



**EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)
GENOTİPLERİNİN
KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINA
DAYANIKLILIĞININ DOĞAL KOŞULLARDA
MORFOLOJİK BELİRLENMESİ VE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Eylem ÖRS

**Yüksek Lisans Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. İsmet BAŞER**

2018

T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) GENOTİPLERİNİN
KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINA DAYANIKLILIĞININ DOĞAL
KOŞULLARDA MORFOLOJİK BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Eylem ÖRS

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. İSMET BAŞER

TEKİRDAĞ – 2018

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. İsmet BAŞER danışmanlığında, Eylem ÖRS tarafından hazırlanan “Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Genotiplerinin Kahverengi Pas Hastalığına Dayanıklılığının Doğal Koşullarda Morfolojik Belirlenmesi ve Moleküler Karakterizasyonu” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT

İmza:

Üye: Prof. Dr. İsmet BAŞER

İmza:

Üye: Doç. Dr. Fatih KAHRIMAN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) GENOTİPLERİNİN KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINA DAYANIKLILIĞININ DOĞAL KOŞULLARDA MORFOLOJİK BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Eylem ÖRS

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmet BAŞER

Araştırma, 2016-2017 yetiştirme dönemi tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülmüş ve 20 tane melezin F₂ materyali olarak kullanılmıştır. Bitkilerden 2 dönemde (Erken- Geç) hastalık okumaları Modifiye Cobb skalasına göre yapılmıştır. NKÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümüne ait 20 ekmeklik buğday F₂ hatları Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 ve Lr 35 genlerinin taşıyıp taşımadıklarının belirlenmesi amacıyla CIMMYT-Meksika'dan sağlanan izogenik hatlar kullanılmıştır. Çalışma kahverengi pasa dayanıklılığın moleküler karakterizasyonu için Basit Dizi Tekrarları (SSR) analizlerinde 6 SSR markırı (J13, Xgwm146, Gb, J09, Lr35 ve csLV34) kullanılarak F₂ popülasyonları Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 ve Lr 35 genleri yönünden incelenmiştir. 2016-2017 yetiştirme dönemi bölgede iklim koşulları nedeni ile kahverengi pas yönünden tarla koşullarında önemli bir hastalık bölge düzeyinde gözlenmemiştir. Fakülte deneme alanında da 12 F₂ popülasyonunda hastalık gözlenmezken Szala/Genesis melezinde 20R değeri gözlenmiştir. Elde edilen verilere bakıldığında ekmeklik buğday F₂ döllerinin kahverengi pasa dayanıklılığının önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Bazı F₂ dölleri dayanıklılık gösterirken, bazı F₂ döllerinde ise dayanımın düşük olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, SSR markırları ile yapılan analizler sonucunda, F₂ döllerinin tümü Lr 9 ve Lr 24 genini taşımamaktadır. Lr14 genini 16 ve Lr35 genini 14 tane ekmeklik buğday F₂ dölleri taşımaktadır. Lr 19 ve Lr 34 genlerini sırası ile 3 ve 5 tane ekmeklik buğday F₂ dölleri taşımaktadır. Elde edilen verilere göre kahverengi pas çalışmalarında Lr 9 genine ve Lr 24 genine dayanıklılığın öncelikli olarak dikkate alınması gerektiği ortaya koymaktadır. Yapılacak çalışmalarda F₂ de daha fazla bitki ile çalışmanın elde edilecek sonuçların daha sağlıklı olmasını sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler : Ekmeklik buğday, kahverengi pas, F₂ popülasyonu, dayanıklı, SSR, markır

2018, 48 sayfa

ABSTRACT

Msc. Thesis

MORPHOLOGICAL and MOLECULAR CHARACTERISTICS of NATURAL CONDITIONS of LEAF RUST RESISTANCE in BREAD WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) F₂ POPULATIONS

Eylem ÖRS

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmet BAŞER

The study was carried out between 2016 and 2017 according to randomized block trial design and 20 F₂ hybrid population was used as material. The brown rust level in the plants was determined according to the Modified Cobb scale. The study was carried out in the experimental field and laboratory of the NKU Agricultural Faculty Field Crops Department and the isogenic lines provided from CIMMYT-Mexico were used to determine whether the Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 and Lr 35 genes were carried in 20 populated wheat F₂ populations. SSR analysis was performed for the molecular characterization of the brown pas durability and the F₂ populations Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 and Lr 35 with the 6 SSR markers (J13, Xgwm146, Gb, J09, Lr35 and csLV34). Due to the climatic conditions in the region in 2016-2017, a significant disease rate in field conditions was not observed at the regional level. While no disease was observed in the 12 F₂ population on the experimental area, the 20R value was observed in the Szala / Genesis hybrid. When examined in the obtained data, it is seen that the tolerance of the wheat F₂ populations to leaf rust disease is considerably different. As a result of the analysis with the SSR markers, all of the F₂ populations have carry the Lr 9 and Lr 24 genes. In the fourteen F₂ populations, Lr 14, Lr 16 and Lr 35 genes were identified. The genes of Lr 19 and Lr 34 was seen 3-5 wheat F₂ populations. The obtained data suggest that the Lr 9 gene and Lr 24 genes should be considered as important selection criteria in leaf rust studies. In the work to be done, working with more plants in F₂ will make the results more beneficial.

Key words: Bread wheat, leaf rust, F₂ population, resistance, SSR, marker

2018, 48 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR.....	vi
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	16
3.1 Materyal.....	16
3.2. Araştırma Yerinin Özellikleri.....	16
3.2.1. Toprak Özellikleri.....	17
3.2.2 İklim Özellikleri	17
3.3. Yöntem	18
3.3.1. Morfolojik Tanımlama	18
3.3.2 . Moleküler Karakterizasyon	21
3.3.2.1. DNA İzolasyonu	21
3.3.2.2 PCR uygulaması	22
3.3.2.3. Elektroforesis.....	24
4.BULGULAR ve TARTIŞMA	26
4.1 Doğal Koşullar Altında Kahverengi Pasa Dayanıklılık.....	26
4.2 Moleküler Analizler.....	28
5. SONUÇ	40
6.KAYNAKLAR.....	43
TEŞEKKÜR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	48

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Dünyada buğday üretimi yapan ülkeler, ekiliş alanı ve üretim miktarları.....	1
Çizelge 3.1 : Araştırmada kullanılan melez adları.....	16
Çizelge 3.2 : Deneme yerlerine ait toprak analiz sonuçları.....	17
Çizelge 3.3 : Tekirdağ lokasyonuna ait 2016/2017 dönemine ait iklim değerleri.....	18
Çizelge 3.4 : Tarla devresindeki hastalık değerlendirilmesinde kullanılan değiştirilmiş Cobb skalası.....	19
Çizelge 3.5 : Özütleme tampon çözeltisi bileşenleri.....	22
Çizelge 3.6 : PCR yükleme tampon çözeltisi bileşenleri.....	23
Çizelge 3.7 : Araştırmada kullanılan SSR primerleri DNA baz dizilimleri.....	24
Çizelge 4.1 : Ekmeklik buğday çeşitlerinde hastalık gelişim değerleri.....	27
Çizelge 4.2 : Ekmeklik buğday F2 hatlarında incelenen Lr genleri.....	28

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 : 2016/17 Dünya Buğday Üretiminde Başlıca Ülkelerin Payları (%).....	2
Şekil 1.2 : Kahverengi pas (<i>Puccinia recondita</i> f.sp. <i>tritici</i>) sporlarının yaşam çemberi.....	4
Şekil 1.3 : Kahverengi pas hastalık belirtileri.....	5
Şekil 1.4 : SSR markörlerinin şematik gösterimi.....	8
Şekil 3.1 : Modifiye edilmiş Cobb skalasına göre buğdayda pas hastalıkları şiddetinin belirlenmesinde kullanılacak diyagram.....	20
Şekil 3.2 : Buğdayda kahverengi pas hastalığının şiddeti ve enfeksiyon tipi.....	20
Şekil 4.1 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr9 geni.....	29
Şekil 4.2 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr14 geni.....	31
Şekil 4.3 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr14 geni.....	32
Şekil 4.4 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 19 geni.....	33
Şekil 4.5 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 19 geni.....	34
Şekil 4.6 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 24 geni.....	35
Şekil 4.7 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 34 geni.....	36
Şekil 4.8 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 35 geni.....	38
Şekil 4.9 : Ekmeklik buğday F ₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 35 geni.....	39

KISALTMALAR

AB	:Avrupa Birliği
bP	:Base pair- baz çifti
cM	:Centimorgan
CIMMYT	:International maize and wheat improvement center
CTAB	:Hexadecyltrimethylammonium bromide
DNA	:Deoxyribonucleic acid
dNTP	:Dinucleotide triphosphate
IGC	:Uluslararası Hububat Konseyi
Lr	:Leaf rust
mM	:Milimolar
MR	:Moderately Resistant
MS	:Moderately Susceptible
PCR	:Polymerase Chain Reaction
R	:Resistant
S	:Susceptible
SSR	:Simple Sequence repeat
TBE	:Tris- Borik asit- EDTA
TE	:Tris-EDTA
TMO	:Toprak Mahsülleri Ofisi
TÜİK	:Türkiye İstatistik Kurumu
µl	:Microlitre

1.GİRİŞ

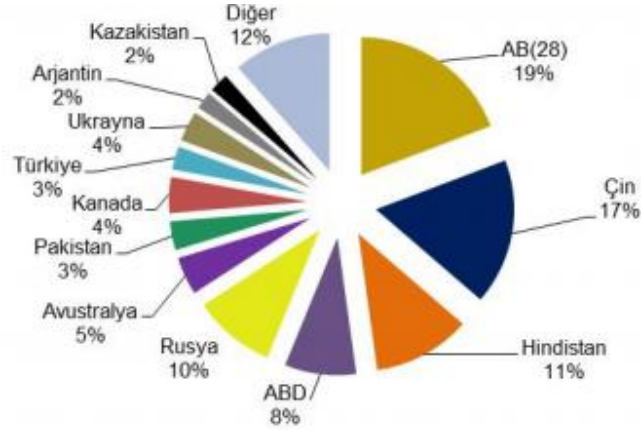
Buğday, geçmişte olduğu gibi günümüzde de insan beslenmesinde en fazla kullanılan kültür bitkileri arasında ekiliş ve üretim bakımından Dünya’da ilk sırada yer almakta olup geniş adaptasyon özelliğine sahip olduğu için dünyanın her tarafında yetişebilen bir bitkidir. Kaliteli ve dengeli bir besin maddesi olmasının yanı sıra makineli tarıma uygun olması ve depolanmasının kolaylığı sayesinde artan dünya nüfusu ile birlikte önemi gün geçtikçe artmaktadır. Buğday; insan beslenmesinde yaygın olarak kullanılan en önemli enerji ve mineral kaynaklarından birisidir. Ortalama olarak günlük enerji ihtiyacının Avrupa Birliği ülkelerinde %20’si, ülkemizde %40’ın üzeri, kırsal kesimlerde ise %75’in üzerindeki bir kısmı buğdaydan karşılanabilmektedir. Ekonomik ve ticari açıdan önemli bir yere sahiptir.

Uluslararası Hububat Konseyi (IGC) ve TÜİK verilerine göre 2016/17 yılında dünyada 222 milyon ha alanda 752 milyon ton, ülkemizde ise 7,671,945 ha alanda 20,600,000 ton buğday üretimi gerçekleştirilmiştir (TMO 2016). Dünya’da buğday ekiliş alanı olarak Hindistan, üretim miktarı olarak ise AB (28) ilk sırayı almaktadır. Ülkemiz ise ekiliş alanı ve üretim miktarı olarak 9. sırada yer almaktadır.

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

ÜLKE	ÜRETİM MİKTARI (MİLYON TON)	EKİLİŞ ALANI (MİLYON HA)
AB (28)	144,4	17,4
ÇİN	128,9	24,2
HİNDİSTAN	86,0	30,2
RUSYA	72,5	26,9
ABD	62,9	17,8
AVUSTRALYA	33,5	13,0
KANADA	31,7	8,9
PAKİSTAN	25,5	9,3
TÜRKİYE	20,6	7,7

Not: AB verileri; 2006/07'den 2012/13'e kadar AB (27), 2013/14 döneminden itibaren AB (28) içindir.



Şekil 1.1. 2016/17 Dünya Buğday Üretiminde Başlıca Ülkelerin Payları (%)
Kaynak: IGC

2016/17 dönemi buğday üretim tahminlerine göre, Dünya’da ilk sırada %19’luk pay ile AB (28) ülkeleri yer alırken bunu %17 ile Çin ve %11 ile Hindistan takip etmektedir. Türkiye, dünya buğday üretiminin %3’ünü gerçekleştirmektedir (Şekil 1.1).

Dünya nüfusunun hızla artması, ekim alanlarının genişletilememesi hatta kimi yerlerde azaltılması zorunluluğu, bitkisel üretimde ürün artışı için, birim alan veriminin yükseltilmesi tek seçenek olmaktadır. Dünya üzerinde geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde verimlerin istenilen düzeylere ulaştırılamaması, yeterince beslenemeyen aç insanların sayılarının artmasına neden olmaktadır. Dünya’da buğday verimi ve ürün kalitesinde iklim koşulları yıldan yıla önemli farklılıklar görülmektedir. Bu farklılığın ortaya çıkışında çeşidin genetik yapısı, toprak yapısı, topraktaki azot miktarı, topraktaki azotun kullanılabilme etkinliği ve uygulanan yetiştirme teknikleri büyük rol oynamaktadır (Kahraman ve ark. 2008).

Buğday ülkemizde ekiliş ve üretim bakımından ilk sıralarda yer alır. İnsan besini olması yanında, hayvan beslenmesinde de kullanılan önemli bir kültür bitkisidir. Buğdayın adaptasyon sınırının genişliği, üretim, taşıma, depolama ve işleme kolaylığı ile ekmek olma kabiliyetinden dolayı, birçok ülkede üretimin artırılması çalışmaları hızlandırılmıştır (Kün 1996). Artan besin ihtiyaçlarının karşılanmasında, bölge ekolojik koşullarına uyum sağlayan, verim ve kalite özellikleri iyi olan genotiplerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Değişik ekolojiler için, verim ve kalitesi yüksek olan hatların belirlenmesi amacıyla ülkenin farklı bölgelerinde birçok araştırma yapılmıştır (Yürür ve ark. 1981; Mut ve ark. 2005). Buğday ıslah çalışmalarında temel amaçlar birim alandan elde edilen tane verimini artırmak, protein oranı ve kalitesi yüksek ebeveyn ve melezleri seçerek farklı genotiplerde bulunan bu özelliklerin bir bireyde toplanmasını sağlamaktır. Genotip, çevre faktörleri ve genotip x çevre

interaksiyonu verim ve kalite üzerinde etkilidir. Tanedeki protein miktarı ve kalitesi bazı agronomik uygulamalar ile arttırılabilse de en etkili yol buğday protein içeriğinin ıslah yolu ile geliştirilmesidir.

Bitki ıslahı; mevcut varyasyondan ya da yapay olarak yaratılmış varyasyondan uygun seleksiyon yöntemleri ile yeni çeşit (genotip) geliştirmektir. Ekmeklik buğday ıslah programlarındaki başarıyı melezlemede kullanılacak anaçların seçimi önemli oranda etkilemektedir. Kahverengi pasın önemli sorun olduğu üretim bölgeleri için geliştirilecek ekmeklik buğday çeşitlerinin kahverengi pasa dayanıklı olması gerekmektedir. Hastalıklara dayanıklılık çalışmalarında etkili hastalık ırkına ilişkin bilgiler yanında melezleme programında anaç olarak kullanılacak genotiplerin hastalık etmenine dayanıklılık durumları ve bu dayanıklılığın genetik temellerinin önceden bilinmesi gereklidir.

Ülkemizde buğday üretimi yapılan tarım alanlarının farklı iklim ve toprak özelliklerine sahip olmaları, biyotik (hastalık ve zararlılar vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk vb.) stres faktörlerinin etkileri sonucu verim ve kalitede büyük oranda değişime neden olmaktadır. Trakya bölgesinde de biyotik stres faktörleri her yıl yüksek düzeyde ürün kaybına neden olmakta, bunu önlemek içinde bölgede yoğun bir kimyasal ilaçlama yapılmaktadır. Marmara bölgesin de biyotik stres faktörlerinin başında kahverengi pas hastalığı gelmektedir. Bu hastalık nedeniyle oluşan verim kayıpları hastalığın şiddetine bağlı ve buğday genotipinin hastalığına olan hassasiyetine göre farklılık göstermektedir. Bir başka değişle, kahverengi pas hastalığının şiddeti ya da enfeksiyon tipi üretilen ekmeklik buğday genotipinin dayanıklılık genleri ile pas hastalığı etmeninin saldırgan genleri arasındaki interaksiyon ile belirlenmektedir.

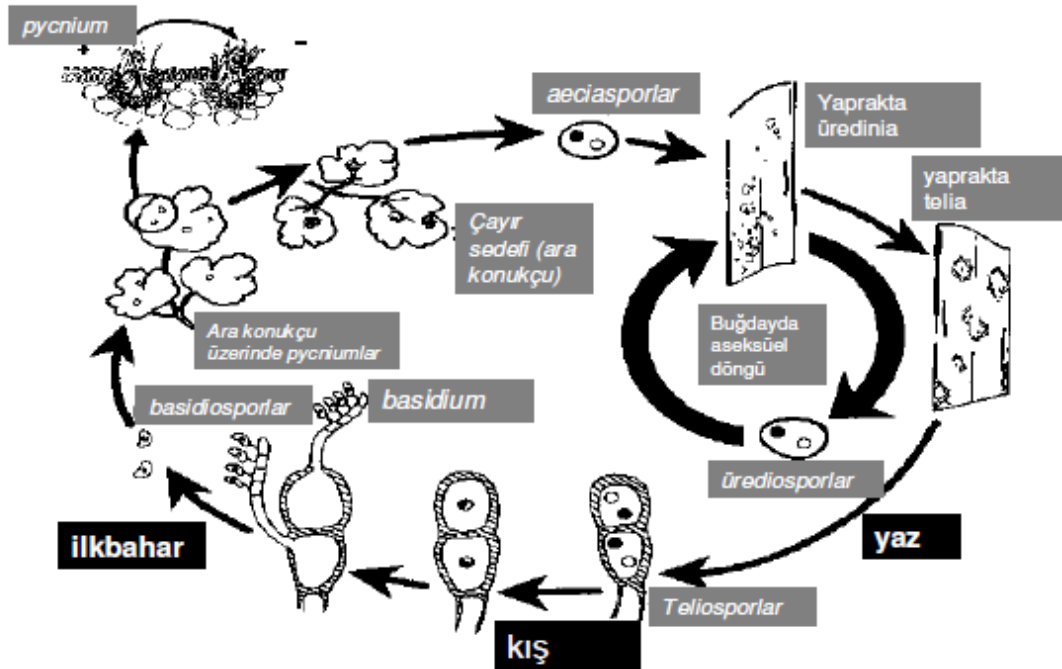
Dünya’da buğday üreticisi olarak önemli bir yeri olan ülkemizde buğday üretimini sınırlandıran en önemli biyotik stres faktörlerinin başında pas hastalıkları gelmektedir. Epidemiy yıllarında hassas çeşitler üzerinde meydana gelen erken enfeksiyonlar sonucu ürün kayıpları %90'lara kadar çıkabilmekte (Aktaş 2001) ve çeşitlerin tamamen üretimden kaldırılmasına neden olabilmektedir. Ülkemizde bugüne kadar buğday bitkisinde farklı pas türlerinin oluşturduğu ürün kaybı %12-80 arasında kaydedilmiştir (Bolat ve ark. 1999). Ürün kaybı çeşitlerin hassasiyetlerine, çevre koşullarına ve etmenlerin ırklarına göre değiştiği gibi yıldan yıla ve bölgeden bölgeye de farklılıklar gösterebilmektedir.

Pas hastalıkları özellikle nemli bölgelerde yaygın olarak görülmekte olup (Samborski 1985; Wiese 1985), buğdayda kara pas (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. and *E. Henn*), sarı pas (*Puccinia striiformis* Westendorp f. sp. *tritici* Eriks) ve kahverengi pas (*Puccinia triticina* Eriks) olmak üzere üç farklı türü bulunmaktadır (Anonim 1995).

Bunlardan kahverengi pas iklim koşulları uygun seyrettiğinde özellikle sahil kuşağında verim kayıplarına neden olmaktadır (Samborski 1985, Singh ve ark. 2004a). Kahverengi pasın oluşturduğu kayıplar genellikle çok fazla değildir (<% 10) fakat çok büyük kayıplar da (% 30'dan daha fazla) gözlenebilir (Roelfs ve ark. 1992). Şiddeti yıllara göre değişen hastalığın zarar derecesi, salgın yapmaları ve enfeksiyonların erken çıkışı ile artar. Kahverengi pas %20-60 oranında ürün kaybına neden olabilmektedir (Aktaş 2001).

Kahverengi pas genellikle yapraklarda görülmekte ve bu nedenle yaprak pası olarak da isimlendirilmektedir. Yazlık sporların (üredospor) içinde bulunduğu püstüller (üredia) yaprak yüzeyine gelişi güzel dağılmış noktacıklar şeklindedir. Bunlar portakal sarısı veya yanık kahverengindedir (Şekil 1.2.). Hastalığın ilerlemesi ile püstüller üzerindeki epidermis parçalanır, ancak bu durum kara pastaki kadar belirgin değildir. Bazen bu pasta bir esas püstül etrafında çepeçevre bir veya iki daire halinde daha küçük püstüller oluşmaktadır (Anonim 1995). Hastalık etmeni buğdayın yapraklarında fotosentez alanını daraltarak verimi olumsuz yönde etkilemektedir (Aktaş 2001).

Enfeksiyon için gerekli ortalama sıcaklık 20 °C (2-30 °C) dir. Ayrıca yüksek nem de enfeksiyon için zorunludur.



Şekil 1.2. 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 oluşturdıkları ve rüzgarla yayılan yazlık sporlar uygun nem ve sıcaklık (10-18 °C) koşullarında yeni enfeksiyonlar oluşturur.



Şekil 1.3. Kahverengi pas hastalık belirtileri

Kahverengi pas buğdayın yetiştirildiği her yerde görülebilir. Kahverengi pasın buğdayda oluşturduğu zarar, pasın gelişim devresi ile ilgili olarak enfeksiyon zamanında buğday gelişim dönemine bağlıdır. Çiçeklenme öncesi veya süresince meydana gelen salgınlar ve özellikle de bayrak yaprağı şiddetli bir enfeksiyona uğradığı zaman ciddi kayıplar söz konusudur (Lipps 2006). Tane verimindeki kayıplar asıl olarak çiçeklerde oluşan azalmalardan oluşmaktadır. Nem stresi ile birlikte ciddi epidemilerde taneler kurur ve büzüşür. Nadiren bazı genotiplerde çiçekler, sürgünler ve bitki, erken epidemilerde (çiçeklenme öncesi) tamamen ölebilir (Roelfs ve ark. 1992).

Kahverengi pas genellikle yapraklarda oluşturduğu püstüller ile fotosentez alanını kısıtlamaktadır. Ürün kaybı, başaktaki tane sayısının azalmasına, tane boyutunun küçülmesine, 1000 tane ve hektolitreye ağırlığının azalması şeklinde olmakta, protein içeriğinin azalması ile de kalite kaybı oluşmaktadır (Arslan ve ark. 2002; Lipps 2006). Kahverengi pasın oluşturduğu kayıplar genellikle çok fazla değildir (< % 10) fakat çok büyük kayıplar da (%30'dan daha fazla) gözlenebilir (Roelfs ve ark. 1992).

Son yıllarda pasa dayanıklı kışlık buğday çeşitlerinin yaygın olarak kullanımı kahverengi pasın neden olduğu kayıpları biraz olsun azaltmıştır. Kahverengi pas fungusunun birçok ırkı mevcuttur ve çeşitler bütün ırklara dayanıklı değildir. Her birkaç yılda bir yeni

ırklar meydana gelmekte ve daha önceki dayanıklı çeşitler duyarlı hale gelmektedirler. Kahverengi pasa dayanıklı bir çeşidin dayanıklılık süresi genellikle 2 ile 4 yıl arasında değişmektedir. Buğday ıslah programları yeni dayanıklılık genlerinin yeni çeşitlere aktarılmasıyla sürdürülmelidir (Lipps 2006).

Kahverengi pasa dayanıklılığı arttırmak için iki temel ıslah stratejisi vardır; bunlardan birincisi tam dayanıklılık sağlayan büyük dayanıklılık genlerinin (*Lr* genleri) piramitleştirilmesi, ikincisi ise kantitatif dayanıklılık gösteren küçük genlerin bir araya getirilmesidir. Ancak tek bir gen tarafından sağlanan dayanıklılık çok kısa zaman periyotlarında patojen popülasyonunda virulent ırkların ortaya çıkmasıyla yok olmaktadır. Daha uzun süreli dayanıklılığı elde etmek için kısmi dayanıklılık veya yavaş paslanma dayanıklılığı (slow rusting resistance) olarak adlandırılan kantitatif dayanıklılık tercih edilmelidir. Çünkü kantitatif dayanıklılıkta pas enfeksiyonu tamamen engellenmez sadece hastalığın yayılması önlenir (Messmer ve ark. 2000).

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). Geleneksel veya klasik ıslah metotlarının başarısını ve hızını artırıcı tekniklerin başında MAS gelmektedir. Markör destekli seleksiyon ile ıslah çalışmaları daha kısa sürede ve daha az iş gücü ile tamamlanabilmekte ve bunların yanı sıra gereksinim duyulan popülasyon büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır (Gupta ve Rustgi 2004).

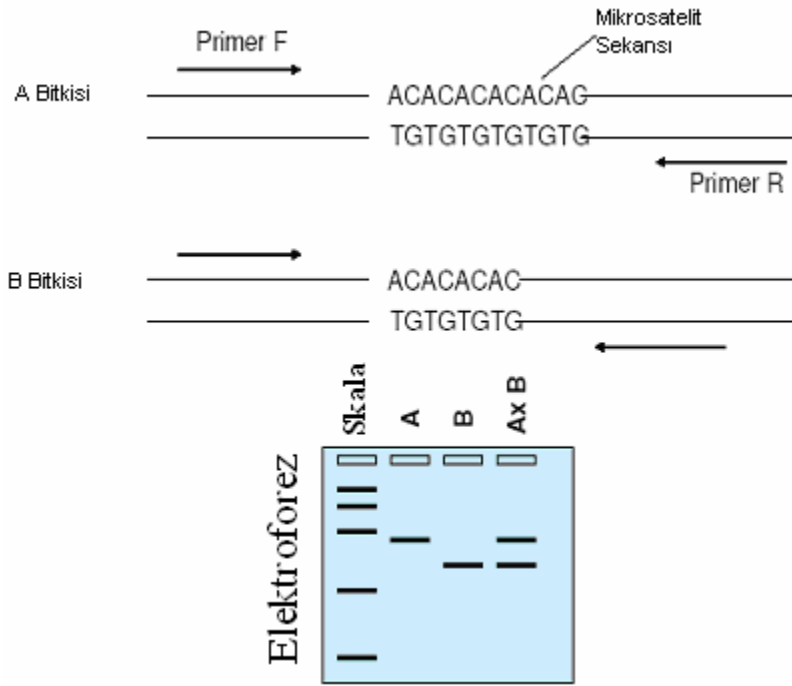
Markör destekli seleksiyonda kullanılan markör tipleri morfolojik, biyokimyasal (protein) ve moleküler olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır. Morfolojik belirleyiciler (markörler); çiçek rengi ve tohum şekli gibi görsel olarak karakterize edilebilen analizleri oldukça kolay olan fenotipik karakterlerdir (Yıldırım ve Kandemir 2001). Ancak sayılarının az oluşu yanında çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmeleri nedeniyle günümüzde fazla kullanılmamaktadırlar. Bunların yanı sıra birbirine oldukça yakın genotipler arasında sınırlı düzeyde polimorfizm göstermeleri ve dominant özellikte olmalarından dolayı sadece dominant fenotipi (AA ve Aa) resesif fenotipten (aa) ayırmaları da morfolojik markörlerin diğer dezavantajlarıdır (Mohan ve ark. 1997).

Moleküler belirleyiciler diğer belirleyicilere göre daha güvenilir olmaları, çevreden etkilenmemeleri, bitkilerin gelişmelerinin her aşamasında kullanılabilmeleri, bitkinin olgunlaşmasının beklenmesine gereksinim olmaması ve geniş bir varyasyon göstermeleri gibi avantajları nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu belirleyiciler farklı

genotiplere ait DNA nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyarlar. Ayrıca bu belirleyicilerin DNA polimorfizmi klasik morfolojik veya biyokimyasal belirleyicilerden çok daha fazladır (Özcan ve ark. 2001). Moleküler DNA belirleyicilerden buğday ıslahında kullanılanların en önemlilerini restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) (Nelson ve ark. 1997) ve rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) (Dweikat ve ark. 1997; 1998; Shi ve ark. 1998), basit dizi tekrarları (mikrosatelitler veya SSR) (Hamada ve ark. 1982; Raupp ve ark. 2001; Wang ve ark. 2002), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) (Vos ve ark. 1995), dizisi etiketlenmiş alanlar (STS) (Talbert ve ark. 1994; Schachermayr ve ark. 1997; Prins ve ark. 2001) ve tek nükleotid farklılıkları (SNP) (Ravel ve ark. 2007) gibi belirleyiciler oluşturmaktadır.

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 ıslahçılarına buğdayda, hastalığın bulunduğu çevrelerde dayanıklılık genleri için indirekt seleksiyonun uygulanmasında ve dayanıklılık genlerinin piramitleştirilmesinde önemli bir araç sağlamaktadır (Röder ve ark. 1998; Gupta ve ark. 1999).

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 mikrosatelitleri ilk aşamadan itibaren belirlemek, geliştirmek pahalı ve zaman alıcıdır ve spesifik primerlere ihtiyaç duyulur (Jones ve ark. 1997).



Şekil 1.4. SSR markörlerinin şematik gösterimi (Salvi 2006)

Pas epidemilerinden uzun vadede korunmak için en ekonomik yöntem paslara dayanıklı çeşitlerin geliştirilip yaygınlaştırılmasıdır. Bu çalışmaların patojen virulanslarında meydana gelebilecek değişiklikleri göz önünde bulundurularak yürütülmesi gerekmektedir. Bu nedenle dayanıklılığın kalıtsal mekanizmasının bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Dayanıklılık genlerini belirlemek üzere çeşitli genetik çalışmalar yapılabilir.

Bu çalışmada , Trakya Bölgesi ekmeklik buğday üretiminin sürdürülebilirliği açısından kahverengi pasa dayanıklı genotipler belirlenmesi, gelecekteki bitki ıslahı programları kahverengi pasa dayanıklılık çalışmaları için anaçları belirlenmesi ve kahverengi pasa dayanıklılığın moleküler karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 20 adet F_2 populasyonu J13, Xgwm146, Gb, J09, Lr35, csLV34 primerleri kullanılarak Lr9, Lr14, Lr19, Lr24, Lr35, Lr34 genleri yönünden taranmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Özkan ve ark. (1973) buğdayın çim ve kardeşlenme döneminden olgunlaşma dönemine kadar Güneydoğu Anadolu Bölgesi hariç ülkemizin tüm bölgelerinde yaptıkları surveyler sonucunda tarlaların bir kısmında, buğdayın üç pas türünden biri, ikisi veya her üçünün de bulunabildiğini ancak bunlardan hiçbirinin genel bir epidemi yapmadığını bildirmektedirler. Araştırmacılar aynı zamanda her üç pas türünün yabancı buğdaygil bitkilerinde de bulunduğunu belirtmektedirler.

Samborski (1985) kahverengi pas hastalığının dünyada buğday yetiştirilen ve özellikle nemli iklim koşullarına sahip çok sayıda ülkede meydana geldiğini, Kanada'da %5-15, Meksika'da %40'dan fazla, Avrupa'da %3-5 oranında verim kaybına neden olduğunu, Güney Amerika, Arjantin, Etiyopya, Hindistan ve Brezilya'da da sıklıkla görüldüğünü belirtmektedir.

Singh (1991) 1988-1989 yılları arasında Meksikada yaptığı bir kahverengi pas sürveyinde 23 pas ırkı belirlemiştir. Pasifik bölgesi ve yüksek yaylalarda TCB/TD pas ırkının her iki yılda da predominant olduğunu ve bunu TBD/TM ırkının takip ettiğini bildiren araştırmacı makarnalık buğday ve tritikalelerden izole edilen predominant pas ırklarının ekmeklik buğdaylardakilerden farklılık gösterdiğini belirtmiştir.

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.

Roelfs ve ark. (1992) 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.

Kolmer (1996) Buğday kahverengi pası (*Puccinia recondita* f.sp. *tritici*) dünyanın bir çok bölgesinde buğdayın en yaygın hastalıklarındandır. Kahverengi pasdan kaynaklanan verim kayıplarını azaltmada en ekonomik yöntem genetik dayanıklılığın kullanılmasıdır.

Bugüne kadar buğdayda 46 *Lr* (kahverengi pas dayanıklılık geni) geni ve bunların bulundukları kromozomlar belirlenmiştir.

Khan ve ark. (1997) kahverengi pasın buğdayda neden olduğu verim kayıplarını, 4 yıl (1986-1989) 5 yerde kurulan denemeler ile incelemiş ve farklı hastalık düzeylerinin geliştiğini saptamışlardır. Mississippi Eyaleti'nin kuzey ve orta bölgelerinde çeşit ve yer arasında önemli bir etkileşim olmadığını, veriler üzerinden geliştirilen modele göre kahverengi pas ile verim arasında olumsuz ve doğrusal bir ilişkinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Bayrak yaprak alanındaki püstüller tarafından kaplanan her %1 lik alana karşılık toplam tane verimi %1 oranında azalmıştır. Modelin güvenilirliği ise üç ayrı yerde kurulan denemeler üzerinde test edilmiş, denemelerde öngörülen verim düzeyleri ile modelin öngördüğü verim düzeyleri uyumlu bulunmuştur.

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 dolum 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.

Yılayaz ve Kırbağ (2000) Elazığ İlin'de yetiştirilen arpa ve buğdaylarda görülen fungal hastalık etmenlerinin tespiti amacıyla yaptıkları çalışmalarında 59 tarlanın 2'sinde *Puccinia recondita*'yı saptamışlardır.

McCallum ve Sete-Goh (2002) Kanada'da 394 buğday örneği üzerinde 38 farklı virulent patotip (ırk) tanımlamışlardır. Tanımlanmış olan bu ırklardan 3 tanesi bu bölgelerde en yaygın görülen ırklardır (MBDS %42,1, TGBJ %16,0 ve THBJ %14,5). Araştırmacılar ayrıca, bu bölgede yetiştirilen yazlık ekmeklik buğday çeşitlerinin *Lr16* (Leaf rust) dayanıklılık genini taşıdığını ve *Lr16* geni bakımından virulens olan pas ırklarının çoğunun, ergin bitki dayanıklılık geni *Lr13*'ü taşıyan çeşitlerde de virulens olduğunu saptamışlardır.

Arslan ve ark. (2002) Bursa koşullarında Marmara-86 çeşidinin kahverengi pasa orta derecede duyarlı (MS), çalışmada kullanılan öteki 9 çeşit ve hattın ise duyarlı (S) olduğunu, hastalık şiddetindeki her bir %1’lik artışın dane veriminde 4,07 kg/da (% 0,17), 1000 tane ağırlığında ise 0,13 g (% 0,12) oranında bir azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Hastalık şiddetine bağlı olarak ortalama kayıplar tane veriminde 53,1 kg/da (% 9,4), 1000 tane ağırlığında ise 4,3 g (% 9,3) olmuştur.

Wisniewska ve ark. (2003) buğday çeşitlerinin *P. recondita* f. sp. *tritici*’a dayanıklılıkları yeterli değildir. Çünkü dayanıklılık gen kaynakları ıslahçılar tarafından uzun süre kullanılmaktadır ki bu da yeni virulent patojenlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Büyük zarar yapan patojenlere yeni dayanıklılık kaynaklarının bulunması gerekir.

Liatukas (2003) ergin dönem bitki dayanıklılığı oligenik veya poligenik kontrol altındadır. Aşırı duyarlılık gösteren tek genlerle (Örneğin *Lr12*, *Lr13*, *Lr22b*) idare edilen ergin dönem bitki dayanıklılık örnekleri bilinmektedir.

Liatukas (2003) kısmi dayanıklılık orta dayanıklılığın bir şeklidir ve aşırı duyarlılık reaksiyonu kısmi dayanıklılıkta oluşmaz. Kısmi dayanıklılık patojen popülasyonunda virulent genotiplerin gelişmesine izin vermez. Sürekli dayanıklılığı sağlamak için ırka spesifik dayanıklılık genlerinin piramitleştirilmesi, fide dönemi dayanıklılık genleri ile ergin dönem dayanıklılık genlerinin kombinasyonu ve ırka spesifik etkili genler ile yüksek seviyede kısmi dayanıklılık sağlayan genlerin bir araya getirilmesi gereklidir.

Singh ve ark. (2004a) 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.

Yahyaoui ve ark. (2004) Doğu Afrika’da 2000 ve 2002 yılları arasında yaptıkları survey çalışmalarında sarı pas ve kahverengi pasın buğdayın en önemli hastalıkları olduğunu, kahverengi pasın özellikle ülkenin güneydoğusunda, batıda yüksek kesimlerde daha çok görüldüğünü bildirmişlerdir.

Khurana ve ark. (2004) Türkiye’den elde ettikleri 20 buğday çeşidi kombinasyonundan oluşan 37 buğday hattının çok sayıda patotipe karşı reaksiyonlarını

belirledikleri çalışmalarında hatların kahverengi pasa dayanıklılık genlerinden Lr1, Lr3, Lr10, Lr13, Lr23 ve Lr26' yı taşıdığını ortaya çıkarmışlardır. Aynı çalışmada hat TY81V - 6603-3 Hindistan'da patojenin tüm patotiplerine dayanıklılık göstermiş, 9 hatta ergin bitki dayanıklılığı gözlenmiştir.

Moldovan ve ark. (2004) Romanya'da 1994 ve 2001 yılları arasında farklı patojen patotiplerinin karışımları kullanılarak doğal ve yapay enfeksiyon koşulları altında ergin bitki döneminde çok sayıda çeşit ve hatta kahverengi pas yönünden gözlemler yapmışlardır. Araştırmacılar kahverengi pasa karşı etkili dayanıklılık genlerinin Lr9, Lr19, Lr21 (WGCR 15), Lr22, Lr22a, Lr24, Lr29, Lr32, Lr36, Lr38, Lr39, Lr40, Lr41, Lr42, Lr43 ve Lr44I olduğunu, Turda 195, Turda 81, Transilvanya, ARDEAL, Flamura 85 ve Gabriela çeşitlerinin bu genleri taşıdığını ileri sürmektedirler.

Bankina ve Priekule (2005) Letonya'da, 1999 ve 2004 yılları arasında 29 lokasyonda yapılan gözlemlerde kahverengi pas hastalığının düşük oranda gözlemlendiği bildirilmiştir.

Barros ve ark. (2006) Brezilya'da 2000 ve 2003 yılları arasında yaptıkları gözlemlerde kahverengi pas hastalığının tüm yıllarda yaprak alanının %30-60'nı etkilediğini bildirmektedirler.

Marsalis and Goldberg (2006) pas fungusunun kompleks bir yaşam çemberi vardır. Paslar yaşam döngüsünü tamamlamak için iki özel konukçu bitkiye ve 5'e kadar varan farklı spor devresine ihtiyaç duyar. Konukçu bitkilerden birisi ekonomik öneme sahip bitkidir. Diğer konukçu bitki ise yabancı otlar ya da doğal bitkilerdir.

Börner ve ark. (2006) triticum cinsinin 21 türüne ait 10348 adet aksesyon ve Aegilops cinsinin 20 türüne ait 489 adet aksesyonu diğer hastalıklar yanında kahverengi pasa karşı fide ve ergin/tarla döneminde çeşitli pas ırklarının karışımını inokule ederek hastalığa karşı reaksiyonları açısından test etmişlerdir. Araştırmacılar Triticum ve Aegilops cinsine ait aksesyonların çoğunun fide dönemine nazaran tarla döneminde daha dayanıklı olduklarını belirtmişlerdir.

Rader ve ark. (2007) kışlık buğdaylarda farklı yıllarda sıcaklık, nem ve yağış kriterleri dikkate alınarak kısa zaman aralıklarıyla yapılan kahverengi pas hastalık şiddeti ölçümleri

sonucunda önceden tahmin ve uyarı programlarının oluşturulabileceğini ve pas ilaçlama zamanlarının belirlenebileceğini bildirmektedirler.

Aykut Tonk ve Yüce (2007) kahverengi pasa dayanıklılık geni Lr13 e ait SSR markörlerini 41 farklı dayanıklılık geni taşıyan Thatcher yakın izogenik hattında incelemiştir. Araştırmacı duyarlı çeşit izmir 85 ile Lr13 genini taşıyan yakın izogenik hat olan 12 nolu hatta ve her ikisi arasında yapılan melezlemeden elde edilen F1 generasyonunda aynı markörler kullanıldığında duyarlı ebeveyn İzmir 85 in Lr13 genini taşıyabileceğini ileri sürmektedir.

Lannou ve ark. (2008) kahverengi pas hastalığında yaprak üzerindeki pas püstüllerinin zaman içerisinde arttığını ve bazı çeşitlerde yavaş bir gelişim gözlemlendiğini, zaman dilimlerinde hastalık şiddetinin ölçülmesinin hem dayanıklılığın belirlenmesinde hem de epidemi tahminlerinde önem taşıdığını bildirmektedirler.

Ulukan ve Özgen (2008) buğday türlerinde pasa dayanıklılık ile morfolojik özellikler arasındaki ilişkileri incelemiştir. Morfolojik özelliklerin dayanıklılık ile olan ilişkilerinin kombinasyonlara göre değişiklik gösterdiğini; kahverengi pasa dayanıklılık gösteren bitkilerin ön seçimlerinde fide döneminde yaprak rengi koyuluğundan daha çok yararlanılabileceğini, bunu yaprak mumluluğunun izlediğini bildirmiştir. Denemeye alınan anaçlarla oluşturulan 18 kombinasyon da paslara dayanıklılığın dominant özellikteki bir ya da birkaç gen tarafından yönetildiği saptamıştır.

Tülek ve ark. (2009) 2007-2008 yetiştirme sezonunda Edirne lokasyonunda yürüttükleri çalışmalarında buğday yaprak hastalıklarından kahverengi pas (*Puccinia triticina*) ile sarı pas (*P. striiformis*) ve başak hastalıklarından sürmeye (*Tilletia foetida*; *T. caries*) karşı bazı buğday materyalinin yapay inokulasyonlar ile tarla koşullarında ergin dönem reaksiyonları belirlemişlerdir. Kahverengi pasa dayanıklılıkları yönüyle incelenen çeşitlerin reaksiyonlarını orta hassas veya hassas olarak değerlendirilmişlerdir.

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 (biri batıda diğeri ormanlık bozkır bir bölgede) 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.

Mikhailova (2009) Rusya'da buğday ekili alanlarda kahverengi pas açısından yapılan surveylerde yazlık buğdaylarda enfeksiyon şiddetinin %30-40 arasında değiştiği, hastalığın her 10 yılda 2 ya da 3 kez epidemi yaptığı bildirilmektedir.

Huerta-Espino ve ark. (2011) Çin Cumhuriyeti'nde ticari olarak buğday yetiştirilen alanlarda olgunlaşma döneminde yapılan surveylerde hastalık şiddetinin %10-30 arasında değiştiğini, ancak bazı lokasyonlarda bu değerin %60'a ulaşabildiğini bildirmektedirler.

Huerta-Espino ve ark. (2011)'nin bildirdiğine göre Hassan ve ark. (1973) Pakistan'da kahverengi pas hastalık şiddetinin %40-50 arasında değiştiğini, hassas konukçularda %100'e varan enfeksiyon şiddetinin oluşabildiğini belirtmektedirler.

Pant ve ark. (2011) 1016 aksesyonu doğal enfeksiyon koşullarında kahverengi pasa karşı dayanıklılık yönünden incelediklerinde, 67 aksesyonun hastalığa karşı dayanıklılık gösterdiğini, birinin (BEZ1/NS 2699 EW 87021-SE/OYC/IYC/04C) ise kahverengi pas yanında sarı pas, açık rastık ve sürme hastalığına karşı da dayanıklılık gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır.

Lackerman ve ark. (2011) ABD (Visconsin)'de 2009-2010 yılları arasında farklı lokasyonlardaki buğday ekim alanlarında bulunan 36 buğday çeşidinde görülen yaprak hastalıklarını doğal koşullar altında ve farklı zaman diliminde değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar kahverengi pas hastalığının külleme ve *Septoria* yaprak yanıklığından daha az önemli olduğunu ancak 2009 yılında hastalık gelişimi altındaki alan (AUDPC) dikkate alındığında bir lokasyonda diğer hastalıklara göre oldukça yaygın olduğunu belirtmişlerdir. Söz konusu bölgede sıcaklık ve yağış değerlerinin Mayıs, Haziran ve Temmuz aylarında sırasıyla 14,5°C, 19,4°C, 19,0°C, 95mm, 113,5 mm ve 55,1 mm olduğunu tespit etmişlerdir.

Herrera-Foessel ve ark. (2012) buğday çeşitlerinden Parula'nın her üç pas çeşidine karşı yüksek derecede yavaş paslanma ve ergin bitki dayanıklılığı gösterdiğini, söz konusu çeşitte kahverengi pasa karşı ergin bitki dayanıklılığının Lr34, Lr46 ve Lr68 tarafından idare edildiğini bildirmektedirler.

Kolmer ve ark. (2012) Ülkemizde 2009-2011 yılları arasında Samsun, izmir ve Sakarya illerinde farklı çeşitlerin yaprak pasına karşı dayanıklılığını doğal enfeksiyon koşullarında incelenmişler ve dayanıklılık genlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar ergin bitki dayanıklılığı genlerinden Lr34 ün 2 çeşitte, Lr37'nin 3 çeşitte bulunduğunu tespit etmişler, 44 çeşidin enfeksiyon tipi ve gen içeriklerini ortaya çıkarmışlardır

Launay ve ark. (2014) Fransa'nın kuzeyinde buğdayda önemli yaprak hastalıkları üzerine iklim koşullarının etkisine yönelik çalışmalarında uzun yıllara ait iklim verilerini dikkate alarak, ortalama enfeksiyon şiddeti ve 1 aylık sürede gerçekleşen enfeksiyon sayısı (gün) kriterlerindeki artış ve azalmaları belirlemişlerdir. Araştırmacılar kahverengi pas hastalığı enfeksiyonunun Mart-Nisan aylarında artış gösterdiğini, Mayıs ayında ise durakladığını bildirmektedirler.

Demir ve ark. (2014) Sakarya koşullarında kahverengi pasın ekmeklik buğdayda %65–100 hastalık şiddetinde %7,5–56,4 arasında değişen oranlarda verim kaybı bildirmişlerdir.

Morgounov ve ark. (2015) Sakarya'da kahverengi pasın oluşturduğu verim kaybını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; verimde %69,5 kalite kriterlerinden protein oranında %3,6 ve sedimantasyon değerlerinde ise %10,6'lara varan kayıplar tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırma, 2016-2017 yetiştirme dönemi tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülmüş ve 20 tane melezin erken generasyonu olan F₂ materyal olarak kullanılmıştır. Materyal olarak kullanılan melezler Çizelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan melez ve pedigrileri

MELEZ NO	MELEZ ADI
1	Gelibolu*2/GS 9//Andino
2	Tina/Renan
3	Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
4	NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
5	NZFMT 14/Adelaide
6	Syrena/Flamura85//Renan
7	Kate/Presto//Dropia
8	Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
9	4166-1/Flamura85
10	Tina*2/Thatcher//Genesis
11	Flamura85*2/GS 34//Adelaide
12	NZFMT 15/Flamura85
13	Szala/Genesis
14	Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
15	NZFMT59/Sagittario//Esperia
16	NZFMT 47/Genesis
17	Nina*2/Thatcher//Genesis
18	NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
19	NZFMT47/Adelaide
20	Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

3.2. Araştırma Yerinin Özellikleri

Bu çalışma, 2016-2017 yetiştirme dönemi Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasında yürütülmüştür.

3.2.1. Toprak Özellikleri

Araştırmanın yürütüldüğü deneme tarlasının görünümü ve toprağının fiziksel ve kimyasal özellikleri sırasıyla Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneme yerlerine ait toprak analiz sonuçları

Toprak Özellikleri	Tekirdağ	
	0-20cm	20-40cm
Su ile doymuşluk (%)	40	41
pH	6,25	6,52
Kireç (%)	0,01	0,01
Bitkilere yarayışlı fosfor (1,39-3,26) (ppm)	16	15
Bitkilere yarayışlı kalsiyum (1150-3500)(ppm)	2807	2406
Bitkilere yarayışlı magnezyum (160-480)(ppm)	429	386
Bitkilere yarayışlı potasyum (140-370) (ppm)	169	164
Bitkilere yarayışlı demir (2-4,5)(ppm)	27	25
Bitkilere yarayışlı mangan (14-50)(ppm)	25	20
Bitkilere yarayışlı çinko(0,7-2,4) (ppm)	0,32	0,41
Organik madde (%)	1,08	1,11

Çizelge 3.2'nin incelenmesinden, deneme yeri toprağının killi-tın yapıda, hafif asitli, kireçsiz, organik maddesinin düşük olduğu anlaşılmaktadır.

3.2.2 İklim Özellikleri

Araştırmanın yürütüldüğü 2016-2017 buğday yetiştirme dönemine ait ortalama sıcaklık, toplam yağış ve oransal nem değerleri ile uzun yıllar ortalamaları Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tekirdağ lokasyonuna ait 2016/2017 dönemine ait iklim değerleri

Aylar	2016/2017				Uzun Yıllar			
	Aylık Top Yağış (mm)	Sıcaklık °C			Aylık Top Yağış (mm)	Sıcaklık °C		
		En düşük	En yüksek	Ortalama		En düşük	En yüksek	Ortalama
EKİM	131,0	5,3	27,7	15,6	55,2	-0,2	32,0	15,2
KASIM	35,2	1,3	19,5	11,2	81,3	-6,9	27,9	11,4
ARALIK	80,3	-0,8	17,5	9,3	86,2	-10,9	21,6	7,2
OCAK	49,4	-8,8	16,7	5,8	69,9	-13,5	21,5	4,4
ŞUBAT	90,3	-5,2	21,1	6,5	54,7	-13,5	22,2	5,3
MART	29,4	0,0	18,3	8,5	55,6	-9,0	28,1	6,8
NİSAN	60,1	1,7	24,6	11,4	42,9	-1,0	34,3	11,5
MAYIS	32,0	9,0	28,0	18,2	37,6	2,7	33,8	16,6
HAZİRAN	58,4	13,4	33,3	21,3	37,8	9,2	34,0	28,9

3.3. Yöntem

Ekmeklik buğday çeşitleri 2016 yılı Kasım ayında 6 m uzunluğundaki sıralara 2 sıra olacak şekilde ekilmiştir. Ekimle beraber dekara 6 kg/da azot ve 6 kg/da fosfor, sapa kalkma başlangıcında dekara 7 kg/da azot ve başaklanmadan önce 5 kg/da azot uygulanarak gübreleme yapılmıştır. Her 10 sıradan sonra kahverengi pasa hassas kontrol (yayıcı) çeşitlerden 2 parsel ekim yapılmıştır. Ayrıca, hastalık etmeninin homojen yayılması için deneme alanının çevresine hassas çeşitler el ile ekilmiştir.

3.3.1. Morfolojik Tanımlama

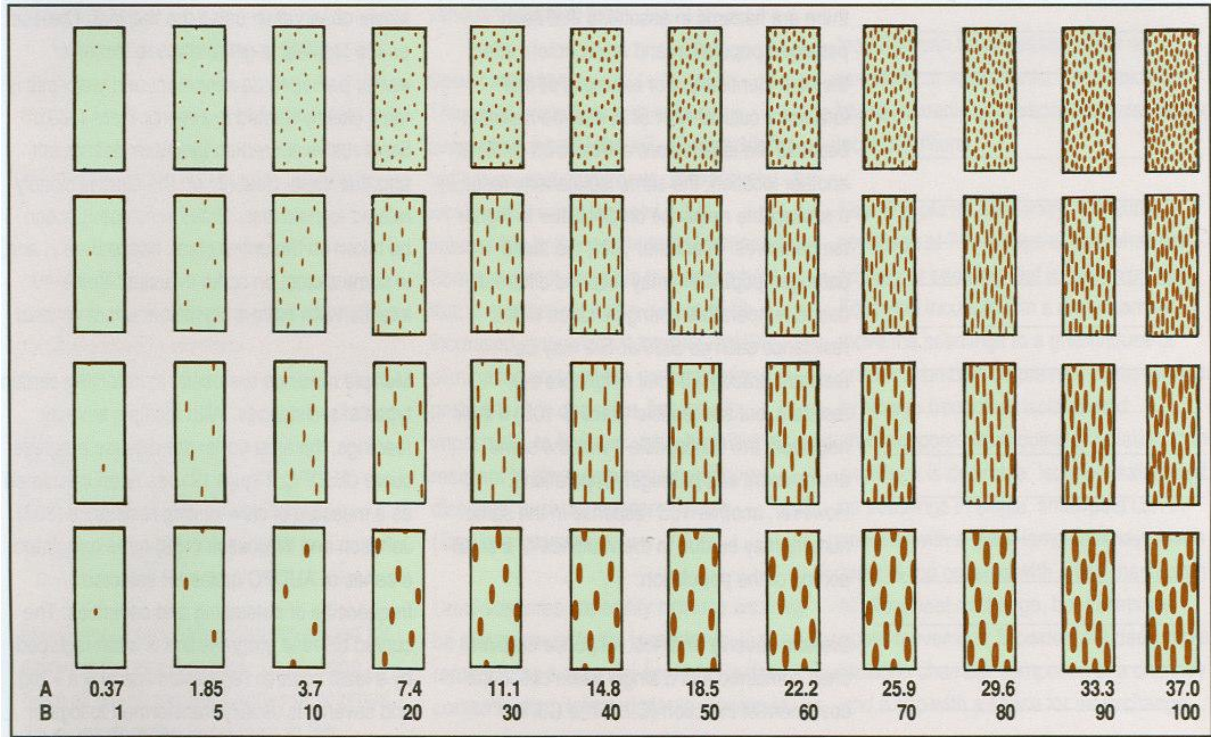
Ekmeklik buğday F₂dölleri ve Lr genleri içeren izogenik hatlar NKÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri deneme alanında her genotipten 2 sıra 5 metrelik sıralara ekilmiştir. Her 10 sırada bir hastalığa hassas Monocco ve Cumhuriyet 75 genotipleri ekilmiştir. Ayrıca denemenin başına ve sonuna bu çeşitlerden ekilmiştir. Bitkilerden 2 dönemde (Erken- Geç) hastalık okumaları Modifiye Cobb skalasına göre yapılmıştır. Bu yılda bölgede yüksek bir hastalık oluşmaması genotiplerde hastalık oranının az görülmesine etkili olmuştur.

Kahverengi pas hastalık şiddeti: Bayrak yaprağında pas püstülleriyle kaplı olan alanın yaprak alanına olan oranı (%) hesaplanarak belirlenmiştir. Sayımlarda modifiye edilmiş Cobb skalası; İz (T), 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 (Şekil 3.1) kademeleri kullanılmıştır (Roelfs ve ark. 1992).

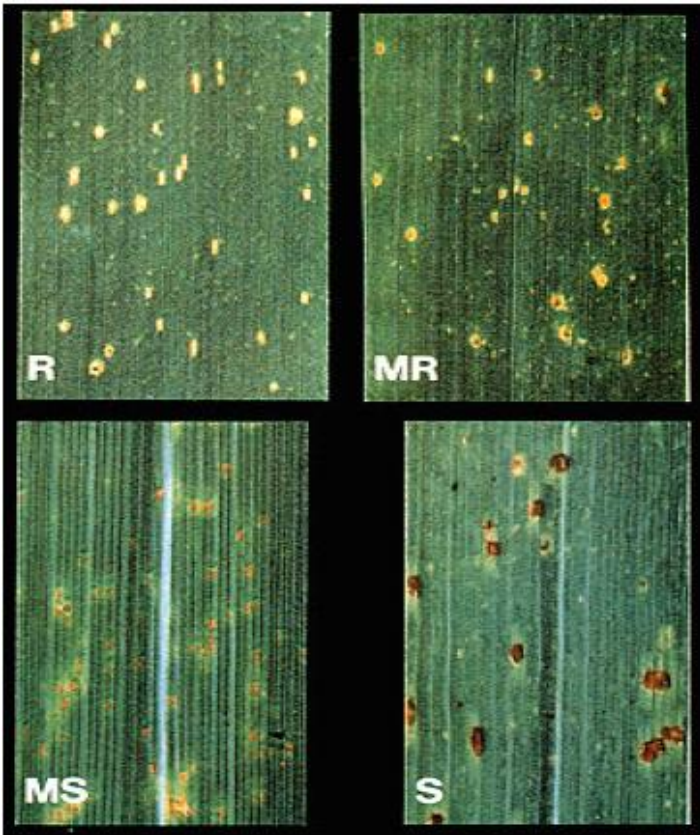
Kahverengi pas reaksiyon tipi: Çeşit ve hatların kahverengi pasa karşı gösterdikleri reaksiyon tipleri şekil 3.2. dikkate alınarak belirlenmiştir (Roelfs ve ark. 1992). Şekil 3.2. de verilen reaksiyon tipinin açıklamaları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.4. 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.



Şekil 3.1. Modifiye edilmiş Cobb skalasına göre buğdayda pas hastalıkları şiddetinin belirlenmesinde kullanılabilecek diyagram (Roelfs ve ark. 1992)
A: Enfekte olan gerçek alan; B: Modifiye edilmiş Cobb skalasına göre % şiddet



Şekil 3.2. Buğdayda kahverengi pas hastalığının şiddeti ve enfeksiyon tipi (Roelfs ve ark 1992)

Enfeksiyonun belirlenmesinde, hastalık şiddeti ve konukçu reaksiyonu enfeksiyon katsayısı olarak isimlendirilen tek bir değerle ifade edilmektedir. Bu değer konukçunun reaksiyon tipine verilen bir değerle bitki üzerinde görülen hastalıklı doku yüzdesinin çarpılması ile bulunmaktadır Buna göre, immun 0, R 0,2, MR 0,4, MS 0,8 S ise 1 değerlerini almaktadırlar. Örneğin, hastalık değerinin 80 S olduğu durumda $80 \times 1 = 80$, 10 MR olduğu durumda $10 \times 0,4 = 4$ olarak hesaplanmaktadır. Enfeksiyon katsayı çok sayıda materyalin olduğu durumlarda konukçu bitkilerin karşılaştırılmasında kolaylıklar sağlamaktadır. Genellikle düşük enfeksiyon katsayıları hastalık şiddetinin düşük olduğunu göstermektedir. Hastalık gruplandırması yapılırken Enfeksiyon Katsayısı (EK) 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.

3.3.2 . Moleküler Karakterizasyon

Çalışma kahverengi pasa dayanıklılığın moleküler karakterizasyonu için Basit Dizi Tekrarları (SSR) analizleri kullanılarak 20 ekmeklik buğday F_2 döllerinde moleküler tanımlamaları yapılmış ve genotipik farklılıkları ortaya konmuştur. Moleküler karakterizasyon, genetik farklılık filogenetik ilişkiler ıslah programlarında yüksek uyumlu genotipler için anaç seleksiyonuna yardımcı olacaktır.

3.3.2.1. DNA İzolasyonu

- 1.Toplam genomik DNA modifiye edilmiş cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) yönteme göre 7 günlük fidelerden alınan yapraklardan yapılmıştır.
2. Derin dondurucuda saklanan yapraklar 2 ml eppendorf tüplere koyuldu .
- 3.Yaprak örneği bulunan tüpler 2-3 dakika 3000 devirde kendi çevresinde dönen karıştırıcı ile parçalandı.
4. Ezilen yapraklara 600 µl özütleme tamponu eklendi.

Çizelge 3.5. Özütleme tampon çözeltisi bileşenleri

Solüsyon	15x	Konsantrasyon
TRIS-HCl(1 M)	1,5µl	100 mM
EDTA (0,5 M)	0,75µl	25 mM
NaCl (5M)	4,5µl	1,5 M
%10 CTAB	4,5µl	%3 (w/v)
B-mercaptoethanol (14,3 M)	0,045µl	%3 (v/v)
dH ₂ O	3,75µl	

5. Hazırlanmış olan ekstraksiyon solüsyonundan her tüpe 600µl eklenmiştir. Biraz PVP ekleyerek vorteks yapılmıştır.
6. 65°C 'ta 1 saat inkübasyon, ara sıra vorteks yapıldı.
7. 250µl soğuk 5M potasyum asetat eklendi ve nazikçe karıştırıldı. Buzlu kaptan +4'de 20 dk bekletildi.
8. 13000 rpm'de 20dk santrifüj yapıldı.
9. Süpernatant kısmı yeni 2ml tüplere kondu. (~750µl)
- 10.600µl kloroform:isoamilalkohol eklendi ve 5 dakika vorteks yapıldı.
- 11.10000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı.
- 12.Sulu fazı (süpernatant) temiz 1,5 ml tüplere aktarıldı
- 13.5µl RNase eklendi ve 37°C'ta 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 14.40µl 3m NaOAc (sodyum asetat) eklendi.
- 15.0,8 µl soğuk isopropanol eklendi ve nazikçe karıştırıldı.
- 16.-20°C'ta gece boyu bekletildi.
- 17.13000 rpm de 15 dk santrifüj yapıldı. Üstteki sıvı kısım döküldü ve pelet kurutulmaya bırakıldı.
- 18.1ml soğuk %70 Etanol ile pelet yıkandı 13000 rpm de 10 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı döküldü ve tüpler ters çevrilerek kurutulmaya bırakıldı. 37°C'ta pelet iyice kurutuldu.
- 19.100µl Tris/Edta tamponu ile çözüp , 37°C'ta 30 dk bekletildi.
- 20.Elde edilen DNA'lar -20°C'ta saklandı.
- 21.Örnekler kullanılıncaya kadar -20° C'ta saklanır.

3.3.2.2 PCR uygulaması

1. Daha önce hazırlanan aşağıda verilen Lr genleri için 6 SSR markır kullanıldı. Çalışmada kullanılan markırlar ile ilgili bilgiler Çizelge 3.6. da verilmiştir.

- a) Lr 9
- b) Lr 14
- c) Lr 19
- d) Lr 24
- e) Lr 34
- f) Lr 35

2. DNA miktarları spektrofotometrede kontrol edildi ve örnekler kısa süreli (500-1000 rpm) 2-3 saniye santrifüj edildi.

3. Çalışmada standart olarak dayanıklı ve hassas çeşitler kullanıldı.

4. Standart hazırlığı

Her standarttan 140 mikro litre DNA +60 mikro litre dH₂O tüpe kondu.

Her bir standardın DNA sı hazırlanan DNA yoğunluğuna göre belirlendi.

5. Her standarttan 5 mikro litre her bir jele yüklendi.

6. Daha önce hatların DNA sı yüklenen kuyuların önündeki kuyulara standart çeşitlerin DNA sı yüklendi

7. Moleküler markırlar hazırlandı.

Çizelge 3.6. PCR yükleme tampon çözeltisi bileşenleri

	1x	9x
10x Buffer	1	9
MgCl ₂ (50mM)	0,3	2,7
dNTPs (10mM)	0,3	2,7
Primer F (5mM)	1	9
Primer R (5mM)	1	9
Taq (5u/μl)	0,4	3,6
DNA	2	-
dH ₂ O	4	36
Total	10	-

8. Hazırlandı ve -20 de kullanılıncaya kadar bekletildi.

9. Her bir örnek için 10 mikro litre örnek yüklendi

10. Hazırlanan bu örnekler çok kısa süre 4000 rpm de 2-3 saniye santrifüj edildi.

11. Bu hazırlanan (markırların bulunduğu) örnekten 10 mikro litre daha önce çeşit ya da hatların DNA'sı konan kuyulara kondu.

12. Örnekler düşük hızda 1 dakika 500-1000 rpm de santrifüj edilir.

13. Örnekler PCR a kondu ve yürütüldü.

14.150 dakika da PCR işlemi tamamlandı.

3.3.2.3. Elektroforesis

1. Tank hazırlandı ve taraklar yerleştirildi.
2. Erlene 1,5 g agaroz tartılıp koyuldu.
3. Üzerine 100 ml TBE tampon eklendi.
4. Mikrodalga fırında (yaklaşık 160°C' ta) 4-5 dakika ısıtılarak, agarozun homojen bir biçimde eritilmesi sağlandı.
5. Jelin sıcaklığı düştüğünde üzerine 3µl redseyf (yürütme boyası) eklendi.
6. Jel elektroforez tankına döküldü, iyice donması için beklendi.
7. Jel donunca taraklar çıkarılıp, elektroforez tankına yerleştirildi ve örnekler yüklendi.
8. Jel tanka yerleştirildi.
9. Tank jelin üstünü kapatacak kadar TBE ile dolduruldu.
10. Küçük bir parafilm alındı ve yüklenecek örnek sayısı kadar yükleme tamponu her örnek için 2 µl kondu.
11. DNA örnekleri bir DNA belirteç ile birlikte pipet yardımıyla jele yüklendi.
12. Jellere örnekler 10 mikrolitre olarak yüklendi
13. Her jelin başına leader örnek olarak 2 mikro litre yüklendi
14. Elektrotlar güç kaynağına uygun şekilde bağlandı, 100 V'a ayarlandı
15. Nüklöidin boyasının pozisyonuna göre yeterince yürütüldüğüne karar verildiğinde güç kaynağı kapatılarak jel UV transilluminatörde incelendi.

Çizelge 3.7. Araştırmada kullanılan SSR primerleri DNA baz dizilimleri

Primer	DNA dizilimleri
J13	*F-TCCTTTTATTCCGCACGCCGG *R-CCACATACCCCAAAGAGACG
Xgwm146	*F- TCTTCATGCCCGGTCTGGGT *R- GGGCAGGCGTTTATTCCAG
Gb	*F-CATCCTTGGGGACCTC *R-CCAGCTCGCATACATCCA
J09	*F-TCTAGTCTGTACATGGGGGC *R-TGGCATGAACTCCATAGC
Lr35	*F-AGAGAGAGTAGAAGAGCTGC *R-AGAGAGAGAGCATCCAGC
csLV34	*F-GTTGGTTAAGACTGGTGATGG *R-TGCTTGCTATTGCTGAATAGT

SSR tekniği ile dayanıklı ve hassas genotiplerin moleküler sonuçlarına göre ekmeklik buğday F₂ döllerinde Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24 Lr 34 ve Lr 35 genlerinin bulunup bulunmadığını belirlemek için CIMMYT –Meksika’dan sağlanan ve bu genleri taşıyan izogenik hatlar RL6010, RL6013, RL6040, RL6064, RL6058, RL5711 standartlar kullanılmıştır. Bu  alışma sonucunda dayanıklılık genlerini taşıyan genotipler belirlenerek gelecekte yapılacak kahverengi pasa dayanıklılık ışlahı çalışmalarına kaynak bilgiler sağlanacaktır.



4.BULGULAR ve TARTIŞMA

Buğdayda kahverengi pas (syn. *P. recondita* Rob. Ex Desm. f. sp. tritici Eriks. and Henn.) ağırlıklı olarak yaprak ayasında görülürken duyarlı çeşitlerde yaprak kını ve başakçık kavuzlarında da görülebilmektedir (Huerta-Espino ve ark. 2011). Bu nedenle genel olarak yaprak pası olarak da isimlendirilir. Yazlık sporların içinde bulunduğu püstüller yaprak yüzeyine gelişigüzel dağılmış noktacıklar şeklindedir. Bunlar portakal sarısı veya yanık kahverengindedir. Hastalığın ilerlemesi ile püstüller üzerindeki epidermis parçalanır ve bazen bu pasa özgü bir esas püstül etrafında çepeçevre bir veya iki daire halinde daha küçük püstüller oluşur ki bu belirti özellikle kahverengi pasın tanımında önemlidir. Trakya Bölgesi'nde her yıl değişik düzeylerde zarar ortaya çıkmakta ve bunun sonucu olarak önemli ölçüde verim kayıplarına neden olmaktadır. Farklı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda verim kayıplarını %30-70 arasında etkilediğini belirtmişlerdir (Samborski 1985, Roelfs ve ark. 1992, Khan ve ark. 1997, Singh ve ark. 2004a, Demir ve ark. 2014, Morgounov ve ark. 2015).

Araştırmada incelenen ekmeklik buğday F_2 döllerinin hem doğal koşullarda hem de SSR markırları kullanılarak elde edilen sonuçlar aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

4.1 Doğal Koşullar Altında Kahverengi Pasa Dayanıklılık

Çalışmamızda ekmeklik buğday genotiplerinin kahverengi pas hastalığına dayanım yönünden morfolojik ve moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır. Kahverengi pas okumalarında Modifiye Cobb skalası değerleri elde edilmiş ve bu değerler incelendiğinde çeşitlerin farklı tepkiler ortaya koyduğu belirlenmiştir. Buğday F_2 döllerinde bitkilerde bakılan kahverengi pas hastalığına dayanım dereceleri 1R değeri ile Flamura85*2/GS 34//Adelaide melezi en yüksek dayanım göstermiştir. Bunu sırasıyla 3R değeri ile Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis melezleri 5R değeri ile Selianka/Krasunia//Marquiz/3//Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezleri en yüksek dayanıklılık göstermiştir. 10R değeri ile Syrena/Flamura85//Renan ve 20R değeri ile Szala/Genesis dayanıklılık yönünden daha sonra sıralanmıştır.

Çizelge 4.1 Ekmeklik buğday çeşitlerinde hastalık dayanıklılık değerleri

Melez Adları	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gelibolu*2/GS 9//Andino	3R	-	-	-	-	-	-	-	-	3R
Tina/Renan	-	-	-	-	-	3R	-	-	-	-
Selianka/Krasunia//Marquiz/3/ Adelaide	-	-	-	-	-	5R	5R	-	-	-
NZFMT47/Norman//NZFMT47/ Beke's	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NZFMT 14/Adelaide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Syrena/Flamura85//Renan	-	-	10R	-	-	-	-	-	-	-
Kate/Presto//Dropia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pehlivan/Krasunia//Flemenko/ Syrena/3/Genesis	-	-	3R	-	-	-	-	-	-	-
4166-1/Flamura85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tina*2/Thatcher//Genesis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flamura85*2/GS 34//Adelaide	-	-	-	-	1R	-	-	-	-	-
NZFMT 15/Flamura85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Szala/Genesis	-	-	-	-	-	-	20R	-	-	-
Selianka/Syrena//Marquiz/3/ NZFMT 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NZFMT59/Sagittario//Esperia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NZFMT 47/Genesis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nina*2/Thatcher//Genesis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NZFMT59/Sagittario//NZFMT47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NZFMT47/Adelaide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ	-	-	-	5R	-	3R	-	-	-	-

Elde edilen veriler incelendiğinde doğal koşullar altında bölgede bu yetiştirme döneminde kahverengi pas popülasyonu fazla görülmemiştir. Daha önceki yıllar yoğun olarak görülen hastalık bu yıla has olarak ekmeklik buğday genotiplerin de çok düşük oranda

görülmüştür. Bu da doğal koşullarında yapılacak çalışmaların bir kaç yıl devam ettirilmesi, gerektiğini ortaya koymaktadır.

4.2 Moleküler Analizler

NKÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne ait 20 ekmeklik buğday F_2 hatları Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 ve Lr 35 genlerinin taşıyıp taşımadıklarının belirlenmesi amacıyla CIMMYT-Meksika'dan sağlanan izogenik hatlar standart olarak kullanılmıştır. Çalışma 6 farklı SSR primeri kullanılarak jelde yürütülmüş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

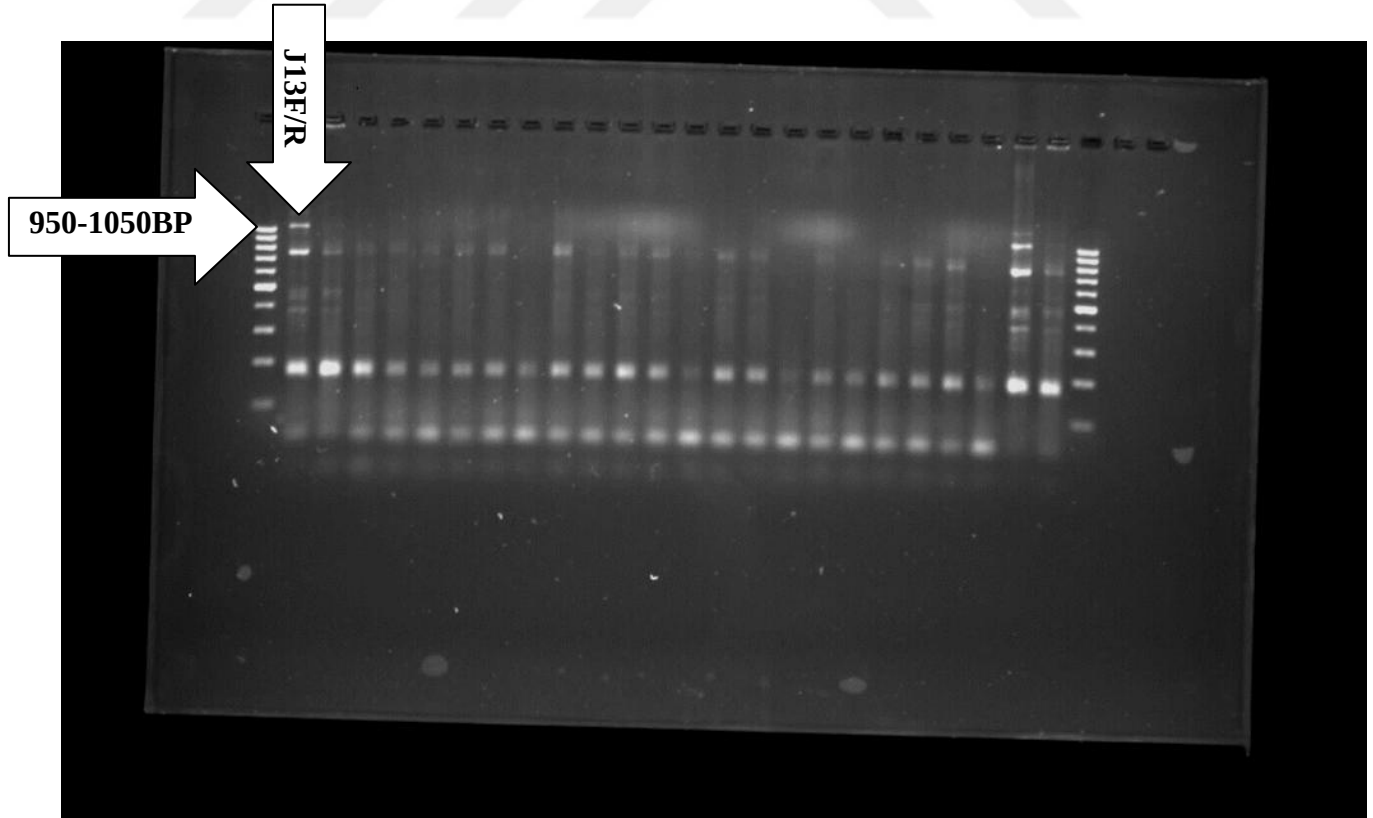
Çizelge 4.2. Ekmeklik buğday F_2 hatlarında incelenen Lr genleri

MELEZLER	Lr9	Lr14	Lr19	Lr24	Lr34	Lr35
Gelibolu*2/GS 9//Andino	-	+	-	-	-	+
Tina/Renan	-	+	-	-	-	+
Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide	-	+	-	-	-	+
NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's	-	+	-	-	-	-
NZFMT 14/Adelaide	-	+	-	-	+	+
Syrena/Flamura85//Renan	-	+	+	-	-	+
Kate/Presto//Dropia	-	+	+	-	-	+
Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis	-	+	+	-	-	-
4166-1/Flamura85	-	+	-	-	-	+
Tina*2/Thatcher//Genesis	-	+	-	-	-	+
Flamura85*2/GS 34//Adelaide	-	-	-	-	-	+
NZFMT 15/Flamura85	-	+	-	-	+	+
Szala/Genesis	-	+	-	-	-	+
Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47	-	-	-	-	+	-

MELEZLER	Lr9	Lr14	Lr19	Lr24	Lr34	Lr35
NZFMT59/Sagittario//Esperia	-	+	-	-	+	+
NZFMT 47/Genesis	-	-	-	-	-	-
Nina*2/Thatcher//Genesis	-	+	-	-	-	-
NZFMT59/Sagittario//NZFMT47	-	+	-	-	+	+
NZFMT47/Adelaide	-	+	-	-	-	+
Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ	-	-	-	-	-	-

Lr 9, Lr 14, Lr 19, Lr 24, Lr 34 ve Lr35 olarak 6 farklı kahverengi pas geninin 20 ekmeklik buğday F₂ döllerinin genotipinin taşıyıp taşımadıklarını belirlemek için yürütülen çalışmada elde edilen veriler aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

Aegilpos Umbelluta'dan elde edilen ve buğdayın 6 kromozomu üzerinde 1.8 cM olarak belirlenen Lr 9 geni (Gupta ve ark. 2005) yönünden elde edilen SSR sonuçları Şekil 4.1. de verilmiştir.

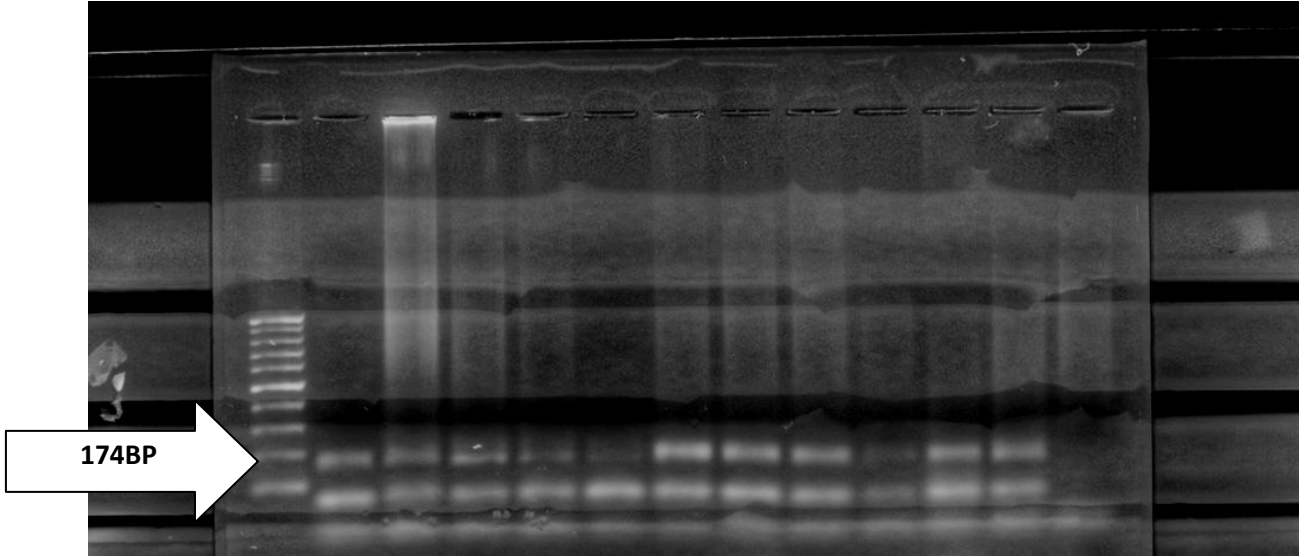


Şekil 4.1. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr9 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,
1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
2 Tina/Renan
3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
5 NZFMT 14/Adelaide
6 Syrena/Flamura85//Renan
7 Kate/Presto//Dropia
8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
9 4166-1/Flamura85
10 Tina*2/Thatcher//Genesis
11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide
12 NZFMT 15/Flamura85
13 Szala/Genesis
14 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
15 NZFMT59/Sagittario//Esperia
16 NZFMT 47/Genesis
17 Nina*2/Thatcher//Genesis
18 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
19 NZFMT47/Adelaide
20 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Lr 9 genin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ F₂ döllerine bakılmış olup bu F₂ döllerinin Lr9 genini taşımadığı tespit edilmiştir.

Aegilops Umbelluata'dan aktarılan ve buğdayın 6 ıncı kromozom üzerinde lokalize olmuş Lr 14 geni (Schachermayr ve ark. 1994) yönünden ekmeklik buğday genotiplerinin SSR sonuçları Şekil 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.

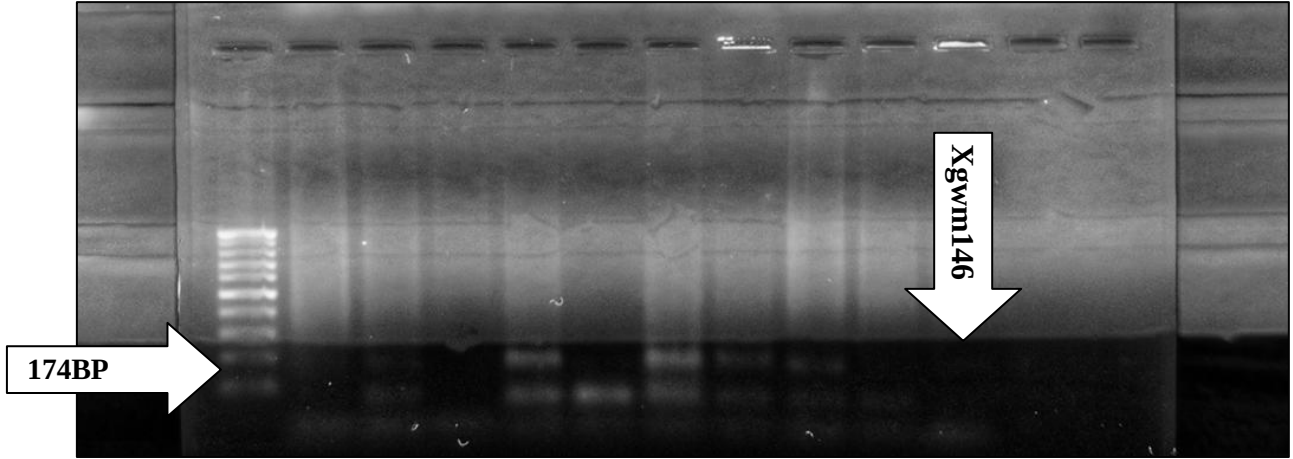


Şekil 4.2. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr14 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,

- 1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
- 2 Tina/Renan
- 3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
- 4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
- 5 NZFMT 14/Adelaide
- 6 Syrena/Flamura85//Renan
- 7 Kate/Presto//Dropia
- 8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
- 9 4166-1/Flamura85
- 10 Tina*2/Thatcher//Genesis
- 11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide

Lr14 geninin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, F₂ döllerine bakıldığında sadece Flamura85*2/GS 34//Adelaide melezinin Lr14 genini taşımadığı tespit edilmiştir.



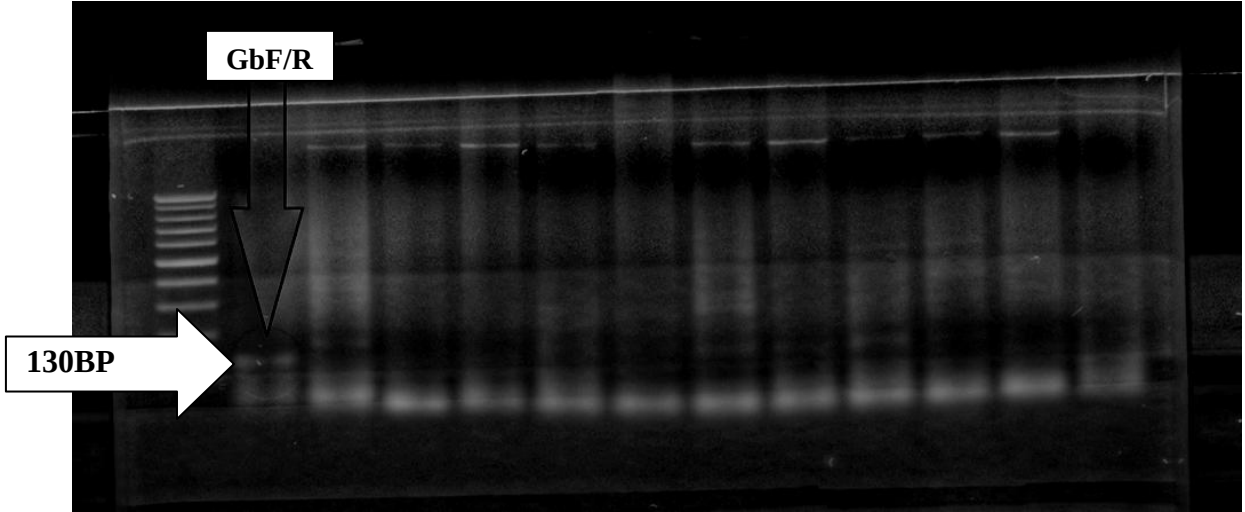
Şekil 4.3. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr14 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,

- 1 NZFMT 15/Flamura85
- 2 Szala/Genesis
- 3 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
- 4 NZFMT59/Sagittario//Esperia
- 5 NZFMT 47/Genesis
- 6 Nina*2/Thatcher//Genesis
- 7 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
- 8 NZFMT47/Adelaide
- 9 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Lr14 geninin jel görüntüsünde NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ F₂ döllerine bakıldığında NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, NZFMT59/Sagittario//Esperia, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide melezlerinin Lr14 geninin taşıdığını fakat Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT 47/Genesis, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezlerinin bu geni taşımadığı tespit edilmiştir.

Ekmeklik buğday çeşitlerinde *Thinopyrum*'dan aktarılan Lr19 geni (Prins ve ark. 2001) yönünden ekmeklik buğday çeşitlerinde SSR sonuçları şekil 4.4 ve 4.5'te verilmiştir.

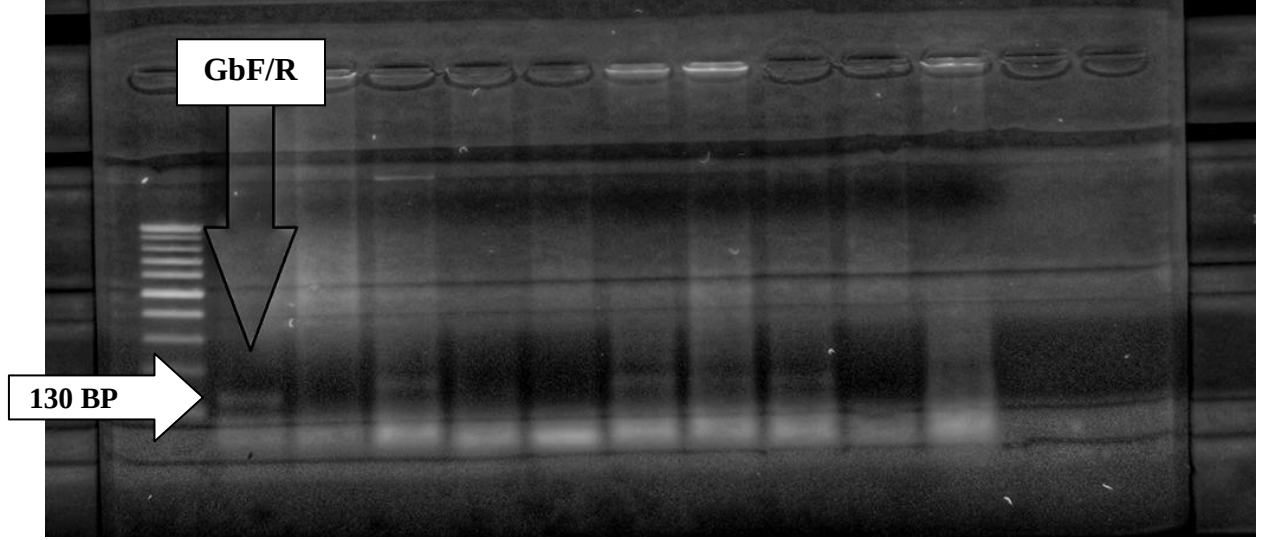


Şekil 4.4. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 19 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,

- 1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
- 2 Tina/Renan
- 3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
- 4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
- 5 NZFMT 14/Adelaide
- 6 Syrena/Flamura85//Renan
- 7 Kate/Presto//Dropia
- 8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
- 9 4166-1/Flamura85
- 10 Tina*2/Thatcher//Genesis
- 11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 19 geninin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide F₂ döllerine bakıldığında Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis melezlerinin Lr19 genini taşıdığı belirlenmiştir. Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide melezlerinin Lr19 genini taşımadığı belirlenmiştir.

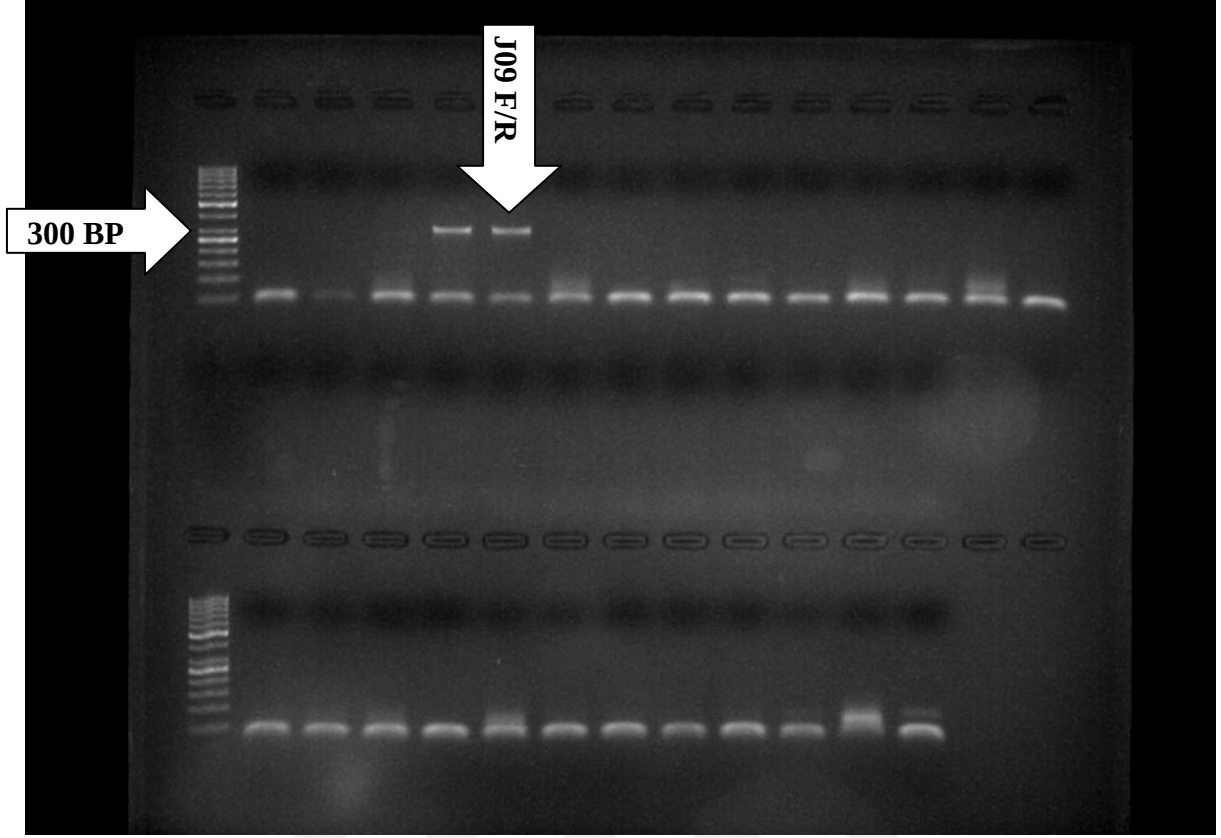


Şekil 4.5. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 19 geni

- Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,
- 1 NZFMT 15/Flamura85
 - 2 Szala/Genesis
 - 3 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
 - 4 NZFMT59/Sagittario//Esperia
 - 5 NZFMT 47/Genesis
 - 6 Nina*2/Thatcher//Genesis
 - 7 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
 - 8 NZFMT47/Adelaide
 - 9 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 19 geninin jel görüntüsünde NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ F₂ hatlarına bakıldığında hiçbir melezin Lr19 genini taşımadığı tespit edilmiştir.

20 ekmeklik buğday F₂ hatlarının Lr 24 geninin taşıyıp taşımadıkları ile ilgili SSR analizleri sonucunda elde edilen veriler şekil 4.6'da verilmiştir.



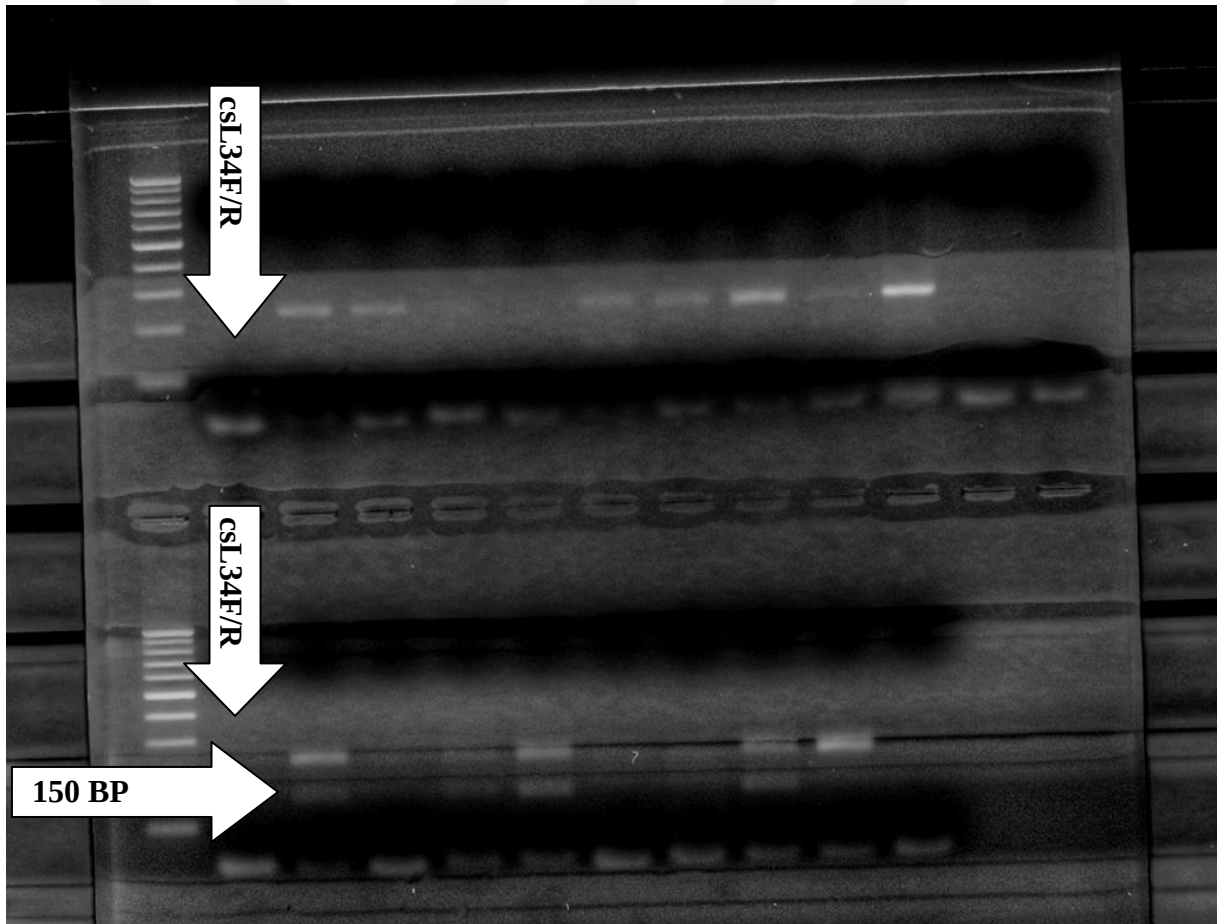
Şekil 4.6. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 24 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,

- 1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
- 2 Tina/Renan
- 3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
- 4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
- 5 NZFMT 14/Adelaide
- 6 Syrena/Flamura85//Renan
- 7 Kate/Presto//Dropia
- 8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
- 9 4166-1/Flamura85
- 10 Tina*2/Thatcher//Genesis
- 11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide
- 12 NZFMT 15/Flamura85
- 13 Szala/Genesis
- 14 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
- 15 NZFMT59/Sagittario//Esperia
- 16 NZFMT 47/Genesis
- 17 Nina*2/Thatcher//Genesis
- 18 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
- 19 NZFMT47/Adelaide
- 20 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 24 geninin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezlerine baktığımız da Lr24 genini taşımadıkları tespit edilmiştir.

20 ekmeklik buğday F₂ hatlarının Lr 34 geninin taşıyıp taşımadıkları ile ilgili SSR analizleri sonucunda elde edilen veriler şekil 4.7'de verilmiştir.



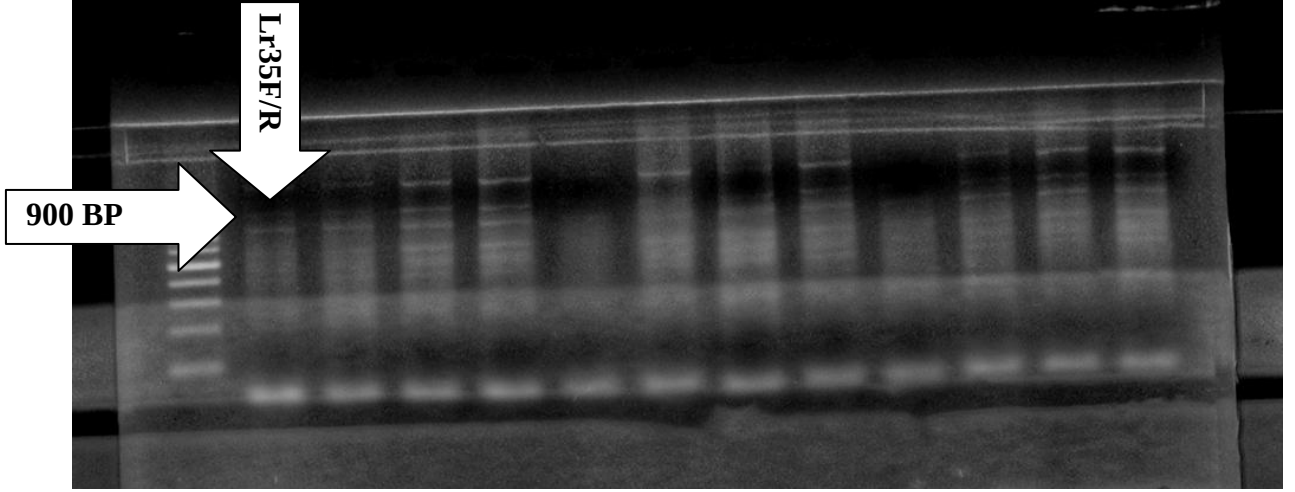
Şekil 4.7. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 34 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,
1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
2 Tina/Renan
3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide

- 4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
- 5 NZFMT 14/Adelaide
- 6 Syrena/Flamura85//Renan
- 7 Kate/Presto//Dropia
- 8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
- 9 4166-1/Flamura85
- 10 Tina*2/Thatcher//Genesis
- 11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide
- 12 NZFMT 15/Flamura85
- 13 Szala/Genesis
- 14 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
- 15 NZFMT59/Sagittario//Esperia
- 16 NZFMT 47/Genesis
- 17 Nina*2/Thatcher//Genesis
- 18 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
- 19 NZFMT47/Adelaide
- 20 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 34 geninin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ F₂ melezlerine baktığımız da NZFMT 14/Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47 melezlerinin Lr34 genini taşıdığı tespit edilmiştir.

20 ekmeçlik buğday F₂ hatlarının Lr 35 geninin taşıyıp taşımadıkları ile ilgili SSR analizleri sonucunda elde edilen veriler şekil 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 35 geni

- Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,
- 1 Gelibolu*2/GS 9//Andino
 - 2 Tina/Renan
 - 3 Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide
 - 4 NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's
 - 5 NZFMT 14/Adelaide
 - 6 Syrena/Flamura85//Renan
 - 7 Kate/Presto//Dropia
 - 8 Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis
 - 9 4166-1/Flamura85
 - 10 Tina*2/Thatcher//Genesis
 - 11 Flamura85*2/GS 34//Adelaide

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 35 geninin jel görüntüsünde Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide F₂ hatlarına baktığımız da NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis melezlerinin Lr35 genini taşımadıkları diğer melezlerin ise Lr35 genini taşıdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. Ekmeklik buğday F₂ hatlarında SSR analizine göre Lr 35 geni

Melezlerin diziliş sırası aşağıdaki gibidir,
1 NZFMT 15/Flamura85
2 Szala/Genesis
3 Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47
4 NZFMT59/Sagittario//Esperia
5 NZFMT 47/Genesis
6 Nina*2/Thatcher//Genesis
7 NZFMT59/Sagittario//NZFMT47
8 NZFMT47/Adelaide
9 Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ

Elde edilen SSR sonuçlarına göre Lr 35 geninin jel görüntüsünde NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ F₂ hatlarına bakıldığında Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezlerinin Lr35 genini taşımadığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇ

2016-2017 yetiştirme döneminde Namık Kemal Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülen çalışmada,

2016-2017 yılında bölgede iklim koşulları nedeni ile kahverengi pas yönünden üretim alanlarında önemli bir hastalık bölge düzeyinde gözlenmemiştir. Fakülte deneme alanında da kahverengi pas hastalığına dayanım dereceleri yönünden 12 F₂ popülasyonunda hastalık gözlenmezken en düşük hastalık 1R değeri ile Flamura85*2/GS 34//Adelaide melezin de gözlenmiştir. Bunu sırasıyla 3R değeri ile Gelibolu*2/GS9//Andino, Tina/Renan, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis melezleri 5R değeri ile Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezleri izlemiştir. 10R değeri ile Syrena/Flamura85//Renan ve 20R değeri ile Szala/Genesis dayanıklılık yönünden daha sonra sıralanmıştır. Doğal koşullar altında bölgede bu yetiştirme döneminde kahverengi pas popülasyonu fazla görülmemiştir. Daha önceki yıllar yoğun olarak görülen hastalık bu yıla has olarak ekmeklik buğday genotiplerin de çok düşük oranda görülmüştür.

İncelenen 20 ekmeklik buğday F₂ döllerinin hiçbirisinin Lr9 genini taşımadığı belirlenmiştir. Lr14 geni ise Flamura85*2/GS 34//Adelaide, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT 47/Genesis, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ ekmeklik buğday F₂ döllerinde bulunmazken Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, NZFMT59/Sagittario//Esperia, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaiden F₂ döllerinde bu gen bulunmaktadır.

Ekmeklik buğday popülasyonların da Lr19 genine baktığımızda Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis melezleri Lr19 genini taşıırken Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, NZFMT 14/Adelaide, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia,

NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ ekmeklik buğday F₂ döllerinde bu gen bulunmamaktadır.

Lr24 genine bakıldığında 20 ekmeklik buğday F₂ döllerinin Lr24 genini taşımadığı belirlenmiştir. Lr34 geni ise NZFMT 14/Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47 melezleri Lr34 genini taşırken Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, Szala/Genesis, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, NZFMT47/Adelaide, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ ekmeklik buğday F₂ döllerinin Lr34 genini taşımadığı belirlenmiştir.

Lr35 genine baktığımızda NZFMT47/Norman//NZFMT47/Beke's, Pehlivan/Krasunia//Flemenko/Syrena/3/Genesis, Selianka/Syrena//Marquiz/3/NZFMT 47, NZFMT 47/Genesis, Nina*2/Thatcher//Genesis, Sana/Pehlivan//Marquiz//Tekirdağ melezlerinin Lr35 genini taşımadığı Gelibolu*2/GS 9//Andino, Tina/Renan, Selianka/Krasunia//Marquiz/3/Adelaide, NZFMT 14/Adelaide, Syrena/Flamura85//Renan, Kate/Presto//Dropia, 4166-1/Flamura85, Tina*2/Thatcher//Genesis, Flamura85*2/GS 34//Adelaide, NZFMT 15/Flamura85, Szala/Genesis, NZFMT59/Sagittario//Esperia, NZFMT59/Sagittario//NZFMT47, NZFMT47/Adelaide melezlerinin Lr35 genini taşıdığı belirlenmiştir.

Elde edilen verilere bakıldığında, ekmeklik buğday F₂ döllerinin kahverengi pasa dayanıklılığının önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Bazı F₂ dölleri dayanıklılık gösterirken, bazı F₂ döllerinde ise dayanımın düşük olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, SSR markırları ile yapılan analizler sonucunda, F₂ döllerinin tümü Lr 9 ve Lr 24 genini taşımamaktadır. Lr14 genini 16 ve Lr35 genini 14 tane ekmeklik buğday F₂ dölleri taşımaktadır. Lr 19 ve Lr 34 genlerini sırası ile 3 ve 5 tane ekmeklik buğday F₂ dölleri taşımaktadır.

Elde edilen verilere göre, kahverengi pas çalışmalarında Lr 9 genine ve Lr 24 genine dayanıklılığın öncelikli olarak dikkate alınması gerektiği ortaya koymaktadır. Yapılacak çalışmalarda F₂ de daha fazla bitki ile çalışmanın elde edilecek sonuçların daha sağlıklı olmasını sağlayacaktır.



6.KAYNAKLAR

- Akın B (2007). Bazı Ekmeklik Buğday Çeşit ve Islah Hatlarının Kahverengi Pasa Dayanıklılık Genleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- 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.
- Anonim (1995). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı- Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 1995, Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt :3-4, Ankara.
- 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. Uludağ Üniv. Zir. Fak. Dergisi. 16: 201-210.
- Aykut F (2007). Buğdayda Kahverengi Pasa Dayanıklılık Genleri İle İlgili Moleküler Markörler Üzerinde Alıştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniv. Fen Bil. Enst. İzmir.
- Aykut Tonk F, Yüce S (2007). Ekmeklik Buğday İzmir 85 çeşidinde ve thatcher yakın izogenik hatlarında kahverengi pas dayanıklılık geni Lr13’ün SSR markörleriyle incelenmesi. Ege Üniv. Zir. Fak. Dergisi. 44:13-25.
- Bankina B, Priekule I (2005). Characteristics of wheat leaf diseases development in Latvia. Acta Agrobotanica, 58: 329-334 (Özet)
- Barros BC, Castro JL, Patricio FRA (2006). Response of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to the chemical control of fungal diseases. Summa Phytopathologica. 32: 239-246 (Özet)
- Başer İ, Korkut K.Z, Bilgin O, Gülfidan E (2016). Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Kahverengi Pas Hastalığına Dayanıklılığının Doğal Koşullarda Morfolojik Belirlenmesi ve Moleküler Karakterizasyonu. Namık Kemal Üniversitesi. Tekirdağ
- Bolat N, Keser M, Altay F, Çetinel TM, Çolak N, Sever L (1999). Sarı pas hastalığının buğday verimine etkisi. Orta Anadolu’da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, 697-699, Konya.
- Börner A, Freytag U, Sperling U (2006). Analysis of Wheat Disease Resistance Data Originating From Screenings of Gatersleben genebank Accessions during 1933 and 1992. Gen Res Crop Evol, 53: 453–465.
- Demir L, Orhan Ş, Ozseven İ, Canıgeniş G, Morgounov A, and Akın B (2014). The Effect of Leaf Rust on Grain Yield and on Yield Traits in Spring Bread Wheat Varieties. International Mesopotamia Agriculture Congress, 22-25 September. Diyarbakır – Turkey
- Doğan Y , Kendal E (2012). Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Tane Verimi ve Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü. Mardin
- Dweikat I, Ohm H, Patterson F, Cambron S, Identification of RAPD markers for 11 Hessian fly resistance genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 94 419–423. 10.1007/s001220050431. 1997.

- Elyasi-Gomari S, Lesovaya GM (2009). Harmfulness of Wheat Leaf Rust in The Eastern Part of Forest-Steppe of Ukraine. *Archivs Phytopathol Plant Protec*, 42: 659–665.
- Gupta P.K, and Rustgi, S, Molecular markers form the transcribed/expressed region of the genome in higher plants. *Funct Integr Genomics*, 4, 139-162. 2004.
- Hamada H, Petrino, M.G. and Kakunaga, T, A, Novel Repeated Element with Z-DNA-Forming Potential is Widely Found Evolutionary Diverse Eucaryotic Genomes. *Proceedings of National Academy of Science*, 79, 6465-6469, USA. 1982.
- Herrera-Foessel SA, Sing RP, Huerta-Espino J, Rosewarne GM, Periyannan SK, Viccars L, Calvo-Salazar V, Lan CX, Lagudah ES (2012). Lr68: A New Gene Conferring Slow Rusting Resistance to Leaf Rust in Wheat. *Theoret Appl Genet*, 124: 1475-1486.
- Huerta-Espino J, Singh RP, German S, McCallum BD, Park RF, Chen WQ, Bhardwaj SC, Goyeau H (2011). Global Status of Wheat Leaf Rust Caused by *Puccinia triticina*. *Euphytica*, 179: 143-160.
- Jones N, Ougham H, and Thomas H, (1997). Markers and mapping: we are all geneticists now, *New Phytol*. 137: 165–177.
- Kahraman T, R Avcı, ve İ Öztürk (2008). “İslah Çalışmaları Sonucu Geliştirilen Bazı Ekmeklik Buğday Hatlarının Tane Verimi ve Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi”. *Ülkesel Tahıl Sempozyumu*, 2-5 Haziran 2008, KONYA.
- Khan M.A, Trevathan L.E. and Robinson J.T. (1997). Quantitative Relationship between leaf rust and wheat yield in Mississippi. *Plant Disease* 81: 769-772.
- Khurana R, Nayar SK, Lakhanpal TN (2004). Brown Rust Resistance in Wheat Lines From Turkey. *Plant Dis Res (Ludhiana)*, 19:20-24. (Özet).
- Kolmer J.A (1996). Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu.Rev. Phytopathol*. 34: 435-55.
- Kolmer JA, Mert Z, Akan K, Demir L, Ünsal R, germet C, Keser M, Akın B, Morgounov A (2012). Virulence of *Puccinia triticina* in Turkey and Leaf Rust Resistance in Turkish Wheat Cultivars. *Eur J Plant Pathol*, 135: 703-716.
- Kün E, (1996). Tahıllar-I (Serin İklim Tahılları). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1451, Ankara.
- Lackerman KV, Conley SPy, Gaska JM, Martinka MJ, Esker PD (2011). Effect of Location, Cultivar, and Diseases on Grain Yield of Soft Red Winter Wheat in Wisconsin. *Plant Dis*, 95: 1401-1406.
- Lannou C, Soubeyrand S, Frezal L, Chadoeuf J (2008). Autoinfection in Wheat Leaf Rust Epidemics. *New Phytologist*, 177: 1001-1011.
- Launay M, Caubel J, Bourgeois G, Huard F, de Cortazar-Atauri IG, Bancal MO, Brisson N (2014). Climatic Indicators for Crop İnfection Risk: Application to Climate Change Impacts on Five Major Foliar Fungal Diseases in Northern France. *Agric, Eco Environ* 197: 147-158.
- Liatukas Z (2003). Virulence of winter wheat leaf rust isolates, *Biologija* 1:77-80.
- Lipps P.E, Ohio State University, Extension FactSheet, Plant Pathology, <http://ohioline.osu.edu/ac-fact/0006.html>. 2006.
- Marsalis, M. A. and Goldberg, N. P (2006). Leaf, stem and stripe rust diseases of wheat, New Mexico State University, Guide A-415, http://cahe.nmsu.edu/pubs/_a/A-415.pdf.

- McCallum, B.D. and Seto-Goh, P (2002). Physiologic specialization of wheat leaf rust (*Puccinia tritici*) in Canada in 1999. *Can. J. PlantPathol.* 24:205-210.
- Messmer, M. M, Seyfarth, R, Keller, M, Schachermayr, G, Winzeler, M, Zanetti, S, Feuillet, C. and Keller, B (2000). Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat, *Theor. Appl. Genet.* 100:419–431.
- Mikhailova LA (2009). 2003–2009 Project interactive agricultural ecological atlas of Russia and neighboring countries. Economic plants and their diseases, pests and weeds. http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Tritici/Tritici_Puccinia_recondita
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna T. G, Yano M, Bhatia C. R. and Sasaki T (1997). Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants, *Molecular Breeding* 3:87-103.
- Moldovan M, Moldovan V, Kadar R (2004). Characterization of Wheat Rust and Powdery Mildew Populations in Transylvania and Implications On Breeding For Resistance. *Romanian Agric Res*, 21: 1-11 (Özet)
- Nelson J.C, Singh R.P, Autrique J.E, Sorrells M.E, Mapping genes conferring and suppressing leaf rust resistance in wheat. *Crop Sci* 37:1928–1935.1997.
- Özcan S, Gürel E, Babaoğlu M, Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Konya. 2001.
- Özkan M, Türker R, Öğüt M, Parlak Y, Beyazıt S, Bilgin O, Çelik Ç, Yılmaz M, Copcu M, Gündüz S, Yılmazdemir FY, Erkin E (1973). Türkiye'de Buğdayda Pas Türlerinin (*Puccinia striiformis* West, *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. ve E. Henn., *Puccinia recondita* Rob. Ex Desm. P. *tritici*) Epidemiyolojileri ve Zarar Dereceleri Üzerinde Çalışmalar. *Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı*, 7: 68.
- Pant SK, Kant L, Gupta A, Bhatt JC, Gupta HS (2011). Multiple Sources of Resistance in Winter Wheat Germplasm. *Indian Phytopathol*, 64: 80-81
- Räder T, Racca P, Jörg E, Hau B (2007). PUCREC/PUTRI- A decision support System for the Control of Leaf Rust of Winter Wheat and Winter Rye. *OEPP/EPPO Bull*, 37: 378-382.
- Ravel C, Praud S, Canaguier A, Dufour P, Giancola S, Balfourier F, Charmet G, DNA sequence polymorphisms and their application to bread wheat quality. *Euphytica*, 158, 331-336. 2007.
- Roelfs A P, Singh R P, Saari EE (1992). Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 81 p.
- Röder M.S, Korzun, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M.H, Leroy P, Ganal M.W, A microsatellite map of wheat, *Genetics* 149:2007-2023. 1998b.
- Samborski DJ (1985). Wheat Leaf Rust, The Cereal Rust, Volume 2., Eds: AP Roelfs, W.R. Bushwell. Academic Press, Orlando, 39-59.
- Sehgal S A, Tahir R A, Nawaz M (2012). Molecular Characterization of Wheat Genotypes Using SSR Markers. *Int.J.BIO Automation*, 16(2):119-128.
- Singh R.P, Payne T.S, Figueroa P. and Valenzuela S (1991d). Comparison of the effect of leaf rust on the grain yield of resistance, partially resistant, and susceptible spring wheat cultivars. *American Journal of Alternative Agriculture* 6 (3):115-121. Tables, graphs, references p. 120-121.

- Singh RP, William HM, Huerta-Espino J, Rosewarne G (2004a). 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](http://www.cropsscience.org.au/icsc2004/symposia/3/7/141_singhrp.htm)
- Talbert T.E, Blake N.K, Chee P.W, Blake T.K, Magyar G.M, Evaluation of Sequence-Tagged-Site PCR Products As Molecular Markers in Wheat. Theoretical and Applied Genetics, 87, 789-794. 1994.
- TMO (2016). Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü. <http://www.tmo.gov.tr> (erişim tarihi, 22.11.2017).
- Todorovska E, Christov N, Slavov S, Christova P, Vassilev D, Biotic stress resistance in wheat-Breeding and Genomic selection implications. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 23 1417–1426. 10.2478/V10133-009-0006-6, 2009.
- Tülek A, Hekimhan H, Akın K, Kahraman T, Öztürk Ğ, Avcıl R, Akan K, Mert Z (2009). Farklı buğday genotiplerinin bazı fungal hastalıklara karşı tarla şartlarında dayanıklılıklarının belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 235, Van.
- Ulukan H, Özgen M, (2008). Relationship Among Leaf (*Puccinia recondita* Roberge ex Desmaz f. sp. *tritici*) and Yellow (*Puccinia striiformis* Westendorp. f. sp. *tritici*) Rust Resistance and Some Agro-Morphologic Traits in Wheat Hybrids at Seedling Stage. *Pakistan J Biol Sci*, 11: 1-16.
- Urin V (2015). Sakarya İlinde Buğdayda Kahverengi Pas Hastalığının Yaygınlığının ve Bazı Çeşit ve Hatların Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Wisniewska H, Stepień L. and Kowalczyk K, (2003). Resistance of spring wheat cultivars and lines to leaf rust, *J. Appl. Genet.* 44(3):361-368.
- Yahyaoui A.H, Hovmoller M, Ezzahiri B, Jahoor A, Maatougui M.H, Wolday A (2004). Survey of Barley and Wheat Diseases in the Central Highlands of Eritrea. *Phytopathol Medit*, 43: 39-43
- Yılayaz Ö, ve Kırbağ S (2000). Elazığ'da YetiĖen Buğday ve Arpalardaki Fungal Hastalık Etmenlerinin Tespiti, *F.Ü. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 12: 45-53.
- Yürür N, Tosun O, Eser D, Geçit H.H (1981). Buğdayda Anasap Verimi İle Bazı Karakterler Arasındaki İlişkiler. *Bilimsel Araştırma ve İncelemeler. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları*, 755:443.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım ilk günden itibaren bilgi, deneyim ve desteğini benden esirgemeyen, çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve hazırlanmasında büyük yardımlarını gördüğüm değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. İsmet BAŞER'e, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen Ziraat Mühendisi Belgin İNKAYA arkadaşşıma içten teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca en büyük desteğı ve fedakârlıkları gösteren annem Emel GÜLFİDAN 'a ve kardeşim İlkay GÜLFİDAN 'a, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan sevgili eşim Emre ÖRS'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Edirne Keşan da doğdu. İlk ve ortaöğretimini Keşan da tamamladı. 2011 yılında kazandığı Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden 2015 yılında mezun oldu. 2015-2016 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başladı. 2017 Ağustos ayı itibariyle özel bir şirkette Ziraat Mühendisi olarak halen bu görevde çalışma hayatına devam etmekte olup, evlidir.

