



**Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.)
Kahverengi Pas (*Puccinia triticina*) Hastalığına
Dayanıklılık Genlerinin Basit Dizi Tekrarları
(SSRs) Moleküler Markörü Kullanılarak
Saptanması**



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.)
Kahverengi Pas (*Puccinia triticina*) Hastalığına
Dayanıklılık Genlerinin
Basit Dizi Tekrarları (SSRs) Moleküler Markörü
Kullanılarak Saptanması**

Pakize Özlem KURT POLAT

Prof. Dr. Köksal YAĞDI
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

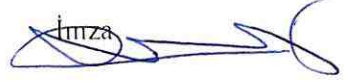
BURSA – 2019

TEZ ONAYI

Pakize Özlem KURT POLAT tarafından hazırlanan “EKMEKLİK BUĞDAYDA (*TRITICUM AESTIVUM* L.) KAHVERENGİ PAS (*PUCCİNIA TRITICINA*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK GENLERİNİN BASİT DİZİ TEKRARLARI (SSRs) MOLEKÜLER MARKÖRÜ KULLANILARAK SAPTANMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Köksal YAĞDI

- Başkan** : Prof. Dr. Köksal YAĞDI
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
- Üye** : Prof. Dr. Abdurrahim Tanju GÖKSOY
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
- Üye** : Prof. Dr. Ahmet İPEK
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
- Üye** : Prof. Dr. İsmet BAŞER
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Üniversitesi,
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
- Üye** : Prof. Dr. Oğuz BİLGİN
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Üniversitesi,
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

İmza 

İmza 

İmza 

İmza 

İmza 

Yukarıdaki sonucu onaylarım



Prof. Dr. Ali BAYRAM

Enstitü Müdürü

15.11.2019

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

14/01/2019

Pakize Özlem KURT POLAT

ÖZET

Doktora Tezi

EKMEKLİK BUĞDAYDA (*TRİTİCUM AESTİVUM* L.) KAHVERENGİ PAS (*PUCCİNİA TRİTİCİNİ*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK GENLERİNİN BASİT DİZİ TEKRARLARI (SSRs) MOLEKÜLER MARKÖRÜ KULLANILARAK SAPTANMASI

Pakize Özlem KURT POLAT

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Köksal YAĞDI

Bu çalışma, yurdumuzda yoğunlukla tarımı yapılan ekmeklik buğday çeşitleri, CIMMYT-Meksika'dan temin edilen Thatcher hatlar ve bu genotipler arasında yapılan melezlemeler sonucu elde edilen F₁ melezlerinin genomlarında SSR (Basit Dizi Tekrarları-Mikrosatelit) yöntemi kullanılarak, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genleri olan Lr10 ve Lr 19 'un varlığını incelemek amacıyla Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme alanında ve U.Ü. Tarla Bitkileri Bölümü Tohumluk Laboratuvarında yürütülmüştür.

Araştırma yer alan genotipler, 2013-2017 yetiştirme dönemlerinde; deneme materyalinin çoğaltılması, genotipler arası melezlemelerin gerçekleştirilmesi ve kahverengi pas hastalığının arazi gözlemlerinin yapılması amacıyla deneme alanlarında yetiştirilmiştir. Yapılan melezlemeler sonucu elde edilen 13 adet F₁ hattı, 22 adet ekmeklik (*Triticum aestivum* L.) buğday çeşidi ile 3 adet Thatcher hat (*Lr9*, *Lr10*, *TcHassas*), SSR (mikrosatlit) yöntemi kullanılarak DNA analizlerine tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucunda *Lr10* geni; Karatopak, Kaşifbey ve Gün-91 çeşitlerinde, *Lr19* geni ise Karatopak, İzmir-85, Ceyhan-99, Aldane, Flamura-85 çeşitlerinde ve Aldane x Karatopak, Flamura x Lr19 F₁ hatlarında tespit edilmiştir.

Ekmeklik buğdayda SSR tekniklerinin kahverengi pas dayanıklılık genlerini araştırmada kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada yer alan Thatcher (yakın izogenik) hatlarının dar bir genetik yapıya sahip olmaları sebebiyle, taranan dayanıklılık genlerini belirlemede iyi bir belirteç genom olduğu sonucunda varılmıştır. Gelecekte yürütülecek ıslah programlarında dayanıklılık genleri içeren genotiplerin belirlenmesinde moleküler markörlerin kullanılmasının kısa sürede ve kesin sonuçlara ulaşmada etkili olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: ekmeklik buğday, SSR (Basit Dizi Tekrarları-mikrosatlit, kahverengi pas hastalığı, moleküler markör
2019, viii + 110 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF LEAF RUST (*PUCCINIA TRITICINA*) RESISTANCE GENES IN BREAD WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) USING SIMPLE SEQUENCE REPEATS (SSRs) MARKERS

Pakize Ozlem KURT POLAT

Bursa Uludag University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Koksal YAGDI

In this study wheat varieties that are largely used in Turkey, CIMMYT Thatcher genotypes that are supplied from Mexico and the F₁ lines that have been obtained by hybridization of these, were used as experiment materials. SSR (Simple Sequence Repeats- Microsatellite) method was used to determine the existence of Lr10 and Lr19 genes which are the genes for resistance to leaf rust disease of wheat. The study was carried out in the experimental field and in the Seed Laboratory of the Bursa Uludag University, Agricultural Faculty of the Field Crops Department.

Genotypes used in the study have been cultivated in trial areas in 2013-2017 growing seasons in order to increase experiment materials, to perform the hybridization between genotypes and to perform land observations of leaf rust disease. 13 F₁ lines that have been obtained by hybridization, 22 wheat variety for bread-making (*Triticum aestivum* L.) and 3 Thatcher lines (*Lr9*, *Lr10*, *TcHassas*), have been put through DNA analysis by using the SSR (Microsatellite) method. According to the results *Lr10* gene was identified in Karatopak, Kaşifbey ve Gün-91 varieties and the *Lr19* was detected in Karatopak, İzmir-85, Ceyhan-99, Aldane, Flamura-85 varieties and in the Aldane x Karatopak, Flamura x Lr19 F₁ lines.

It has been established that SSR methods are usable for the research of genes for resistance to leaf rust in wheat. Also, since the Thatcher (isogenic lines) lines used in the study have a narrow genetic structure it has been concluded that they are good marker genomes for determining the scanned resistance genes .It has also been concluded that in future breeding programs that will be carried out, for determining the genotypes that have resistance genes, using molecular makers will be efficient in reaching faster and more precise results.

Key words: bread wheat, SSR (Simple Sequence Repeats-microsatellite), leaf rust, molecular marker

2019, viii + 110 pages.

TEŞEKKÜR

Bu tür bir araştırma yapmama olanak veren ve çalışmalarım süresince her türlü desteği sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Köksal YAĞDI' ya, çalışmamın laboratuvar aşamasında hiçbir olanağını ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet İPEK'e, Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN'a, Dr. Sena ARDIÇLI'ya, değerli bilgi ve destekleri için Prof. Dr. Abdurrahim Tanju GÖKSOY'a, melezleme ve arazi çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan tüm öğretici arkadaşlarıma,

Hayatta yılmadan mücadele etmeyi bana öğreten, sevgili babam M.Esat KURT, sevgili annem Hatice KUNDAKÇI ve abim Onur KURT'a

Üniversite eğitimime başladığım ilk günlerde hayatıma giren ve her zaman beni destekleyen can dostlarım Nihan KARACAN ve Erinç ARTUT YAZICI'ya

Hayat arkadaşım Ufuk POLAT' a

sonsuz kadar beni ileriye gitmeye motive edecek olan, hayattaki en büyük şansım ve desteğim olan canım oğlum TARIK POLAT'a çok teşekkür ederim

Pakize Özlem KURT POLAT
14/01/2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	6
2.1. Buğdayın Kültüre Alınması, Kökeni, Taksonomisi.....	7
2.2. Moleküler Markörler.....	14
2.3. SSR Tekniği ve Kahverengi Pas Hastalığı Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Bitki Materyali.....	31
3.2. Deneme Yerinin Özellikleri.....	40
3.3. Genomik DNA İzolasyonu.....	53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	59
5. SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR.....	74
EKLER.....	82
EK 1. Deneme Materyalinin Agronomik Verileri.....	82
EK 2. Deneme Materyalinin Arazide Yetiştirilmesi.....	88
EK 3. Arazide Kahverengi Pas Hastalık Gözlemleri.....	95
ÖZGEÇMİŞ.....	108

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
A:	Adenin
AFLP:	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
ALP:	Amplicon Length Polymorphism
bç (bp) :	Baz çifti
C:	Sitozin
CAPS:	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Çoğaltılmış kesilmiş polimorfik dizi)
cm:	Santimetre
CIMMYT:	International Maize and Wheat Improvement Center (Uluslararası mısır ve buğday geliştirme merkezi)
⁰ C:	Santigrat derece
dk:	Dakika
ddH ₂ O:	Double Distille Water (İki kere Steril Su)
DNA :	Deoksiribonükleik Asit
dNTP :	Deoksinükleotid tri Fosfat
E.K.:	Enfeksiyon Katsayısı
EST:	Expressed Sequence Tags (İfade edilmiş dizi etiketleri)
F:	Forward
FAO :	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü)
G:	Guanin
g:	Gram
ISA:	Inter-Simple Sequence Repeat Amplification
ISSR :	Inter Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Arası Tekrarları)
Kg:	Kilogram
Kg/da:	Kilogram/Dekar
Lr:	Leaf rust
m:	Metre
m ² :	Metrekare
MAS:	Markör Destekli Seleksiyon
mg. :	Miligram
MgCl ₂ :	Magnezyum klorür
ml :	Mililitre
mm :	Milimetre
µg:	Mikrogram
µl:	Mikrolitre
ng:	Nanogram
PCR :	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
R:	Reverse
RAPD :	Randomly Amplified Polymorphic DNA

	(Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP :	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş Para Uzunluk Polimorfizmi)
rpm:	Rotation per minute (dakikadaki devir)
SNP:	tek nükleotid polimorfizmi
SSCP:	Single Strand Conformational Polymorphism
SSR :	Simple Sequence Repeats (Basit dizin tekrarları)
STS:	Sequence-Tagged Sites
T :	Timin
Taq :	Taq polimeraz enzimi
TİGEM:	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
Tm:	Bağlanma Sıcaklığı
QTL:	Quantitative Trait Loci



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Verimli hilal bölgesi	8
Şekil 2.2. Buğdayın kökeni	9
Şekil 2.3. Kahverengi pas (<i>Puccinia recondita f.sp. tritici</i>) sporlarının yaşam çemberi	11
Şekil 2.4. SSR markörlerinin şematik gösterimi	15
Şekil 3.1. Seçilen başaklarda emaskülasyon işlemine hazırlık aşaması	46
Şekil 3.2. Buğday başağında emaskülasyon işlemi.....	46
Şekil 3.3. Emaskülasyon işlemi sonrası başaklar.....	47
Şekil 3.4. Emaskülasyon işleminden sonra yabancı tozlara karşı Koruma amaçlı kapatılmış başaklar	48
Şekil 3.5. Melez kombinasyonlarına kafes kurma	48
Şekil 3.6. Melezleme çalışması sonucunda tozlaşmanın beklenmesi	49
Şekil 3.7. Cobb Skalasına göre buğdayda pas hastalığı şiddetinin ölçüm sıkalası	50
Şekil 3.8. Buğdayda kahverengi pas hastalığına farklı genotiplerin gösterdiği reaksiyon şiddeti ve enfeksiyon tipi.....	51
Şekil 4.1. Lr10 primerlerinin hatlardaki sonuçları (310 bp)	65
Şekil 4.2. Lr19 primerlerinin hatlardaki sonuçları (130 bp)	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Dünyada buğday üretimi yapan ülkeler, ekiliş alanı ve üretim miktarı (FAO 2016)	2
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edilen kuruluşlar	31
Çizelge 3.2. Uzun yıllar ve 2012-2015 yıllarına ait sıcaklık değerleri (⁰ C)	41
Çizelge 3.3. Uzun yıllar ve 2012-2015 yıllarına ait yağış değerleri (mm)	42
Çizelge 3.4. Melezleme Kombinasyonları	43
Çizelge 3.5. Tarla devresindeki hastalık değerlendirilmesinde kullanılan değiştirilmiş Cobb Skalası.....	52
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan DNA izolasyon kiti Qiagen Dneasy Plant Mini Kit' in içeriği.....	53
Çizelge 3.7. PCR reaksiyon hacmi.....	57
Çizelge 3.8. PCR döngüsü.....	58
Çizelge 3.9. Primerlerin Nükleotid Dizilimi.....	58
Çizelge 4.1. Cobb Skalasında göre çalışmada yer alan genotiplerin kahverengi pas hastalığına tepkileri.....	59
Çizelge 4.2. Çalışmada yer alan çeşitlerin, ıslahçıları tarafından belirtilen kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık durumları.....	62

1. GİRİŞ

Buğday insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında dünyada ekiliş ve üretim bakımından ilk sırada yer alan bir bitkidir (Yağdı 2002). Buğday kültürünün tüm dünyada yaygın oluşunun başlıca nedenleri; geniş çeşit zenginliği, hayvan beslenmesi, endüstride yaygın olarak kullanılması ve geniş ekolojilere adapte olabilmesidir. Bu nedenle, buğday diğer kültür bitkilerine oranla daha geniş adaptasyon alanları bulabilmiş, ekvator dan kutuplara ve alçak ovalardan yüksek yaylalara kadar geniş alanlara yayılab ilmiştir. Yüksek nem, verimli toprak isteyen buğday çeşitlerinin yanında, verimliliği düşük topraklarda yetişebilen buğday çeşitleri de vardır. Dünya nüfusunun yaklaşık % 35'inin temel besini olan ve tüm dünyada besinlerden alınan kalorinin % 20'sini sağlayan buğday, ülkemiz için de stratejik ürünlerden birisi olup geniş kitlelerin beslenmesinde kullanılmaktadır. Çizelge 1.1.'de verilen FAO 2016 yılı verilerine göre buğday, Dünya'da 222 milyon ha ekim alanına, 752 milyon ton üretime sahipken, Türkiye'de 7 609 868 ha ekim alanına, 20 600 000 ton üretim gerçekleştirilmiştir (FAO 2016). Dünya'da buğday ekiliş alanı olarak Hindistan, üretim miktarı olarak ise Avrupa Birliği ilk sırayı almaktadır. Ülkemiz ise ekiliş alanı ve üretim bakımından 9. sırada yer almaktadır.

Yıllar içinde ülkemizde buğday ekiliş alanları genişlemiş olup günümüzde son sınırlarına ulaşmıştır. Ekim alanlarını daha fazla genişletme olanağımız olmadığından birim alandan alınacak verim miktarı artırılmalıdır. Sadece verim artışının günümüz buğday tüketim koşullarında yetersiz olduğu da bilinen bir gerçektir. Birim alandan alınan ürünün yüksek verimli olmasının yanında, üstün kalite özelliklerine sahip, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı olması da istenmektedir. Yeşil devrim olarak da isimlendirilen dönemde, kimyasal gübre ve tarımsal mücadele ilacı kullanımının artması, mekanizasyon ve sulama teknikleri önemli verim artışları sağlamış olmakla beraber bu denli yoğun tarımsal faaliyetler çevre üzerinde ve ekim alanlarında olumsuz etkiler yaratmıştır. Bu sebeple verimi arttırmak ve kaliteli ürün elde etmek için yeni çözüm yollarına başvurulmuştur ve klasik ıslah metodları hızla yayılmıştır. Islah çalışmalarında birinci öncelik verim artışı üzerineyken; günümüzde

yüksek verimin yanında kaliteyi arttırmak ve hastalıklara dayanıklı çeşitler geliştirmekte son derece önemli hale gelmiştir. Klasik ıslah yöntemleri ve mevcut tarım alanları üzerinde kullanılan tarımsal tekniklerle önümüzdeki 20 yıl içerisinde artacak dünya nüfusuna yetecek gıda maddeleri üretimi mümkün görülmemektedir. Bu sebeple moleküler ıslah yöntemleri, hastalık ve zararlılara; kuraklık ve tuzluluk gibi çevre koşullarına dayanıklı, bitki besin maddeleri içeriği iyileştirilmiş yüksek kaliteli ve verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesi için bitki ıslahçılarına büyük kolaylıklar sağlayacak yeni yöntemler olarak uygulamaya alınmıştır (Çetiner 2015).

Çizelge 1.1. Dünyada buğday üretimi yapan ülkeler, ekiliş alanı ve üretim miktarı (FAO 2016)

Ülke	Üretim miktarı (Milyon Ton)	Ekiliş Alanı (Milyon Hektar)
Avrupa Birliği	144,4	17,4
Çin	128,9	24,2
Hindistan	86	30,2
Rusya	72,5	26,9
ABD	62,9	17,8
Avusturalya	33,5	13
Kanada	31,7	8,9
Pakistan	25,5	9,3
Türkiye	20,6	7,7
Diğer Ülkeler	146	66,8
Toplam	752	222

Ülkemizde ve dünya genelinde buğday üretimini sınırlandıran önemli biyotik stres faktörlerinin başında pas hastalıkları gelmektedir. Epidemiy yıllarında hassas çeşitler üzerinde meydana gelen erken enfeksiyonlar sonucu ürün kayıpları, % 90'lara kadar çıkabilmekte (Aktaş 2001) ve çeşitlerin tamamen üretimden kaldırılmasına neden olabilmektedir. Ülkemizde bugüne kadar buğday bitkisinde farklı pas türlerinin

oluşturduğu ortalama kayıpların tane veriminde 53,1 kg/da (% 9,4), 1000 tane ağırlığında ise 4,3 g (% 9,3) olduğu belirlenmiştir. Kahverengi pas genellikle yapraklarda oluşturduğu püstüller ile fotosentez alanını kısıtlamaktadır. Ürün kaybı, başaktaki tane sayısının azalmasına, tane boyutunun küçülmesine, 1000 tane ve hektolitre ağırlığının azalması şeklinde olmakta, protein içeriğinin azalması ile de kalite kaybı oluşmaktadır (Arslan ve ark. 2002). Ürün kaybı çeşitlerin hassasiyetlerine, çevre koşullarına, etmenlerin ırklarına göre değiştiği gibi yıldan yıla ve bölgeden bölgeye de farklılıklar gösterebilmektedir. Pas hastalıkları içerisinde *Puccinia graminis f. sp. tritici* isimli fungusun neden olduğu kahverengi pas hastalığı, ülkemizde, özellikle bitki gelişim periyodunun uzun olduğu yüksek kesimlerde etkili olmakta, zaman zamanda sahil ve geçit bölgelerinde sorun olarak karsımıza çıkabilmektedir. Hastalıkla mücadele yöntemleri Zirai Mücadele Teknik Talimatların da açıkça belirtilmekle birlikte en etkili yöntemlerden birisi de dayanıklı buğday çeşitlerinin kullanılmasıdır. Bu nedenle çeşitlerin hastalığa karşı reaksiyonlarının bilinmesi ve hastalığın yoğun olarak görüldüğü alanlarda dayanıklı genotiplerin saptanması gerekmektedir.

Buğdayda kahverengi pasa karşı dayanıklılıkla ilgili yapılan ilk ıslah çalışmalarında, farklı dayanıklılık genlerine sahip çeşitler melezlenip dayanıklılık genleri tek bir çeşitte toplanmaya çalışılmıştır. Son 20 yılda ise, DNA teknolojileri ve moleküler markörlerin geliştirilmesinden sonra markör destekli seleksiyon hız kazanmıştır ve özellikle tahıllarda verim, kalite ile hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi konularda yapılan çalışmalar artarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Klasik bitki ıslahında, kantitatif karakterlerin ıslahında özellikle bağlantı (linkage) gibi birçok problemle karşılaşmaktadır. Buğday ıslahında markör destekli seleksiyon (MAS) ve embriyo kültürü ile ısı-ışık kontrollü seraların kullanılması klasik bitki ıslahına oldukça yardımcı olan modern teknolojik yaklaşımlardır (Todorovska ve ark. 2009). Markör destekli seleksiyon (MAS) ile ıslah çalışmaları daha kısa sürede ve daha az işgücü ile tamamlanabilmekte ve bunların yanı sıra gereksinim duyulan popülasyon büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır (Gupta ve Varshney 2000, Babu ve ark. 2004).

Buğday genomunun büyük ve kompleks bir yapıya sahip olması, ploidi düzeyi ve polimorfizm seviyesinin düşük olması sebebiyle yürütülen moleküler genetik çalışmaları diğer bitkilere kıyasla daha fazla zaman almaktadır. Bu zorlayıcı etmenler rağmen yine de buğdayda haritalama çalışmaları yapılmaktadır ve QTL (Quantitative Trait Loci) çalışmaları da devam etmektedir. Bu çalışmalar, buğdayda çok sayıda hastalık ve zararlılara dayanıklılık büyük genler tarafından kontrol edildiği için bu tür genlerin haritalanması üzerinde yoğunlaşmıştır (Hoisington ve ark. 1999).

Klasik bitki ıslahı, melezleme sonucu elde edilen ve açılım gösteren döller arasından üstün genotiplerin seçilmesine dayanmaktadır. Fakat genotipxçevre interaksiyonundan dolayı doğru sonuç almak oldukça zorlaşmaktadır. Ayrıca fenotipik seleksiyon pahalıdır abiyotik stres koşullarına tolerans ile bağlantılı karakterler için çoğu zaman uygulanamamaktadır. Markör destekli seleksiyon (MAS) ise klasik bitki ıslahında karşılaşılan bu sorunlara çözüm getirmek amacıyla geliştirilen bir yaklaşımdır (Francia 2004). MAS yöntemi kullanılarak yabancı ve kültüre alınmış buğday çeşitlerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklı gen tespit etme çalışmaları hız kazanmış ve günümüzde 80'e yakın fazla kahverengi pasa dayanıklılık geni (Lr) tespit edilmiştir (Davoyan ve ark. 2014). Zaman içinde yapılan çalışmalar sonucunda görülmüştür ki, tek bir dayanıklılık (Lr) genine sahip çeşitlerin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdiği dayanıklılık ilaçlamalar sonucu kazandırılan dayanıklılıktan daha fazla olmuştur (Watson ve Singh 1952, Messmer ve ark. 2000).

Moleküler markörler, istenilen genotipte bir geni gözlemlemek veya farklı olan bir geni/özelliği bulmak için kullanılabilen markörlerdir (Yıldırım 2007). Aynı zamanda moleküler markörler, gözlenebilir karakterlere dayanan morfolojik markörlere ve temeli proteine dayanan biyokimyasal markörlere göre oldukça güvenilirdir. Sayıları fazladır, çevreden etkilenmezler, bitki gelişimin herhangi bir evresinde kolayca gözlenebilirler ve lokuslar arası interaksiyon oluşmamaktadır. Bu nedenlerle DNA markörleri ıslah çalışmalarında bitki materyallerinin seleksiyonu için en iyi araçtır (Ovesna ve ark. 2002, Eserkaya ve ark. 2010a). Moleküler markörler; kesilen parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), rastgele çoğaltılan polimorfik DNA markörleri (RAPD), çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), dizisi etiketlenmiş sekanslar (STS), mikrosatellitler

(SSR), bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (CAPS), tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP), ampikon uzunluk polimorfizmi (ALP), basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR), ifade edilmiş dizi etiketleri (EST) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) gibi farklı tekniklerden oluşmaktadır (Khlestkina ve Salina 2006, Korzun ve Ebmeyer 2003, Rafalski 2002, Röder ve ark. 2004).

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR)'na dayalı DNA markörleri arasında yer alan SSR (Simple Sequence Repeat) markörleri, genomdaki basit sekans tekrarlarından yararlanarak, bir lokusun iki allelindeki tekrarların sayısındaki farklılığa bağlı polimorfizmi belirlemektedir (Jones ve ark. 1997). Kahverengi pas dayanıklılık genlerine ait markörlerinin belirlenmesinde SSR ve diğer DNA markörleri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu markörler, bitki ıslahçılarında buğdayda, hastalığın bulunduğu çevrelerde dayanıklılık genleri için indirekt seleksiyonun uygulanmasında ve dayanıklılık genlerinin piramitleştirilmesinde önemli bir araç sağlamaktadır (Röder ve ark. 1995, Gupta ve ark. 2005). SSR markörleri haritalamada, çeşitlerin identifikasyonunda, germplazm muhafazasında, melezlerin belirlenmesinde, gen havuzu varyasyonu analizlerinde ve de ekonomik öneme sahip özellikler için belirleyici markörler olarak kullanılmaktadır. Ancak mikrosatellitleri ilk aşamadan itibaren belirlemek, geliştirmek pahalı ve zaman alıcıdır ve spesifik primerlere ihtiyaç duyulur (Jones ve ark. 1997). Moleküler markörlerden SSR' ın (mikrosatellit- basit dizi tekrarları), bitki genotiplerinin genetik çeşitliliğini belirlemede iyi bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır (Kellerhals ve ark. 2000).

Yürütülen bu çalışmada; yurdumuzda yoğun olarak tarımı yapılan ekmeklik buğday çeşitleri, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlayan bazı genler bakımından basit dizi tekrarları (SSRs) markörü ile incelemeye alınarak ve bu genlerin genotiplerdeki varlığı araştırılmıştır. Ayrıca dayanıklı-duyarlı genotipler arasında yapılan melezlemeler ile de dayanıklılık genlerinin aktarımı yönünden incelemeler de bulunulmuştur.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Buğday hem insan hem de hayvan beslenmesinde önemli yeri olan ve yüzyıllardır her iklimde yetiştirilen kritik öneme sahip bir kültür bitkisidir. Hızla artan dünya nüfusunun temel besin kaynağı olan buğdayın, üretim alanları her geçen gün daralmaktadır. Artan nüfusa karşı daralan ekim alanları sorununu çözmek için birim alandan yüksek verimli ve üstün kalite özelliklerine sahip buğday hasadı gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

İnsanoğlu yüzyıllardır buğday bitkisinde ıslah çalışmalarını sürdürmektedir. İlk çağlarda buğday tane döktüğü için göçebe insanlar tane dökmeyen yani verim kaybına sebep olmayan başakları seçmişlerdir. O günlerde bilimsel temeli bilinmeden yapılan seleksiyon çalışmaları günümüzde kullanılan ve çok fazla özellik kazandırılmış buğday çeşitlerinin temelini oluşturmuşlardır. Pozitif seleksiyon ile başlayan ıslah çalışmaları her geçen gün daha bilinçli şekilde yapılmaya başlamıştır ve 1865 yılında, Mendel' in bezelye bitkisi üzerinde yaptığı çalışmanın sonuçlarını doğru gözlemlemesi ve her basamağını not alıp, ölümünden sonra Mendel Kanunlarının oluşması ile tamamen bilimsel ve istenilen özelliğe dayalı ıslah çalışmaları başlamıştır. 1865 yılından sonra ıslah çalışmaları her bitki türü için hız kazanmış olsa da temel besin kaynağı olan buğday bitkisinde daha da önemli hale gelmiştir.

Farklı ıslah metotları geliştirilmiş ve her metot da başarı sağlanmıştır. Islah çalışmalarının çok zaman alması, arazi gözlemlerinin dikkatli ve zamanında yapılma zorunluğu ve başlangıç popülasyonunun darlığı çalışmaları zora sokan en temel faktörler olmuştur.

Klasik ıslah çalışmalarının temelinde daha yüksek verimli buğday elde etme fikri yatmaktadır. Islah çalışmalarının bu amacına hizmet eden ve daha kısa sürede verim artışını sağlayan Yeşil Devrim 1960'lı yıllarda ülkemize girmiştir. Bu sayede ürün yetiştirmede; kimyasal gübre kullanımı, sulama sistemleri, ilaçlama ve mekanizasyon devreye girmiştir. İlk yıllarda büyük başarılarla ulaşılsa da zamanla verim artışları durağanlaşmıştır. Bilim insanları, dışarıdan uygulamalar ile istenilen başarının tamamen sağlanamayacağını anlamış ve bitkilerin esasında genomlarında çalışmalar yapmaları

gerektiklerini fark etmişlerdir. Bu süreç yaşanırken bir taraftan da moleküler teknolojiler geliştirilmiş ve bitki ıslahında, klasik ıslah metotlarına yardımcı olarak kullanılmaya başlanılmıştır.

Moleküler teknolojilerin geliştirilmesinden sonra ıslah çalışmaları hız kazanmıştır ve en önemlisi, tesadüflere dayalı çalışmalardan ziyade gende belirlenen özelliklere yönelik çalışmalara başlanmıştır.

Bitki ıslahçıları geleneksel ya da moleküler teknikleri bir arada kullanarak birim alandan daha fazla ve daha kaliteli, hastalıklara, zararlılara ve çevrenin aşırılıklarına (tuzluluk, kuraklık, alkali topraklar vb.) dayanıklı ürün almayı hedeflemektedirler (Tayyar 2005).

2.1. Buğdayın Kültüre Alınması, Kökeni, Taksonomisi

Birçok ülkenin temel besin kaynağı olan serin iklim tahılı buğday üzerine yapılan arkeolojik çalışmalar, günümüzden yaklaşık 10 000 yıl önce Uzakdoğu'da, Verimli Hilal Bölgesi'nde (bugünkü İran, Irak, Türkiye, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i içine alan yay şeklindeki bölge) (Şekil 2.1.), Orta Amerika'da ve Güney Çin'de birbirinden bağımsız olarak kültüre alındığını göstermektedir (Karcicio 2006).

Tarım tarihi incelendiğinde ilk kültüre alınan bitkilerin tahıl grubunda yer alan mısır, buğday ve arpa olduğu görülmektedir. Bu tahıllar içerisinde en eski ve yaygın kullanıma sahip olan buğdaya ait kanıtlar 19 000 yıl öncesine Ohala II (İsrail) dayanmaktadır (Karcicio 2006).



Şekil 2.1. Verimli Hilâl Bölgesi (Google görseller)

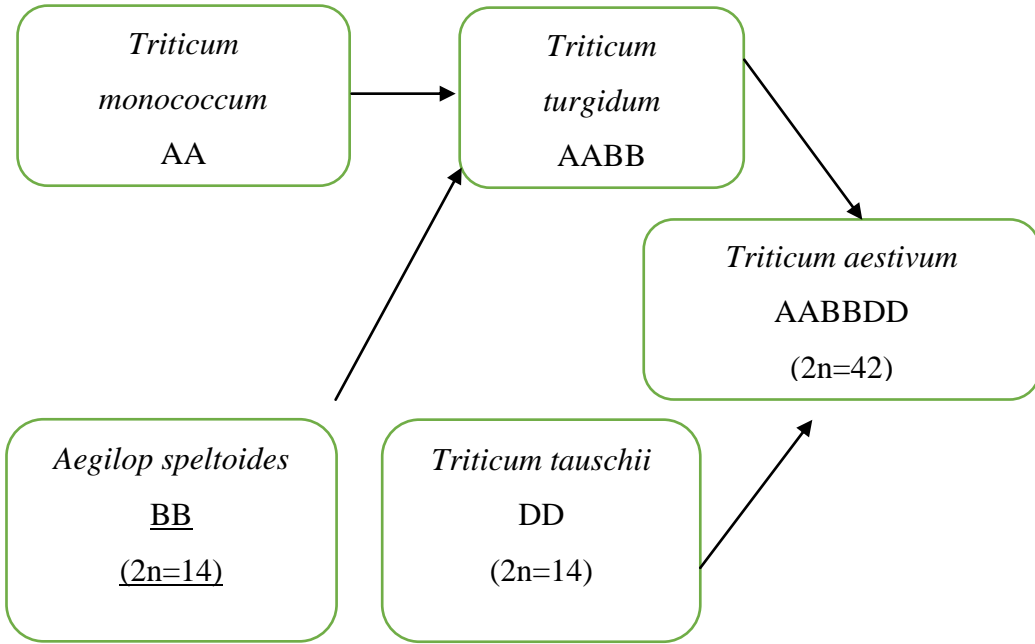
Buğdayın ilk olarak Yeni Taş Devri yani Neolitik Çağ'da kültüre alındığını gösteren bilgiler Yakın Doğu'da mevcuttur. Modern buğdayın genetik materyalinin yabani akrabaları ile karşılaştırılmasından elde edilen bilgiler, einkorn buğdayı olarak bilinen *Triticum monococcum*'un ilk olarak Türkiye'nin güneydoğusundaki Karacadağ bölgesinde ıslah edildiğini göstermektedir (Karcicio 2006) ve buğday tanesinin fındık gibi kabuklu olduğu, yapılan klasik ıslah çalışmalarıyla günümüzdeki halini aldığı (fındıksı yapının kaybolduğu) bilinmektedir (Ulukan 2007).

Dünya tarihinde ilk kültüre alınan bitkiler arasında olan ve çok geniş kitleler tarafından uzun yıllardır temel besin kaynağı olarak kullanılan buğdayın, kökeni üzerine ilk çalışmalar De Candolle tarafından yapılmıştır. De Candolle, buğdayın ilk olarak Asya'da ortaya çıktığını spelta buğdayının ise Avrupa ve Anadolu'da tespit edildiğini bildirmiştir. Buğday köken çalışmaları sonucunda, buğdayın *triticum* genusunun, graminea familyasının, poaidea alt familyasından *triticeae* oymağının, *triticinae* alt oymağına bağlı olduğu belirtilmiştir (Yürür 1998).

Kromozom sayıları ve genom formüllerine göre yapılan ilk sınıflamalarda buğdaylar üç gruba ayrılmıştır.

1. Diploid grup (AA)
2. Tetraploid grup (AABB)
3. Hekzaploid grup (AABBDD)

Buğday yaklaşık 10 000 tür içeren poaceae ailesinden *triticeae* grubunun üyesi olan *triticium* cinsine aittir. Şekil 2.2. 'de belirtildiği gibi buğdayda diploid (AA) ($2n=14$), tetraploid (AABB) ($2n=28$) ve hekzaploid (AABBDD) ($2n=42$) türlerinin poliploid serisini oluşturan karmaşık bir evrim geçmişi vardır (Bockus 2010).



Şekil 2.2. Buğdayın kökeni

Triticum turgidum, makarnalık buğdayların atasıdır ve *Triticum monococcum* ve *Aegilops speltoides*'in doğada melezlenmesinden oluştuğu tahmin edilmektedir. *T.turgidum*'un mutasyona uğraması ve seleksiyonlarla birlikte bugün üretimi yapılan ve tetraploid buğdayların atası olan *Triticum durum* oluşmuştur. Ekmeklik buğdayların

ataları ise *T.turgidum*'un, *T.tauschii* ve diğ er yabancı türleriyle melezlenmesi ve seri mutasyonlar sonucu oluşmuşlardır (Mızrak 2011).

Bir diploid buğday olan *Triticum monococcum* ilk olarak yaklaşık 13 000 yıl önce Türkiye'nin güneydoğusunda kültüre edilmiştir. Tetraploid buğdaylar (makarnalık buğdaylar) yaklaşık 9 000 yıl önce kuzey Suriye'de ya da Türkiye'nin güneydoğusunda kültüre edilmiştir. Hekzaploid buğdayların (yaygın olan türler, ekmeklik buğdaylar) yetiştiriciliğ i yaklaşık 6 000 - 8 000 yıl önce ortaya çıkmıştır. Son zamanlarda, diploid buğdayların çok nadir kültürü yapılmaktadır, ekimi yapılan buğdayların % 90-95'i hekzaploid yapıda olan ekmeklik buğdaylardır geri kalanı ise tetraploid yapıda olan makarnalık buğdaylardır (Bockus 2010, Kılıç 2017).

Buğday Pas Hastalıkları ve Kahverengi Pas

Pas hastalıklarına *Puccinia* mantar cinsine ait bir patojen sebep olmaktadır. *Puccinia* cinsine ait 3 farklı tür 3 farklı pas hastalığına sebep olmaktadır ve bu pas hastalıklarının etki derecesi birbirine benzer olmakla birlikte çok etkilidir. *Puccinia* mantar cinsinin sebep olduğu pas hastalıkları; sarı pasa *Puccinia striiformis f. Sp. tritici* (Pst), kahverengi pasa (yaprak pası) *Puccinia triticina f. Sp. tritici* ve kara pasa da *Puccinia graminis f. sp. tritici*dir. Her bir fungus türü konukçu bitkilerde benzer hastalık semptomlarına sebep olur ve enfeksiyon yapabilmesi için benzer koşullara ihtiyaç duyar. Hastalıklar bitkinin görünümünden isimlerini alırlar, bu fungus türleri bitki üzerinde "pas" görünümü verir. Pas hastalığına sebep olan mantar cinslerinin özellikleri besin maddelerini kendileri üretmek yerine canlı ya da ölü konukçu dokusundan elde ederler. Mantarlar tohum ya da topraktan bulaşabildikleri gibi rüzgâr, su, böcek, hayvan veya insanlar yoluyla da yayılabilir (Presscott ve ark. 1986).

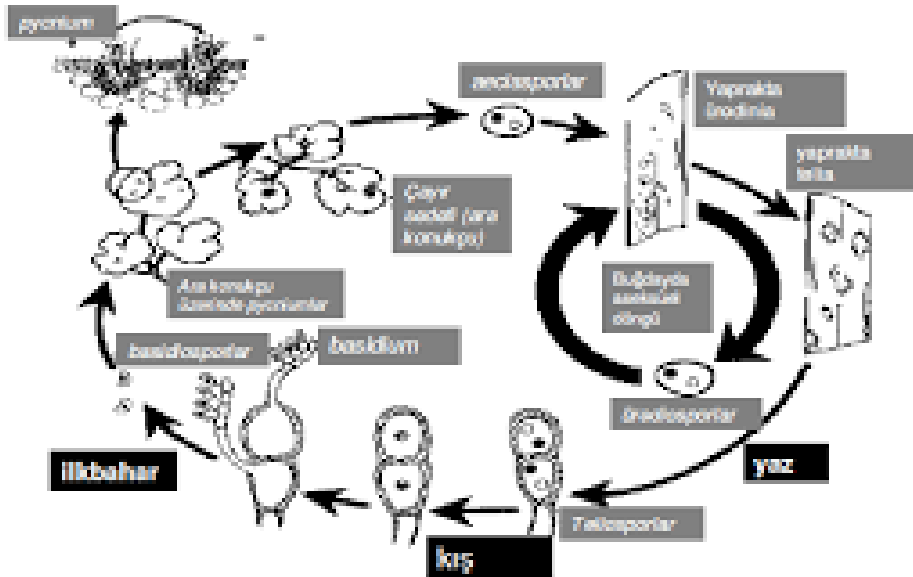
Melvin ve ark. (2008) Minnesota (Amerika)' da yürüttükleri çalışmalarında buğdayda en yaygın görülen hastalığın, *Puccinia triticina*'nın neden olduğu kahverengi pas hastalığı olduğunu belirlemişlerdir. Hastalığ a sebep olan mantar, enfekte yaprak dokusu hayatta kaldığı sürece üredosporları üretebilen bir parazittir. Üredosporlar, rüzgarla birlikte

konukçu bitkiden yüzlerce kilometre uzaklaşarak, bir buğday tarlasındaki ürünlere bulaşarak hastalığı bulaştırabilir ve bu şekilde daha geniş alanlara yayılabilir.

Kahverengi pas hastalığına sebep olan, *Puccinia triticina* Eriks mantar (*Phylum basidiomycota*) aleminin, *Urediniomycetes* sınıfının, *Pucciniaceae* familyasının, *Puccinia* alt familyasına bağlıdır (Bolton ve ark. 2008).

Kahverengi yaprak pası, mantar kaynağına göre lekeler oluşur ve bu lekeler göre sınıflandırılır. Pas lekeleri, 1.5 mm çapta, yuvarlak, turuncu ve kahverengi noktalar halinde konakçının üst ve alt yaprak yüzeylerine dağılmış halde bulunabilirler (Roelfs ve ark. 1992).

Tahıllarda hastalık yapan organizmalar arasında en önemlilerden biri patojenik mantarlardır ve ülkemizde bu hastalıklara neredeyse her bölgede rastlanabilmektedir. Bunlar arasında ise pas hastalıkları ciddi verim kayıpları ile öne çıkmaktadır. Bunlar buğdayın en yaygın ve önemli hastalıkları olmasından dolayı üzerinde en çok çalışılan bitki hastalıklarındandır (Aykut ve Yüce 2007).



Şekil 2.3. Kahverengi pas (*Puccinia recondita* f.sp. *tritici*) sporlarının yaşam çemberi (Roelfs ve ark. 1992)

Pas hastalıklarının yayılmasında en önemli rolü oynayan ürediosporlar en fazla ilkbahar ve yazın oluşurlar ve rüzgar ile taşınarak diğer bitkilerde yeni enfeksiyonlara neden olurlar. Hastalık etmeni ılıman yörelerde kışı ürediospor halinde güzlük ekinlerde ve yabani buğdaygillerde geçirir. İlkbaharda oluşturdukları ve rüzgarla yayılan yazlık sporlar uygun nem ve sıcaklık (10-18 °C) koşullarında yeni enfeksiyonlar oluşturur(Şekil 2.3.) (Lipps 2006).

Buğdayda *P.triticina* enfeksiyonunun gelişim süreci ilk olarak Allen tarafından 1926 yılında yapılan sitolojik çalışmada tanımlanmıştır. Ürediosporlar tek hücrelidir ve dış çeperleri dikenli, hidrofobik bir yüzeyle kaplıdır. Fungus konak bitki üzerine rüzgâr gibi dış etmenlerle bulaşıp hidrofobik etkileşimler sayesinde tutunarak stomalar aracılığıyla doğal açıklıklardan giriş yapar. Yaprak yüzeyine yerleşen ürediosporlar yağmur veya çiy ile temas ederse su emip şişerek çimlenme tüpleri geliştirirler. Bu çimlenme 4-8 saat sonra 20 °C’de % 100 nem altında gerçekleşir, sporlar çimlenmeden 1-3 gün canlılıklarını koruyabilirler (Bolton ve ark. 2008). *P.triticina* çimlenme tüpleri gelişmeye başlar ve bir stomaya denk gelene kadar büyümeye devam ederler. Çimlenme tüpleri stoma bulduğu zaman farklılaşarak apresoryum (Appressorium-A) yapısını oluşturur. Apresoryum bitki ile fungusun hem sıkı biçimde bağlanmasını sağlar hem de fungusun konak içine doğru büyümesini sağlar. Apresoryum farklılaşarak giriş uzantıları ve uçlarında stoma altı kesecikleri oluşturur. Bu kesecikler daralarak enfeksiyon hiflerini oluşturur ve bir mezofil hücrelerine temas edene kadar büyür. Temas ettiğinde bir hostoryal ana hücrelerine farklılaşır. Hostorya, konukçu ile biyotrofik ilişki kuran ve devam ettiren esas yapıdır ve besin alımında önemli rol oynar. Konukçu hücre içerisinde beslenmek için hostoryumu geliştiren fungus, ihtiyacı olduğu besin ve enerjiyi karşıladığından yaşam döngüsünü tamamlayabilmek için çoğalmaya başlar ve yayılır. Enfeksiyonun gelişimiyle Şekil 2.6.’ da görüldüğü gibi konak bitki yaprağı üzerinde yayılarak yeni hostorya yapıları oluşturur, kahverengi püstüller halinde kendini gösterir (Allen 1926).

Kahverengi pas fungusu farklı iklim koşullarına adapte olduğundan dolayı dünya çapında buğday yetiştiriciliği yapılan her bölgede bu hastalık bulunabilir. Kahverengi

pasa duyarlı buğday çeşitlerinde, pas enfeksiyonu meydana geldiğinde, verimlerinde %5-15 veya daha fazla azalma görülür. Genetik dayanıklılık kahverengi pasdan dolayı verim kayıplarını azaltmak için en ekonomik ve tercih edilen bir yöntemdir (Kolmer 1996).

Bitki üzerinde bir patojen yaşamını sürdürebilir ve çoğalabilirse konukçu bitki hassas (duyarlı), patojen ise virulent olarak adlandırılır ve aralarındaki ilişki uyumlu olarak tanımlanır. Patojen bitkiye herhangi bir zarar vermeden yalnızca normal yaşamını sürdürürse bu bitki patojene tolerant olarak tanımlanır. Ancak, bitki patojenin yaşamını sürdürmesini engelliyor, gelişme ve çoğalmasını durduruyorsa bu bitki dayanıklı, patojende avirulent olarak adlandırılır ve aralarındaki ilişki uyumsuz olarak tanımlanır (Tör 1996).

Buğdayda kahverengi pas dayanıklılık genleri (Lr genleri) üzerine yapılan çalışmalar buğday araştırmacıları tarafından dünya çapında yürütülmektedir. Bu çalışmaların ilk örneklerinden olan 1926'da yapılan bir çalışmada, buğday çeşitleri olan Malakof ve Webster'in her birinin sırayla Lr1 ve Lr2 olarak adlandırılan kahverengi pas dayanıklılık genlerine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Soliman ve ark. (1964), Lr1, Lr3 ve Lr11 kahverengi pas dayanıklılık genlerini taşıyan kromozomları belirleyerek, haritalarını çıkarmışlardır (Bolton ve ark. 2008).

Üç pas türünü meydana getiren patojen ırkları için buğdayda dayanıklılığı sağlayan R genleri, kahverengi pas için Lr (leaf rust), kara pas için Sr (stem rust), sarı pas için Yr (yellow rust) olarak adlandırılır. Bu dayanıklılık genleri için dünya çapında uzun vadede birçok çalışmalar yapılmış ve birçok çeşitte farklı patotiplere spesifik dayanıklılık geni tespit edilmiştir. Bugüne kadar 71 Lr, 57 Sr ve 53 Yr genleri tanımlanmıştır (Liu ve Kolmer 1997).

Son yıllarda buğdayda saptanan Lr (leaf rust) genlerinin sayısında önemli bir artış olmuştur, 80'e yakın spesifik Lr geni bilinmektedir (Davoyan ve ark. 2014). Bu genlerden çoğu *Agropyron elongantum* (Lr24 ve Lr19), *Aegilops umbellulata* (Lr9) gibi yabani türlerden buğdaya aktarılmıştır. *Agropyron elongantum*'dan köken alan Lr19 dayanıklılık geni 7D kromozomunun uzun kolu (7DL) üzerinde bulunur (Gupta ve ark.

2006). Lr24 dayanıklılık geni 3DL (Gupta ve ark. 2006) ve Lr9 dayanıklılık geni ise 6BL üzerinde bulunur (Chelkowski ve Stepien 2001).

2.2. Moleküler Markörler

Moleküler biyoloji alanında ki çalışmaların giderek artması ile önemli ilerleme gösteren DNA temelli yöntemler, bitki ıslah çalışmalarında sıklıkla kullanılmaya başlamıştır. Bu sebeple DNA bazlı birçok moleküler yöntem geliştirilmiştir. Yöntemlerin başarılı şekilde uygulanması için kullanılan DNA markörlerinde belirli özellikler istenmektedir, bunlar;

- Ulaşılabilirliğin hızlı ve kolay olması
- Yüksek polimorfizm göstermesi
- Denenebilirliğinin pratik olması
- Kodominant kalıtım ve genomda tekrarlanabilen olması
- Stabil olması ve çalışma koşullarından etkilenmemesi
- Farklı laboratuvarlar arasında veri değişimi kolay olmalarıdır (Sharma ve ark. 2008).

DNA markörleri bunların belirlenmesinde kullanılan yöntemler temelinde 3 ana gruba ayrılabilir:

1. Hibridizasyona dayalı markörler; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve oligonükleotid parmak izlerinin çıkarılması,

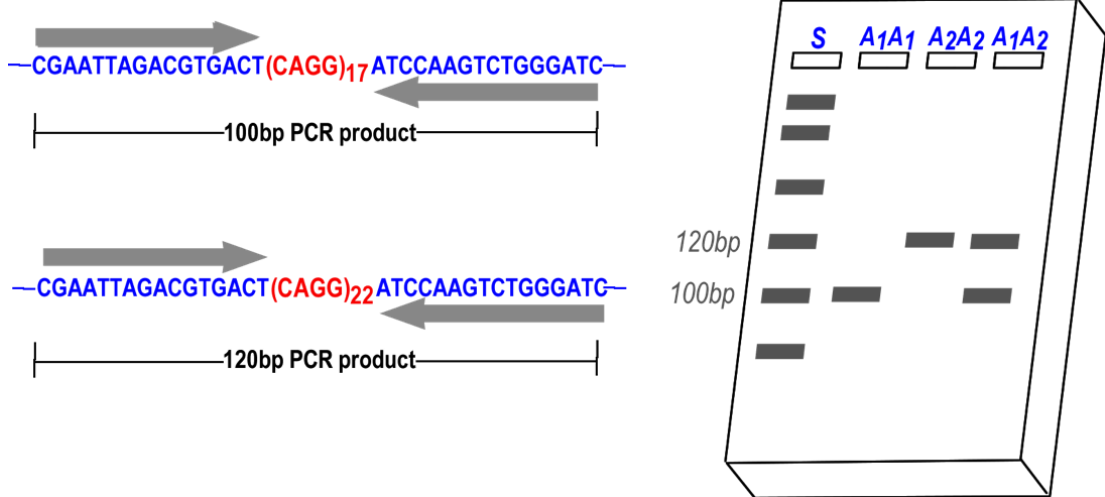
2. Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı markörler; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), SSR (Simple Sequence Repeat), STS (Sequence-Tagged Site), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), ISA (Inter-Simple Sequence Repeat Amplification), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), ALP (Amplicon Length Polymorphism) markörleri,

3. DNA sekanslamasına dayalı yöntemler; SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markörleri örnek olarak verilebilir. (Jones ve ark. 1997, Gupta ve ark. 2002).

SSR (Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler)

SSR veya mikrosatellitler, ökaryotik genomlar boyunca dağılmış ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Bu gruplar örneğin (AT)_n, (GT)_n, (ATT)_n, (GACA)_n şeklinde gösterilmekte ve n ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. En yaygın SSR dizileri dinükleotid (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n, trinükleotid (TCT)_n, (TTG)_n veya tetranükleotid (TATG)_n yapıdadır (Powell ve ark. 1996).

Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotiplerde çakışan SSR'ların PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir. Ardışık SSR tekrarlarının sayısındaki farklılık PCR sonucu farklı uzunlukta parça çoğaltımı ile sonuçlanır. Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir (Gupta ve ark. 2002, Yorgancılar ve ark. 2015).



Şekil 2.4. SSR markörlerinin şematik gösterimi

(<http://cubocube.com/dashboard.php?a=1188&b=1294&c=103>)

Bitkilerde de birçok tür için oldukça önemli olan markörler başarılı bir şekilde izole edilmiş ve araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bitkilerdeki genetik haritalama çalışmalarında SSR tekniğinin kullanımı, sağladığı avantajlardan dolayı her geçen gün artmaktadır. SSR'lar yüksek oranda polimorfik olduklarından bitkilerde oldukça fazla bilgi vermektedir. Ayrıca kodominant (eşbaskın) markör vermesi ve PCR kolaylığına sahip olması da kullanım oranını arttırmaktadır (Röder ve ark. 1995). Son yıllarda dünya çapındaki birçok moleküler genetik laboratuvarında farklı bitki türlerinde SSR'lar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Buğday (Röder ve ark. 1995), yabani buğday (Pestsova ve ark. 2000), soya fasulyesi (Akkaya ve ark. 1992), mısır (Senior ve Heun 1993) ve patates (Provan ve ark. 1996) gibi bitkiler SSR'ların başarılı bir şekilde kullanıldığı bitkilere örnek verilebilir (Yorgancılar ve ark. 2015).

2.3. SSR Tekniği ve Kahverengi Pas Hastalığı Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Akkaya ve ark. (1992), bir ilk olma özelliği taşıyan çalışmalarında; SSR primerleri ile soya fasulyesi çeşitlerinde polimorfizm seviyesini, SSR belirleyicilerinin frekanslarını ve polimorfik yapılarını incelemişlerdir. Sonuç olarak; mikrosatelitlerin bitki türlerinde bol miktarda bulunduğunu, yüksek derecede polimorfizme ve geniş bir dağılıma sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu sayede SSR belirleyicileri genotiplerin ayırt edilmesi, genom haritalama ve agronomik açıdan önemli karakterlerin markör esaslı seleksiyonu gibi genomla ilgili pek çok çalışmada yoğun bir şekilde kullanılmıştır.

He ve ark.(1992), buğday hatlarında DNA polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, 65 primer kombinasyonu kullanmışlar ve % 38 oranında yeniden üretilebilir DNA polimorfizmi bulmuşlardır. Ayrıca ticari ve ıslah hatları arasında yüksek seviyede polimorfizm gözlemlendiğini ortaya koymuşlardır.

Roelfs ve ark. (1992), dünyada kahverengi pas hastalığının geniş alanlarda görüldüğü bölgeler, Afrika'nın kuzeyi, Orta Asya ve güney doğusu, Avrupa'nın doğusu, Kuzey Amerika ve Güney Amerika'dır. Daha bölgesel olarak da Afrika'nın doğusu ve güneyi, Uzak doğu ve batı Asya, Avusturalya, Yeni Zelanda, Avrupa'nın batısındaki bölgeler olarak sıralanabilir. Pas hastalıkları içinde bitkiye en çok zarar yapan hastalıktır.

Hastalığın gelişme şartları optimum olduğu durumda bir ayda % 50 verim kayıplarına neden olabilir. Duyarlı çeşitlerde % 100 kayıplar söz konusu olabilir.

Chen ve ark. (1994), 45 adet kırmızı-sert yazlık buğday arasındaki genetik farklılıkları belirlemeye çalıştıkları çalışmalarında, genetik benzerlik oranını 0.65-0.99 arasında tahminlemişler ve ortalama genetik benzerlik oranını 0.81 olarak bulmuşlardır. Deneme sonucunda hekzaploid kırmızı-sert yazlık buğdaylar için, ıslah havuzunun genetik farklılığının, göreceli olarak dar olduğunu bildirmişlerdir.

Autrique ve ark. (1995), çalışmalarında kahverengi pas hastalığına karşı dört farklı dayanıklılık geni taşıyan yakın izogenik hatlar kullanmışlardır. Polimorfizmi saptamak için kullanılan klonlar dayanıklılık genlerinin rapor edilen kromozomal lokasyonuna göre seçilmiştir. Dayanıklılık genleri, Lr19 ve Lr24, sırasıyla 7DL ve 3DL kromozomlarına atanan sekiz moleküler markörle birlikte toplanmıştır. Lr9 ile birlikte toplanan bir klon ve iki yakın bağlanmış RFLP markörü, dayanıklılık geninden 3.3 k 2.6cM ve 6.9 k 3.6 cM' de eşlenen Lr32 için bulunmuştur. Kromozom 7E (Lr19) ve 3E (Lr24) taşıyan izogenik hatlardaki Lophopyron-kromatin segmenti, sırasıyla, kromozomun 7D büyük bir bölümünü ve kromozom 3D'nin distal kısmını değiştirilmiştir. Aneuploid analizine dayanarak bu kromozomlara tahsis edilen klonlar, 7E ve 3E segmentlerine melezleşmiştir, böylece sitolojik sonuçların, bu introgresif segmentlerin, homoeolog kromozomları temsil ettiğini doğrulamaktadır. Aneuploid analizine dayanarak bu kromozomlara tahsis edilen klonlar, 7E ve 3E segmentlerine melezleşmiştir, böylece sitolojik sonuçların, bu introgresif segmentlerin, homoeolog kromozomları temsil ettiğini doğrulamaktadır. Bağlantılı RFLP işaretleyicileri dayanıklı genleri tanımlamak ve üreme popülasyonlarında, özellikle de çevre hastalıklarının yokluğunda veya virulans eksikliğinde yeni kombinasyonlar oluşturmak için kullanılabilir.

Plaschke ve ark. (1995), Avrupa'da yoğunlukla yetiştirilen 40 buğday çeşidi arasındaki genetik farklılığı belirlemek için moleküler makır yöntemlerini denedikleri çalışmalarında; mikrosatelitlerin buğday materyalindeki çeşitlerin tanımlanmasında ve genetik çeşitliliğin belirlenmesinde pratik olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Röder ve ark. (1995), yılında yaptıkları çalışmalarında, SSR (mikrosatelitler) markırlarının; lokusa özgü olmaları, ko-dominant kalıtım özelliği göstermeleri, yüksek bilgi içeriğine sahip olmaları ve PZR ile kolayca tespit edilebilmeleri özelliklerinden dolayı son dönemlerde en fazla tercih edilen moleküler belirleyiciler olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca SSR'lar bitki genomlarında homojen bir dağılım gösterdiği ve buğday genomu her 704 kb'de bir (GT)n grubu ve her 440 kb'de bir (GA)n grubu içerdiğini açıklamışlardır. Buğdayın her bir haploid genomunun 16×10^6 kb büyüklüğünde olmasından ötürü, mikrosatelit lokuslarının toplam sayısı (GA)n için $3,6 \times 10^4$ ve (GT)n için $2,3 \times 10^4$ olduğunu belirtmişlerdir.

Dedryver ve ark. (1996), buğday kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerinden biri olan Lr24 için moleküler belirteçleri RAPD ve SCAR yöntemleri ile bulmayı amaçlayan bir çalışma yürütmüşlerdir. RAPD yöntemi ile kahverengi pasa dayanıklılık markırı (Lr24) geliştirmek için; geri melezleme hattı, bir dayanıklılık genine sahip olan RL 6064, ve 'Thatcher' hat kullanılmıştır. Test edilen 125 RAPD primerinin arasında, sadece bir tanesinde (OP-H5) dayanıklı hat RL 6064'te ki gibi bir bantın varlığı tespit edilmiştir. Bu moleküler markörün Lr24'e genetik bağlantısı, kahverengi pasa karşı dayanıklı RL 6064 hattı ile 'Chinese Spring' duyarlı çeşidi arasında yapılan melezlemeler sonucunda F₂ popülasyonu üzerinde test edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda; markörün, Lr24 dayanıklılık geni ile tam bağlantılı "linkage" durumunda olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçtan sonra, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr24 için daha güvenilir ve spesifik bir markör, SCAR metodu kullanılarak elde edilmiştir. Tek bir amplifikasyon ürününün mevcudiyeti, etidyum bromür ilavesiyle test tüpündeki genin doğrudan tespitine izin vermiştir. Lr24 geni ile bağlantılı olan kahverengi pas dayanıklılık markörü Lr24'ün, SCAR metodu ile pratik olarak ıslah programında kolaylıkla kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Schachermayr ve ark. (1996), kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni Lr10 için yaptıkları ve literatürde çok önemli bir yere sahip olan çalışmalarında; çoğu Avrupa Melezleme programından elde edilen 62 ekmeklik buğday melez hattında ve "spelt breeding" hatlarında Lr10 geninin varlığını ve bu genin spesifikliğini araştırmışlardır.

Lr10 genini varlığını tespit etmek için farklı Lr10 primerleri RFLP ve STS yöntemleri ile test etmişlerdir. Çalışmalarında yer alan hatlardan Lr10 genini ihtiva eden 12 tanesi ThatcherLR10 ile aynı yerde allel bantlar vermiştir. Genetik olarak Lr10 geninin varlığının bilinmediği birçok hatta (hatların yaklaşık %20 sinde) RFLP ve STS markörleride aynı yerde allel bant oluşumu vermemiştir. Spelt grubunun içinde ki 6 genotipte, ThatcherLr10 ile aynı yerde allel bant vermiştir. Deneme de yer alan tüm hatlara izole edilmiş Lr10 virüsü ile enfekte edilmiştir ve bütün hatlar hatta Lr10 dayanıklılık geni bulunduran hatlar dahi hipersensetiv reaksiyon göstermiştir. Bu sonuç bize Lr10 dizilerinden türetilen markörlerin, çok çeşitli genetik kökenli üreme materyalinde Lr10 geni için oldukça spesifik olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda, buğday yetiştirme programlarında, Lr10'un tanımlanmasına izin verecek ve kahverengi pas hastalığına karşı polijenik dirençlerde Lr10'un rolünün aydınlatılmasına katkıda bulunacak bilgilere ulaşılmıştır.

Kraic ve ark. (1998), SSR ve RAPD markörlerini kullanarak 23 ticari arpa çeşidinin genetik farklılıklarını saptamışlardır. Gündüz (2008), Orijini farklı ülkeler olan 36 yerel ekmeklik buğday çeşidi arasındaki genetik ilişkinin belirlendiği bir çalışmada, SSR'ların genetik kaynakların varyasyonunu tespit etmede gen bankaları tarafından kullanılabilir yararlı bir araç olduğu belirtilmiştir. Eserkaya ve ark (2010), SSR, STS moleküler ve g-gliadin protein markörlerini kullanarak 29 adet yerel makarnalık buğday çeşitlerinde genetik farklılığı belirlemiştir.

Sayre ve ark. (1998), 1966-1988 yılları arasında CIMMYT kaynaklı 15 buğday çeşidini tek yerde normal ve geç ekim olarak ekerek çeşitlerde kahverengi pastan kaynaklanan %6,6- 62,7 arasında verim kaybı saptamışlardır. Araştırmacılar; hastalık şiddeti ve hastalık gelişim eğrisi altındaki alan ($r=0,898$) ile verim kayıpları ($r=0,917$) arasındaki ilişkinin yüksek olduğunu, kaybın daha çok cılız dane ve düşük dane doluluk oranından kaynaklandığını, yavaş paslanan çeşitlerde %7,7-10,4, tolerat çeşitlerde %6,6 ve dayanıklı çeşitte ise %10,2 oranında verim kayıpları oluştuğunu, tane veriminde yıllar içinde kimyasal ile korunan parsellerde % 0,48 ($r^2=0,38$, $P< 0,01$) korunmayan parsellerde ise % 2,21 ($r^2=0,47$, $P<0,01$) oranında bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

Young (1999), son yıllarda, basit dizi tekrarları ve mikrosatelit olarak adlandırılan PCR temelli sistem memelilerde ve bitkilerde sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Kendine döllen bitkilerde polimorfizm düzeylerine göre diğer DNA markörlerinden daha üstün oldukları gözlemlenmiştir.

Gupta ve Varshney (2000), mikrosatelit belirleyicileri (SSR) günümüzde genotiplerin tanımlanmasında, kantitatif karakter lokuslarının (QTL) saptanması ve haritalanması ile genetik çeşitlilik araştırmalarında başarılı şekilde kullanılabildiğinden, yüksek derecede polimorfik olan mikrosatelitlerin, buğday çeşitlerinde moleküler belirleyici veri tabanlarının oluşturulmasında kullanılabilecek faydalı bir potansiyel sistem olduğunu bildirmişlerdir.

Winzeler ve ark. (2000), 10 farklı Avrupa ülkesinden elde ettikleri 72 buğday çeşidi ve ıslah hattının kahverengi pasa karşı dayanıklılığını iki yıl boyunca tarla koşullarında test etmişlerdir. Fide dönemi dayanıklılığını da inceleyen araştırmacılar, bütün lokasyonlarda oldukça dayanıklı olduklarını belirledikleri 9 hattın ıslah programlarında önemli dayanıklılık kaynağı olabileceklerini vurgulamışlardır. Birkaç hattın kısmi dayanıklılık veya ergin dönem dayanıklılığı sağladığını tespit etmişler ve *Lr13* genini taşıyan dayanıklı çeşidin farklı bir dayanıklılık tepkisi gösterdiğini, diğer genlerle kombinasyonu olmaksızın sadece bu genin dayanıklılığının Avrupa'da yeterli olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca fide dönemi dayanıklılığının çoğunlukla *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr17b*, *Lr20* ve *Lr26* genlerinde görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Yamamoto ve ark. (2003), çalışmalarının sonucunda; SSR moleküler yönteminin PCR'a dayalı olduğu için kullanılacak DNA miktarının oldukça az olduğunu ve her SSR lokusunun genom boyunca homojen olarak dağıldığını belirtmişlerdir. Her SSR lokusu, bir çift spesifik primer ile tanımlandığı için laboratuvarlar arası primer değişiminin kolay olduğunu, bu spesifik primerlerin tür içi ve türler arası rahatlıkla kullanılabildiğini ve türlerin bireysel olarak genotiplerini ortaya koyabildiklerini belirtmişlerdir.

Gupta ve ark. (2002), yaptığı çalışmalarında, hexaploid ekmeklik buğdayda (*Triticum aestivum L. em. Thell*), IWMMN'nin (Uluslararası Buğday Mikrosatellitleri Haritalama

Ağı) on üyesi mikrosatalit (SSR = basit dizi tekrarı) genetik haritasının genişletilmesi için işbirliği yapmıştır. WMC'nin (Wheat Microsatellite Consortium) bir parçası olarak geliştirilen çok fazla sayıda mikrosatellit primer çifti arasında, test edilen 176 primer çiftinin 58'inin, ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) haritalama popülasyonu W7984 Opata85 (ITMIpop)'nın ebeveynleri arasında polimorfik olduğu bulunmuştur. Bu amaçla hazırlanan ITMIpop ve bir çerçeve haritası (266 ata markıra sahip) kullanılarak toplamda 21 adet kromozomun 20'sine (6D kromozomunda markır yok) dağıtılmış toplam 66 mikrosatellit lokusu belirlenmiştir. Bu 66 haritalı mikrosatellit (SSR) lokusu, daha önce ekmeklik buğdayda bulunan mevcut 384 mikrosatel lokusuna eklenmiştir.

Kolmer ve ark. (2013), 35 adet kışlık buğday (*T. aestivum* L.) çeşidi ve 17 adet ıslah hattında kahverengi pas fide dönemi dayanıklılığını belirlemek amacıyla 16 *P. triticina* izolatını kullanmışlardır. İnokülasyon sonucunda hatların ve çeşitlerim reaksiyonlarını tek dayanıklılık geni bakımından farklılık gösteren Thatcher yakın izogenik hatlarının vermiş olduğu reaksiyonlarla karşılaştırmışlardır. Kullandığı hat ve çeşitlerde fide dönemi dayanıklılık genleri *Lr1*, *Lr2a*, *Lr 9*, *Lr 10*, *Lr 11*, *Lr 18* ve *Lr 26'*nin bulunduğunu, belirten araştırmacı çeşitlerde ve hatlarda ergin dönem dayanıklılığını 2 farklı lokasyonda tarla parsellerinde incelemiştir. Tarla denemelerinde incelediği çeşitlerde ergin dönem dayanıklılık genleri *Lr12* ve *Lr34'*ün etkili olduğunu belirtmiştir. Fide dönemi dayanıklılık genleri *Lr2a*, *Lr9* ve *Lr26'*nin yanında ergin dönem dayanıklılık genlerini taşıyan çeşit ve hatların yüksek derecede dayanıklılık gösterdiklerini saptamıştır. *Lr1*, *10*, *11* ve *18* genleri ile ergin dönem dayanıklılık genlerinin kombinasyonu orta veya düşük derecede dayanıklılık sağladığı açıklamışlardır.

Stêpieň ve ark. (2003), Yedi Avrupa ülkesinden gelen 33 buğday çeşidinde, *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* fungal patojenine karşı, STS metodu kullanarak, yedi Lr (kahverengi pas) dayanıklılık genini (*Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26* ve *Lr37*) incelemişlerdir. Çalışmada ayrıca, iki gen kaynağı koleksiyonundan toplamda 22 çeşit Lr geni de test edilmiştir. *Lr24* için bir SCAR markörü ve *Lr47* için CAPS markörü bu genleri tanımlamak için kullanılmıştır. Her markör bir spesifik DNA parçası ile

eşleşmiştir. Buğday çeşitlerinde üç Lr genine (Lr10, Lr26 ve Lr37) ait markör tespit edilmiştir. Diğer dört markör (*Lr9*, *Lr19*, *Lr24* and *Lr47*), kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni taşıyan melez hatlarda bulunmuştur. Sonuçlar, daha önce multipathotype testi ile yapılan kahverengi pasa dayanıklılık geni arama çalışmalarıyla karşılaştırılmış ve sonuç olarak LR10, Lr26 ve Lr37 markörlerinin MAS yönteminde uygun olduğuna karar verilmiştir.

Kuleung ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada buğday (*Triticum aestivum* L.), çavdar (*Secale cereale* L.) ve tritikale (*X Triticosecale Wittmack*) arasında SSR markörlerinin aktarılabirliğini incelemişlerdir. Buğday, çavdar ve tritikale bitkilerinin her birinden elde edilen 5 farklı DNA'da, 148 buğday, 28 çavdar SSR markırı kullanılmışlardır. Sonuç olarak, buğday SSR markörlerinin çavdarlara aktarılabirliği% 17 iken çavdar markörlerinin% 25'i buğdaya aktarılabirmiştir. Tritikale'den, sırasıyla, buğday ve çavdar markırlarına % 58 ve% 39 aktarılabirlik sağlanmıştır. Buğday markörleri, sırasıyla buğday, çavdar ve tritikale ortalama 2,6, 2,7 ve 2,4 polimorfik bant vermiş, çavdar belirteçleri ise çavdarda ortalama 2.0 polimorfik bant verirken buğday ve tritikale hiç bant vermemiştir. Bu çalışma sayesinde belirlenen ve aktarılabirilen markırlar genetik çalışmalarda daha fazla kullanılabir hale gelmiştir.

Singh ve ark. (2004), Asya Kıtasının batı bölgelerindeki buğday alanlarında kahverengi pas hastalığının %30 oranında zarara neden olduğunu, merkez bölgelerde özellikle hassas çeşitlerin ekili olduğu alanlarda ise bu zararın %90'lara ulaştığını tespit etmişlerdir.

Song ve ark. (2005), yeni buğday mikrosatellit primerleri geliştirmek ve ITMI W7984'te genetik bağlantı haritalaması yoluyla buğday genom haritasındaki ilgili lokusları konumlandırmak amacıyla yürüttüğü çalışmasında rastgele genomik kütüphanelerden toplam 540 mikrosatellit primer çifti geliştirmiş ve açıklanmıştır. Bu amaçla 347 lokusu eşlemek için 315 primer seti alt kümesi kullanılmıştır. Tek başına fiziksel haritalama ile 125 lokus yeri tespit edilmiştir. ITMI popülasyonu ile eşleştirilmiş 222 lokustan 126'sı da fiziksel olarak haritalanmıştır. A, B ve D genomlarına eşlenmiş tüm eşlenmiş lokuslar, sırasıyla 126, 125 ve 96 dikkate alınarak, yeni lokusların yirmi üçü önceden

mevcut işaretleyicilere dayanarak haritadaki 10 cM'den büyük boşluklara yerleştirilmiş ve 14 tanesi kromozomların uçlarına eşleşmiştir. Bağlantı haritasının uzunluğu 80.7 cM uzatılmıştır. Harita konumları, hem genetik hem de fiziksel haritalama ile konumlandırılmış 126 lokusun 111'i için tutarlı bulunmuştur.

Urbanovich ve ark. (2006), çalışmasında 68 ekmeklik buğday çeşidinde, moleküler belirteçleri kullanarak kahverengi pas dayanıklılık genlerini (Lr1, Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr21, Lr24 ve Lr26) ve bu genlere uygun belirteçleri taramıştır. Çalışmasının sonucunda ise Xgwm295'in Lr24 genini tanımlamak için bir belirteç olarak kullanılması önerilmiştir.

Aykut ve Yüce (2007), çalışmasında, kahverengi pas dayanıklılık geni *Lr13*'e ait SSR (Simple Sequence Repeat) markörleri, 41 farklı dayanıklılık geni taşıyan Thatcher yakın izogenik hattında incelenmiştir. Duyarlı yerli çeşit İzmir 85, *Lr13* genini taşıyan yakın izogenik hat (12 No'lu hat) ve bunlar arasında yapılan melezlemenin F1 generasyonunda aynı markörler kullanılmıştır. İncelenen dört SSR marköründen bir tanesi (GWM630) *Lr13* genini taşıyan hatta özgün bir bant deseni vermiştir. Bu bant deseni duyarlı ebeveyn ve F1 generasyonunda da aynı gözlenmiştir. Bu sonuç, duyarlı ebeveyn İzmir 85 çeşidinin *Lr13* genini taşıyabileceğine işaret etmektedir. Thatcher yakın izogenik hatlarından bireysel DNA ve DNA bulkları oluşturulmuş ve böyle bir uygulamanın Thatcher yakın izogenik hatlarının dahil olduğu moleküler çalışmaların süresi ve maliyeti açısından faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Szabo ve Kolmer (2007), fitopatojenik pas mantarı *Puccinia triticina* için 18 adet polimorfik di- ve trinükleotid basit sekans tekrarlamaya markörü geliştirilmiştir. Allelik çeşitlilik, her lokusta iki ila dokuz allel arasında değişmektedir. Gözlemlenen heterozigozite seviyeleri 0.095 ila 0.952 arasındadır. Yedi lokus Hardy-Weinberg önemlilik derecesinden ($P < 0.002$) önemli ölçüde sapmıştır (% 70), beklenen heterozigotluktan daha yüksek gözlemlenen heterozigotluk seviyelerine sahiptir. Diğer tahıl pas mantarlarının bir ön ekranı (*P. coronata*, *P. graminis*, *P. recondita* ve *P. striiformis*), bu primer çiftlerinin *P. triticina* Bitki patojenik pas mantarı *Puccinia triticina* için basit dizi tekrarlamaya işaretleyicilerine özgü olduğunu göstermiştir.

Wang ve ark. (2007), Çin Ziraat Üniversitesi'nde yürüttükleri ıslah çalışmaları sonucu geliştirdikleri 5R618 no' lu buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidinin o bölgede mevcut olan tüm kahverengi pas (*Puccinia triticina*) patojenlerine karşı dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. 5R618 serisindeki kahverengi pas dayanıklılık genini tanımlamak ve haritalamak için 5R618 ile Zhengzhou5389 (duyarlı) buğday çeşidi arasında melezlemeler yapmışlardır ve bu melezleme çalışmaları sonucunda oluşan F2 bitkileri ve ebeveyn genotiplerini, serada kontrollü koşullar altında; Chinese *P. triticina* pathotype “THJP” patojeni ile inoküle etmişlerdir. Moleküler markör metodu kullanılarak, F2 ve ebeveyn genotiplerinde, Lr5R olarak adlandırılan tek bir dominant genin, kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı olunmasının sebebi olduğu anlaşılmıştır. Bu genin, buğdayın 3DL kromozomunda, sırasıyla 0.9 cM ve 1.0 cM genetik mesafeleri ile işaretleyiciler Xbarc71 ve OPJ-09 ile bağlantılı olduğu da moleküler markör yöntemi ile tespit edilmiştir. Şu anda 3DL kromozomunda sadece Lr24 geni belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu tespit edilen Lr5R geninin Lr24 geni ile arasındaki genetik mesafe Lr5R'nin yeni bir yaprak pas direnci geni olduğunu doğrulamaktadır.

Furan ve Yüce (2009), sarı pasa dayanıklı ve duyarlı bazı ekmeklik buğday genotipleri arasında pasa dayanıklılık açısından DNA düzeyinde SSR markörleri yardımıyla genetik analizlerin incelenmesi amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Sarı pasa dayanıklı ve duyarlı olan bu genotiplerin arasındaki genetik ilişki SSR (Simple Sequence Repeat) markörlerinin kullanılması ile incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmada sarı pasa duyarlı yerli çeşit ile dayanıklılık geni barındıran yakın izogenik test hattı melezlenmiş, ebeveynler ile bunların F1 ve F2 döllerini üzerinde SSR moleküler markörleri kullanılarak genetik analizleri yapılmıştır. Çalışmanın SSR analizleri forward ve reverse olmak üzere 5 SSR primeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan moleküler markör analizi sonucunda sarı pasa duyarlı yerli çeşit ile tek gen dayanıklı hat arasındaki genetik benzerlik ve farklılıklar moleküler düzeyde ortaya konmuştur. Ayrıca bu çalışmayla moleküler markör kullanımının dayanıklılık ıslahındaki önemi ve gerekliliği bir kez daha vurgulanmıştır

Rosewarne ve ark. (2008), 3 yıl süren çalışmasında, dünyada yaygın olarak ekilen ve kahverengi pas hastalığına dayanıklılıkta donör olarak kullanılan Atilla ekmeklik buğday çeşidi ile duyarlı bir ebeveyn olan Avocet-S arasındaki çaprazlama çalışmaları sonucunda kahverengi pas hastalık genine dayanıklılık ile ilişkili kromozomal bölgeler tanımlanmıştır. Kromozom 1BL üzerinde Lr46 / Yr29 dahil olmak üzere üç lokusun kahverengi pasa dayanıklılık sağladığı tespit edilmiştir.

Elyasi-Gomari ve Lesovaya, (2009), kahverengi pasa dayanıklılık için önemli olan farklı Lr genlerine sahip Thatcher ve 36 adet izogenik Thatcher hatlarını Ukrayna' da iki farklı lokasyonda doğal enfeksiyon koşullarında hastalığa karşı reaksiyonları açısından incelemişlerdir. Araştırmacılar Lr9, Lr19, Lr24, Lr25, ve Lr28 genlerini taşıyan hatların her iki lokasyonda yüksek derecede dayanıklılık gösterdiğini bildirmektedirler.

Hanzolava ve ark. (2009), Çek Cumhuriyeti'nde kayıtlı yirmi yedi kışlık buğday çeşidi kahverengi pasa dayanıklılık genleri olan Lr26 ve Lr37'nin varlığı için, yirmisekiz çeşit ise Lr10'un varlığı için moleküler belirteçler ile taranmıştır. Lr37 geni onbir çeşitte, Lr10 geni on çeşitte ve Lr 37 geni ise 4 çeşitte tespit edilmiştir. Ayrıca sekiz çeşidin iki Lr genini bir çeşidin ise üç Lr geninide taşıdığı belirlenmiştir.

Vida ve ark. (2009), daha önce Macaristan' daki buğday çeşitlerinde görülmemiş kahverengi pas dayanıklılık genleri olan Lr9, Lr24, Lr25, Lr29, Lr35 ve Lr37 genlerini, PCR bazlı MAS (Markör Ağırlıklı Seleksiyon) yöntemi ile Martonvasar kışlık buğday türüne aktarmayı planladığı çalışmasında, geri melezleme programı ile bu genleri, Martonvasar kışlık buğday çeşidine aktarmayı başarmıştır. Çalışmanın sonucunda kahverengi pas dayanıklılık genleri, buğday çeşitlerinde ve melez hatlarında moleküler belirteçlerle tanımlanmıştır. Lr26 ve Lr34 dayanıklı genleri, Martonvasar gen havuzunda sıklıkla görülür hale gelmiştir, Lr37 geninin varlığı da bir dizi Macar genotipinde tespit edilmiştir.

Zhang ve ark. (2011), dayanıklı genotip Bimai 16 ve duyarlı genotip Thatcher arasındaki melezlemeden elde ettiği F1, F2 ve F3 hatlarında, kahverengi pasa karşı

dayanıklılık için yeni genlerin belirlenmesi ve haritalanması amacı ile, serada *Peptinia triticina* FITT ve PHTS Çin patojenleri ile inoküle etmiştir. İlk fide testinde, Bimai 16, Thatcher, 20 F1 bitkisi, 359 F2 bitkisi ve 298 F3 hattı, FHTT patojeninden enfekte olduğunu belirlemişlerdir. Ebeveynleri, dayanıklı ve duyarlı yığınları test etmek için 1,255 basit dizi tekrarı (SSR) primer çifti kullanılmıştır. F2 ve F3 popülasyonlarının genotiplendirilmesinde 7BL kromozomunda yedi polimorfik belirteç kullanılmıştır. Sonuçlar, Bimai 16'nın, sırasıyla, 2.8 ve 2.9 cM genetik mesafeleri olan, SSR işaretleyicileri Xcfa2257 ve Xgwm344 ile yakından bağlantılı olan, LrBi16 olarak adlandırılan tek bir dominant dayanıklılık geni taşıdığını göstermiştir. Genlerden biri, LrBi16 diğerinin ise, 1BL kromozomunda bulunan LrZH84 olması muhtemel görülmüştür. LrBi16 ile bitkilerin fide reaksiyon dönemi reaksiyonu, 7BL kromozomunda bulunan Lr14a ve Lr14b ile Thatcher hatlarından farklı bulunmuştur. LrBi16'nın yeni bir pas direnci geni olduğu bu sayede anlaşılmıştır.

Kassem ve ark. (2011), 103 ekmeklik buğday çeşidinin kahverengi pasa dayanıklılık durumlarını belirlemek amacıyla önce sera ve laboratuvar koşullarında fide dönemi dayanıklılık durumlarını tespit etmiş daha sonrada 2007/08 ve 2008/09 yıllarında Suriye ve Lübnan'da tarla koşullarında denemiş ve dayanıklı olduğu saptanan genotipleri deneme materyali olarak ele almıştır. Bu çeşitlerde, kahverengi pas dayanıklılık genleri olan Lr15, Lr 19, Lr 24, Lr 25, Lr 27 +31, Lr 28 ve Lr 29 genlerinin varlığı SSR primerleri ile taranmıştır. Laboratuvar ve sera denemelerinde dayanıklılık gösteren çeşitler moleküler tarama sonucunda 130 bp'de polimorfik bant vermişlerdir. 130 bp'de ki bant, dayanıklı genotiplerin Lr19 ve Sr25'e bağlı olduğunu göstermiştir. Bunun sonucunda çalışmada, Lr19 ve Sr25' dayanıklılık geni taşıyan oniki genotip tespit edilmiştir, bu çeşitler Akdeniz bölgesinde buğday yetiştirme programlarında kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık geni taşıyan çeşitler olarak ıslah programlarında yer alabilecektir.

Vanzetti ve ark. (2011), tarafından yürütülen çalışmada Arjantin'de yetiştirilen 66 buğday çeşidinde kahverengi pas hastalığına karşı gösterilen dayanıklılığa neden olan Lr genlerini tanımlamak amaçlanmıştır. Bu amaçla kahverengi pas hastalığına karşı taşıdıkları dayanıklılık genleri bilinen 24 hat ve Arjantinden toplanan, kahverengi pas

hastalığına dayanıklılık gösteren 17 hat test edilmiştir. Kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genleri olan Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr21, Lr24, Lr25, Lr26, Lr29, Lr34, Lr35, Lr37, Lr47 ve Lr51'in varlıkları moleküler belirteçler kullanılarak deneme materyali olan genotiplerde taranmıştır ve Lr1, Lr3a, Lr3ka, Lr9, Lr10, Lr16, Lr17, Lr19, Lr24, Lr26, Lr41 olmak üzere onbir farklı Lr geni tespit edilmiştir. Lr21, Lr25, Lr29 ve Lr47 dayanıklılık genlerinin varlığı ise çalışmada kullanılan on yedi genotipte görülmemiştir. Fide döneminde kahverengi pasa dayanıklılık gösteren, Lr16 veya Lr47, Lr19, Lr41 genleri taşıyan genotipler çalışmada yer alan tüm patojenler ya da çoğuna dayanıklılık gösteren en dayanıklı grup olmuşlardır. Diğer taraftan, fide dayanıklılık evresinde, Lr1, Lr3a, Lr3a + Lr24, Lr10, Lr3a + Lr10, Lr3a + Lr10 + Lr24 genleri taşıyan genotipler yerel patojenlere karşı en yüksek dayanıklılığı göstermişlerdir. Sonuç olarak, Lr16, Lr47, Lr19, Lr41, Lr21, Lr25 ve Lr29 gibi fide dayanıklılık genleri, Lr34, SV2, Lr46 gibi yetişkin bitki dayanıklılık genleri içeren kombinasyonların muhtemelen bölgedeki kahverengi pas hastalığına dayanıklılığı sağlayacağı ve etkili bir dayanıklılık ortaya koyabileceği sonucuna varılmıştır.

Wajid (2011), yürüttüğü çalışmasında, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr10'un varlığını Pakistan'da ıslah edilmiş 25 farklı genotipte STS primeri kullanarak taramıştır. Araştırmada yer alan 25 genotip, Hazara Üniversitesi Botanik Bahçesinde yetiştirilmiştir. Bunlardan 18 tanesinin Lr10 genini taşıdığı 7 tanesinin ise Lr10 geni taşımadığı yapılan moleküler analizler sonucunda ortaya konmuştur. Bu çalışma sayesinde Pakistan'da yürütülen ıslah çalışmalarında, kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr10 için yapılacak çalışmalara gen pramidi temeli oluşturulmuştur.

Sheikh ve ark. (2012), 20 buğday çeşidinde, 34 polimorfik Basit Sekans Tekrarı (SSR) primerleri kullanarak bu genotiplerin moleküler karakterizasyonunu ve genetik çeşitliliğini araştırmıştır. Yaklaşık otuz bir lokus bulmuştur. Kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr19, çalışmada yer alan 20 buğday genotipinin hepsinde varlığı belirlenmiştir. Çalışmada yer alan çeşitlerin genetik benzerlikleri incelendiğinde, Shalimar-86, Chakwal-86, SH-02 ve Ufaq, % 98.94 oranında yüksek genetik benzerlik göstermiştir. Chakwal-50 ile Bhakar ise % 74 genetik benzerlik göstererek minimum

genetik benzerlik göstermiştir. Çalışma sonucunda, SSR primerlerin tüm genotiplerde ve genotiplerde ki farklı bölgelerde rahatlıkla çalışabildiğini ve genetik çeşitlilik çalışmalarında başarıyla kullanılabildiğini ortaya koymuştur.

Vasisthal ve ark. (2014), çalışma, Hindistan ve CIMMYT menşeli seçilmiş buğday çeşitlerinde, moleküler belirteçler (primerler) kullanılarak kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerini (Lr) tanımlamayı amaçlamıştır. Lr13, Lr34, Lr35, Lr37, Lr39, Lr46, Lr47, Lr50, Lr67 ve Lr68 gibi farklı dayanıklılık genlerinin varlığı, SSR, STS ve CAPS gibi PCR bazlı moleküler belirteçler aracılığıyla doğrulanmıştır. Test edilen genotiplerde Lr13, Lr34, Lr35, Lr37, Lr39, Lr46, Lr47, Lr50, Lr67 ve Lr68'in varlığı, Xgwm630, csLV34-7DS, Sr39 / Lr35, VENTRIUP-LN2, Xgwm210 moleküler markörlerin benzersiz bir amplifikasyonu ile doğrulanmıştır. Xgwm259, PS10, Xgwm382, cfd71 ve cs7BLNLR. 10 genotipin HFW468 dışındaki tüm buğday genotiplerinde Lr13 geninin varlığı mevcuttur. Genotipler, HUW234, HUW468 ve Chirya3, LR34gene özgü 150 bp'lik bir fragmanın varlığını göstermiştir. Lr35, Lr37, Lr39, Lr47 ve Lr67'ye özgü 512 bp'lik (SCS265) tek bir fragman, tüm 10 genotipte mevcut değildir. Lr46 geni HUW234, Fret2 / Tukru / Fret2 hariç tüm genotiplerde bulunur. Lr50, tüm genotiplerde bulunurken, Lr68 sadece HUW510, Waxwing2 * / Kiritati, Kiritati / Seri / Rayon gibi üç genotipte bulunmuştur.

Ashraf ve ark. (2015), Mısır buğday çeşitlerinde kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık genlerini değerlendirmek ve tespit etmek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, on beş çeşidin on tanesi, 2011/2012 ve 2012/2013 sezonları boyunca, Dakahlia, Kafr el-Sheikh, Beheira ve Sharqia olmak üzere dört farklı lokasyonda kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık göstermiştir. Spesifik SSR primerleri kullanılarak varlığı araştırılan kahverengi pas dayanıklılık geni Lr19, beş çeşidin (Sakha-95, Gemmeiza-9, Gemmeiza-10, Misr-1 ve Misr-2) genomunda tespit edilmiştir. Test edilen tüm çeşitlerde Lr21, Lr24, Lr47 ve Lr51 genleri de belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Lr19, Lr21, Lr24, Lr47 ve Lr51 dayanıklılık genlerine sahip genotipler belirlenmiştir ve bu genotiplerin kahverengi pas hastalığına dayanıklı çeşitlerin geliştirmesi için yürütülen ıslah çalışmalarında önemli rol oynayacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Goutam ve ark. (2015), buğdayda verim kaybına sebep olan hastalıkların başında Fungal kaynaklı hastalıklar gelmektedir. Fungal hastalık verim kaybına sebep olarak yayılmaları; popülasyondaki patojen miktarına, genetik ve patolojik değişkenliğe, dayanıklı çeşitlerin varlığına ve farklı bölgelerde ortaya çıkan yeni epidemiler ile o epidemilere dayanıklılık gösterebilecek çeşitlerin varlığına bağlıdır. Buğdayda fungal hastalıklara dayanıklılık sağlamak amacıyla yapılan klasik ıslah çalışmaları çok zaman almaktadır ve sonuca ulaşıldığında o çevreye bulaşan epidemi değişirse dayanıklılık kazandırılan çeşit duyarlı veya dayanıksız hale düşebilmektedir. Moleküler markörler yardımı ile yapılan ıslah çalışmaları ise fungal kaynaklı hastalıklara dayanıklı çeşitler geliştirmek için daha ideal ve kısa süreç gerektiren bir yoldur. Hastalığa sebep olan genin markör ile belirlenmesi ve daha sonra bu genin varlığına göre Moleküler Destekli Seleksiyon (MAS) yöntemi ile doğru çeşit seçiminin yapılması ve bu seçimin genom üzerinden gerçekleşmesi hataya sebep vermeden doğru sonuca ulaşılmasını sağlamaktadır.

Liu-sha ve ark. (2015), Çin buğday hattı Yu 356-9, kahverengi pas hastalığına yüksek dayanıklılık gösteren bir çeşittir. Yu 356-9'daki genetik temel dayanımını çözmek için gen ekspresyon, kalıtım analizleri ve kromozom bağlantı haritalaması yapılmıştır. 15 yaprak pas patajoni ve 36 izojenik hat kullanılarak tamamlanan gen postülasyonu, Yu356-9'un test edilen tüm patojenlere karşı dayanıklı olduğunu göstermiştir. Yu 356-9 (dayanıklı) / Zhengzhou 5389 (duyarlı) çaprazlarından F1 ve F2 bitkileri serada yaprak pası olan "FHNQ" ile test edilmiştir. Sonuçlar, Yu 356-9'da tek bir baskın yaprak pas dayanıklılık geninin varlığının göstergesi olan 3: 1 segregasyon oranını göstermiş olup LrYu olarak tanımlanmıştır. Devam eden çalışmalar sonucunda kromozom 2BS üzerinde beş SSR belirteçleri LrYu ile yakından ilişkili bulunmuştur. Bu işaretleyiciler arasında Xwmc770, 5.7 cm genetik mesafeyle en yakından bağlantı olarak tespit edilmiştir.

Kılıç (2017), Trakya Bölgesi'nde Lr9, Lr19 ve Lr24 kahverengi pas dayanıklılık genleri bölgedeki tüm pas ırklarına karşı dayanıklılık sağladığını ve tek bir gen tarafından sağlanan dayanıklılık çabuk kırılabileceğinden, moleküler markörler yardımıyla birden

fazla dayanıklılık geniyle çalışmak ve bir genotipte toplanmasını (gen piramitleme) sağlamak mümkün olduğunu belirttiği çalışmasında Lr9, Lr19 ve Lr24 genleriyle bağlantılı olduğu bilinen moleküler markırları test etmiştir. Bunun sonucunda Lr9 geni için SCS5, Lr19 geni için S253, S265, GbF/GbR ve Xwmc221, Lr24 geni için J09-1/J09-2 ve H51/H52 markırlar selektif bulunmuş ve yapılacak ıslah çalışmalarında markır destekli seleksiyon (MAS)'da başarıyla kullanılabilceği belirtilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Çalışmada ülkemizde bulunan farklı Tarımsal Araştırma Enstitüleri ile Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen 22 ekmeklik buğday çeşidi ve 3 adet kahverengi pas hastalığı geni bakımından genotipi bilinen CIMMYT-Meksika'dan sağlanan izogenik hatlar (Thatcher hat-Lr10, Lr19, TcHassas), bu genotipler arasında gerçekleştirilen melezlemeler sonucunda elde edilen 13 adet F1 melezi ile beraber toplamda 38 genotip kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan buğday çeşitleri ve pedigrileri, çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edildiği kuruluşlar Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan çeşitlerin ıslahçı kuruluşları ve temin edilen kuruluşlar

Genotipler	Pedigree	Islahçı Kuruluş	Temin Edilen Kuruluş
Aldane	Trakya Tarımsal Araştırma Ens. 2009 BUL2477-2/3/PKG/LOU113//JSW3	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne
Bayraktar	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü (Ankara)	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Bezostaja	Rusya LUIENCES17/SKOROSPELKA2	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens./Eskişehir	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Ceyhan-99	Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü	Çukurova Tarımsal Arş. Ens. /Adana	Çukurova Tarımsal Arş. Ens. /Adana
Cumhuriyet75	ISWRN-297//SONORA-64/ANDES-64-A/3/FEDERATION*2/AUS-11338	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Flamura-85	RANNYAYA-12 / NADADORES-63 // LOVRIN-12	Romanya orijinlidir (TAREKS A.Ş. tarafından 1999 yılında tescil edilmiştir)	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi /Bursa
Gerek-79	MENK "S"/MY 48// 4-11/3/ YAYLA 305	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens./Eskişehir	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens./Eskişehir

Golia

MANİTAL / ORSO

İtalya orjinli olup TİGEM
tarafından üretilmektedir

Uludağ Üniversitesi
Ziraat Fakültesi
/Bursa



Çizelge 3.1. ‘in devamı

Gönen-98	II-8156-R / MARA // BLUBIRD	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Guadalupe		Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens.Ankara TİGEM	Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens.Ankara TİGEM
Gün-91	F35.70/Mochis73	Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens.Ankara TİGEM	Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens. Ankara TİGEM
İkizce-96	ATR*2/7C//BL	Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens.Ankara TİGEM	Tarla Bitkileri Merkez Arş.Ens.Ankara TİGEM
Kaşifbey-95	PFAU “S” CM38212- I- 7Y- 2M- 1Y- 3M-2Y- OM	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir
Pehlivan	BEZ/ TUR/5/ CFN/BEZ	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne
Köksal-2000	KATEA-I / MOMTCHILL	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bursa
Atila-12	MV12=MIR808/BEZ1/3/BEZ17 PRODOTTORE//BEZ1	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Edirne
Bandırma-97			Bursa Tarım İl Müdürlüğü
Karacabey-97			Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Tahirova2000	Mısır Araştırma İstasyonu Müdürlüğü/Sakarya	Mısır Araştırma İstasyonu Müdürlüğü/Sakarya	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi
İzmir-85		Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Menemen/İzmir	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma
Köse 093/39			Tarla Bitkileri Merkez Araştırma
Karatopak	Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (DATAE, Erzurum)	Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Erzurum)	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma

Tezde deneme materyali olarak kullanılan çeşitlerin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Aldane: Beyaz başaklı, kılçıksız bir çeşittir. Başakları uzun olup yarı eğik yapıdadır. Bitki boyu 90-95 cm’dir. Danesi oval ve çok iri, kırmızı renkli ve sert-yarı sert

yapıdadır. Alternatif bir çeşit olup soğuklara dayanıklılığı iyidir. Kavuz yapısı tohumu sıkı kavradığı için geç dönem yağışlardan az etkilenir. Marmara bölgesi ile kışlık ekim yapılan diğer bölgelerde her türlü alanlarda ve toprak yapısında ekimi tavsiye edilir. Kardeşlenme kapasitesi iyi olup verim potansiyeli orta değerdedir (400-650 kg/da). Erkenci, orta boylu ve sağlam saplı bir çeşit olup normal koşullarda yatmaya karşı dayanıklıdır. Kahverengi pasa dayanıklı olup, küllemeye toleranslı, kök ve kök boğazı hastalıklarına hassastır. Trakya, Marmara, geçit bölgeleri ve İç Anadolu'nun taban ve yarı taban alanları için önerilmektedir. Yüksek kaliteli ekmeklik bir çeşittir. Bin tane ağırlığı 42,5 g, hektolitreye ağırlığı 80.1 kg/hl, protein oranı % 14.7, gluten % 40.4, gluten indeksi % 91.5, tane sertliği 55 ve sedimantasyon 54 ml'dir.

Bayraktar-2000: Beyaz başaklı, kılçıklı, beyaz ve yarı sert taneli, orta boylu bir çeşittir. Kışlık gelişme tabiatında ve erkenci, soğuğa, kurağa ve yatmaya dayanıklı, kardeşlenme kapasitesi yüksek olduğundan yabancı otlarla rekabeti iyi, gübreye reaksiyonu yüksek, tane dökmeyen ve harman olma kabiliyeti iyi olan bir çeşittir. Verimi, yaklaşık olarak 300-400 kg/da' dır. Yapay epidemide sarı pasa dayanıklıdır. Rastık ve Sürmeye hastalıklarına karşı tohum ilaçlaması yapılmalıdır. 1000 tane ağırlığı 32.-34 gramdır. Hektolitreye ağırlığı 78-80 kg/hl, protein oranı %11-14 ekmeklik kalitesi orta seviyededir. İlkbahar gelişimi hızlı ve erkenci olduğu için özellikle İç Anadolu ve Geçit Bölgelerinin buğday tarımı yapılan kıraç ve yarı taban alanlarına tavsiye edilmektedir. Bölgenin kurağın sorun olduğu alanlarında güvenle yetiştirilebilir.

Bezostaja: Dünyada kalitenin standardıdır. Protein oranı %17 seviyelerine kadar çıkmaktadır. Sap kısa boylu, sağlam yapılı ve gri yeşil renkli olup yaprakları tüsüzdür. Kılçıksız, beyaz kavuzlu, orta uzun, orta sık ve dik başaklıdır. Sert-kırmızı camsı taneli olup, 1000 tane ağırlığı 40-44 g'dır. Tanelerde karın yarığı derin olup, karın yanakları keskindir ve tanenin sırtı yüksektir. Kışlık bir çeşit olup, soğuğa dayanıklıdır. Ancak kurağa dayanıklılığı azdır. Az kardeşlenir, gübreye reaksiyonu iyidir. Erkenciliği orta olup yatmaya dayanıklıdır. En iyi sonuç sonbaharda erken çıkış sağlandığında alınır. Kardeşlenmesinin düşük olmasından dolayı verim potansiyeli tane ve başak büyüklüğünden kaynaklanır. İlkbahar son donlarından zarar görmez. Ancak yaz kuraklarından fazlaca etkilendiği için kır-bayır tarlalar ve yeterli yağış almayan

yörelerdeki alanlar için uygun değildir. Sarı pasa dayanıklı olup, kara ve kahverengi pasa orta derecede dayanıklıdır. Sürme ve rastığa orta hassastır. Kök ve kök boğazı çürüklüklerinden önemli ölçüde etkilenir. Adaptasyonu en geniş çeşittir. Trakya, Kuzey ve Batı Geçit Bölgeleriyle Orta Anadolu'nun taban ve sulanabilen alanlara tavsiye edilir.

Ceyhan-99: Bitki boyu 90-100 cm olup yatmaya dayanıklıdır. Beyaz kılçıklı başak yapısına sahiptir. Başak uzunluğu orta olup, başaklar dik duruşludur. Taneleri oval, sert, beyaz renkli olup, 1000 tane ağırlığı 42-45 g'dır. Kışa ve kurağa orta derecede dayanıklı ekmeklik bir buğday çeşididir. Yatmaya mukavim olup, gübreye reaksiyonu iyidir. Hasat-Harman kabiliyeti iyidir. Hasat olgunluğunda kılçıkları dökülmez. Kışa ve kurağa orta derece dayanıklıdır. Sarı pasa ve septorya hastalıklarına dayanıklı, kahverengi pasa orta dayanıklıdır. Erkenci, yüksek verimli, ekmeklik kalitesi iyidir. Tüm sahil bölgeleri ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi için önerilmektedir (TİGEM).

Cumhuriyet-75: Rengi çok beyaz olup, eliptik-uzun, orta geniş bir taneye sahiptir. Kılçıklıdır. Beyaz buğdaylar içinde en iri olanıdır. 1000 tane ağırlığı 50-54 g'dır. Erkenci ve verimlidir. Yazlık gelişme tabiatlıdır. Kışa dayanması sahil bölgeleri için iyi, kurağa dayanması orta, erkenci ve yüksek verimli bir çeşittir. Gübreye karşı reaksiyonu iyidir. Tane dökmez ve harman olma kabiliyeti iyidir. Kara ve kahverengi pasa dayanıklı, sarı pasa hassas, septoriaya orta derecede dayanıklı, rastık ve sürmeye hassastır. Sahil kuşağında, kır-taban sahalarda ekimi tavsiye edilir.

Flamura-85: Dünyada kalitenin standardıdır. Beyaz başaklı, kılçıklı bir çeşittir. Başakları uzun olup yarı eğik bir görünüm arzeder. Bitki boyu 85-95 cm'dir. Tanesi iri kırmızı renkli ve sert yarı sert yapıdadır. Kışlık bir çeşit olup soğuklara dayanıklılığı iyidir. Marmara bölgesi ile kışlık ekim yapılan diğer bölgelerde taban ve yarı taban alanlarda ekimi tavsiye edilir. Kardeşlenme kapasitesi iyi olup verim potansiyeli orta veya yüksektir (350-600 kg/da).Orta erkenci, orta boylu ve sağlam saplı bir çeşit olup yatmaya karşı dayanıklıdır. Küllemeye karşı dayanıklıdır. Sarı pasa ve Kahverengi pasa toleranslı olup başakta fusariuma orta dayanıklıdır. Kök ve kök boğazı hastalıklarına karşı toleranslıdır. Tohumlar sürme ile bulaşık olması halinde ekimden önce tohum

ilaçlaması yapılmalıdır. Tanesi kırmızı sert-yarı sert ve iri yapıda olup ekmeklik kalitesi çok iyidir. Bindane ağırlığı 37-41 g, hektolitre ağırlığı 78-82 kg/hl, protein oranı %13-14, un verimi %65-70, sedimantasyon 40-50 ml, gecikmeli sedim 50-60 ml, absorpsiyon oranı %60-66, gluten %40-50, gluten indeksi % 80-90 ve enerji değeri 260-290 joul arasındadır.

Gerek-79: Kılçıklıdır. Beyaz renklidir Sap orta boylu, yapraklar tüsüz ve orta büyüklüktedir. Sap sağlamlığı iyidir. Kılçıklı, başak ve kavuzları kahverengidir. Başak orta uzun, orta sıklıkta ve dik duruşludur. Yumuşak beyaz taneli olup, karın yanakları dar ve sırtı düz olduğundan tane ince uzun görünümündedir. 1000 tane ağırlığı 32-36 gramdır. Kışlık, soğuğa ve kurağa dayanıklı olup, kardeşlenmesi yüksektir. Orta erkenci ve adaptasyon sınırı çok geniştir. Dane dökmez, harman olma kabiliyeti iyidir. Yetiştirme şartlarının kısıtlı olduğu durumlarda diğer çeşitlere oranla yüksek verimlidir. Kıraç toprakların ve kuraklığın sigortasıdır. Çinko noksanlığına, bor fazlalığına nematoda en dayanıklı çeşittir. Sarı ve kahverengi paslara toleranslı, kara pasa orta hassas, راستیغا oldukça hassas, sürmeye dayanıklıdır. Orta Anadolu, Kuzey Batı Geçit ile Doğu Anadolu'nun kışları nispeten ılık geçen yörelerine tavsiye edilmektedir.

Golia: Kısa boyludur. Bitki boyu 65-80 cm arasındadır. Yapraklar koyu yeşil, orta tüylülükte, oval şekilli ve dik duruşludur. Beyaz renklidir. Kılçıklıdır. Taneler kırmızı mat renklidir ve oval yapıdadır. Erkenci, yüksek verimlidir. (Özellikle kuvvetli topraklarda) Bin dane ağırlığı 63-37 g'dır. Verimi 700-900 kg/da arasındadır. Ekmeklik kalitesi iyidir. Hektolitre ağırlığı 76-78 kg/hl. Yatmaya, soğuğa ve kurağa dayanıklıdır. Dane dökmeye mukavemeti iyidir. Yaprak hastalıklarına, sarı, kahverengi ve kara pas ile septoria'ya mukavim, küllenmeye hassastır. Alternatif bir çeşit olup, kışlık yetiştirme yönü daha fazladır. Soğuğa mukavemeti çok iyi, kurağa mukavemeti ortadır.. Sahil bölgeleri ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi için önerilmektedir (TİGEM).

Gönen-98: Başaklar paralel kenarlı, beyaz, yoğun yapıda ve kılçıklıdır. Taneler yuvarlak sert ve beyaz olup renk özelliği ve camsılığı açısından makarnalık buğdayla karıştırılabilir. Ekmeklik kalitesi çok iyidir. Yüksek verimlidir. 1000 tane ağırlığı 30-32 g'dır. Yazlık olan çeşidin harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Soğuğa

ve kurağa mukavemeti iyi seviyededir. Yatmaya ve dane dökmeye mukavemeti iyi seviyededir. Güney Marmara, Ege ve Güneydoğu Anadolu'nun sulu alanları için önerilmektedir. Kahverengi pasa hassas, sarı pasa orta hassas ve kara pasa orta dayanıklıdır (TİGEM). Bitki boyu orta uzunlukta olan çeşitte, yapraklar yeşil renkte ve düz bir yapıdadır.

Guadalupe: Başakları uzun, kılçıklı ve beyaz renktedir. · Tane rengi kırmızıdır. · 1000 tane ağırlığı 27.6-32.3 g arasındadır. Fransa'dan getirilen ve bu ülkede geniş alanda ekilen kaliteli bir çeşittir. Orta boyludur. Yatmaya dayanıklıdır. Kurağa hassastır. hasadından sonraki geç ekimlerde, yazlık karakteri sebebiyle yüksek verimlidir. Tüm sahil kuşağı için Yatmaya dayanıklıdır. Küllemeye, pas hastalıklarına ve septoria'ya orta dayanıklıdır (TİGEM).

Gün-91: Kılçıklı ve beyaz kavuzlu, başakları uzun, orta-sık ve yarı yatık, sağlam saplı ve orta boylu olup yatmaya dayanıklıdır. Kırmızı,sert taneli, Başakta tane sayısı yüksek, Orta erkencidir. Özellikle soğuğa, kışa ve kurağa dayanıklıdır. Yüksek rakımlı yerlerde de iyi verim alınmaktadır. Verimi ortalama olarak Kuru şartlarda 250-400 kg/da' dır. Harman olma kabiliyeti iyidir. Sarı pasa yapay epidemi altında hassas, Kara pasa orta dayanıklı ve kahverengi pasa hassastır. Rastık ve Sürmeye hastalıklarına karşı tohum ilaçlaması yapılmalıdır. 1000 tane ağırlığı 27-30 g, protein oranı % 12-14, hektolitre ağırlığı 76-79 kg/hl arasında, sedimantasyon değeri 35-40 ml, ekmeklik kalitesi birinci sınıftır. İç Anadolu ve Geçit Bölgeleri ile benzeri yörelerin yarı taban ve taban alanları ile özellikle yüksek alanlarına ve sert kılçıklı olması nedeni ile domuz zararının görüldüğü yerlere tavsiye edilir.

İkizce-96: Kardeşlenmesi yüksek, kalite özellikleri yönünden Bezostaya-1 ile aynı gruptadır. Kırmızı, sert taneli, kılçıklı ve beyaz başaklı, orta boylu ve sağlam saplıdır. Alternatif gelişme tabiatında, kardeşlenmesi iyi, kurağa ve soğuğa dayanıklılığı iyi, gübreye reaksiyonu yüksek, tane dökmeyen ve harman olma kabiliyeti iyi bir çeşittir. Verimi, kuru şartlarda 250-350kg/da' dır. Sarı pasa dayanıklı, kara pasa orta hassastır. Rastık ve Sürmeye hastalıklarına karşı tohum ilaçlaması yapılmalıdır. 1000 tane ağırlığı 30 g, hektolitre ağırlığı 79-81 kg/hl, protein oranı %13, İç Anadolu ve

Doğu Geçit Bölgeleri ile özellikle soğğun problem olduğu yüksek yerlerin kıraç ve yarı taban alanlarına tavsiye edilmektedir.

Kaşifbey-95: Dik başaklı, beyaz kılçıklıdır. Sap kısa boylu, 85–95 cm sağlam yapılı, yeşil renkli. Dış kavuz rengi sarı ve tüysüz olup tane dökmez. Beyaz renk ve yarı sert tanelidir. Ekmeklik kalitesi yüksektir. 1000 tane ağırlığı 36–39 g'dır. Hektolitre 78–81 kg/hl, sedimantasyon 30–39 ml olup protein oranı %4–12,7 dir. Kışlık ve yazlık bir çeşit olup, orta erkenci bir çeşit dir. Soğğa ve kuraklığa dayanıklıdır. Kardeşleşmesi çok iyidir, gübreye reaksiyonu iyidir. Ekenciliği orta olup yatmaya dayanıklıdır. En iyi sonuç sonbaharda 550 kg/dk ile erken çıkış sağlandığında maksimum 900 kg/dk alınır. İlkbahar son donlarından zarar görmez. Sarı pasa, kara ve kahverengi pasa iyi derecede dayanıklıdır. Sürme ve rastığa iyi hassastır. Başta Ege bölgesi, Güneydoğu ve yazlık buğday ekilen tüm yörelere önerilmektedir.

Pehlivan: Beyaz başaklı, kılçıksız bir çeşit olup başakları uzun ve dik bir yapıya sahiptir. Bitki boyu uzun olup 95-100 cm'dir. Kışlık bir çeşittir. Soğğa karşı dayanıklılığı çok iyi, kurak şartlara dayanıklılığı iyidir. Kardeşlenme kapasitesi oldukça yüksektir. Bu nedenle özellikle taban ve yarı taban alanlarda kullanılacak tohumluk miktarı m²'ye 450-500 daneyi geçmemelidir (16-18 kg/da). Yine uygulanacak gübre miktarı 12-15 kg/da saf azot olacak şekilde yapılmalıdır. Normal şartlarda yatmaya dayanıklı olup verim potansiyeli oldukça yüksektir (450-700 kg/da). Kurağa dayanıklı olduğundan kıraç koşullarda da ekimi tavsiye edilir. Marmara bölgesi ile kışlık ekim yapılan bütün bölgelere önerilen bir çeşittir. Sarı pasa orta dayanıklı, kahverengi pas ile kök ve kök boğazı hastalıklarına karşı hassastır. Özellikle Marmara bölgesi sahil kuşağı için yatma problemi olabilir. Tanesi kırmızı renkli, sert ve çok iri olup ekmeklik kalitesi iyi bir çeşittir. Bin tane ağırlığı 45.8 g, hektolitre ağırlığı 81.2 kg/hl, protein oranı % 12.4, gluten oranı % 38.9, gluten indeksi % 63.1 tane sertliği 54 ve sedimantasyon değeri 40 ml'dir.

Köksal-2000: Saplar orta boylu, yapraklar yatık yapıdadır. Başak orta uzunlukta, sarı renkte, kılçıksız ve oblong şekindedir. Başakçıklar orta sık yoğunluktadır. Taneler kehribar (kırmızımsı) renkte ve 1000 tane ağırlığı 29-35.6 g'dır. Hektolitre ağırlığı 75.0-

80.3 kg/hl, protein oranı %11.5-12.9, sedimantasyon değeri 28-35.9 ml, enerji değeri 112-264 joul, yumuşama değeri 50-110, absorpsiyon değeri % 62.0-64.5 ve un verimi %71'dir. Ekmeklik kalitesi iyidir. Tescil denemelerindeki ortalama verimi Sakarya-Marmara Bölgesi'nde 519.7 kg/da, Trakya-Marmara Bölgesi'nde 604.0 kg/da olup verim potansiyeli 892.9 kg/da'a kadar çıkmaktadır. Sarı pasa dayanıklı, kahverengi pasa hassas, kara pasa ve küllemeye toleranslıdır. Trakya ve Sakarya- Marmara Bölgeleri için tavsiye edilmektedir (Anonim 2001).

Atilla-12: Beyaz başaklı kılçıksız bir çeşit olup başakları uzun ve dik bir yapıya sahiptir. Bitki boyu orta uzunlukta olup 85-90 cm'dir. Tanesi kırmızı renkli sert ve orta iriliktir. Kışlık bir çeşit olup soğuklara dayanıklılığı çok iyidir. Kardeşlenme kapasitesi yüksektir. Bitki orta boylu ve sağlam saplı olduğundan yatmaya karşıda dayanıklıdır. Marmara Bölgesi ile kışlık ekim yapılan diğer bölgelerin taban ve yarı taban alanlarında ekimi tavsiye edilir. Kullanılacak tohumluk miktarı m²'ye 450-550 tane (18-20 kg/da), ve uygulanacak gübre miktarları 12-15 kg/da saf azot olacak şekilde yapılmalıdır. Verim potansiyeli orta-iyi derecede (350-600 kg/da) olan bir çeşittir. Sarı pasa dayanıklıdır. Kahverengi pas ve virüs hastalıklarına hassastır. Kök ve kök boğazı hastalıklarına toleranslıdır. Tohumlar sürme ile bulaşık olması halinde ekimden önce tohum ilaçlaması yapılmalıdır. Ekmeklik kalitesi iyidir. Bin dane ağırlığı 38-42 g. hektolitre ağırlığı 78-82 kg/hl, protein oranı %12-14, un verimi %65-70, sedimantasyon 35-45 ml, gecikmeli sedim 37-47 ml, gluten %35-45, gluten indeksi %60-70, absorpsiyon oranı %60-65 ve enerji değeri 200-230 joul arasındadır.

Bandırma-97: Çok beyaz ve çok iri daneli, 1000 dane ağırlığı 44 gr, danesi açısından göz dolduran bir çeşittir. Bitki boyunun yüksek, yapraklarının geniş ve güçlü olması nedeniyle saman verimi yüksektir. Gönen çeşidinin yerine rahatlıkla ikame edilebilir

Karacabey-97: Bitki boyu orta uzunlukta olan çeşitte, yapraklar yeşil renkte ve düz bir yapıdadır. Başaklar beyaz renkli, kılçıklı, orta sık ve uca doğru sivri yapıdadır. Taneler yumurta şeklinde ve kırmızıdır. 1000 tane ağırlığı 36 g'dır. Alternatif olan çeşidin harman olma kabiliyeti ve gübreye reaksiyonu iyidir. Soğuğa, kurağa ve yatmaya dayanıklıdır. Yapay ve doğal koşullarda sarı ve kahverengi pasa dayanıklıdır.

Karacabey ve civarı başta olmak üzere Marmara Bölgesi için tavsiye edilmektedir. (Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü)

Tahirova-2000: Bitki boyu 100-105 cm, kılçıklı, beyaz başağa sahip, iri, beyaz, yarı sert tane özelliğine sahiptir. Bin dane ağırlığı 34-46 g, hektolitre ağırlığı 77-82 kg/hl, ekmeklik kalitesi iyi olan yazlık bir çeşit olup orta erkencidir, kurağa dayanıklıdır, verimi 450-950 kg/da' dır. Pas ve küllemeye toleranslıdır.

İzmir-85: Sap orta boylu(60-80 cm) ve sağlam yapılıdır. Yaprakları açık yeşil renkli, tüysüz ve orta genişliktedir. Başakları kılçıklı, beyaz kavuzlu, uzun seyrek yapıda ve dik duruşludur. Beyaz-sert taneli ve 1000 tane ağırlığı 34-38 g'dır. Yazlık bir çeşit olup, sahil bölgelerinde soğuğa dayanıklılığı iyi, kurağa dayanıklılığı ise ortadır. Gübreye reaksiyonu iyidir. Geniş bir adaptasyon kabiliyetine sahiptir. Çıkıştan sapa kalkma devresine kadar yavaş gelişme tabiatındadır. Sarı pasa dayanıklı, diğer paslara, sürmeye ve rastığa karşı hassastır. Tüm sahil kuşağının ılıman geçen bölgeleri için tavsiye edilmektedir.

Köse 093/39: Başaklar kılçıksız, kırmızı başaklıdır. Tanesi uzunca ve az çok karınlıdır. Beyaz renklidir. Ekmeklik sert buğday olup, ekmeklik kalitesi iyidir. Alternatif, orta erkencidir. Kışa ve kurağa dayanıklı, yatmaya, tane dökmeye zayıftır. Verimli topraklarda yatar. 1000 tane ağırlığı 40 g'dır. Hastalıklara, özellikle sürmeye zayıftır. Orta Anadolu ve Geçit Bölgelerine tavsiye edilir. (Ankara yöresinde çok az yetiştirilmektedir.)

Karatopak: Başakları kılçıklı, beyaz danelidir. Bitki boyu 85-95 cm. Yatmaya dayanıklı, kurağa ve soğuğa orta dayanıklı, dane verimi ortalama 665 kg/da olan ekmeklik buğday çeşididir. Soğuğa ve kurağa dayanıklıdır. Protein oranı %11-12, bin tane ağırlığı 32-40 g, hektolitre ağırlığı 73-82 kg/hl ve sedim değeri 21-34 ml'dir. Sarı pas ve septorya hastalığına dayanıklı, kahverengi pas hastalığına ise orta dayanıklıdır.

3.2. Deneme Yerinin Özellikleri

Bu çalışmada bitki materyali olarak kullanılan çeşit ve hatların yetiştirilmesi ve melezleme çalışmaları 2013-2015 yıllarında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme alanında gerçekleştirilmiştir.

Uludağ Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği topraklarının mekanik analizi sonucunda elde edilen değerlerden toprakların genellikle ağır bünyeli, pH gruplandırılmasında yarısından fazlasının orta alkalın grubuna girdiği, tuzluluk gruplandırılmasında tamamının tuzluluk yönünden bir problemi olmadığı belirtilmiştir. Araştırma toprakları organik madde kapsamı yönünden sınıflandırıldığında humusça fakir olduğu ve sürekli tarım yapılması nedeniyle azalan organik maddenin topraklarda artırılmasının gerekliliği saptanmıştır. Çiftlik topraklarının çoğunluğunun Vertikal Büyük Toprak grubuna girdiği özellikle üst katmanlarda kirecin yıkadığını belirtilmiştir. Bu nedenle araştırma topraklarının büyük bölümü kireççe fakirdir. Araştırma topraklarının değişebilir potasyum, kalsiyum, magnezyum kapsamı oldukça yüksektir (Deveciler 2005).

İklim Durumu

Çalışmanı yürütüldüğü Bursa İlinde iklim, Karadeniz ile Akdeniz iklimleri arasında bir geçiş niteliği göstermektedir. Yaz dönemlerinde kuraklığın görülmediği ilde, kış ayları da çok sert geçmemektedir (Anonim 2010a).

Çalışmanın yürütüldüğü 2012-2015 yetiştirme sezonlarına ait Bursa Meteoroloji İstasyonu'ndan temin edilen ayların sıcaklık ve yağış değerleri ile aynı ayların uzun yılları kapsayan ortalama değerleri Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3.' de verilmiştir (Anonim 2010 b).

Sıcaklık değerlerinin yer aldığı Çizelge 3.2 'de buğday ekiminin gerçekleştiği Ekim ayından, hasat zamanı olan Haziran ayına kadar geçen süredeki sıcaklık değerleri yer almaktadır. Çizelge incelendiğinde 2012-2013 üretim sezonu ortalama sıcaklığın 13,6 °C, 2013-2014 yetiştirme sezonu ortalama sıcaklık değerinin 12,7 °C ve 2014-2015 yetiştirme sezonunda ait ortalama sıcaklık değerinin 12,4 °C olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.2. Uzun yıllar ve 2012-2015 yıllarına ait sıcaklık değerleri (°C)

Sıcaklık Ortalama Değerleri (°C)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	T	O
2012	3,1	3,6	7,1	15,2	17,8	24,6	26,9	25,1	21,8	18,5	12,7	7,6	208	17,4
2013	7,1	9,2	11	13,7	20,0	22,3	24,4	25,7	20,3	14,2	11,8	4,9	185	15,4
2014	9	9	11	15	18	22	26	26	20,7	16,4	11,3	9,3	192	16
2015	5,6	7,1	9,0	11,6	19,5	21,6	26,1	26,7	23,6	17,2	12	9,2	189,	15,8
1950-2015	5,4	6,3	8,4	12,8	17,6	22,1	24,6	24,3	20,1	15,2	10,7	7,4	175	14,6

2012- 2015 yılları arasında kalan 3 üretim sezonunda ortalama sıcaklık değeri 12,9 °C olarak hesaplanmıştır. Üretim sezonlarında ki en yüksek sıcaklık ortalaması 13,6 °C ile 2012-2013 üretim sezonunda görülürken en düşük sıcaklık ortalaması 12,4 °C ile 2014-2015 üretim sezonunda görülmüştür.

Toplam yağış değerlerinin yer aldığı çizelge 3.3'de buğdayın yetiştirme sezonu olan Ekim ayından Haziran ayına kadar olan yağış miktarları yer almaktadır. Çizelge incelendiğinde, 2012-2013 üretim sezonu ortalama yağış 111 mm, 2013-2014 yetiştirme sezonuna ait ortalama yağış miktarı 138 mm ve 2014-2015 yetiştirme sezonunda ortalama yağış 95,5 mm olduğu görülmektedir.

Çalışmanın yürütüldüğü 3 yetiştirme sezonunda ortalama yağış miktarı 114,8 mm olmuştur. Fakat her yıl yağış miktarları arasındaki fark düzensiz olarak bazen artmış bazen de azalmıştır. En yüksek yağış miktarı ortalaması 138 mm ile 2013-2014 yetiştirme sezonunda görülürken en düşük yağış miktarı 95,5 mm ile 2014-2015 yıllarında görülmüştür. Çalışmanın yürütüldüğü yıllarda ki en yüksek ve en düşük yağış miktarları arasında ki fark ciddi derece de önemlilik göstermektedir.

Çizelge 3.3. Uzun yıllar ve 2012-2015 yıllarına ait yağış değerleri (mm)

Toplam Yağış Değerleri (mm)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	T	O
2012	121.2	123.5	89.6	100.0	80.6	3.6	7.0	1.8	16.6	34.6	53.3	178.5	810	68
2013	93.4	80.2	78.2	43.0	23.8	60.2	21.0	1.4	16.6	746.0	60.8	38.6	1263	105
2014	30,8	20,4	42,4	112	96,8	94,4	4,6	45,4	115,6	68,6	72,4	143,2	847	71
2015	161.9	93.3	87.4	128.5	50.7	53.7	9,9	6.8	108.5					
1950-2015	87.6	74.6	69.7	63.4	44.3	34.3	15.3	15.7	39.5	68.8	78.5	103.4	556	46

Arazide Genotiplerin Yetiştirilmesi ve Melezleme Çalışmaları

Çalışmada yer alan ve ıslahçıları tarafından arazi denemeleri sonucunda kahverengi pasa duyarlı, dayanıklı ve dayanıksız oldukları belirtilen ekmeklik buğday çeşitleri ve Thatcher hatlar 2013-2014 üretim yılında tohum çoğaltmak amacıyla Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme Arazilerine ekilmiştir. 2014-2015 üretim yılında ise melez bahçeleri oluşturulmuş ve belirlenen genotipler arasında melezlemeler yapılmıştır. Elde edilen F1 tohumlarının tamamı ve çalışmada yer alan ekmeklik buğday çeşitleri ile Thatcher hatlar genomik çalışma yapılmak üzere Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Tohumluk laboratuvarına alınmıştır ve çimlendirme yapılana kadar her genotip ayrı ayrı paketlenerek +4 °C’de bekletilmiştir. 2015-2018 yılları arasında geçen üç üretim yılında çalışmada yer alan tüm genotiplerin arazide üretimine devam edilmiştir. Her sene genotiplerin agronomik ölçümleri alınmıştır.

2013-2014 Üretim Yılı

Araştırmada kullanılan 22 ekmeklik buğday çeşidi ve 3 Thatcher hat (TcHassas, Lr10, Lr19), Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Deneme alanında tohum çoğaltmak amacıyla Kasım 2013 tarihinde 2 m uzunluğundaki bir sıraya bir başak gelecek şekilde ekilmiştir. Ekimle beraber 7 kg/da azot ve 5 kg/da fosfor verilmiştir. Sapa kalkma başlangıcında da (Mart 2014) 8 kg/da azot ilave olarak verilmiştir. Haziran 2014'te agronomik ölçümler yapılmış ve Temmuz 2014'te tüm genotipler hasat edilmiştir.

2014-2015 Üretim Yılı

Genotiplerin ikinci yıl ekimi Kasım 2014'te melez bahçesi oluşturularak yapılmıştır. Bu amaçla, melez bahçesine 3 Kasım, 17 Kasım, 29 Kasım olmak üzere 3 farklı dönemde ekim yapılmıştır. Bu sayede yapılan melezlemelerde ana-baba bitkiler arasındaki senkronizasyon sağlanmış ve özellikle emasküle edilen ana bitkiler için baba bitkilerde toz bulamama sorunu yaşanmamıştır. Her genotip, her ekim döneminde 1 m uzunluğundaki sıralara 3 sıra ekilmiştir. Tüm çeşitlere ekimle beraber 7 kg/da azot ve 5 kg/da fosfor verilmiştir ayrıca sapa kalkma başlangıcında da (Mart -2015) 8 kg/da azot ilave olarak verilmiştir.

Çizelge 3.4. Melezleme Kombinasyonları

Köksal x Flamura	İzmir x Lr19
Köksal x Karatopak	Aldane x Karatopak
Köksal x Lr19	Flamura x Lr19
İkizce x Lr10	Bezostaja x Karatopak
İzmir x Karatopak	Aldane x Köksal
Flamura x Lr10	Flamura x Karatopak
TcHassas x Köksal	

Seçilen çeşitler arasında Nisan 2015 tarihinde 13 farklı kombinasyonda melezlemeler yapılmıştır. Temmuz 2015 yılında F1 genotipleri, ve çalışmada yer alan çeşitlerin agronomik ölçümleri alınmıştır ve hasat edilmiştir. Arazi çalışmaları sonucunda elde edilen F1 genotipleri de dahil tüm tohumlar laboratuvarında çimlendirilip DNA izolasyonu yapılmak üzere Uludağ Üniversitesi Tohumluk Laboratuvarına getirilmiştir.

Yapılan melezleme çalışmalarında izlenen basamaklar aşağıda verilmiştir;

-Melez Bahçesi Oluşturma: Melezleme programına dahil edilen genotipler, belirli bir düzen içerisinde el ile sıraya ekim olacak şekilde parseller oluşturularak ekimleri gerçekleştirilmiştir. Genotipler arası mesafe gerekli gözlemlerin yapılması, melezleme çalışmalarının sağlıklı yürütülmesi ve kafes kurma genişliği göz önünde bulundurularak en az 1,5 metre olacak şekilde ayarlanmıştır.

-Bitkilerin çıkışları takip edilmiştir ve gerekli bakım işlemleri (yabancı ot temizliği, gübreleme, sulama) zamanında dikkatlice yapılmıştır.

-Yıllara göre değişen sıcaklık ve yağış miktarı başaklanma tarihlerinde değişikliklere sebep olmaktadır bu sebeple bitkiler düzenli olarak takip edilmiştir ve başaklar yaprak kınından çıkmadan veya yeni çıkmaya başladıkları dönemlerde (Mart sonu, Nisan, Mayıs başı) melezleme çalışmalarına başlanmıştır.

-Emaskulasyon çalışmaları güneş ışınları toprağa dik gelmeye başlamadan yani hava tamamen ısınıp anterlerde gerginliğe-şişliğe sebep olmadan sabahın ilk ışıklarıyla beraber yapılmıştır. Gün doğumundan biraz sonra başlayan emaskulasyon işlemi sabah hava tamamen ısınmadan bitirilmiştir.

-Melezleme programında anne hat olarak kullanılacak genotipe ait parselde, birbirine yakın mesafede bulunan; kından yeni çıkmaya başlamış en az 3 başak seçilmiştir.

-Seçilen başak, yaprak kınından nazikçe çıkarılmış, bitki sapı henüz çok taze olduğundan kın yaprak sapını sağlamlaştırmak ve tutmayı kolaylaştırmak amacı ile sapın etrafına birkaç tur olacak şekilde sarılmıştır.

-Buğday bitkisinde bir başakçıkta genellikle 3 çiçek bulunmaktadır ve her çiçek içinde 3 stamen (erkek organ) ve 1 pistil (dişi organ) bulundurmaktadır. Emaskulasyon işleminde kolaylık olması açısından, başağın tepe ve alt kısmında bulunan çiçeklerin bir kısmı ve her 3'lü sırada ki orta çiçek melezleme pensi ile çekilerek çıkarılmış ve başaktan uzaklaştırılmıştır.

-Kalan başakçıkların her birinin tepe kısmı, toplam uzunluğunun yaklaşık 1/3'ü olacak şekilde kesilmiştir.

-Bu işlemlerden ardından başakçıklar emaskulasyon işlemine hazır hale gelmişlerdir.

-Emaskulasyon pensleri ile her başakçığa dikkatlice girilmiş ve mümkün olabildiğince tek seferde 3 anter çekilerek alınmıştır.

-Emaskulasyon işlemi sona erdiğinde her başakçık tek tek kontrol edilmiştir. Başakçıklarda sadece dişi organ kaldığına emin olduktan sonra, başaklar; üzerinde emaskulasyon yapan kişinin ismi, emaskule edilmiş bitkinin çeşit ismi ve emaskulasyon tarihi yazılı olan parşömen (izolasyon kağıdı) kağıdı ile toz verme işlemine kadar (1-2 gün) kapatılmıştır.

-İzolasyon kağıdı ile kapatılan başaklara toz verme işleminde kafes kurma yöntemini tercih edilmiştir.



Şekil 3.1. Seçilen başaklarda emaskülasyon işlemine hazırlık aşaması



Şekil 3.2. Buğday başağında emaskülasyon işlemi



Orta çiçekleri alınmış emaskülasyona hazır başak

Emaskülasyon sonucu başakçıklardan uzaklaştırılan erkek organlar

Emaskülasyon işlemi bitmiş, toz almaya hazır başak.

Şekil 3.3. Emaskülasyon işlemi sonrası başaklar



Şekil 3.4. Emaskülasyon işleminden sonra yabancı tozlara karşı koruma amaçlı kapatılmış başaklar



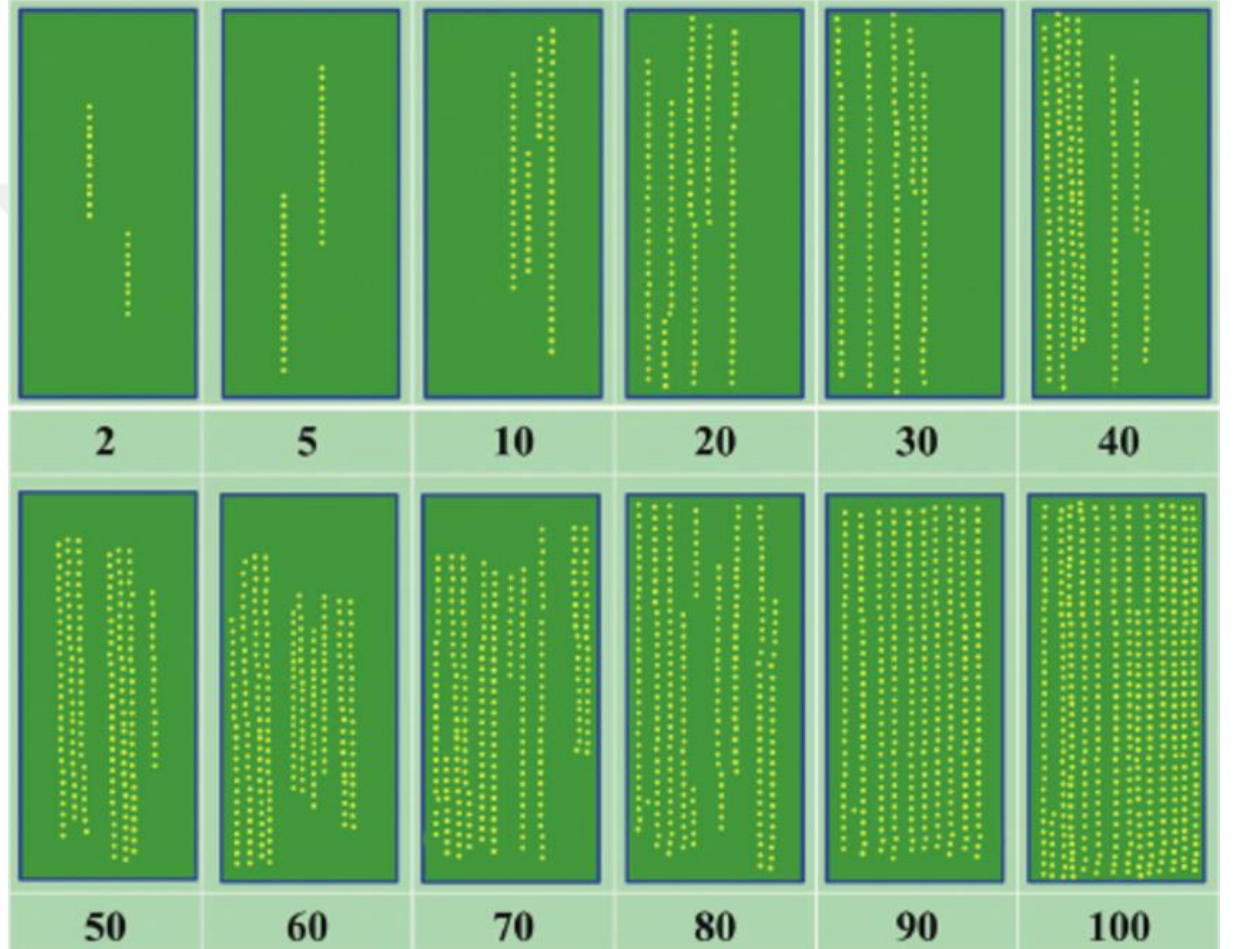
Şekil 3.5. Melez kombinasyonlarına kafes kurma işlemi



Şekil 3.6. Melezleme çalışması sonucunda tozlanmanın beklenmesi

Kahverengi Pas Hastalığının Arazi Koşullarında Tanımlanması

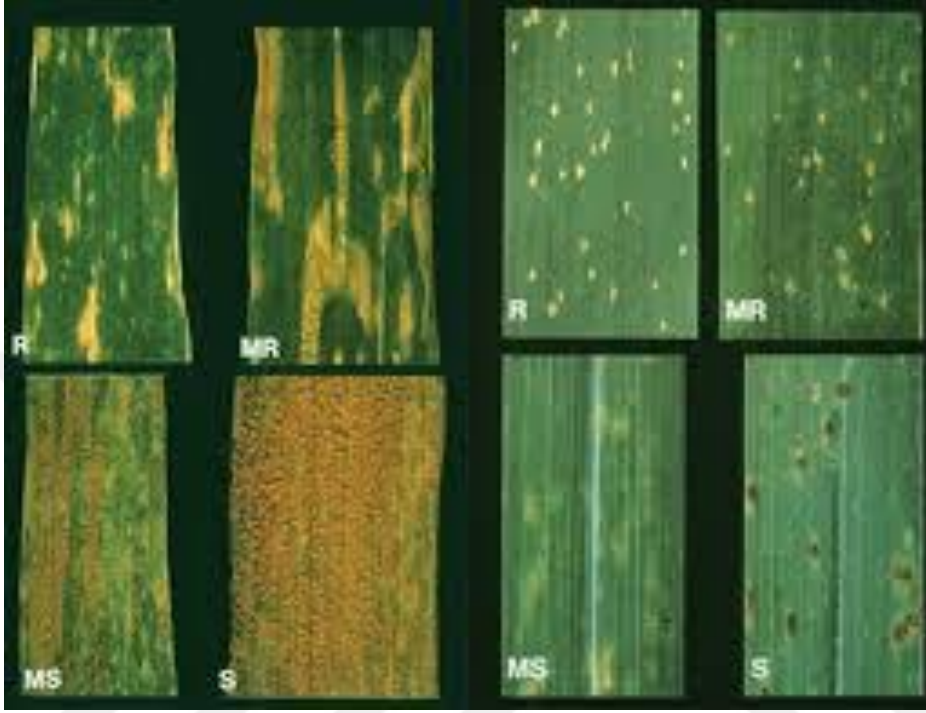
Kahverengi pas hastalık şiddeti: Roelfs ve ark. (1992) belirlediği Cobb skalasına göre; arazide ki buğday bitkilerinde, bayrak yaprağının pas püstülleriyle kaplı olan alanının tüm yaprak alanına olan oranı (%) hesaplanarak belirlenmektedir. Cobb skalası; İz (2), 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 kademeleri kullanılmıştır (Şekil 3.7), (Roelfs ve ark. 1992).



Şekil 3.7. Cobb skalasına göre buğdayda pas hastalığı şiddetinin ölçüm sıkalası (Mahmoud ve ark. 2015)

Kahverengi pas reaksiyon tipi: Çalışmada yer alan genotiplerin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdikleri reaksiyon tipleri Peterson ve ark. (1948) yaptıkları çalışma sonucu belirledikleri skala dikkate alınarak belirlenmiştir (Şekil 3.8.).

Yapılan çalışmalarda arazide enfeksiyon oranının belirlenmesinde, hastalık şiddeti ve konukçu reaksiyonu enfeksiyon katsayısı olarak isimlendirilen tek bir değerle ifade edilmektedir.



Şekil 3.8. Buğdayda kahverengi pas hastalığına farklı genotiplerin gösterdiği reaksiyon şiddeti ve enfeksiyon tipi (Ali ve ark. 2017)

Bu değer, bitkinin bayrak yaprağında gözlenen reaksiyon tipine ve hastalığın şiddetinin yüzde (%) cinsinden verilen 2 değerın çarpılması sonucu bulunmaktadır (Şekil 3.8.).

Buna göre; R= 0,2; MR= 0,4; MS= 0,8; S= ise 1 değerlerini almaktadırlar.

Örneğın, hastalık değeriın; 60MS olduğu durumda $60 \times 0,8 = 48$, hastalık değeriın 40MR olduğu durumda ise $40 \times 0,4 = 16$ olarak hesaplanmaktadır.

Çizelge 3.5. Tarla devresindeki hastalık değerlendirmesinde kullanılan değiştirilmiş Cobb skalası (Peterson ve ark. 1948).

Konukçu Tepkisi	Enfeksiyon Tipi	Hastalık Belirtisi
Dayanıklı	R	Nekrotik ve klorotik alanlar görülmekte, püstüller yok
Orta Dayanıklı	MR	Nekrotik ve klorotik alanlar görülmekte, püstüller çok küçük
Orta Duyarlı	MS	Küçükten orta büyüklüğe kadar püstüller görülmekte, nekrotik alan yok fakat belirgin klorotik alanlar bulunabilir
Duyarlı	S	Orta büyüklükte püstüller görülmekte, nekrotik alan yok, küçük klorotik alanlar görülebilir

Hastalık gruplandırması yapılırken Enfeksiyon Katsayısı (E.K.) 0 (sıfır) reaksiyonu için immun, E.K. 1-5 reaksiyonu için Dayanıklı, E.K. 6-20 reaksiyonu için Orta Dayanıklı, E.K. 21-40 reaksiyonu için Orta Hassas, E.K. 41-100 reaksiyonu için Hassas yorumu yapılmıştır.

2015-2018 Üretim Yılı

Arazi çalışmalarından daha ziyade laboratuvar çalışmalarına geçtiğimiz bu 3 üretim yılında, arazide materyalin devamlılığının sağlanması amacıyla tüm genotiplerin ekimine devam edilmiştir. Çalışmada yer alan 22 ekmeklik buğday çeşidi ve 3 adet Thatcher hat (Lr10, Lr19, TcHassas), her sene Kasım ayında 6m²'lik (1,2 x 5 m) parseller halinde 3 tekerrürlü olarak ekilmiştir. Hasat zamanına kadar geçen sürede

gübreleme ve ilaçlama işlemleri, arazi gözlemleri yapılmıştır. Hasat öncesi ve hasat sonrası tüm agronomik ölçümleri alınmıştır ve her sene Temmuz ayında hasat edilmiştir.

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

Laboratuvar ortamında küçük plastik kapların her birinin içerisine 10'ar tohum ekilerek oda sıcaklığında çimlendirilmiştir. Genomik DNA izolasyonu için bitkiler 14 gün sonra yaklaşık olarak 13-15 cm arasında boya ulaştıklarında yani üç yapraklı döneme geldiklerinde kullanılmışlardır. DNA izolasyonu için Qiagen Dneasy Plant Mini Kit kullanılmıştır. Çizelge 3.6.'da DNA izolasyonu için kullanılan Qiagen Dneasy Plant Mini Kit'in içeriği yer almaktadır.

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan DNA izolasyon kiti Qiagen Dneasy Plant Mini Kit'in içeriği

Komponentler	Kullanılan Miktar
AP1	400 µl
P3 Buffer	130 µl
AW1	700 µl
AW2	500 µl
AE Buffer	100 µl

Çalışmada yapılan DNA izolasyonunun sırasıyla işlem basamakları aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

-Plastik bardaklarda çimlendirilen bitkiler üç yapraklı döneme geldiklerinde kesilerek her genotipten 20 miligram olacak şekilde kuru örnek alınmış ve 2 µl mikrofuj tüplere aktarılmıştır.

-Her 2 µl mikrofuj tüpe 5 adet küçük cam misket atılarak ve kapağı kapatılmış ve daha sonra bu tüpler sallayıcıya yerleştirilmiştir.

-Çalkalama ve cam misket yardımıyla tamamen parçalanmış örnekler cihazdan alınarak, raklara yerleştirilmiş ve her bir tüpün içine 400 µl AP1 eklenmiştir.

- Tüpler AP1 eklenip 5 dakika bekledikten sonra, her tüpe 3 µl RNASE-A eklenmiş ve kısa süre vortekslenmiştir.
- Tüpler daha sonra ısıtılmalı PCR'da 15 dakika boyunca 65⁰C'de tutulmuşlardır.
- Isıtılmalı PCR'dan alınan tüplere 130 µl P3 Buffer eklenerek ve tüpler kar makinasından alınan kar-buz içine gömülmüş ve 10 dakika süreyle bekletilmiştir.
- Buzdan alınan tüpler 1400-1600 rpm'de santifürülenmiştir.
- Santifürüjden alınan tüplerin üst kısmında oluşan açık yeşil kısım mikropipet yardımıyla yavaşça alınmış ve DNA izlölasyon kiti içinden çıkan QIA Shedder Mini Spin Coumn isimli filtreli ve iç içe geçmiş halde buluna özel yapıda ki tüplere aktarılmıştır. Daha sonra tüpler 13.300 rpm'de 2 dakika santifürj edilmiştir.
- 2 µl'lik temiz tüpler raklara dizilerek, numaralandırılmış ve her tüpün içine 700 µl AW1 ilave edilmiştir. Sanrtifürüjden alınan QIA shedder Mini Spin Coumn tüplerinin alt kısmına geçen sıvı kısım, içinde AW1 olan 2 µl'lik tüplerin üzerine eklenmiş kapakları kapatılarak ve hafice çalkalanmıştır.
- Başka bir rakta collection tüpler dizilerek her birisi numaralandırılmış ve AW1 ilave edilmiştir. Açık yeşil görülen sıvı kısım 2 µl'lik tüplerden dikkatlice çekilerek collection tüplere aktarılmıştır. Aktarım işlemi bittikten sonra bu tüpler 6000 rpm de 2 dakika santrifürj edilmiştir.
- Bu işlem sonrasında çalışmada yer alan bitki materyaline ait DNA, collection tüplerin filtrelerinde takılmış olup, filtrenin altına geçen sıvı ise dikkatlice uzaklaştırılmıştır.
- Filtreli kısım boş collection tüplerine yeniden takılarak, üzerine 500 µl AW2 eklenmiş ve DNA yıkama işlemi gerçekleştirilmektedir.
- Tüpler yeniden santifürüje alınarak 1 dakika boyunca 6000 rpm'de sanifürj edilmişlerdir.
- Bu aşamada DNA yıkma işlemi tekrarlanmış ve santifürüjden alınan filtreli tüplerin alt kısmına geçen sıvı dökülmüştür. Filtreli kısım tüpe yeniden takılarak üzerine 400 µl AW2 eklenerek 17000 rpm'de 2 dakika daha santifürj edilmiştir.
- Bir raka çalışılan örnek sayısı kadar 2 µl'lik tüp dizilerek santifürüjden alınan içinde DNA'yı bulunduran filtreli kısımlar bu tüplere yerleştirilmiş ve daha sonra üzerine 100 µl AE Buffer eklenerek kapaklar sıkıca kapatılmış, 6000 rpm'de 1 dakika santifürj edilmiştir.

-Bu işlemden sonra filtrede bulunan DNA'lar sıvıya geçmiş olmakta ve analizlerde kullanılan 100 µl "stok DNA" kullanıma hazır hale gelmektedir.

-Elde edilen DNA örnekleri -20 C^o'de saklanmıştır.

DNA Miktar Tayini

DNA analiz sonuçlarının doğru değerlendirilmesi için PCR reaksiyonlarında yer alan her örnekten eşit yoğunlukta DNA kullanılması gereklidir. Çalışmada yer alan bitki parçacıklarından çıkarılan DNA miktarı başlangıçta birbirinden farklı olmaktadır. Bu farklılıkları ortadan kaldırmak ve çalışılan her örnekte DNA miktarını eşit µl/ng yoğunluğunda kullanmak için önce izole edilen DNA'ların yoğunlukları DNA fluometrede ölçülmüştür. Ardından her örneğe ait DNA'lar, µl'de 25 ng olacak şekilde ddH₂O ile seyreltilmiştir.

Çalışmada yer alan genotiplere ait DNA izolasyon işlemi tamamlandıktan sonra; yoğunluğunu mutlaka belirlenmelidir. Bu sebeple her genotipten alınan DNA örnekleri spektrofotometre cihazı yardımıyla yoğunluk ölçümüne tabi tutulmuştur. Ölçülen yoğunluklar aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanarak her örnekten PCR aşamasında kullanılacak DNA miktarının yoğunluğu eşit olması için 50 mg/µl olacak şekilde ayarlanmıştır.

Örnek DNA'ların PCR aşaması için 50 mg/µl yoğunluğa eşitleme formülü:

İstenilen Konsantrasyon (50mg/ µl) X İstenilen Volüm (100µl) = DNA yoğunluğu X Stok DNA'dan alınacak DNA miktarı

Yukarıda ifade edilen formül örneğin 111 µl olarak ölçülen bir DNA örneğinin PCR aşamasında kullanımı için yoğunluğunun 50mg/µl ye seyreltilmesi gerekmektedir. Bunun için stok DNA'dan alınıp TE ile karıştırılıp 100µl hacme tamamlanarak DNA miktarının hesaplanması yapılmıştır.

$$50 \times 100 = 111 \times ?$$

Buna göre stok DNA'dan alınacak DNA miktarı 45 µl' dir. Bunu 100 µl hacme tamamlamak için (100-45= 55 µl) 55 µl TE ilave edilmiştir.

Bu basit matematiksel işlem her örnek için uygulanıp, her örneğin yoğunlu 50 mg/µl ayarlandıktan sonra PCR aşamasına geçilmiştir.

PCR Aşaması

PCR koşullarının çalışılan laboratuvarında doğru sonuçlar verebilmesi için standardizasyonun çok iyi sağlanması gerekmektedir. Bunun için daha önce yapılan çalışmalarda ki PCR döngüleri iyi bir referans kaynağıdır. Ancak farklı laboratuvarlarda her zaman bu referans bilgileri ile başarıya ulaşılamayabilmektedir. Nitekim yapmış olduğumuz denemede uygun genomik DNA, primer, MgCl₂, dNTP, Taq DNA polimeraz ve 10X PCR buffer miktarları, uzun süren ön denemeler sonucunda denemeyanılma yöntemiyle belirlenebilmiştir. Bunların dışında PCR aşamasında kullanılacak her primer için en uygun bağlanma sıcaklığı (T_m) da tekrarlanan ön denemeler sonucunda belirlenmiştir.

Bunun için PCR döngüsü için hazırlanan PCR tüpleri Creacon T-CY versiyon 1.2 marka thermocycler'a yerleştirilmiş ve farklı sıcaklık derecelerinde belirli sürelerde tutulmuşlardır. PCR reaksiyonları üç defa tekrar edilmiştir. Herhangi bir kirlenmenin olup olmadığını belirlemek üzere tüm PCR reaksiyonları için genomik DNA hariç diğer bileşenleri içeren negatif kontrol kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon hacmi ve PCR döngüsü sırasıyla Çizelge 3.7. ve Çizelge 3.8.'de verilmiştir.

PCR sırasında kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerinden olan Lr10 ve Lr19 genlerinin, çalışılan DNA örneğinde varlığını belirlememize yarayacak olan; sırasıyla 20 ve 18 baz dizilimli 2 adet SSR primeri kullanılmıştır (Schachermayr ve ark. 1994,

Schachermayr ve ark. 1997). Bu primerlere ait nükleotid dizilimleri Çizelge 3.9' da verilmiştir.

PCR optimizasyonunun sağlandığından emin olmak, Lr10, Lr19 genine ait primerlerin doğru dizilimde olduğunu test etmek amacıyla; ön denemeler sonucu elde edilen PCR koşulları ve Lr10, Lr19 genlerine özgü primerleri, Thatcher hatlar olan Lr10 ve Lr19 genotipleri üzerinde denenmiştir. Lr10 primerinin 310 bp'de, Lr19 primerinin de 130 bp'de bant vermesi beklenmektedir (Schachermayr ve ark. 1994, Schachermayr ve ark. 1997). Bu denemelerin sonucunda beklenen bant görüntüleri elde edilmiştir ve doğru uygulama yapıldığında emin olunarak çalışmalara devam edilmiştir.

Çizelge 3.7. PCR reaksiyon hacmi

Genomik DNA	1 µl
Primer (F)	0,5 µl
Primer (R)	0,5 µl
MgSO ₄	3 µl
dNTP	0,5 µl
Taq DNA	1 µl
10Xbuffer	5 µl
ddH ₂ O	38,5 µl
Reaksiyon hacmi	50µl

Yapılan ön incelemeler ile PCR solüsyonu ve döngüleri belirlendikten sonra PCR yani DNA çoğaltma işlemine geçilmiştir. Öncelikle PCR'dan alınan ürünler kontrol amaçlı %1'lik agaroz jelde elektroforez sisteminde yürütülmüştür. Bu sayede DNA'larımızın çoğalıp çalışmaya uygun hale geldikleri anlaşılmıştır. Bu işlemin ardından, PCR ürünü olan DNA'ların görüntüleme işlemine geçilmiştir.

Çizelge 3.8. PCR döngüsü

İşlem	Sıcaklık	Süre	
Ön Denatürasyon	94 C ⁰	5 dk	} 40 Döngü
Denatürasyon	94 C ⁰	1 dk	
Bağlanma	62 C ⁰	1 dk	
Uzama	72 C ⁰	1 dk	
Son Uzama	72 C ⁰	10 dk	

PCR ürünlerini görüntülemek için Qiagen QIAxcel Advanced cihazı kullanılmıştır. Ürünlerin bant ağırlıklarını belirlemek için 100 bp-10 kb'lik DNA yükleme markörü kullanılmıştır.

Çizelge 3.9. Primerlerin Nükleotit Dizileri

Primer Adı	Primer Sekansları
Lr 10 (F)	GTGTAATGCATGCAGGTTCC
Lr 10 (R)	AGGTGTGAGTGAGTTATGTT
Lr 19 (F)	CATCCTTGGGGACCTC
Lr 19 (R)	CCAGCTCGCATAATCCA

PCR ürünlerinin Qiagen QIAxcel Advanced cihazına yüklenmesinin ardından elde edilen jel görüntüleri neticesinde çalışmada yer alan çeşitlerin ve melez hatların her birinin kullanılan tüm primerlerde tek tek bant oluşturup oluşturmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar sayesinde çalışmamızda yer alan 22 ekmeçlik buğday çeşidi ve 13 F1 hattında; kahverengi pasa dayanıklılık geni olan Lr10 geni ve Lr19 geninin varlığı tek tek taranmıştır ve her primer 3 tekerrürlü olacak şekilde çalışılmıştır. Bu çalışmalarımızın sonucunda ise literatürlerde belirtildiği gibi; Lr10 geni için 310 bp' de, Lr19 geni için ise 130 bp'de bant oluşumları elde edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Buğdayın önemli hastalıklarından biri olan kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık genleri olan Lr10 ve Lr19 gen/lerinin varlığını 38 ekmeklik buğday genotipinde SSR (Basit Dizi Tekrarları) moleküler yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Ayrıca çalışmada yer alan genotiplerin pas hastalığına karşı arazi gözlemleri gerçekleştirilmiştir ve Cobb skalasına göre sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Cobb Skalasına göre çalışmada yer alan genotiplerin Kahverengi Pas Hastalığına Tepkileri

Çeşit İsmi	Skala Değeri	Çeşit İsmi	Skala Değeri
Flamura	80 (80S)	Bandırma-97	2 (10R)
Cumhuriyet	8 (10MS)	Köksal-2000	24 (30MS)
Aldane	40 (40S)	Pehlivan	6 (30R)
Karacabey-97	8 (20MR)	Tahirova	1 (5R)
Lr10	0,4 (2R)	Köse220/39	8 (20MR)
Lr19	1 (5R)	Ceyhan-99	2 (5MR)
Gönen-98	60 (60S)	Guadalupe	8 (20MR)
İzmir-85	1 (5R)	Gün-91	32 (40MS)
TcHassas	50 (50S)	Gerek-79	4 (20R)
Bayraktar	16 (40MR)	Bezostaja	10 (10S)
İkizce-96	40 (40S)	Karatopak	1 (5R)
Kaşifbey	6 (30R)	Golia	1 (5R)
Atilla-12	40 (40S)		

Çizelge 4.1’de Cobb skalasına göre değerlendirilen çeşitlerin, kahverengi pas hastalığına tepkileri verilmiştir. Buna göre; L10, Lr19, İzmir-85, Bandırma-97, Tahirova, Ceyhan-99, Gerek-79, Karatopak ve Golia çeşitleri dayanıklı grubunda yer alırken; Cumhuriyet, Karacabey-97, Bayraktar, Kaşifbey, Pehlivan, Köse 200/39, Guadalupe, Bezostaja orta dayanıklı, Aldane, İkizce-96, Atilla-12, Köksal-2000, Gün-91 orta hassas, Flamura, Gönen-98, TcHassas çeşitleri ise hassas grubunda yer almıştır.

Buğday çeşitlerinin kahverengi pas hastalığına karşı gösterdikleri dayanıklılık gücü, genomlarında taşıdıkları Lr genlerine ve bu genlerin diğer genlerle olan ilişkilerine göre en alt seviyeden en üst seviyeye kadar varyasyon göstermektedir. Bazı Lr dayanıklılık genleri tek başlarına kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık gösteriyor olmasına karşın bazı Lr genleri bu kadar güçlü olamamakta ve tek başlarına bir genomda bulunmaları o çeşidin dayanıklılık göstermesine yetmemektedir (Urbanovich ve ark. 2006).

Schachermayr ve ark. (1997) yılında yayınladıkları ve birçok kahverengi pas hastalığı için temel kaynak niteliği taşıyan çalışmalarında; Lr10 geninin buğdayın orijinal gen havuzunda bulunduğunu ve dayanıklılık için diğer Lr genleri ile kombinasyon sağlayarak dayanıklılığı arttırdığı bu sebeple önemli bir gen olduğunu belirtmiştir. Feuillet ve ark. (2003) diploid ve heksoploid buğdaylarda yaptıkları çalışmaları sonucunda Lr10 geninin buğdayın orijinal genomunda var olduğunu ve kahverengi pas hastalığına karşı mücadelede önemli bir rolü olduğunu belirtmişlerdir. Lr10 geni genomda 1 AS kolunda yer almaktadır ve 310 bp'de bant vermektedir (Schachermayr ve ark. 1997, Urbanovich ve ark. 2006, Hussain ve ark. 2011).

Çalışmada DNA izolasyonu gerçekleştirilen 38 genotip, PCR döngüsü tamamlandıktan sonra DNA bant görüntülerini elde etmek üzere Qiaxcell Advance cihazına yüklenmiştir. Bant görüntüleme sistemleri içerisinde en yaygın yöntem olan jel dökme sistemine göre DNA bantlarının bulunduğu yeri tam olarak gösteren çok hassas bir sistemde çalışan bu cihazdan elde edilen bant görüntüleri sırasıyla Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda Lr10 geninin 310 bp'de yer aldığı belirtilmiştir (Schachermayr ve ark. 1997, Urbanovich ve ark. 2006, Hussain ve ark. 2011) Bu çalışmaları esas alarak devam ettiğimiz denememizde 1. sırada Lr10 genini taşıyan yakın izogenik Lr10 hattı kuyucuklara pozitif kontrol olarak yüklenmiş ve kalan 37 genotip Şekil 4.1.'de belirtildiği sırada Qiaxcell Advance Kapılar Sistemin kuyucuklarına yüklenmiştir. Şekil 4.1. incelendiğinde birinci sırada yüklü olan pozitif kontrol (Thatcher Lr10), beklenildiği gibi 310 bp'de bant vermiştir. İncelenen genotiplerin bazıları Lr10'nu taşıyan 1 No'lu hat ile polimorfizm göstermiştir. Buna

göre jel görüntüsünde 8 nolu kuyucukta yüklü bulunan Karatopak, 12 nolu kuyucukta yüklü olan Kaşifbey, 14 nolu kuyucukta yüklü olan Gün91 ekmeklik buğday çeşitlerinde Lr10 geninin varlığı belirlenmiştir. Kalan 19 çeşitte ve F1 melezlerinde Lr10 geni bulunmamaktadır. Kolmer ve ark. (2013) Türkiye’de pas hastalığının yaygın olarak görüldüğü 8 ilden topladıkları pas hastalık sporlarını 20 Thatcher hatta inokule etmişlerdir ve dayanıklılıklarını incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda Lr10 geninin Türk ekmeklik buğday çeşitlerinde az rastlandığı sonucuna ulaşmışlardır.

Çalışmamıza paralel sonuçlar elde eden Hussain ve ark. (2011) Pakistan’ da yaptıkları çalışmalarında 25 ekmeklik buğday çeşidinde SSR yöntemini kullanarak Lr10 genini taramışlardır ve sonuç olarak 18 çeşitte Lr10 genine rastlamışlardır, Stêpieň ve ark. (2003) İsviçre’ de 37 ekmeklik buğday çeşidinde Lr10 genini taramışlar ve 16 çeşidin Lr10 geninin ihtiva ettiğini ortaya koymuşlardır. Hanzalová ve ark. (2009) moleküler markör yönteminden SSR (mikrosatelit) kullanarak 27 ekmeklik buğday çeşidinde Lr10 genini taramışlar ve 10 çeşitte Lr10 genini bulmuşlardır. Vanzetti ve ark. (2011) Arjantinde yürüttükleri çalışmalarında yerel 66 ekmeklik buğday çeşidinde, Lr10 geninin de içinde bulunduğu toplamda 14 Lr geninin kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık gücünü ölçmüşler ve Lr10 geninin tek başına çok düşük dayanıklılık gösterdiğini buna karşılık başka Lr genleri ile bir araya geldiğinde yüksek dayanıklılık gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

Çalışmada yer alan çeşitlerin, kahverengi pas hastalığına dayanıklılıkları ıslahçıları tarafından arazi ve seralarda yürütülen çalışmalar sonucunda gözleme dayalı olarak tespit edilmiş olup bu sonuçlar Çizelge 4.3.’ de verilmiştir.

Çalışmada yer alan hatlarda, Lr 10 geninin, SSR yöntemi ile taranmasının sonucunda elde edilen bant görüntüleri Şekil 4.1.’ de verilmiştir. Şekil 4.1. incelendiğinde; 1 nolu kuyucukta yer alan Thatcher Lr10 hattının 310 bp’de bant vermesi ve 2 nolu kuyucukta yer alan TcHassas hattının 310 bp’de bant vermemesi çalışmanın doğru olduğunu bize göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda tüm genotiplere ait bant oluşumlarını yorumladığımızda; 8 nolu kuyucukta yer alan Karatopak çeşidinde Lr10 geninin bulunduğu kanıtlanmıştır. Karatopak çeşidi arazi koşullarında da kahverengi pasa dayanıklılık göstermiştir ve Cobb Skalasına göre 1 (5R) değerini almıştır.

Çizelge 4.2. Çalışmada yer alan çeşitlerin, ıslahçıları tarafından belirtilen kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık durumları

Dayanıklı	Dayanaksız	Bilinmiyor
Lr10	Gönen	Bezostaja
Lr19	Köksal 2000	Ceyhan
Aldane	TcHassas	Guadalupe
Karacabey	İkizce-96	Gün-91
Golia	İzmir-85	Gerek-79
Atilla-12		Köse
Karatopak		Pehlivan
Cumhuriyet		Kaşifbey
Flamura		Bayraktar
		Tairova
		Bandırma

Yaptığımız arazi gözlemlerinin fotoğrafları da ekler bölümünde yer almaktadır. Buna göre Karatopak ekmeklik buğday çeşidinin arazi koşullarında pas hastalığına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. 12 nolu kuyucukta yer alan Kaşifbey çeşidi ise 1 nolu hatta yer alan Lr10 ile polimorfizm gösteren bir diğer genotip olarak karşımıza çıkmaktadır. Kaşifbey genotipinin çeşit özelliklerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılığı bilinmemektedir. Şekil 4.1.' de yer alan Cobb Skalası incelendiğinde Kaşifbey çeşidinin kahverengi pas hastalığına karşı, orta dayanıklı olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz sonuçta ise Kaşifbey çeşidinde Lr10 geninin varlığı belirlenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda Kaşifbey ekmeklik buğday çeşidinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerinden biri olan Lr10 geninin varlığı kanıtlanmıştır ancak bu sonuç Kaşifbey çeşidinin kahverengi pas hastalığına tamamen dayanıklı olduğu anlamına gelmemektedir. 37 genotip içinde 1 nolu hatta yer alan Lr10 genotipi ile polimorfizm gösteren son genotip ise 14 nolu kuyucukta yer alan Gün 91 çeşididir. Gün 91 çeşidinin

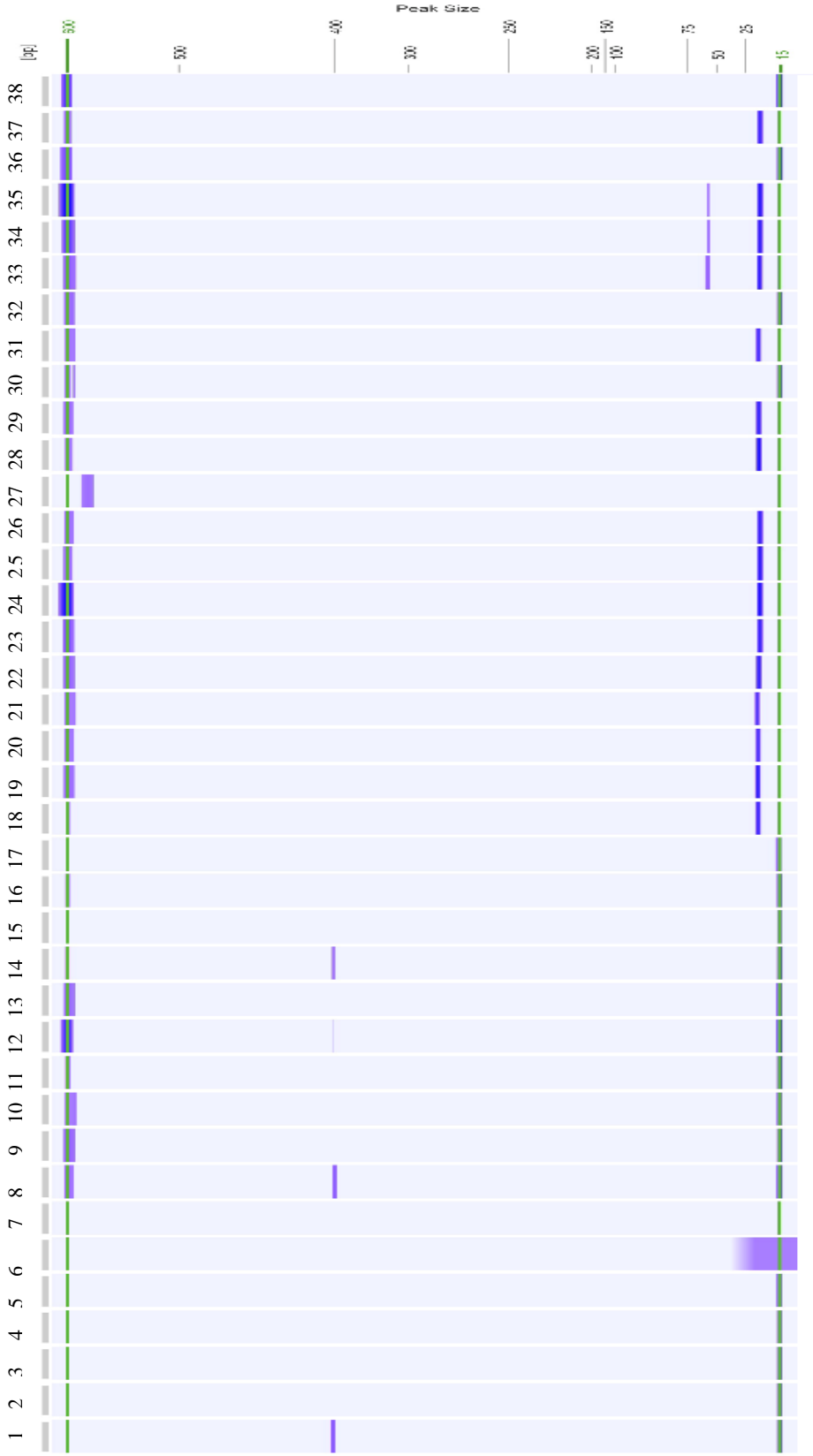
de, ıslahçısı tarafından belirtilen özelliklerinde kahverengi pas hastalığına dayanıklılığı ifade edilmemiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda Gün91 çeşidinin kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan Lr10'nu bünyesinde ihtiva ettiği sonucuna varılmıştır. Ancak bu çeşidin tarla gözlemleri diğer iki çeşitten farklı olarak 40 MS şiddetinde orta duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bu durumda Gün 91 çeşidinin Lr10 genini taşımakla birlikte diğer kahverengi pas ırkalarına karşı dayanıklılık sağlayan genleri içermediğini göstermektedir.

Pozitif kontrol olarak kullandığımız Lr10 thatcher hattı ve 3 ekmeçlik buğday çeşidi dışında kalan genotiplerde ve F1 melezlerinde Lr10 genine rastlanmamıştır.

Genotipler arasında yapılan melezlemelerde Lr10 genini taşıdığını belirlediğimiz, Karatopak çeşidi 5 kombinasyonda baba hat olarak yer almıştır (Köksal x Karatopak; İzmir x Karatopak; Aldane x Karatopak; Bezostaja x Karatopak; Flamura x Karatopak). Melez kombinasyonlar incelendiğinde anne hat olarak kullanılan genotiplerden Aldane ve Flamura çeşitlerinin kahverengi pas hastalığına dayanıklı oldukları, Köksal 2000 ve İzmir 85 çeşitlerinin dayanıksız olduğu, Bezostaja çeşidinin ise dayanıklılık durumunun bilinmediği ıslahçıları tarafından belirtilmiştir (Çizelge 4.2.). Bu bilgiler doğrultusunda kahverengi pas hastalığına dayanıklı olduğu bilinen Aldane ve Flamura çeşitleri ile yapılan Karatopak melezlerinin kahverengi pas hastalığına dayanıklı olması beklenmektedir. Fakat melez kombinasyonlarının hiçbirinde Lr10 genine rastlanmamıştır. Islahçıları tarafından kahverengi pas hastalığına dayanıklı olduğu belirtilen Aldane, Flamura çeşitlerinde de LR10 geni taranmış ve bu geni ihtiva etmedikleri görülmüştür. Bu sebeple, F1 melezleri ebeveynleri gibi kahverengi pas hastalığını karşı dayanıklı olabilirler fakat bu, Lr10 genini taşıdıkları anlamına gelmemektedir. Kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlayan 63 adet Lr geni tespit edilmiştir (Stepien ve ark. 2003). Dolayısıyla buğday genotiplerinde kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık bu genlerden bir tanesiyle sağlanabildiği gibi birkaç tanesinin kombinasyonu ile de sağlanabilmektedir. Bu sebeple Lr10 genini ihtiva etmemesine rağmen dayanıklılık gösteren çeşitlerin varlığı olağandır.

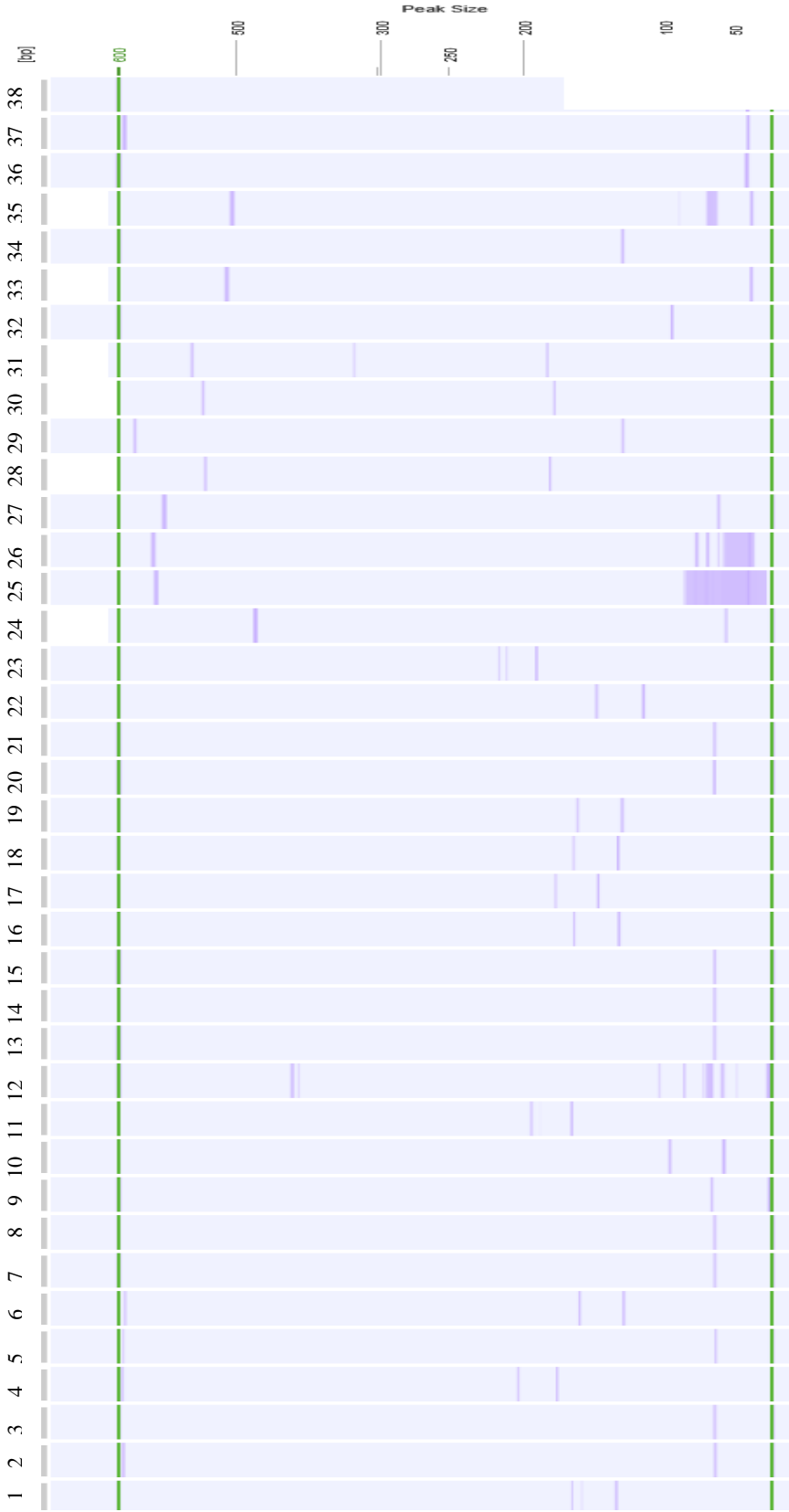
Çalışanın en başında hangi çeşitlerin, hangi dayanıklılık genlerini taşıdıklarını veya dayanıklılık geni taşımadıklarını bilmediğimiz için, kendi araştırmalarımız sonucunda bir melezleme programı oluşturmuş ve çalışma bu programa göre gerçekleştirilmiştir.





Şekil 4.1. *Lr10* primerinin hatlardaki sonuçları (310 bp)

- 1. kuyucuk: Thatcher Line-Lr10 (Pozitif Kontrol), 2. TcHassas, 3. Bayraktar, 4. Bezostaja, 5. Cumhuriyet, 6. Golia, 7. Bandırma-97, 8. Karatopak, 9. Gönen-98, 10. Köse 093/39, 11. Pehlivan, 12. Kaşifbey, 13. Aldane, 14. Gün91, 15. Tahirova-2000, 16. Flamura-85, 17. Ceyhan-99, 18. İkizee, 19. İzmir-85, 20. Atilla-12, 21. Gerek-79, 22. Karacabey-97, 23. Köksal 2000, 24. Guadalupe, 25. Lr19, 26. KöksalxFlamura (F1), 27. KöksalxKaratopak, 28. KöksalxLr19, 29. AldanexKaratopak, 30. İkizeeLr10, 31. İzmirxKaratopak, 32. TcHassasxKöksal, 33. İzmirxLr19, 34. FlamuraxLr10, 35. FlamuraxKaratopak, 36. FlamuraxLr19, 37. BezostajaxKaratopak, 38. AldanexKöksal**



Şekil 4.2. *Lr19* primerinin hatlardaki sonuçları (130 bp)

1. Thatcher Line-Lr19 (Pozitif Kontrol), 2. TcHassas, 3. Köksal-2000, 4. Bezostaja, 5. Tahirova-2000, 6. Karatopak, 7. Bandırma-97, 8. Golia, 9. Gönen-98, 10. Köse 093/39, 11. Gün-91, 12. İkizce-96, 13. Kaşifbey, 14. Pehlivan, 15. Cumhuriyet, 16. İzmir-85, 17. Ceyhan-99, 18. Aldane, 19. Flamura-85, 20. Atilla-12, 21. Gerek-79, 22. Karacabey-97, 23. Bayraktar, 24. Guadalupe, 25. Lr10, 26. KöksalxFlamura (F1), 27. KöksalxKaratopak, 28. KöksalxLr19, 29. AldanexKaratopak, 30. İkizceLr10, 31. İzmirxKaratopak, 32. TcHassasxKöksal, 33. İzmirxLr19, 34. FalmuraxLr19, 35. FlamuraxKaratopak, 36. FlamuraxLr10, 37. BezostajaxKaratopak, 38. AldanexKöksal

Buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılık genlerinden olan *Lr19*, orijin olarak *Agropyron elongatum*'dan gelmektedir (Cherukuri ve ark. 2003). Sharma ve Knott' un 1966 yılında yürüttükleri çalışmaları sonucunda *Lr 19* geninin, buğday genomunun 7DL kromozomunda 130 bp' de yer aldığı belirtilmiştir. *Lr19* geninin buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlamak dışında verim artışında da etkili olduğu bu sebeple de buğday ıslahı için önemli bir belirteç gen olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (Reynolds ve ark. 2001, Monneveux ve ark. 2003).

Lr19 geni Avrupa (Mesterhazy ve ark. 2000), Hindistan (Tomar ve Menon 1998), Kuzey Afrika (Prins ve ark. 1997) ve Kanada' da (McCallum ve Seto-Goh 2003) da görülen tüm kahverengi pas patojenlerine dayanıklılık göstermektedir. Son zamanlarda diğer *Lr* genleri ile kombinasyon oluşturularak Asya ve Avustralya'da görülen pas hastalık patojenlerine karşı dayanıklılık sağladığı bilinmektedir (Roelfs 1988, Gupta ve ark. 2006). Kassem ve ark. (2010) yaptıkları çalışmalarında *Lr19* geninin Türkiye ve Suriye' de, kahverengi pas hastalık patojenlerine karşı çok yüksek oranda dayanıklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda Türkiye'de yaygın olarak kullanılan 22 ekmeklik buğday çeşidi, 3 yakın izogenik hat, ve bu genotipler arasında yapılan melezleme çalışmaları sonucu elde edilen 13 F1 hattında SSR (Basit Dizi Tekrarları) yöntemi kullanılarak kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni olan *Lr19* taranmıştır. Materyal yöntem bölümünde yer alan DNA izolasyon ve PCR aşamalarından sonra PCR ürünleri cihazın içinde yer alan kapılar sistemde ki kuyucuklara yüklenmiştir.

Genotiplerin kuyucuklara yükleme sırası şekil 4.2.'de belirtilmiştir. Birinci kuyucuğa Thatcher Line-*Lr19* (Pozitif Kontrol), ikinci kuyucuğa ise TcHassas (Negatif kontrol) olarak yüklenmiştir. Birinci kuyucuk pozitif kontrol yani *Lr19* genini ihtiva eden bu sebeple de mutlaka 130 bp'de bant vermesi beklenen hattır. İkinci kuyucuk ise TcHassas hattı yani *Lr* genlerinden hiç birisini genomunda bulundurmeyen, bu sebeple de 130 bp'de de bant vermemesi gereken çalışmada negatif kontrol olarak yer alan genotiptir. Daha önce bu çeşitler ile *Lr* genleri moleküler yöntemler ile DNA düzeyinde taranmadığı için hangi çeşit hangi genlere sahip bilinmemektedir. Bu sebeple çalışmada

yer alan pozitif ve negatif kontrol çok önemlidir. Defalarca tekrarlanan DNA izolasyonu ve çok uzun PCR döngüsü çalışmaları sonucunda pozitif ve negatif kontrollerden istediğimiz sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmanın standardı belirlendikten sonra tüm genomlar bu standartlara göre tekrar çalışılmıştır ve son olarak şekil 4.2.'deki görüntü elde edilmiştir.

Şekil 4.2. incelendiğinde birinci kuyucukta yer alan Thatcher Line-*Lr19* (Pozitif Kontrol)'ün 130 bp'de bant verdiği görülmektedir. Pozitif kontrol ile polimorfizm oluşturan, *Lr19* genini taşıyan diğer genom ise altıncı kuyucukta bulunan Karatopak çeşitidir. Karatopak çeşidi arazi gözlemlerinde ve ıslahçısının çeşit özelliklerinde pas hastalığına karşı dayanıklı olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamız da bu bilgiler ile paralellik göstermektedir. *Lr19* genini taşıyan diğer çeşit ise onaltıncı kuyucukta yer alan İzmir-85'tir. Islahçısı tarafından kahverengi pas hastalığına karşı dayanıksız olduğu belirtilen İzmir-85 çeşidinde *Lr19* dayanıklılık geni bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda yer alan arazi gözlemleri sonucu elde edilen verilerin Cobb Skalasına uygulanması sonucunda İzmir-85 çeşidi Bursa arazi koşullarında kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı olarak belirlenmiştir. Buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılık geni sağlayan 63 *Lr* geni tespit edilmiştir. Bu genler doğada karşılaştıkları patojene karşı ya tek başlarına ya da çoklu olarak dayanıklılık gösterebilirler. Epidemiyolojide karşılaşılan patojen ile genomunda bulunan dayanıklılık geni birbirinden farklı ise o çeşit o hastalık patojenine karşı dayanıklılık gösteremez. Bu sebeple İzmir-85 çeşidinde *Lr19* geninin var olması onu kahverengi pas hastalığına karşı her zaman dayanıklı olduğu anlamına gelmemektedir.

130 bp'de bant oluşumu gözlenen, *Lr19* genini taşıyan diğer çeşit ise onyedinci kuyucuktaki Ceyhan-99'dur. Islahçısı tarafından çeşidin kahverengi pas hastalığına dayanıklılığıyla ilgili bilgi verilmemiştir. Çalışmamız sayesinde Türkiye'de yaygın olarak kullanılan ekmeçlik buğday çeşitlerinden birisi olan Ceyhan-99'un genomunda *Lr19* kahverengi pas dayanıklılık geni taşıdığı tespit edilmiştir. Bu çeşitler kahverengi pas dayanıklılık amacıyla yürütülecek çalışmalarda, yeni çeşit elde etme amaçlı veya var olan bir çeşide dayanıklılık geni aktarma çalışmalarında ebeveyn olarak kullanılabilirlerdir.

Genomunda *Lr19* dayanıklılık geni taşıyarak polimorfizm oluşturan diğer genotipler ise onsekizinci kuyucukta yer alan Aldane ve ondokuzuncu kuyucukta yer alan Flamura-85 çeşitleridir. Her iki çeşitte ıslahçısı tarafından kahverengi pas hastlığına karşı dayanıklı olarak belirtilmiştir. Her ne kadar bu iki çeşit *Lr19* geni içeriyor ve ıslahçıları tarafından dayanıklı olarak ifade ediliyorsa da yapmış olduğumuz tarla gözlemlerinde sırasıyla 40S ve 80S düzeyinde duyarlı olarak belirlenmişlerdir. Bu çeşitlerin taşıdıkları kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık genleri ile ilgili kesin kanıya varmak için daha detaylı bir çalışma ile tüm *Lr* genlerine uygun primerleri denemek gerekmektedir. Bu çalışma sonucunda bu çeşitlerin genomlarında *Lr19* geninin kesin olarak var olduğu söylenebilmektedir.

Çalışmamızda çeşitler arasında yapılan melezlemeler sonucu elde ettiğimiz 13 F1 melezlerinde *Lr19* geni taranmıştır. İki F1 kombinasyonu, 130 bp'de bant vererek *Lr19* (pozitif kontrol) hattı ile polimorfizm göstermiştir. Yirmidokuzuncu kuyucukta yer alan Aldane X Karatopak ve otuzdördüncü kuyucukta yer alan Flamura X *Lr19* melezlerinde *Lr19* geni tespit edilmiştir. *Lr19* geni tespit edilen melez kombinasyonları incelendiğinde her iki kombinasyonun hem anne hem de baba hatlarında *Lr19* geni bulunmaktadır. Dolayısıyla melezleme sonucu F1 hatlarında da *Lr19* genin varlığı beklenen bir durumdur. Bu sonuç çalışmamız için önemli bir bulgudur. Bu çeşitler ile yürütülen araştırmalara dayanan literatürün bulunmadığı çalışmamızın her aşaması en doğru sonuca ulaşmak için defalarca tekrarlanmıştır. Bu yönü ile ıslah çalışmalarının temel etkinliği olan melezleme programlarında, melezlerin arzu edilen gen yada genleri taşıdığı erken generasyonlarda bilinmesi çok büyük önem taşımaktadır. O nedenle moleküler markörlerin sağladığı bu avantaj ile kullanılmalarının çok yararlı olacağı açıktır.

Çalışmamız ile paralellik gösteren benzer çalışmalarda, Xing ve ark. (2006) 6 yakın izogenik hat (Thatcher) ve Tc*Lr19*xThatcher melezlemesinden elde ettikleri F2 genotiplerinde 13 primer dizilimini *Lr19* geninin bulmak ve tanımlamak için kullanmışlardır. Sadece Xgwm44 primeri hem yakın izogenik hatlarda hemde F2 bitkilerinde 130 bp'de polimorfizm göstermiştir. Bunun sonucu olarak buğdayda,

kahverengi pas hastalığına dayanıklılıkta *Lr19* geninin önemli bir yeri olduğuna ve moleküler ağırlıklı seleksiyon (MAS) çalışmalarında, haritalamasında yapı taşı özelliği taşıdığı sonucuna ulaşmışlardır. Bir diğer çalışmada ise, Gupta ve ark. (2006) yakın izogenik hatlar (Thatcher line), F2 genotipleri ve *Lr19*'u taşıdığı bilinen toplamda 340 bitkide SSR yönteminin de içinde bulunduğu farklı moleküler yöntemler kullanarak *Lr19* genini taramışlardır. Bunun sonucunda 9 SSR geninin *Lr19* ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Urbanovich ve ark. (2006) yılında yürüttükleri çalışmalarında 68 ekmeklik buğday genotipinde; *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr26* primerlerini, SSR yönteminin de aralarında yer aldığı farklı PCR yöntemleri ile taramışlar ve sonuç olarak; orjin olarak *Triticum aestivum L.*'den gelen *Lr26* primerinin en çok rastlanan ve polimorfizm oranı en yüksek olan gen olduğunu belirlemişlerdir.

Weight ve ark. (2016) Anter kültürü yöntemi kullanarak *Lr19* genine double haploid kışlık buğday elde etmeyi amaçladığı çalışmalarında; 2 melez kombinasyonu sonucu elde ettikleri F3 double haploid hatlarda, 3 büyüme regülatörü kombinasyonu (2,4-D; 2,4-D ve dicamba; 2,4-D ve kinetin) anter kültürü çalışmışlardır ve toplamda 13550 anter incelenmiştir. Sonuç olarak ta; *Lr19* double haploid elde etmede büyüme düzenleyici ortamların değil, genotipin etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Rosewarne ve ark. (2015) Avusturalya koşullarında yürüttükleri çalışmalarında; Avusturalya'ya adapte olmuş ve kahverengi pasa dayanıklılık geni olan *Lr19* genini taşıyan *Thinopyrum ponticum*'dan izole edilen T4 translokasyonu ve sarı pasa dayanıklılık sağlayan *Bdv2* genini taşıyan *Th. Intermedium*'dan izole edilen TC14 translokasyonlarının buğdayda verime etkisini inceledikleri çalışmalarında, Avusturalya'ya adapte olmuş 24 genotip arasında yeni translokasyonlar oluşturmak için melezleme yapmışlardır ve 320 hat elde etmişlerdir. Tüm hatlar incelenmiştir ve *Lr19* geni taşıyan T4 translokasyonun verim üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir.

Morgounov ve ark. (2010) Rusya ve Ukrayna'da hem kışlık hem de yazlık ekmeklik buğday çeşitlerinde kahverengi pas hastalığının büyük verim kayıplarına sebep olduğunu bunun için bu bölgelerde yetiştirilen çeşitlerin dayanıklı olma zorunluluğunu farketmişlerdir. Kuzey Avrupa, Rusya ve Ukrayna'da aynı patojenin hastalığa sebep

olduğunu ve bu patojene karşı *Lr19* ve *Lr23* genlerinin dayanıklılık gösterdiklerini yrtkleri çalışmalar sonucu ortaya koymuşlardır.



5. SONUÇ

Her geçen gün hızla artan Dünya nüfusunun büyük bir kısmının temel besin maddesi olan buğdayda verim ve kalite artışı, buğday yetiştiriciliğinin en önemli hedefi haline gelmiştir. Buğdayda verimdeki artış ancak hastalık ve zararlılara dayanıklı, stabilitesi yüksek ve her yörenin kendi ekolojik koşullarına uygun çeşitlerin geliştirilmesi ile sağlanabilmektedir. Uzun yıllar süren seleksiyonlarla genlerin belirli yönde seçilmesi ve melezlemelerde ortak anaçların kullanılması buğdayda genetik varyasyonu daraltmış ve istenen özellikleri taşıyan çeşitlerin klasik bitki ıslahıyla geliştirilmesini zorlaştırmıştır. Markör destekli seleksiyon (MAS) klasik bitki ıslahında karşılaşılan sorunları çözmek için kullanılan alternatif ve yardımcı bir tekniktir. Markör destekli seleksiyon agronomik olarak önem arz eden ve birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen karakterlerin hızlı bir şekilde aktarılmasını sağlamaktadır. Bu teknik klasik ıslahı tamamlayıcı, oldukça hızlı, etkin, doğru ve ekonomik bir seleksiyon yöntemidir (Sönmezoğlu ve ark. 2010).

Buğdayda, *Puccinia triticina*'nın neden olduğu kahverengi pas hastalığı, Türkiye'nin kıyı bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir (Kolmer ve ark. 2013). Epidemiyollarında hastalığın neden olduğu verim kayıpları azımsanamayacak ölçülerde olmaktadır. Kahverengi pas hastalığının sebep olduğu verim kayıplarını en aza indirmek için hastalığa dayanıklı çeşit kullanımı en ekonomik ve çevre dostu yöntemdir (Seyfarth, 2000).

Kahverengi pas hastalığına dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde klasik ıslah yöntemleri ile kombine edilerek moleküler biyoteknoloji yöntemlerini kullanmak; zamandan, iş gücünden ve maliyetten kazanç sağlamaktadır. Her geçen gün giderek gelişen moleküler yöntemler sayesinde günümüzde markörler genel olarak genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılabilir hale gelmiştir. Bu sebeple, polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PCR-temelli markörler daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. PCR temelli markör tekniklerinin kullanılması ile genetik karakterizasyon çalışmaları, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik seviyesinin belirlenmesi, koruma programlarının geliştirilmesi,

kültüre alma ve göç yollarının tespiti gibi çalışmalar hız kazanmıştır ve kesin sonuçlar elde etmemize olanak sağlamıştır. PCR temelli yöntemlerden, DNA markörleri, özellikle SSR (mikrosatellit) markörleri, en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Özşensoy ve Kurar 2012).

Son yıllarda meydana gelen biyoteknoloji alanında gelişmeler sayesinde buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılık sağlayan gen ya da genlerin tespit edilmesi, klasik ıslah yöntemlerine önemli ölçüde yardımcı olmuştur. Bu gelişmelerin ışığında Türkiye’ de çeşitli kurumlardan elde edilmiş 22 ekmeklik buğday çeşidi, CIMMYT-Meksika’dan elde edilmiş 3 izogenik hat ve bunlar arasında gerçekleştirilen melezlemeler sonucunda elde edilen 13 adet F1 melezinde, *Lr10* ve *Lr19* genleri, SSR (mikrosatellite) moleküler markör yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmalarımızın sonucunda ise, Schachermayr ve ark. (1994), Schachermayr ve ark. (1997), Hussain ve ark. (2011) çalışmalarında belirttiği gibi *Lr10* geni için 310 bp’ de, Autrique ve ark. (1995), Prabhu ve ark. (2004), Xing ve ark. (2006), *Lr19* geni için ise 130 bp’de bant oluşumları elde edilmiştir.

Toplamda 38 genotipte gerçekleştirilen DNA analizi sonucunda *Lr10* geni; Karatopak, Kaşifbey ve Gün-91 çeşitlerinde, *Lr19* geni ise Karatopak, İzmir-85, Ceyhan-99, Aldane, Flamura-85 çeşitlerinde ve Aldane x Karatopak, Flamura x *Lr19* F1 hatlarında tespit edilmiştir.

Yürütülen bu çalışmada, ülkemizde buğday üretiminde yoğunlukla yer alan ekmeklik buğday çeşitlerinde; kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılık genleri olan *Lr10* ve *Lr19*’un varlığı SSR (mikrosatellite) yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Ekmeklik buğdayda SSR tekniklerinin kahverengi pas dayanıklılık genlerini araştırmada kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada yer alan Thatcher (yakın izogenik) hatlarının dar bir genetik yapıya sahip olmaları sebebiyle, taranan dayanıklılık genlerini belirlemede iyi bir belirteç genom olduğu sonucunda varılmıştır. Gelecekte yürütülecek ıslah programlarında dayanıklılık genleri ihtiva eden çeşitlerin ebeveyn olarak kullanılmasının daha başarılı bir ıslah programı yürütülebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aashraf, M.M., Abdelbacki, B., Omara, I., Anor, E.K., Soliman, B., Najeeb, A. 2015.** Molecular Markers Identification Of Leaf Rust Resistant Genes Lr19, Lr21, Lr24, Lr47 And Lr51 In Selected Egyptian Wheat Cultivars. *Int. J. Phytopathol.* 04 (02).55-62.
- Aktaş, H. 2001.** Önemli Hububat Hastalıkları ve Survey Yöntemleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, 74s, Ankara.
- Akkaya, M. S., Bhagwat, A. A. and Cregan, P. B. 1992.** Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean, *Genetic* (134): 1131-1139.
- Allen, R.F. 1926.** A Cytological Study Of Puccinia Triticina Pyhsiologic Form 11 On Little Club Wheat. *Journal Of Agricultural Research* (33)17-20.
- Ali, Y., Shahid, I., Zafar, I., Abbas, G., Ahmad, S., Sajid, M., Sabir, S. 2017.** Characterization of Environmental Factors for the Prediction of Leaf Rust of Wheat in Sargodha. *Advances in Zoology and Botany* 5(2): 11-16.
- Anonim. 2010a.** Bursa yöresi İklim Verileri. Bursa Meteoroloji Bölge Müdürlüğü, Yayınlanmamış Kayıtlar. BURSA
- Anonim. 2010b.** Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü Yayınlanmamış Kayıtlar. BURSA
- Arslan, Ü., Yağdı, K., Aydoğan, E. 2002.** Bursa İli Ekolojik Koşullarında Buğday Kahverengi Pası (*Puccinia recondita* Roberge ex Desmaz. f.sp. *tritici*)'na Karşı Bazı Ekmeklik Buğdayların Reaksiyonları ve Verim Kayıplarının Belirlenmesi. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 16: 201-210.
- Aykut Tonk, F., Yüce, S. 2007.** Ekmeklik Buğday İzmir 85 Çeşidinde ve Thatcher Yakın İzogenik Hatlarında Kahverengi Pas Dayanıklılık Geni *Lr13*'ün SSR Markörleriyle İncelenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 44 (3):13-25.
- 83.
- Autrique, E., Singh, R.P., Steven, D.M., Em Sorrells, M. 1995.** Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives. *Genome*, 38: 75-78
- Babu, R., Sudha, K., Nair, B., Prasanna, M.,Gupta, S. 2004.** Integrating marker assisted selection in crop breeding Prospects and challenges. *Urrent Science*, 87 (5). 607-619.
- Bockus, W.W., Bowden, R.L., Hunger, R.M., Morrill, W.L., Murray, T.D., Smiley, R.W. 2010.** Compendium of Wheat Diseases and Pests (3.baskı). USA: Minnesota.
- Bolton, M.D., Kolmer, J.A., Garvin, D.F. 2008.** Wheat Leaf Rust Caused By Puccinia Triticina. *Molecular Plant Pathology*. (5) , 563–575.
- Chelkowski, J., Stepien, L. 2001.** Molecular markers for leaf rust resistance genes in wheat. *J. Appl. Genet.* 42 (2). 117-126.
- Chen, J., Ding, M., Pederson, D.S. 1994.** inding of TFIID to the CYC1 TATA boxes in yeast occurs independently of upstream activating sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(25):11909-13.
- Cherukuri, D.P., Gupta, S.K., Charpe, A., Koul, S., Prabhu, K.V., Singh, R.B., Haq, O.M.R., Chauhan, S.V.S. 2003.** Identification of a molecular marker linked to an Agropyron elongatum-derived gene Lr19 for leaf rust resistance in wheat. *Plant Breeding* 122, 204—208.

- Çetiner, S. 2015.** Türkiye Ve Dünyada Tarımsal Biyoteknoloji Ve Gıda Güvencesi: Sorunlar ve Öneriler. <http://www.inovasyon.org/pdf/S.Cetiner.Inovasyon.org.pdf>).
- Davoyan, E.R., Bepalova, L.A., Davoyan, R.O., Zubanova, Y.S., Mikov, D.S., Filobok, V.A., Khudokormova, J.N. 2014.** Use of Molecular Markers in Wheat Breeding for Resistance to Leaf Rust at the Lukyanenko Research Institute of Agriculture. *Russian Journal of Genetics; Applied Research* 5(3):227-232.
- Dedryver, F., Jubier, M., Thouvenin, J., Goyeau, H. 1996.** Molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr24* in different wheat cultivars. *Genome*, 39: 830-835.
- Deveciler, H. 2005.** Uludağ üniversitesi tarımsal uygulama ve araştırma merkezi tarım topraklarının ağır metal içeriklerinin incelenmesi. *Y. Lisans Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Bursa.
- Elyasi-Gomari, S., Lesovaya, G.M. 2009.** Harmfulness of Wheat Leaf Rust in The Eastern Part of Forest-Steppe of Ukraine. *Archivs Phytopathol Plant Protec*, 42: 659–665.
- Eserkaya, G.T. 2010a.** Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesini Etkileyen γ -gliadin genleri Bakımından Moleküler ve Biyokimyasal Analizleri. *Yüksek Lisans Tezi*. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Eserkaya Güleç, T., Yıldırım, A., Ateş Sönmezoğlu, Ö., 2010b.** Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 3(2): 67-79.
- FAO. 2016.** FAO Statistical Databases. <http://www.fao.org/faostat/en/#home> .
Erişim Tarihi: 12.12.208
- Feuillet, C., Travella, S., Stein, N., Albar, L., Nublat, A., Keller, B. 2003.** Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. *PNAS*. 100 (25).15253–15258.
- Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A.M., Galiba, G., Toth, B., Hayes, P.M., Skinner, J. S., Pecchioni, N. 2004.** Two loci on chromosome 5H determine lowtemperature tolerance in a ‘Nure’ (winter) x ‘Tremois’ (spring) barley map. *Theor. Appl. Genet.* 108: 670-680.
- Furan, M.A., Yüce, S. 2009.** Buğdayda Sarı Pasa Dayanıklı ve Duyarlı Bazı Çeşit ve Hatların SSR Analizleri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 46 (1): 1-8.
- Goutam, U., Kukreja, S., Yadav, R., Salaria, N., Thakur, K., Goyal, A.K. 2015.** Recent trends and perspectives of molecular markers against fungal diseases in wheat. *Frontiers in Microbiology*. (6), 861. www.frontiersin.org
- Gupta, P.K., Varshney, R.K. 2000.** The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163–185.
- Gupta, P.K., Balyan, H.S., Edwards, K.J., Isaac, P., Korzun, V., Röder, M., Gautier, M.F., Joudrier, P., Schlatter, A.R., Dubcovsky, J., De la Pena, R.C., Khairallah, M., Penner, G., Hayden, M.J., Sharp, P., Keller, B., Wang, R.C.C., Hardouin, J.P., Jack, P., Leroy, P. 2002.** Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet.* 105:413–422.
- Gupta, S.K., Charpe, A., Koul, S., Prabhu, K.V., Rizwanul Haq, K.M. 2005.** Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leafrust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat. *Genome* 48: 823–830.

- Gupta, S.K., Charpe, A., Prabhu, K.V., Haque, Q.M. 2006.** Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theor Appl Genet* . 113:1027–1036.
- Gündüz, R. 2008.** Tokak adlı üç Türk arpa genetik materyalinde SSR belirleyicileri kullanılarak genetik varyasyon düzeylerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- He, L., Zhu, Z., Faras, A.J., Guise, K.S., Hackett, P.B., and Kapuscinski, A.R. 1992.** Characterization of AluI repeats of zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Molecular marine biology and biotechnology* 1: 125-135.
- Hanzolava, A., Sumikova, T., Bartos, P. 2009.** Determination of Leaf Rust Resistance Genes *Lr10*, *Lr26* and *Lr37* by Molecular Markers in Wheat Cultivars Registered in the Czech Republic. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 45, (2): 79–84.
- Hussain, W., Habib, A., Iqbal, M.S., Abbassi, F.B., Wesal, A., Hussain, S. 2011.** Identification of Leaf Rust Resistant Gene *Lr10* in Pakistani Wheat Germplasm. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(43), pp. 8578-8584.
- Hoisington, D., Khairallah, M., Reeves, T., Ribaut, J.M., Skovmand, B., Taba, S., War Burton, M. 1999.** Plant Genetic Resources: What Can They Contribute Toward Increased Crop Productivity? *Proc Natl. Acad. Sci.* (96) 5937-5943.
- Jones, N., Ougham, H., Thomas, H. 1997.** Markers and mapping: we are all geneticists now, *New Phytol.* 137: 165–177.
- Karcicio, M. 2006.** Yerel Durum Buğdayı Çeşitlerinde (*Triticum durum Desf.*) RAPD-PCR Tekniği ile Genetik Çeşitlilik Analizi Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü *Doktora Tezi*.
- Kassem, M., El Ahmed, A., Hakim, M.S., El-Khalifeh, M., Nachit, M.M. 2010.** Races of *Puccinia triticina* Eriks. Identified in Syria and Lebanon During 2007. *Arab Plant Prot. J.*
- Kassem, M., El-Ahmed, A., Hakim, M.S., Al-Saleh, A., El-Khalifeh, M., Nachit, M. 2011.** Identifying leaf rust resistance gene *Lr19* in durum wheat using simple sequence repeat (SSR) marker. *African Journal of Biotechnology* . Vol. 10(44), pp. 8716-8719.
- Kellerhals, M., Koch, T., Gessler, C. 2000.** Virulence Pattern of *Venturia inaequalis* Field Isolates and Corresponding Differential Resistance in *Malus x domestica*. Swiss Federal Research Station for Fruit-Growing, Wädenswil, Switzerland.
- Khlestkina, E.K., Salina, E.A. 2006.** SNP markers: methods of analysis, ways of development and comparison on an example of common wheat. *Russian J Genet.* 42: 585-594.
- Korzun, V., Ebmeyer, E. 2003.** Molecular markers and their applications in wheat breeding. Rome, Italy. p: 140-143.
- Kraic, J., Zakova, M., Gregova, E. 1998.** Comparison of Differentiation Capability of RAPD and SSR Markers in Commercial Barley (*Hordeum vulgare* L.) Cultivars. *Cereal Research Communications*, 26 (4): 375-382.
- Kolmer, J.A., 1996.** Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34, 435-455.
- Kolmer, J.A., Mert, Z., Akan, K., Demir, L., Ünsal, R., Şermet, C., Keser, M., Akin, B., Morgounov, A. 2013.** Virulence of *Puccinia triticina* in Turkey and leaf rust resistance in Turkish wheat cultivars. *Eur J Plant Pathol.* 135:703–716.

- Kılıç, G.Ç. 2017.** Buğdayda Kahverengi Pas Dayanıklılık Genlerinin (Lr9, Lr19 Ve Lr24) Seleksiyonunda Kullanılacak Moleküler Markırların Belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. *Yüksek Lisans Tezi*.
- Kuleung, C., Baenziger, P.S., Dweikat, I. 2004.** Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. *Theor Appl Genet.* 108:1147–1150.
- Lipps, P.E. 2006.** Ohio State University, Extension FactSheet, Plant Pathology, <http://ohioline.osu.edu/ac-fact/0006.html>.
- Liu, J.Q., Kolmer, J.A. 1997.** Inheritance of Leaf Rust Resistance in Wheat Cultivars Grandin and CDC Teal. *Plant Dis.* 81:505-508.
- Liu-Sha, H., Li, Z., Wang, J., Shi, L., Zhu, L., Li, X., Liu, D., Syed, J.A.S. 2015.** Molecular mapping of leaf rust resistance genes in the wheat line Yu 356-9. *Journal of Integrative Agriculture.* 1-8
- Mahmoud, A.F., Hassan, M., Amein, K.A. 2015.** Resistance Potential of Bread Wheat Genotypes Against Yellow Rust Disease Under Egyptian Climate. *Plant Pathol. J.* 31(4) : 402-413.
- McCallum, B.D., Seto-Goh, P. 2003.** Physiological specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) in Canada in 2002. *Can J Plant Pathol* 25:91–97.
- Melvin, D., Bolton, James., Kolmer, A., David, F.G. 2008.** Wheat Leaf Rust Caused By *Puccinia triticina*. *Molecular Plant Pathology* (5) , 563–575.
- Mesterhazy, A., Bartos, P., Goyeau, H., Niks, R.E., Csoz, M., Anderson, O., Casulli, F., Ittu, M., Jones, E., Manisterski, J., Manninger, K., Pasquini, M., Rubiales, D., Schachermayr, G., Strzembicka, A., Szunics, L., Todorova, M., Unger, O., Vanco, B., Vida, G., Walther, U. 2000.** European virulence survey for leaf rust in wheat. *Agronomie* 20:793–804.
- Messmer, M.M., Seyfarth, R., Keller, M., Schachermayr, G., Winzeler, M., Zanetti, S., Feuillet, C., Kelle, B. 2000.** Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat. *Theor Appl Genet.* 100: 419–431.
- Monneveux, P., Reynolds, M.P., Gonzalez-Aguilar, J., Singh, R.P. 2003.** Effect of the 7DL.7Ag translocation from *Lophopyrum elongatum* on wheat yield and related morphological traits under different environments. *Plant Breed* 122:379–384.
- Morgounov, A., Zykin, V., Belan, I., Roseeva, L., Zelenskiy, Yu., FerneyGomez-Becerra, Y., Budak, H., F. 2010.** Genetic gains for grain yield in high latitude spring wheat grown in Western Siberia in 1900–2008. *Field Crops Research.*(117), 1: 101-112
- Mızrak, G. 2011.** Buğdayın Hikayesi. Türkiye Ziraat Odaları Birliği. Ankara.
- Ovesna, J., Polakova, K., Leisova, L. 2002.** DNA analyses and their Applications in Plant Breeding. Czech J. Genet. *Plant Breed.* 38 (1): 29–40.
- Özsensoy, Y., Kurar, E. 2012.** Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10(2):11 19.
- Pestsova, E., Korzun, V., Goncharov, N. P., Hammer, K., Ganal, M.W., and Röder, M.S. 2000.** Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 101.
- Peterson, R.F., Campbell, A.B., Hannah, A.E. 1948. A Diagrammatic Scale For Estimating Rust Intensity On Leaves And Stems Of Cereals. *Canadian Journal of Research*, 26c(5): 496-500.

- Plaschke, J., Martin, G., Marion, S. R. 1995.** Detection of Genetic Diversity in Closely-Related Bread Wheat Using Microsatellite Markers. *Theoretical and Applied Genetics* 91(6-7):1001-7
- Prabhu, K.V., Gupta, S.K., Charpe, A., Koul, A. 2004.** Scar Marker Tagged To The Alien Leaf Rust Resistance Gene Lr19 Uniquely Marking The Agropyron Elongatum-Derived Gene Lr24 In Wheat: A Revision. *Plant Breeding* 123, 417—420.
- Prescott, J.M. , Burnett, P.A., Saari, E.E., Bowman, J. 1986.** Wheat diseases and pests: a guide for field identification. CIMMYT Hand Book.
- Prins, R., Marais, G.F., Pretorius, Z.A., Janse, B.J.H., Marais, A.S. 1997.** A study of modiWed forms of the Lr19 translocation of common wheat. *Theor Appl Genet* 95:424–430.
- Provan, J., Powell, W. and Waugh, R. 1996.** Microsatellite analysis of relationship within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theor. Appl. Genet.* 92: 1078-1084.
- Powell, W.W., Kenneth, W.K., Smith-Doerr, L. 1996.** Interorganizational Collaboration and the Locus of Innovation: Networks of Learning in Biotechnology. *Administrative Science Quarterly* 41(1):116-145
- Rafalski, J.A. 2002.** Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 94-100.
- Roelfs, A.P., Singh, R.P., Saari, E.E. 1992.** Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 81 pages.
- Roelfs, A.P. 1988.** Resistance to leaf and stem rusts in wheat. In: Simmonds NW, Rajaram S (eds) Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat. CIMMYT, Mexico, pp 10– 22.
- Rosewarne, G.M., Singh, R.P., Huerta-Espino, J., Rebetzke, G.J. 2008.** Quantitative trait loci for slow-rusting resistance in wheat to leaf rust and stripe rust identified with multi-environment analysis. *Theor Appl Genet.* 116:1027–1034.
- Rosewarne, G., Bonnett, D., Rebetzke, G., Lonergan, P., Larkin, P.J.. 2015.** The Potential of *Lr19* and *Bdv2* Translocations to Improve Yield and Disease Resistance in the High Rainfall Wheat Zones of Australia. *Agronomy* 5, 55-70.
- Reynolds, M.P., Calderini, D.F., Condon, A.G., Rajaram, S. 2001.** Physiological basis of yield gains in wheat associated with the Lr19 translocation from *Agropyron elongatum*. *Euphytica* 119:137–141.
- Röder, M.S., Korzun, A., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.H., Leroy, P., Ganal, M.W. 1995.** A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149:2007-2023.
- Röder, M.S., Huang, X.O., Ganal, M.W. 2004.** Wheat microsatellites: potantiel and implications. *Berling Heidelberg*, p: 255- 266.
- Sayre, K.D., Singh, P., Huerta-Espino, J., Rajaram, S. 1998.** Genetic Progress In Reducing Losses To Leaf Rust In Cimmyt-Derived Mexican Spring Wheat Cultivars. *Crop Science*. Vol. 38 No. 3, P. 654-659.
- Schachermayr, G., Siedler, H., Gale, M.D., Winzeler, H., Winzeler, M., Keller, B. 1994.** Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat. *Theor Appl Genet.* 88, 110-115.
- Schachermayr, G., Feuillet, C., Keller, B., 1997.** Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Molecular Breeding* 3: 65–74.
- Senior, M.L., Heun, M. 1993.** Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using a CT primer. *Genome* 36: 884-889.

- Seyfarth, R. 2000.** Development of Molecular Markers for the Adult Plant Leaf Rust Resistance Genes *Lr13* and *Lr35* in Wheat, *PhD Thesis*, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, 75p.
- Sharma, D. ve Knott, D.R. 1966.** The transfer of leaf rust resistance from Agropyron to triticum by irradiation. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 8, 137-143.
- Sharma, A., A. G. Namdeo ve K.R. Mahadik. 2008.** Phcog. Rev.: Rewiev Article. Molecular Markers: New Proepects in Plant Genome Analysis. *Pharmacognosy Rewievs* 2(3): 23-34.
- Sheikh, A.S., Tahir, R.A., Nawaz, M. 2012.** Molecular characterization of wheat genotypes using SSR markers. *Int.J. Bioautomation*. 16(2), 119-128
- Singh, R.P., William, H.M., Huerta-Espino, J., Rosewarne, G. 2004.** Wheat rust in Asia: meeting the challenges with old and new technologies. In: New directions for a diverse planet: Proceedings of 4th International Crop Science congress. http://www.cropscience.org.au/icsc2004/symposia/3/7/141_singhrp.htm
- Song, Q.J., Shi, J.R., Singh, S., Fickus, E.W., Costa, J.M., Lewis, J., Gill, B.S., Ward, R., Cregan, P.B. 2005.** Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor Appl Genet*. 110: 550–560.
- Sönmezoğlu, Ö.A., Yıldırım, A., Eserkaya Güleç, T., Kandemir, N. 2010.** Markör Destekli Seleksiyonun Buğday Islahında Kullanımı. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 105-112.
- Stepien, L., Golka, L., Chełkowski, J. 2003.** Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. *J. Appl. Genet*. 44(2), 139-149.
- Szabo, L.J., Kolmer, J.A. 2007.** Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina*. *Molecular Ecology Notes*. 7, 708–710.
- Tayyar, Ş. 2005.** Biga Koşullarında Yetiştirilen Farklı Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum* L.) Çeşit Ve Hatlarının Verim Ve Bazı Kalite Özelliklerinin Saptanması. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(3), 405-409.
- Tomar, S.M.S., Menon, M.K. 1998.** Adult plant response of near-isogenic lines and stocks of wheat carrying speciWc Lr genes against leaf rust. *Indian Phytopathol* 51:61–67.
- Todorovska, E., Christov, N., Slavov, S., Christova, P., Vassilev, D. 2009.** Biotic stress resistance in wheat-Breeding and Genomic selection implications. *Biotechnol. Equip*. 23 1417–1426.
- Tör, M. (1996).** Bitkilerde Moleküler Konukçu-Patojen İlişkilerindeki Son Gelişmeler. *Tr. J. Of Biology* 22. 271-285.
- Ulukan, H. 2007.** Klasik Bitki Islahı ve Genetik Mühendisliği ile Oluşturulan Değişimlere Genel Bir Bakış. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 21(2): 2740.
- Urbanovich, O.Y., Malyshev, S.V., Dolmatovich, T.V., Kartel, N.A. 2006.** Identification of Leaf Rust Resistance Genes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars Using Molecular Markers. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 42, No. 5, pp. 546–554.
- Urin, V. 2015.** Sakarya İlinde Buğdayda Kahverengi pas Hastalığının Yaygınlığının ve Baazı Çeşit ve Hatların Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*.
- Vanzetti, L.S., Campos, P., Demichelis, M., Lombardo, L.A., Aurelia, P.R., Vaschetto, L.M., Bainotti, C.T., Helguera, M. 2011.** Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and

- molecular markers . Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458
<http://www.ejbiotechnology.info> DOI: 10.2225/vol14-issue3-fulltext-14. 2-17.
- Vasistha1, N.K., Arun, B., Mishra, V.K., Saxesena, R.R., Pandey, A.K., Ahirwar, R.N., Kumar, R., Singh, M.K., Sharma, P.K. 2014.** Identification And Validation Of Leaf Rust Resistance Genes In Spring Wheat (*Triticum Aestivum* L. Em. Thell) Genotypes Using Molecular Markers. *The Bioscan*, 9(4): 1695-700, (Supplement On Genetics And Plant Breeding).
- Vida, G., Ga, M., Uhrin, A., Veisz, O., Syed, N.H., Flavell, A.J., Wang, Z., Bed, Z.N. 2009.** Molecular Markers For The Identification Of Resistance Genes And Marker-Assisted Selection In Breeding Wheat For Leaf Rust Resistance. *Euphytica* 170:67–76.
- Yağdı, K. 2002.** Bursa Koşullarında Yetiştirilen Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Stabilite Parametrelerinin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 16: 51-57.
- Yamamoto, T., Mochida, K., Imai, T., Haji, T., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Matsuta, N., Ogiwara, I., Hayashi, T. 2003.** Parentage analysis in Japanese peaches using SSR markers. *Breed. Sci.* 53: 35–40.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Tanur Erkoyuncu, M. 2015.** Moleküler Markörlerin Bitki İslahında Kullanımı. *Journal of Bahri Dagdas Crop Research* 4 (2):1-12, 2015.
- Yıldırım A. 2007.** Moleküler Genetik Ders Notları.
- Young, N.D. 1999.** A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Mol. Breed.* 5: 505-510.
- Zhang, H., Xia, H., He, Z., Xing, L., Zaifeng, L., Daqun, L. 2011.** Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrBi16* in Chinese wheat cultivar Bimai 16. *Mol Breeding* .28:527–534.
- Xing, L., Wen-xiang, Y., Ya-ning, L., Da-qun, L., Hong-fei, Y., Qing-fang, M., Ting, Z. 2006.** A SSR Marker for Leaf Rust Resistance Gene *Lr19* in Wheat. *Agricultural Sciences in China*. 7006, 5(2): 11 1-1 15.
- Wajid, H., Habib, A., Muhammad, S.I., Fida, M. A., Rabnawaz1, W. A., Shah, H. 2011.** Identification of leaf rust resistant gene *Lr10* in Pakistani wheat germplasm. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(43), pp. 8578-8584.
- Wang, J., Chapman, S.C., Bonnett, D.G., Rebetzke, G.J., Crouch, J. 2007.** Application of population genetic theory and simulation models to efficiently pyramid multiple genes via marker-assisted selection. *Crop Sci* 47:582–588.
- Watson, I.W., Singh, D., 1952.** The future of rust resistant wheat in Australia. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 28, 190-1
- Weigt, D., Kiel, A., Nawracała, J., Tomkowiak, A., Kurasiaak-Popowska, D., Siatkowski, I., Ługowska, B. 2016.** Obtaining Doubled Haploid Lines Of The *Lr19* Gene Using Anther Cultures Of Winter Wheat Genotypes. *Biotechnologia* Vol. 97(4) C Pp. 285-293. *Journal Of Biotechnology, Computational Biology And Bionanotechnology*.
- Winzeler, M., A. Mesterházy, R. F. Park, Bartos, M. Csösz, H. Goyeau, M. Ittu, E. Jones, F. Löschenberger, K. Manninger, M. Pasquini, K. Richter, D. Rubiales, G. Schachermayr, A. Strzembicka, M. Trottet, O. Unger, G. Vida and U. Walther. 2000.** Resistance of European winter wheat germplasm to leaf rust. *Agronomie* 20:783–792.
- Yürür, N. 1998.** Serin İklim Tahılları (Tahıllar-1). Uludağ Üniversitesi Basımevi. s.107-108.

EKLER

EK1. Deneme Materyalinin Agronomik Verileri

EK 2. Deneme materyallerinin arazide yetiştirilmesi

EK3. Arazide Kahverengi Pas Hastalık Gözlemleri



EK 1. Deneme Materyalinin Agronomik Verileri

Genotip	Bitki Boyu			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	73,6	87	93,1	84,6
Bayraktar	100,2	101,2	100,3	100,6
Bezostaja	80,8	97,6	102,7	93,7
Ceyhan-99	77,4	79,2	77	77,9
Cumhuriyet-75	59,2	91	82,2	77,5
Flamura-85	60	74,2	68	67,4
Gerek-79	80,6	91	97,7	89,8
Golia	59,8	52,6	75,8	62,7
Gönen-98	65,4	58,8	62	62,1
Guadalupe	56,6	78	65	66,5
Gün-91	99	97,4	97,1	97,8
İkizce-96	100,6	93,4	96	96,7
Kaşifbey-95	75,6	82	81	79,5
Pehlivan	82	80	82	81,3
Köksal-2000	82	88,2	86	85,4
Atilla-12	85,6	95	89,5	90
Bandırma-97	74	84,2	94	84
Karacabey-97	73	74,6	74,8	73,8
Tahirova-2000	72	76,8	76	74,9
İzmir-85	71,4	74,8	72,7	73
Köse 093/39	103,8	104,4	111,6	106,6
Karatopak	64,2	76	82,8	74,3
Lr10	111	111,2	110	110,7
Lr 19	108,6	113,6	110,2	110,8
TcHassas	112,2	132,2	120,8	121,7
Deneme Ortalaması				75,6

Genotip	Başak Boyu			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	10	10	10	10
Bayraktar	12	8,8	9,6	10,1
Bezostaja	8,3	9,2	11,6	9,7
Ceyhan-99	9,6	10	9,7	9,8
Cumhuriyet-75	10	9,2	13,1	10,8
Flamura-85	9,6	9,4	9,5	9,5
Gerek-79	10,1	9,8	9,4	9,7
Golia	7	6,6	11,2	8,3
Gönen-98	9,6	9	9,2	9,3
Guadalupe	10,8	9,4	9,3	9,8
Gün-91	10,8	9	10,3	10
İkizce-96	10	6,8	9,3	8,7
Kaşifbey-95	10,4	8,8	9,2	9,5
Pehlivan	8,4	10,8	9,2	9,5
Köksal-2000	8,2	8,6	8,6	8,5
Atilla-12	12,2	8	11,2	10,5
Bandırma-97	11	8	14,2	10,1
Karacabey-97	9	9,2	8,6	8,9
Tahirova-2000	12,2	9,8	9	10,3
İzmir-85	9,7	11,2	12,5	11,1
Köse 093/39	9,6	11	9,9	10,3
Karatopak	8,4	9,2	9	8,9
Lr 10	7	6,8	7,3	7
Lr 19	10,2	7,2	8,8	8,7
TcHassas	10	10,2	9,8	10
Deneme Ortalaması				10,7

Genotip	Başakçık Sayısı			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	19,2	16,8	16,9	17,6
Bayraktar	18	15,2	17	16,7
Bezostaja	17,2	18,6	20,8	18,9
Ceyhan-99	18,4	17,6	19,2	18,4
Cumhuriyet-75	17,4	13,6	16,1	15,7
Flamura-85	18	18,4	18,2	18,2
Gerek-79	20	17,4	15,6	17,7
Golia	15	15	21,3	17,1
Gönen-98	15,6	17	16	16
Guadalupe	22,6	18,2	20,2	20,3
Gün-91	21,4	15	20,2	18,9
İkizce-96	18,8	15,2	17	17
Kaşifbey-95	21,4	17	18	18,8
Pehlivan	15,6	19	19	17,9
Köksal-2000	25,4	21,8	20	22,4
Atilla-12	22	20,6	21,1	21,2
Bandırma-97	19	14,2	16	16,4
Karacabey-97	20	17,2	19	18,7
Tahirova-2000	21	18	19	19,3
İzmir-85	17,8	18,8	20,2	18,9
Köse 093/39	19,2	17,6	17,5	18,1
Karatopak	21,6	20	18,3	20
Lr10	17,4	16	16	16,5
Lr19	18,4	17	19	18,1
TcHassas	19	19,4	19	19,1
Deneme Ortalaması				18,3

Genotip	Başakta Tane Sayısı			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	32	27,7	37,4	32,4
Bayraktar	20	23,6	25	22,9
Bezostaja	42	39,8	44,12	42
Ceyhan-99	35	39	31,7	35,2
Cumhuriyet-75	36	24,2	40,7	33,6
Flamura-85	38	44	42	41,3
Gerek-79	31,2	33,2	30,7	31,7
Golia	35	32,6	47,6	32,8
Gönen-98	38	42,2	42	41
Guadalupe	42	50,6	45,3	46
Gün-91	32,8	23	35,8	30,5
İkizce-96	31	25,6	22	26,2
Kaşifbey-95	38	34	32	34,5
Pehlivan	31	31,4	28	30,1
Köksal-2000	25	24	31	26,7
Atilla-12	32	34	37,5	34,5
Bandırma-97	26	21,2	30,1	25,8
Karacabey-97	35	29,4	31	31,8
Tahirova-2000	35	43,8	37	38,6
İzmir-85	36	30,6	34,4	33,7
Köse 093/39	30	26,6	29,7	28,8
Karatopak	38	25	44	35,6
Lr 10	32	25,2	29	28,7
Lr 19	32	30,8	36	33
TcHassas	38	28	41	35,7
Deneme Ortalaması				30,7

Genotip	Başakta Tane Ağırlığı			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	1,51	1,43	1,64	1,53
Bayraktar	1,03	1,05	1,08	1,1
Bezostaja	2,0	1,71	1,44	1,7
Ceyhan-99	1,83	1,81	1,12	1,6
Cumhuriyet-75	1,26	1	1,38	1,21
Flamura-85	2,01	1,99	1,85	1,95
Gerek-79	2,03	1,7	0,86	1,53
Golia	1,15	0,81	1,10	1,02
Gönen-98	1,10	0,96	1,12	1,06
Guadalupe	2,02	2,22	1,7	2
Gün-91	1,40	1,35	0,86	1,2
İkizce-96	0,96	0,71	0,89	1,17
Kaşifbey-95	1,98	2,44	2,36	2,26
Pehlivan	1,12	1,16	1,2	1,16
Köksal-2000	1,26	0,96	1,02	1,08
Atilla-12	1,18	1,05	0,92	1,05
Bandırma-97	1,20	0,79	1,39	1,13
Karacabey-97	0,83	0,95	1,05	0,94
Tahirova-2000	1,50	2,37	1,60	1,80
İzmir-85	1,45	1,3	2,35	1,7
Köse 093/39	1,85	2,45	0,85	1,72
Karatopak	1,70	2,99	1,47	2,01
Lr10	0,98	0,67	0,85	0,83
Lr19	0,98	0,89	1,10	0,99
TcHassas	0,80	0,84	0,75	0,80
Deneme Ortalaması				1,38

Genotip	1000 Tane Ağırlığı			
	2014-15	2015-16	2016-17	Çeşit Ortalaması
Aldane	43	39	52,2	44,7
Bayraktar	42,8	46,7	46,9	45,5
Bezostaja	55,3	52,6	38,8	48,9
Ceyhan-99	41	39,5	31,8	37,4
Cumhuriyet-75	40,2	35,7	42,8	39,6
Flamura-85	39	37,1	36,9	37,7
Gerek-79	33,1	32,9	32	32,7
Golia	30,8	27,6	31,7	30
Gönen-98	25,3	22,9	26,1	24,8
Guadalupe	36,8	39,3	33	36,4
Gün-91	38	36,8	27,3	34
İkizce-96	36,3	33,5	35,2	35
Kaşifbey-95	37,6	39,4	38,6	38,5
Pehlivan	21	20,4	21,5	21
Köksal-2000	32,2	27,8	29,8	29,9
Atilla-12	31,1	30,5	26,5	29,4
Bandırma-97	43,2	37,5	45,7	42,4
Karacabey-97	29,6	31	32,9	31,2
Tahirova-2000	39	41,7	37,2	39,3
İzmir-85	36,1	33,3	39,9	36,4
Köse 093/39	30,2	32,9	28,9	31
Karatopak	32,8	42,5	29,3	34,9
Lr 10	33,1	23,5	31,8	29,5
Lr 19	31	29,1	30,2	30,1
TcHassas	27,9	28,6	26,8	27,8
Deneme Ortalaması				34,7

EK 2. Deneme materyallerinin arazide yetiştirilmesi



Şekil 1. Deneme alanında parselasyon çalışması



Şekil 2. F1 tohumlarının sıraya el ile ekimi



Şekil 3. Sıraya ekim yapılan tohumlara el ile gübre verilmesi



Şekil 4. Sıraya ekilen tohumların ilk çıkışları



Şekil 5. Sıraya ekimlerde çıkışlar



Şekil 6. Tez materyalinin çoğaltılması, deneme parselleri



Şekil 7. Deneme Parsellerinde ki bitkilerin çıkışlarına ait bir görüntü



Şekil 8. Sıraya el ile ekim yapılan bitkilerin çıkışlarına ait görünüm



Şekil 9. Melez bahçelerinden bir görünüm



Şekil 10. Melez bahçelerinde kafes kurulumu



Şekil 9. Çalışmada yer alan genotiplerin deneme parsellerine ait bir görünüm



Şekil 10. Sıraya ekim yapılan deneme materyalinin hasat öncesine ait bir görünüm



Şekil 11. Deneme materyalinde agronomik ölçümler



Şekil 12. Emektar Parsel Hasat Makinası ile hasat sonu

EK 3. Arazide Kahverengi Pas Hastalık Gözlemleri



Flamura



Cumhuriyet



Aldane



Karacabey



Lr10



Lr19



Gönen-98



İzmir-85





TcHassas



Bayraktar





İKİZCE-96



Kaşifbey





Atilla-12



Bandırma-97





Köksal-2000



Pehlivan





Tahirova



Köse 220/39



Ceyhan-99



Guadalupe





Gün-91



Gerek-79





Bezostaja



Karatopak



Golia



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Pakize Özlem KURT POLAT
Doğum Yeri ve Tarihi : Balıkesir, 1985
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : Balıkesir Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
Lisans : Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Bölümü

İletişim (e-posta) : ozlemkurt26@hotmail.com

Yayımları

Tüfekçi, Ş., Yerlikaya, D.Ü., Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2018. Ekim Öncesi Tohumla Uygulanan Bazı Kimyasalların Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum* Var.*Aestivum* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Özellikleri Ve Fide Gelişimine Etkileri. U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi.

Kurt Polat, P.Ö., Yağdı K. 2017. Investigations On The Relationships Between Some Quality Characteristics In A Winter Wheat Population *Turkish Journal Of Field Crops*. 22, 108-113. (SCI)

Aydoğan Çifci, E., Kurt Polat, P.Ö., Şenyiğit, E., Dogan, R. 2017. Stability of Durum Wheat Genotypes in Some Agronomic Traits Under Bursa Ecological Conditions. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 30(5), 1394-1400.

Aydoğan Çifci, E., Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2016. Evaluation Of Bread Wheat Cultivars For Agronomic And Quality Traits. *Works Of The Faculty Of Agriculture And Food Sciences University Of Sarajevo*.

Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2016. Genetically Modified Organisms. *International Journal Of Scientific And Engineering.* 7, 1850

Kurt Polat, P.Ö., Aydoğan Çifci, E., Yağdı K. 2016. Stability Performance Of The Bread Wheat (*Triticum Aestivum L.*) Lines. *J. Agricultural Science And Technology.* 18, 553-560. (SCI).

Kurt Polat, P.Ö., Aydoğan Çifci, E., Yağdı, K. 2015. Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum L.*)'Da Tane Verimi İle Bazı Verim Öğeleri Arasındaki İlişkilerin Saptanması. *Tarım Bilimleri Dergisi.* 3, 355-362. (SCI)

Aydoğan Çifci, E., Kurt Pakize, Ö., Yağdı, K. 2014. Correlations and path coefficient analysis for salttolerance index in triticale genotypes at different salinitylevels. *Bothalia A journal of botenical and life sciences research,* 44(10), 40-47.

Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2013. Bazı İleri Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum L.*) Hatlarının Bursa Koşullarında Verim Özellikleri Yönünden Performansının Araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.* 27 (2), 19-31.

Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2013. Bazı İleri Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum L.*) Hatlarının Bursa Koşullarında Kalite Özellikleri Yönünden Performansının Araştırılması. *Namık Kemal Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergis.* 10 (2), 34-43.

Aydoğan Çifci, E., Kurt Polat, P.Ö., Yağdı, K. 2013. Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Tritikale Çeşitlerinin Çimlenmesi Üzerine Etkileri. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2, 1-11 27.

Yağdı, K., Aydoğan Çifci, E., Kurt Polat, P.Ö. 2012. Kaliteli Tohumluk Kullanımının Önemi. *Tarım Türk.Tohum Ve Fide .* 37, 79-80.

Kurt Polat, P.Ö., Aydoğan Çifci, E., Yağdı, K. 2011. Genetik Kullanımı Sınırlayıcı Teknolojilerin Olası Etkileri Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 69-76 25(2).

