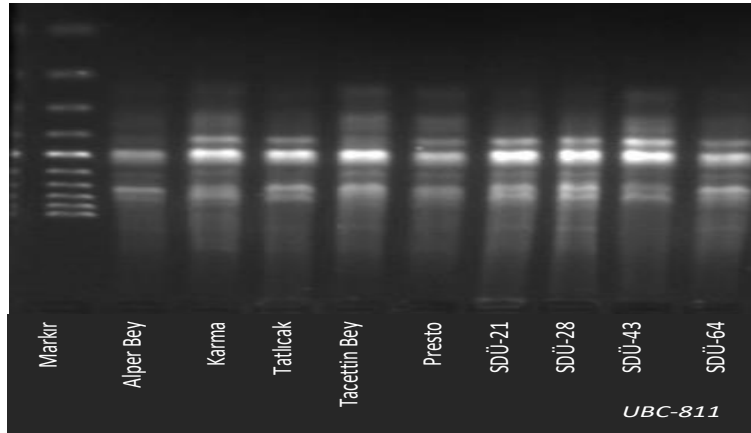
Stojalowski ve Goral (2002) tarafından yapılan bir araştırmada, 5 tritikale genotipi ile 3 tritikale çeşidinde ISSR markırlarını kullanarak genetik çeşitlilik incelenmiş, çalışmada 10 adet ISSR primerinin düşük seviyede polimorfizm gösterdiği bildirilmiştir.

Nagaoka ve Ogihara (1997), hekzaploid buğdayda 100 ISSR primeri kullanılarak yaptıkları çalışmada 350 adet bant üretildiğini belirlemiştir. Pujar ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, buğday genotiplerini 100 ISSR markırı kullanarak karakterize etmiş ve 15 ISSR primerinin toplam 134 bant ürettiği bildirilmiştir. Sofalian ve ark. (2008) 33 yerel ve 6 ekmeçlik buğday çeşidi

üzerinde yaptıkları genetik çeşitlilik analizinde 15 ISSR primeri kullanmış, çalışmalarında 106 tanesi polimorfik olan 129 adet bant çoğaltmışlar ve polimorfizm oranını % 82.20 olarak hesaplamışlardır. Altındal (2014) 23 yerel ekmeçlik buğday ve 5 tescilli çeşit, 23 adet ISSR primer ile genetik farklılığı belirlemeye çalışmış, bu primerlerden sadece 16'sı polimorfik bant üretmiştir. Polimorfizm oranı kontrol olarak kullanılan çeşitlerde % 0-70 arasında, diğer buğday genotiplerinde ise % 30-100 arasında değişmiştir. Yine, materyalin toplanması esnasında belirli çeşit ismi verilen genotipler kontrol çeşitlerine benzerlik göstermemiştir.

Çalışmamızda en fazla bant üreten primer UBC-811 primeri olup (Şekil 1), 9 adet bant elde edilmiştir. En az bant veren primerler LOL-4, LOL-5 ve LOL-9 olup, 5'er adet bant oluşturmuştur. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 6.9 olurken, polimorfik primer başına

elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı ise 2.9 olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. UBC-811 primerine ait jel görüntüsü  
Figure 1. The gel image of UBC-811 primer

Polimorfik primerlerden elde edilen PCR ürünlerin bant matrisleri yardımıyla oluşturulan benzerlik oranlarına ait değerler Çizelge 4’de verilmiştir. En yüksek benzerlik oranı (% 89) SDÜ-43 tritikale hattı ile Tacettinbey tritikale çeşidi arasında oluşurken, en düşük benzerlik oranı (% 44) Tacettinbey ile Tatlıcak 97 çeşitleri arasında saptanmıştır. Elde edilen verilere göre, birbirine en uzak çeşitler Tacettinbey ile Tatlıcak 97, en yakın ise SDÜ-43 ile Tacettinbey genotipleri olmuştur. Tritikale genotiplerine ait pedigrî bilgileri

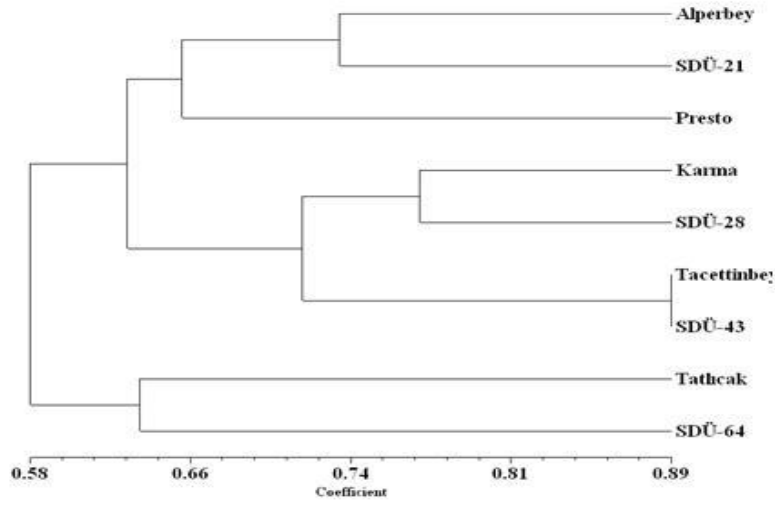
incelendiğinde (Çizelge 1) ıslah edilmiş çeşit olan Karma 2000 ile Alper Bey’in farklı orijinlere sahip olmasına rağmen iki çeşidin % 76 oranında birbirine benzer olduğu görülmektedir. Ayrıca Alper Bey ile Tatlıcak 97 ve Karma 2000 ile Presto ortak anaçlara sahip olmalarına rağmen benzerlik oranları düşük olmuştur (sırasıyla % 54 ve % 60). Bu durum, genotiplerin morfolojik ve ekolojik orijinleri ile bağlantılı olabileceği ya da bunlardan bağımsız olarak ortaya çıkabileceği ile açıklanabilmektedir (Altında, 2014).

Çizelge 4. Tritikale genotiplerin benzerlik matrisi değerleri  
Table 4. Similarity matrix values of the tritikale genotypes

Genotip	Alper Bey	Karma	Tatlıcak	Tacettin Bey	Presto	SDÜ-21	SDÜ-28	SDÜ-43	SDÜ-64
Alper Bey	1								
Karma	0.76	1							
Tatlıcak	0.54	0.67	1						
Tacettin Bey	0.63	0.75	0.44	1					
Presto	0.61	0.60	0.75	0.57	1				
SDÜ-21	0.73	0.65	0.55	0.61	0.68	1			
SDÜ-28	0.59	0.77	0.65	0.70	0.63	0.70	1		
SDÜ-43	0.57	0.70	0.49	0.89	0.65	0.50	0.69	1	
SDÜ-64	0.54	0.61	0.63	0.58	0.54	0.67	0.76	0.58	1

Çalışmada, tritikale genotiplerinin benzerlik indeksine göre oluşturulan dendrogramda (Şekil 2) 4 küme oluşmuştur. Birinci kümede SDÜ-64, ikinci kümede Tatlıcak 97 yer almış ve birbirine % 63 oranında benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, diğer genotipler arasında SDÜ-64 ile Karma % 61 ve SDÜ-28 ile Alper Bey % 59 oranında benzer olmuştur. Üçüncü kümede ise Karma 2000, SDÜ-

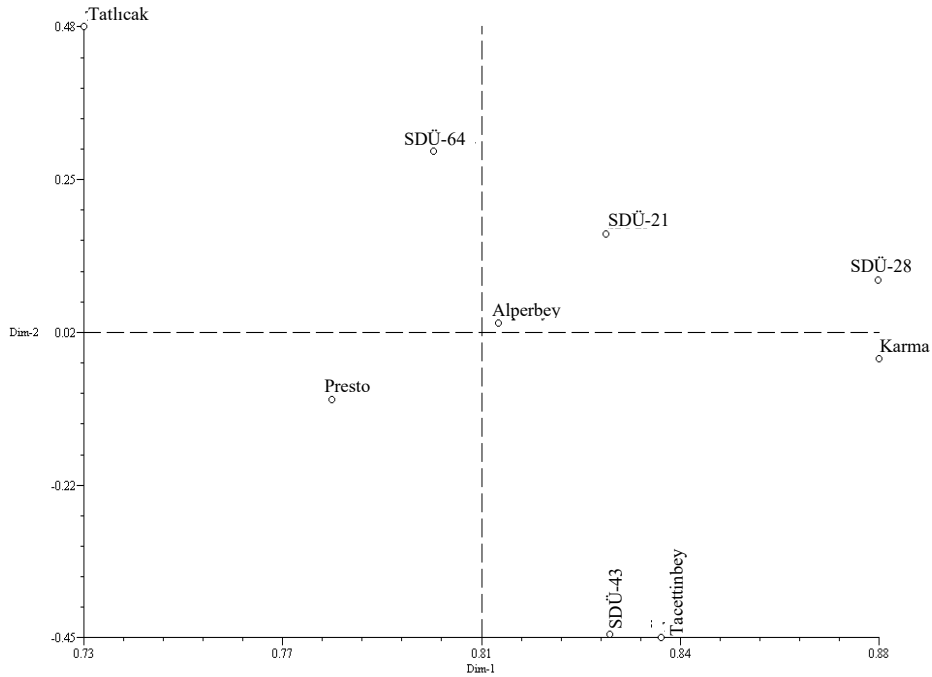
28, Tacettinbey ve SDÜ-43 yer almış ve Tacettinbey ile SDÜ-43 genotipleri birbirine en yakın genotipler (% 89) olarak belirlenmiştir. Dördüncü küme kendi içerisinde iki alt kümeye ayrılmış, Alper Bey ile SDÜ-21 birinci alt küme, presto ise tek başına ikinci alt küme oluşturmuştur.



Şekil 2. Tritikale genotipleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram  
Figure 2. Dendrogram showing genetic relationships among the triticale genotypes

Araştırmada tritikale genotipleri arasında genetik varyasyonu belirlemek için temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır (Şekil 3) Bu sonuçlara göre genotipler arasında genetik varyasyon bakımından Karma 2000, Tacettinbey çeşidi ve SDÜ-43 hattı aynı grupta toplanmıştır. SDÜ-21 ve SDÜ-28 nolu hatlar aynı grupta, diğer hatlar (SDÜ-43 ve SDÜ-64) ise ayrı gruplarda yer almıştır. Diğer tritikale çeşitleri ise genetik benzerlik eşitliğinden elde

edilen dendrograma benzer şekilde birbirinden ayrı gruplarda yer almıştır. Ancak, Alper Bey, SDÜ-21, SDÜ-28 ve Presto genotipleri dendrogramda aynı grupta yer almasına rağmen PCA analizinde farklı gruplarda yer almışlardır. Bu durum ıslah sonucu elde edilen çeşitlerin, farklı ekolojik koşullarda yetiştirilmesi veya farklı genetik özelliklere sahip olması ile açıklanabilir.



Şekil 3. Tritikale genotiplerine ait temel bileşenler analizi  
Figure 3. The basic components analysis of the triticale genotypes

## Sonuç

Araştırmada toplam 16 ISSR primeri kullanılmış ve tritikale genotiplerinde 14'ü polimorfik bant vermiştir. Tritikale genotipleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrograma göre 4 küme oluşmuştur. Dendrogramda farklı ataya sahip olan tritikale genotiplerinin (Karma 2000, SDÜ-28, Tacettinbey ve SDÜ-43) aynı kümede yer alması ve benzer bir genetik yapının ortaya çıkması uygulanan ıslah metodlarının bir sonucudur.

Genotipler arasındaki benzerlik oranları % 44-89 arasında değişmiştir. Tritikalede genetik tabanın daraltıldığı buna rağmen polimorfizm olduğu söylenebilir. Buna ek olarak, tritikale genotipleri (Alper Bey, SDÜ-21, SDÜ-28 ve Presto) dendrogramda aynı grupta yer almasına rağmen PCA analizine göre farklı gruplarda toplanmıştır.

Tritikale genotipleri arasında belirlenen genetik benzerlikler, melezlemede kullanılacak ebeveynlerin genetik yapısının bilinmesi ve seçiminde, genetik olarak uniform bireylerin melezlenmesinde yardımcı olacaktır.

## Kaynaklar

- Altındal, N. 2014a. Kimyasal mutagen (etil metansülfonat) uygulamasıyla patatestede (*Solanum tuberosum* L.) varyasyonun oluşturulması ve moleküler markırlarla tanımlanması. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 140 s.
- Altındal, D. 2014b. Göller yöresinde yetiştirilen ekmeklik buğday çeşitlerinin/populasyonlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 200 s.
- Alp, A., 2009. Diyarbakır kuru koşullarında bazı tescilli tritikale (*XTriticosecale* Wittmack) çeşitlerinin tarımsal özelliklerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi. 19 (2): 61-70.
- Bilgin, O. 2001. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarında genetik uzaklıklar, verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 128 s.
- Çiftçi, İ., Yenice, E., Eleroğlu, E. 2003. Use of triticale alone and in combination with wheat or maize: Effect of diet type and enzyme supplementation on hen performance, egg quality, organ weights, intestinal viscosity and digestive system characteristics. Animal Feed Science and Technology. 105: 149-161.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin. 19: 11-15.

- Fernandez, M.E., Figueiras, A.M., Benito, C. 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. Theoretical and Applied Genetics. 104: 845-851.
- Furan, M.A., Demir, İ., Yücer, S., Can, R.A., Aykut, F., 2005. Ege bölgesi tritikale çeşit geliştirme çalışmaları; geliştirilen çeşit ve hatların verim ve kalite özellikleri üzerinde araştırmalar. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 18(2): 251-256.
- Mengistu, M.A. 2011. Inter simple sequence repeats (ISSR) fingerprinting, phenotypic variability and trait associations in released and elite rice (*Oryza sativa* L.) genotypes of Ethiopia. A Thesis, School of Graduate Studies. Addis Ababa University, 93 pp.
- Milad S. I., Elias L., Barakar M.N. 2011. Identification of RAPD and ISSR markers associated with flag leaf senescence under water-stressed conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.). Australian Journal of Crop Science. 5(3): 337-343.
- Mondini L., Noorani A., Pagnotta M.A. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. Diversity. 1(1): 19-35.
- Nagaoka, T., Ogihara, Y. 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics. 94:597-602.
- Pujar, S., Tamhankar, S.A., Gupta, V.S., Rao, V.S., Ranjekar, P.K. 2002. Diversity analysis of indian tetraploid wheat using intersimple sequence repeat markers reveals their superiority over random amplified polymorphic DNA markers. Biochemical Genetics. 40, 1/2.
- Qian, W., Ge, S., Hong, D.Y. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. Theoretical and Applied Genetics. 102: 440-449.
- Rohlf, F. J. 1991. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software, Setauket, New York.
- Shufang, G., Huijuan, F.U., Jingang, W., 2010. ISSR analysis of M<sub>1</sub> generation of *Gladiolus hybridus* Hort treated by EMS. Journal of Northeast Agricultural University. 17(2): 22-26.
- Sofalian, O., Chaparzadeh, N., Javanmard, A., Hejazi, M.S. 2008. Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers. International Journal of Agriculture and Biology. 10,3 (10): 465.
- Souza, S.G.H., Carpentieri-Pípolo, V., Ruas, C.F., Carvalho, V.P. 2008. Comparative analysis of genetic diversity among the maize inbred lines (*Zea mays* L.) obtained by studying genetic relationships in *Lactuca* spp. Theoretical and Applied Genetics. 93: 1202-1210.

- Stojalowski, S., Goral, H. 2002. The use of RAPD and ISSR markers for differentiation of CMS-lines of winter triticale with *T.timopheevii* cytoplasm. *Agricultura, Folia Universitatis Agriculturae Stetinensi.* 91: 161-166.
- Sun, G., Bond, M. Nas, H. Martin, R., Dong, Z. 2003. RAPD polymorphism in spring wheat cultivars and lines with different level of Fusarium resistance. *Theor Appl Genet.* 106: 1059-1067.
- Şehirli, S., Özgen, M. 1988. Bitki ıslahı. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1059, Ders Kitabı: 310, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 261s.
- Ziarovska J., Senkova S., Bezo M., Razna K., Masnica M., Labajova M. 2013. ISSR Markers as a tool to distinguish Idt and SSS populations of *Zea mays* L.. *Journal of Central European Agriculture.* 14(2): 489-499.