



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
PROJE YAYIN DİLEKÇESİ

Proje Adı		
Top Cross Melezleme Sonrası Elde Edilen Seri-82 x B33 ve Seri-82 x B35 Melez Popülasyonlarında F4 Bireylerinin Tarımsal Özellikler ve Moleküler Analizlerle Değerlendirilmesi		
Proje No	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi
2017/1-1 YLS	24-03-2017	24-03-2018
Yayın Türü	Yayın / Makele Başlığı	
Makale	Seri 82 x B35 Ekmeklik Buğday (<i>Triticum aestivum</i> L.) Melez Popülasyonunda F4 Bireylerinin Fonksiyonel DNA Markörleri ile Değerlendirilmesi	
Dergi ISSN	DOI	Cilt / Sayfa / Yıl
2619-9149	DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.752972	24-3 / 586-593 / 2021
Yayınlandığı Dergi Kısa Ad	Yayınlandığı Dergi	
Belirtilmemiş	KSÜ Tarım ve Doğa Derg	

İLGİLİ MAKAMA

Yukarıda bilgileri verilen ilgili otomasyona girilmiş yayın bilgileri içerisinde ; "Söz konusu çalışma/yayın/sunum/poster/bildiri/ **KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ Bilimsel Araştırma Projeleri birimi** tarafından 2017/1-1 YLS proje numaralı "Top Cross Melezleme Sonrası Elde Edilen Seri-82 x B33 ve Seri-82 x B35 Melez Popülasyonlarında F4 Bireylerinin Tarımsal Özellikler ve Moleküler Analizlerle Değerlendirilmesi" konusu ile ilgili olup, ilgili birimce desteklenmiştir." ("This work is supported by the **Scientific Research Project Fund of KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ** under the project number 2017/1-1 YLS") ifadesi yer almaktadır.

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜNÜN

Ünvanı, Adı-Soyadı : Doç.Dr. Ziya DÜMLÜPINAR

Tarih : 23-05-2024

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :6882170a72

Belge Takip Adresi : <https://bapotomasyon.ksu.edu.tr/belgedogrula>

Adres : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyo Teknoloji
Telefon : (344)300-2131 Faks : (344)300-2002
e-Posta:zdumlupinar@ksu.edu.tr

Bilgi için: Ziya DÜMLÜPINAR
Unvan: Prof.Dr.
Telefon : (344)300-2131



Seri 82 × B35 Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Melez Popülasyonunda F4 Bireylerinin Fonksiyonel DNA Markörleri İle Değerlendirilmesi

Bilge Kübra KOÇYİĞİT¹, İlker YÜCE², Tuğba BAŞKONUŞ³, Tevrican DOKUYUCU⁴, Aydın AKKAYA⁵

Ziya DUMLUPINAR⁶

^{1,2,6}KSU Agricultural Biotechnology Department, Kahramanmaraş, Turkey, ^{3,4,5}KSU Field Crops Department, Kahramanmaraş, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-8595-6452>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9761-3561>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0744-6086>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-7704-6790>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-9560-1922>, ⁶<https://orcid.org/0000-0003-3119-6926>

✉: zdumlupinar@ksu.edu.tr

ÖZET

Buğday üretiminde yaygın olarak görülen sarı pas hastalığı önemli verim kayıplarına yol açmaktadır. Bu çalışmada, sarı pasa dayanıklı B35 yerel ekmeklik buğday genotipi ile hassas olan Seri 82 çeşidinin melezlenmesi sonucunda elde edilen F₄ bitkileri ve ebeveynler kullanılmıştır. Genotipler gluten mukavemeti (*Glu-B1*), vernalizasyon (*Vrn-A1*), bodurluk (*Rht8*, uzun *Rht-B1a* & *Rht-D1a* ve kısa *Rht-B1b* & *Rht-D1b*), yüksek protein oranı (*Gpc-B1*), dane sertliği, sarı pas (*Yr51*), kara pas (*Sr49*), çavdar translokasyonu ve mumsuluk (*Wx-A1*) özelliklerine ait allel spesifik markörler ile karakterize edilmiştir. Buğday genotiplerinde 16 DNA marköründen 39 adet polimorfik bant elde edilmiş, ortalama allel sayısı 2.4, ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0.52 olarak tespit edilmiştir. En yüksek bant sayısı (6) VRN1AF marköründe, en düşük bant sayısı (1) Sun104 ve UHW89 markörlerinde elde edilmiştir. Sarı pasa dayanıklılık geni *Yr51* (Sun104 markörü) Seri 82×B35-1 ve 5, kara pasa dayanıklılık geni *Sr49* (Sun479 markörü) Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6, (Sun209 markörü) Seri 82 ve B35, bodurluk genleri *Rht-B1b* (BF-MR1 markörü) Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6, *Rht-D1a* (DF2-WR2 markörü) Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6, *Rht8* (WMS261 markörü) Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6, çavdar translokasyon genleri (NOR markörü) Seri 82×B35-2, 3 ve 4, (RIS markörü) Seri 82, B35, Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 genotiplerinde tespit edilmiştir. DNA markörlerine göre yapılmış olan dendrogram, ebeveynlerin F₄ bireylerine benzerliğinin % 54 oranında olduğunu, Seri 82×B35-3 ve 4 genotiplerinin % 95 oranıyla birbirine en benzer genotipler olduğunu ortaya koymuştur.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 15.06.2020

Kabul Tarihi : 26.10.2020

Anahtar Kelimeler

Ekmeklik buğday

DNA markörü

Sarı pas

Kara pas

Kalite

Evaluation of F4 Individuals Belong to Seri 82 × B35 Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cross Population Using Functional DNA Markers

ABSTRACT

Yellow rust disease commonly observed in wheat production causes serious grain yield losses. In this study, F₄ plants obtained from crossing between bread wheat landrace B35 known as tolerant to stripe rust and cv. Seri 82 known as susceptible to stripe rust, and their parents were used. Genotypes were characterized with allele specific markers for gluten strength (*Glu-B1*), vernalisation (*Vrn-A1*), dwarfing (*Rht8*, tall *Rht-B1a* & *Rht-D1a* and short *Rht-B1b* & *Rht-D1b*), high protein ratio (*Gpc-B1*), grain hardness, stripe rust (*Yr51*), stem rust (*Sr49*), rye translocation and waxy (*Wx-A1*) genes. Thirty-nine polymorphic bands were obtained from 16 DNA markers for wheat genotypes, the average allele number was determined as 2.4 and the average polymorphism information content (PIC) was calculated as 0.52. The highest allelic marker was VRN1AF (vernalisation) with 6 alleles and the lowest allelic markers were Sun104 (stem rust) and UHW89 (high protein ratio) with only one allele. Stripe rust *Yr51* (Sun104 marker) in Seri 82×B35-1 and 5 genotypes, stem rust *Sr49* (Sun479) in Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 and 6

Research Article

Article History

Received : 15.06.2020

Accepted : 26.10.2020

Keywords

Bread wheat

DNA markers

Stripe rust

Stem rust

Quality

genotypes, (Sun209 marker) in Seri 82 and B35 genotypes, dwarfing genes *Rht-B1b* (BF-MR1 marker) in Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 and 6 genotypes, *Rht-D1a* (DF2-WR2 marker) in Seri 82×B35-2, 3, 4 and 6 genotypes, *Rht8* (WMS261 marker) in Seri 82×B35-2, 3, 4 and 6 genotypes and rye translocation genes (NOR marker) in Seri 82×B35-2, 3 and 4 genotypes and (RIS marker) in Seri 82, B35, Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 and 6 genotypes were identified. A dendrogram created from DNA markers showed that Seri 82 and B35 genotypes were found 54% similar to F₄ individuals, while Seri 82 × B35-3 and 4 genotypes were the most similar genotypes with 95%.

Atf İçin : Koçyiğit BK, Yüce İ, Başkonuş T, Dokuyucu T, Akkaya A, Dumlupınar Z 2021. Seri 82 × B35 Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Melez Popülasyonunda F₄ Bireylerinin Fonksiyonel DNA Markörleri ile Değerlendirilmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (3): 586-593. DOI: /ksutarimdog.vi.752972.

To Cite : Koçyiğit BK, Yüce İ, Başkonuş T, Dokuyucu T, Akkaya A, Dumlupınar Z 2021. Evaluation of F₄ Individuals Belong to Seri 82 × B35 Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cross Population Using Functional DNA Markers. KSU J. Agric Nat 24 (3): 586-593. DOI: /ksutarimdog.vi.752972.

GİRİŞ

Artan buğday ihtiyacının karşılanabilmesi yüksek verimli, hastalık etmenlerine ve zararlılara karşı dayanıklı yeni buğday çeşitlerinin geliştirilmesiyle mümkün olacaktır (Güngör ve Dumlupınar 2019). Ülkemizde ve dünyada hemen her bitki türünde olduğu gibi buğdayda da hastalık ve zararlılar verim ve kalite unsurları üzerinde önemli zararlara sebep olmaktadır. Ülkemizde buğday üretiminde yaygın olarak sarı pas hastalığı görülmekte ve üretimde önemli kayıplara yol açmaktadır.

İslah çalışmalarında genetik kaynakların özgülleştirilmesi, ebeveynlerin seçilmesi, genotipler arasındaki farklılık ve benzerliklerin belirlenmesi, yeni geliştirilmiş olan genotiplerin korunması ve kalitatif-kantitatif genlerin belirlenmesinde moleküler markörler kullanılmaktadır (Özcan 2008). Moleküler markörler, çok hızlı bir şekilde istenen ya da istenmeyen özellikleri tanıyıp, değiştirmeye yardımcı olmaktadır (Richmond ve Somerville 2001).

Basit dizi tekrarları (SSR), tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) moleküler markör teknolojileri olarak bilinmektedir. Moleküler markör teknolojilerinin kullanılmaya başlanması ile birlikte, ıslah süreçlerinde kısımlar meydana gelmiştir. Basit dizi tekrarları

(SSR, mikrosatellitler) genotiplerin tanımlanmasında, kantitatif özelliklerin bulunduğu gen (QTL) bölgelerinin belirlenmesinde, genetik çeşitliliklerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Leisova ve Ovesna 2001, Medini ve ark. 2005, Roussel ve ark. 2005, Nersting ve ark. 2006, Leisova ve ark. 2007, Li ve ark. 2000, 2007, Fu ve ark. 2007, He ve Bjornstad 2012, Montilla-Bascon ve ark. 2013, Dumlupınar ve ark. 2016, Güngör 2019).

Bu çalışmada, sarı pasa dayanıklı B35 yerel ekmeklik buğday genotipi ile hassas Seri 82 çeşidinin melezlenmesi sonucunda elde edilen F₄ kademesindeki hatlar kullanılmıştır. Hastalık, kalite ve morfolojik özelliklerle ilgili bazı fonksiyonel DNA markörleri kullanılarak, ebeveynlerle birlikte F₄ kademesindeki hatların moleküler olarak karakterizasyonu yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, materyal olarak Seri 82 ekmeklik buğday çeşidi ile B35 yerel ekmeklik buğday genotipinin melezlenmesi (Seri 82 × B35) sonucu elde edilen 6 adet F₄ melez kombinasyonu ve ebeveynleri kullanılmıştır. Seri 82 ve B35 genotiplerine ait bilgiler Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Araştırmada Kullanılan Ebeveynlere Ait Bilgiler

Table 1. Information on Parents Used in the Research

Adı/(Name)	Temin Kuruluş/ (Organization provided)	Edildiği	Orijini/(Origin)	Öne Çıkan Özelliği (Featured trait)	Tescil Durumu/ (Registration status)
Seri 82	Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü	Tarımsal	Türkiye	Tane verimi yüksek, beyaz kılçıklı, protein oranı yüksek, sarı pasa hassas	Tescilli
B35	National Grains Collection	Small	Amerika Birleşik Devletleri	Sarı pasa dayanıklı, yatmaya toleransı az, tane verimi düşük, bin tane ağırlığı düşük,	-

Çalışmada kullanılan buğday genotiplerine ait genomik DNA'ların elde edilmesi için tohumların viyollere ekimleri yapılmış ve bitki büyüme kabininde bitkiler 3-4 yapraklı döneme gelene kadar yetiştirilmiştir. Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) metoduna göre DNA izolasyonu işlemi yapılmıştır (Oliver ve ark. 2010). Genotiplerden alınan yaprak örnekleri, sıvı azot ile 2 ml'lik eppendorf tüplerde öğütülerek, üzerlerine 1 ml izolasyon

solüsyonu (1 M Tris-HCl (pH:8), 0,5 M EDTA (pH:8), 5M NaCl, % 2 w/vc cTAB, % 2 Polyvinyl-Pyrolidone 40, % 5 sarcosyl) eklenmiş, tüplerdeki örnekler alt üst edildikten sonra 65 °C de 1 saat süre ile su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan alınan örneklerin üzerine 1ml kloroform: izoamil alkol (24:1) eklenerek, 20 dakika 10000 (rpm) devirde santrifüj işlemi uygulanmıştır.. Santrifüj işlemi sonucunda üstte kalan saydam sıvı, altta kalan yapraklar ile karıştırıl-

Çizelge 2. Moleküler Karakterizasyonda Kullanılan DNA Primerleri
Table 2. DNA primers used in molecular characterization

No/ (Number)	Primer Adı/ (Primer Name)	Primer Dizisi (5'-3') / (Primer Sequence)	Gen Bölgesi / (Gene Region)	Beklenen Uzunluğu (Expected Length) (bp)	Bant (bç)/ Band	Markör/ (Marker)
1	Bx7OE_F Bx7OE_R	CCTCAGCATGCAAACATGCAGC CTGAAACCTTTGGCCAGTCATG TC	Gluten Mukavemeti	563		Eş- baskın
2	Sun104_F Sun104_R	TGCTATGTGCGTGATGATGA TTACATGCTCCAGCGACTTG	Sarı pas <i>Yr51</i>	225		Baskın
3	Sun479_F Sun479_R	CAAATGAAATGTGATCCTGTT TCATCTAACCAGCAATGGTAT	Kara pas <i>Sr49</i>	200		Eş- baskın
4	Sun209_F Sun209_R	AG CTATGAGCTTCGCTATTG GTGATTGGTTTCGGATTACTTA	Kara pas <i>Sr49</i>	148		Eş- baskın
5	VRN1AF VRN1- INT1R	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG GCACGAAATCGAAATCGAAG	Vernalizasyon <i>Vrn-A1</i>	484 (vrn-A1 kışlık veya Vrn-A1c yazlık 715-624 iki bant Vrn-A1a 464 Vrn-A1b yazlık 452 Vrn-A1d yazlık 430 Vrn-A1e yazlık		Baskın
6	BF WR1	GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG CATCCCCATGGCCATCTCGAGC TG	Bodurluk <i>Rht-B1a</i>	273		Baskın
7	BF MR1	GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG CATCCCCATGGCCATCTCGAGC TA	Bodurluk <i>Rht-B1b</i>	273		Baskın
8	DF2 WR2	GGCAAGCAAAAGCTTCGCG GGCCATCTCGAGCTGCAC	Bodurluk <i>Rht-D1a</i>	264		Baskın
9	DF MR2	CGCGCAATTATTGGCCAGAGAT AG CCCCATGGCCATCTCGAGCTGC TA	Bodurluk <i>Rht-D1b</i>	254		Baskın
10	WMS261_F WMS261_R	CTCCCTGTACGCCTAAGGC CTCGCGCTACTAGCCATTG	Bodurluk <i>Rht8</i>	165- 204		Eş- baskın
11	UHW89-BF UHW89-R	TCTCCAAGAGGGGAGAGACA TTCTCTACCCATGAATCTAGC A	Yüksek Protein <i>Gpc-B1</i>	122		Eş- baskın
12	RIS_F RIS_R	TAATTTCTGCTTGCTCCATGC ACTGGGGTGCACTGGATTAG	Çavdar Translokasyonları	110		Baskın
13	NOR_F NOR_R	GCATGTAGCGACTAACTCATC CCCAGTTTTCCATGTCGC	Çavdar Translokasyonları	400, 600, 700, 800		Baskın
14	SCM9_F SCM9_R	TGACAACCCCTTTCCCTCGT TCATCGACGCTAAGGAGGACCC	Çavdar Translokasyonları	220		Eş- baskın
15	PinaD1_F PinaD2_R	CCCTGTAGAGACAAAGCTAA TCACCAGTAATAGCCAATAGT	Dane Sertliği Pina	330		Baskın
16	Sun1_F Sun1_R	CGCTCCCTGAAGAGAGAAAGAA ATAGGCACAACCCCTAAC	Waxy <i>Wx-A1</i>	Xsun-7A, 219, 233, 260, 271, 275, 285 ve 289		Eş- baskın

madan pipet yardımı ile boş steril tüplere aktarılmış, üzerlerine yeni tüplere alınan sıvı miktarı kadar isopropanol (-20 °C) eklenmiş, 10000 (rpm) devirde 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra örneklerdeki sıvı kısım uzaklaştırılmış, pelletler üzerine 2 ml % 70 etanol eklenmiş, 2 dakika 13000 (rpm) devirde santrifüj edilerek yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan DNA pelletlerinin üzerine 250 µl RNase solüsyonu (100 ml'lik 10 mM Tris-HCl EDTA çözeltisine 1 ml RNase stok solüsyonu) eklenerek DNA izolasyonu tamamlanmıştır. Çalışmada, 16 adet DNA markörü kullanılmış olup, bu DNA markörlerine ait bilgiler Çizelge 2'de verilmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) 0.02 ml hacmindeki 96'lık PZR platelerine; 1 µl dNTP karışımı (10 mM karışım (A+T+G+C)), 3 µl 10x buffer, 1.5 µl MgCl₂, SSR primer çifti (2 µl F ve 2 µl R), 3 µl (100 ng) genomik DNA, 7.2 µl ddH₂O, ve 0.3 µl Taq DNA polimeraz (5U/µl, Fermentas) şeklinde toplamda 20 µl'lik PZR solüsyonu hazırlanarak "eppendorf" marka thermal cycler cihazında; 94 °C'de 5 dakika, 94 °C (DNA iplikçiklerinin ayrışması) 1 dakika, 50 °C (primerlerin yapışması (tavlama)) 1 dakika ve 72 °C (DNA eşleşmesi)'de 2 dakika, 94 °C ile 72 °C arasında 35 döngü yapıp ve son aşamada 72 °C'de 5 dakika çalıştırılıp PZR ürünleri kullanılıncaya kadar -20 °C bekletilmiştir. PZR işleminden sonra genotiplere ait SSR bantları elde etmek amacıyla Qiagen firmasına ait "QIAxcel Advanced System" fragment analiz cihazı kullanılmıştır. Fragment analizi sonucunda elde

edilen bantlar 0 (yok) veya 1 (var) olarak kodlanıp, hassasiyet ±4 olarak kabul edilip değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler ile çalışmada kullanılan ekmeklik buğday genotipleri arasındaki benzerlikler NTSYSpc 2.21q (Rohlf, 2005) programında, Dice indeks (Dice, 1945) kullanılarak hesaplanmıştır. Genotiplerin birbiriyle benzerliklerini gösteren dendrogram, her genotipe ait DNA bantları '0' veya '1' olarak kodlanıp ikili (binary) veri matrisi ve UPGMA (unweighted pair group method arithmetic average) kullanılarak elde edilmiştir. Moleküler analizlerde kullanılacak her bir SSR markörü için polimorfizm bilgi içerikleri Weir (1996)'e göre aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$PIC=1-\sum P_i^2$$

P_i: araştırmada çalışılan 8 ekmeklik buğday genotipinde (melez kombinasyonu ve ebeveynleri) i'inci allelin frekansdır.

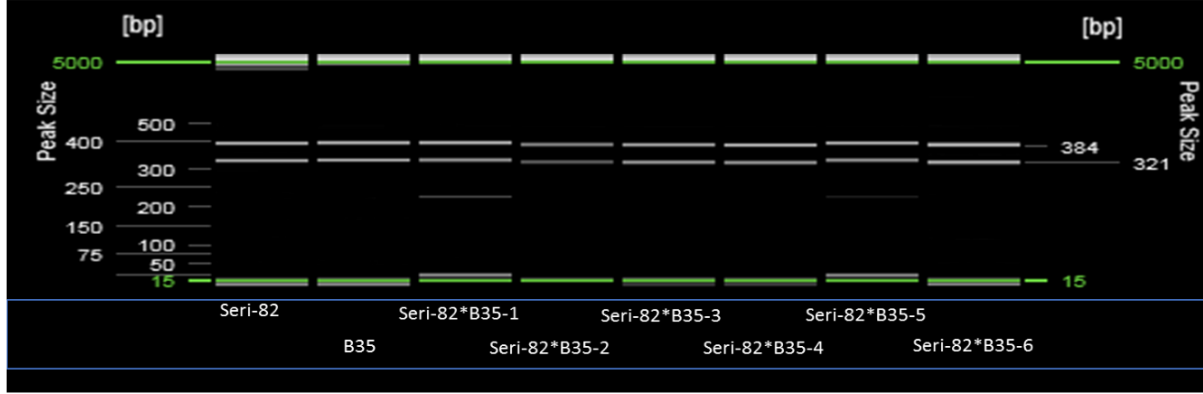
Yürütülen çalışmada, 8 adet ekmeklik buğday genotipi, 16 fonksiyonel markör ile taranmış ve 39 adet polimorfik bant tespit edilmiştir. En fazla bant (6 adet) üreten markör VRN1AF, en az bant (1 adet) üreten markör ise Sun104 ve UHW89 olmuştur. En yüksek polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0.9972, en düşük PIC değeri 0, ortalama PIC değeri ise 0.52 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3). Yakışır (2015), Yüce (2018) ve Kekilli (2019) yürüttükleri çalışmalarda sırasıyla 0.038-0.980, 0.94-0.99 ve 0.10-0.99 arasında PIC değerleri tespit etmişlerdir. Sarı pas hastalığına dayanıklılık geni *Yr51* ile Sun104 markörü arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir.

Çizelge 3. Primerlere ait allel sayıları ve PIC değerleri
Table 3. Allele numbers and PIC values of primers

No/(Number)	Primer Adı/(Primer Name)	Allel Sayısı/(Allele Number)	PIC Değeri/(PIC Value)
1	Bx7 ^{OE}	3	0.52
2	Sun104	1	0.9902
3	Sun479	2	0.52
4	Sun209	2	0.52
5	VRN1AF VRN1-INT1R	6	0.76
6	BF WR1	2	0.33
7	BF9 MR1	2	0.26
8	DF2 WR2	3	0.72
9	DF MR2	2	0.01
10	WMS261	2	0.68
11	UHW89	1	0
12	RIS	2	0.01
13	NOR	3	0.9972
14	SCM9	2	0.07
15	PinaD1 PinaD2	3	0.96
16	Sun1	3	0.95
	Ortalama	2.4375	0.52

Randhawa ve ark. (2014), tarafından Sun 104 markörünün (*Yr51* geni) kodladığı gen bölgesinde 225 bç uzunluğunda allel saptanmış ve bu allelin sarı pas hastalığına dayanıklılık geni ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sarı pas hastalığına dayanıklılık geniyle ilişkili Sun104 markörü ile yapılan taramada, Seri 82×B35-1 ve 5 genotiplerinde sarı pas dayanıklılık

geni belirlenmiştir. Sun104 primerine ait fragment analiz görüntüsü Şekil 1’de gösterilmiştir. Kekilli (2019), bazı makarnalık buğday çeşitlerinin allel spesifik DNA markörlerle karakterizasyonu amacıyla yürüttüğü çalışmada Saragolla, Cesare ve Svevo çeşitlerinde sarı pas hastalığına dayanıklılık genleri saptamıştır.



Şekil 1. Sun104 primerine ait fragment analiz görüntüsü
Figure 1. Fragment analysis image of Sun104 primer

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bansal ve ark. (2015), tarafından yürütülen çalışmada, Sun479 markörünün kodladığı gen bölgesinde 200 bç uzunluğunda, Sun209 markörünün kodladığı gen bölgesinde 148 bç uzunluğunda allel gözlemlenmiş ve bu allelerin (*Sr49*) kara pas hastalığına dayanıklılık geni ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda 8 adet ekmeklik buğday genotipinden, Sun479 markörüne göre Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 genotiplerinde, Sun209 markörüne göre Seri 82 ve B35 genotiplerinde kara pasa dayanıklılık geni olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Yüce (2018), karakılçık M₄ bireylerinden KK-5 hattında, Kekilli (2019), Zühre, Burgos ve Svevo çeşitlerinde kara pas hastalığına dayanıklılık geni olduğunu tespit etmiştir.

Ellis ve ark. (2002), BF-MR1 markörünün kodladığı gen bölgesinde 273 bç uzunluğunda allel gözlemlenmişler ve bu allelin bodurluk geni ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. BF-MR1 markörü ile elde edilen sonuçlara göre Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 genotiplerinde bodurluk geni olduğu belirlenmiştir. Ellis ve ark. (2002), DF2-WR2 markörünün kodladığı gen bölgesinde 264 bç uzunluğunda allel gözlemlediklerini ve bu allelin bodurlukla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda DF2-WR2 markörü ile yapılan taramada Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6 genotiplerinde bodurluk geni bulunduğu sonucuna varılmıştır. Korzun ve ark. (1998), tarafından yürütülen çalışma sonucuna göre WMS261 markörünün kodladığı gen bölgesinde 165-204 bç uzunluğunda allel tespit edilmiş ve bu allelin bodurlukla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu bulguya dayanarak kullanılan WMS261 markörü ile yapılan

tarama sonucunda Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6 genotiplerinde bodurluk geni olduğu belirlenmiştir.

Koebner (1995), yürüttüğü çalışmada NOR markörü ile 400, 600, 700 ve 800 bç uzunluğunda allel tespit ettiğini belirtmiştir. Bu sonuç esas alınarak kullanılan NOR markörü ile yapılan tarama sonuçlarına göre, kullanılan genotiplerden Seri 82×B35-2, 3 ve 4 genotiplerinde çavdar translokasyonları geni olduğu saptanmıştır. SCM9 primeri çavdar translokasyonlarına ait genleri belirlemede kullanılan bir belirteç olup Gul'tyaeva ve ark. (2009), SCM9 markörü ile 207 bç uzunluğunda allel tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, SCM9 markörü ile 8 adet ekmeklik buğday genotipinin tamamında çavdar translokasyonları geni olduğu sonucuna varılmıştır. Yüce (2018), yürüttüğü çalışmada KK-5 hattında çavdar translokasyonlarına ait genler olduğunu bildirmiştir.

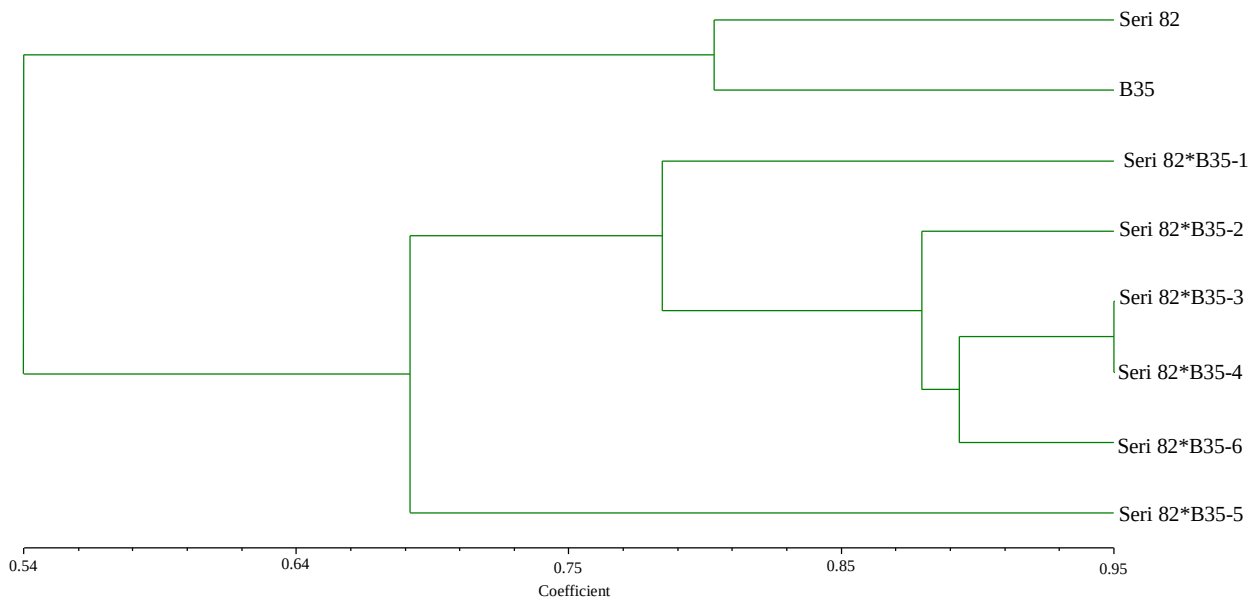
Genotiplere ait allellik varyasyonları Çizelge 4’te, 16 adet DNA markörü ile yapılan tarama sonucunda elde edilen verilerden, UPGMA (Unweighed Pair Group Method of Aritmetic Averages) yöntemi ile Weir (1996)’nın genetik mesafe matrisine göre oluşturulan filogenetik ağaç (Şekil 2)’de verilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen analizlerde sarı pas ve kara pas hastalıkları, gluten mukavemeti, vernalizasyon (*Vrn-A1*), bodurluk (*Rht-B1a*), (*Rht-B1b*), (*Rht-D1a*), (*Rht-D1b*), (*Rht8*), yüksek protein (*Gpc-B1*), çavdar translokasyonları, dane sertliği ve Waxy(*Wx-A1*) gibi kalite özelliklerine ilişkin marker verileri kullanılarak oluşturulan dendrogramda, genotipler birbirine % 54 oranında benzerlik gösteren iki ana gruba ayrılmıştır (Grup 1; Seri 82, B35 ve Grup 2; Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6). Birinci grupta yer

Table 4. Allelic variations of some genes of bread wheat genotypes

Çizelge 4. Ekmeklik buğday genotiplerine ait bazı genlerin allellik varyasyonları

No/(Number)	Primer/(Primer name)	Seri - 82	B35	Seri 82*B35-1	Seri 82*B35-2	Seri 82*B35-3	Seri 82*B35-4	Seri 82*B35-5	Seri 82*B35-6
1	Bx7OE	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Sun104	-	-	+	-	-	-	+	-
3	Sun479	-	-	+	+	+	+	+	+
4	Sun209	+	+	-	-	-	-	-	-
5	VRN1AF VRN1-INT1R	-	-	-	-	-	-	-	-
6	BF WR1	-	-	-	-	-	-	-	-
7	BF MR1	-	-	+	+	+	+	+	+
8	DF2 WR2	-	-	-	+	+	+	-	+
9	DF MR2	-	-	-	-	-	-	-	-
10	WMS261	-	-	-	+	+	+	-	+
11	UHW89	-	-	-	-	-	-	-	-
12	RIS	+	+	+	+	+	+	+	+
13	NOR	-	-	-	+	+	+	-	-
14	SCM9	-	-	-	-	-	-	-	-
15	PinaD1 PinaD2	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Sun1	-	-	-	-	-	-	-	-



Şekil 2. Genotiplere göre oluşturulmuş filogenetik ağaç

Figure 2. A Dendrogram created according to genotypes

alan Seri 82 ve B35 birbirlerine % 81 oranında benzerlik göstermiştir. İkinci grupta Seri 82×B35-5 ile 1, 2, 3, 4, 6 % 69 oranında, Seri 82×B35-1 ile 2, 3, 4 % 78 oranında, Seri82×B35-2 ile 3, 4, 6 % 88 oranında, Seri 82×B35-3, 4 ile 6 % 90 oranında, Seri 82×B35-3 ile 4 % 95 oranında benzer olmuştur. Kiraz ve ark. (2019), ekmeklik buğday mutantları ile yaptıkları çalışmada 0.22 ile 0.76 arasında, Güngör (2019), ticari ve yerel makarnalık buğdaylar ile yaptığı çalışmada 0.49 ile 0.86 arasında, Aydemir ve ark. (2020), B28 ve Kunduru-1149 genotipleri ile resiproklı melez bireylerini kullanarak yaptıkları çalışmada 0.09 ile 0.71 arasında bir genetik çeşitlilik bildirmişlerdir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, 6 adet F₄ melez kombinasyonu (Seri 82 x B35) ve ebeveynleri, 16 adet DNA markörüyle sarı pas, kara pas, gluten mukavemeti, vernalizasyon (*Vrn-A1*), bodurluk (*Rht-B1a*, *Rht-B1b*, *Rht-D1a*, *Rht-D1b*, *Rht8*, yüksek protein (*Gpc-B1*), çavdar translokasyonları, tane sertliği ve mumsuluk (*Wx-A1*) bakımından incelenmiştir. Çalışma sonucunda 39 adet polimorfik bant elde edilmiş, ortalama allel sayısı 2.4375, ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri (PIC) 0.52, en yüksek PIC değeri 0.9972 olarak tespit edilmiştir.

VRN1AF primeri 6 bant ile en fazla, Sun104 ve UHW89 primerleri 1 bant ile en az bant veren primerler olmuştur. Çalışmada kullanılan ekmeklik buğday genotiplerinde, Bx7^{OE} (gluten mukavemeti), VRN1AF (vernalizasyon, *Vrn-A1*), BF-WR1 (bodurluk, *Rht-B1a*), DF-MR2 (bodurluk, *Rht-D1b*), UHW89 (yüksek protein, *Gpc-B1*), Pina (tane sertliği) ve Sun1 (mumsuluk, *Wx-A1*) primerlerinde istenilen bç uzunluğunda bant elde edilememiştir. Sun104 (sarı pas *Yr51*) primerinde Seri 82×B35-1 ve 5 (223 bç), Sun479 (kara pas *Sr49*) primerinde Seri 82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 (204 bç), Sun209 (kara pas *Sr49*) primerinde Seri 82 ve B35 (147 bç) genotiplerinde dayanıklılık geni belirlenmiştir. BF-MR1 (bodurluk *Rht-B1b*) primerinde Seri82×B35-1, 2, 3, 4, 5 ve 6 (277 bç), DF2-WR2 (bodurluk *Rht-D1a*) primerinde Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6 (267 bç), WMS261 (bodurluk *Rht8*) primerinde Seri 82×B35-2, 3, 4 ve 6 genotiplerinde (162 bç) gen saptanmıştır. NOR primeri Seri 82×B35-2, 3 ve 4 genotiplerinde (400 bç), RIS (109 bç) ve SCM9 (207 bç) primerleri genotiplerin tamamında çavdar translokasyonu geni bulunduğunu göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bilge Kübra KOÇYİĞİT'in 2019 yılında tamamlanan “Seri 82 x B35 Melez Popülasyonunda F₄ Bireylerinin Fonksiyonel DNA Markörleri İle Değerlendirilmesi” isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir. Diğer yazarlar da materyalin melezlenmesi ve F₄ kademesine getirilmesi

aşamalarında katkı sunmuşlardır. Yazarlar ayrıca Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine de finansal destekleri için teşekkür eder (Proje No: 2017/1-1 YLS).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarların katkısı eşittir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedirler.

KAYNAKLAR

- Aydemir G, Dumlupınar Z, Yüce I, Baskonus T, Sunulu S, Gungor H 2020. Evaluation of Individuals Obtained from B28×Kunduru-1149 Reciprocal Cross Population by Functional Markers. KSU J. Agric Nat 23 (4):1005-1011.
- Bansal UK, Muhammad S, Forrest KL, Hayden MJ, Bariana HS 2015. Mapping Of A New Stem Rust Resistance Gene Sr49 In Chromosome 5B of Wheat. Theoretical And Applied Genetics, 128: 2113-2119.
- Dice LR 1945. Measures of The Amount of Ecologic Association Between Species. Ecology, 26, S. 297-302.
- Dumlupınar Z, Jellen EN, Bonman JM, Jackson EW 2016. Genetic Diversity And Crown Rust Resistance Of Oat Landraces From Various Locations Throughout Turkey. DOI: 10.3906/Tar-1509-43, Turk J Agric For 40: 262-268.
- Fu YB, Peterson GW, Chong J, Fetch T, Wang ML 2007. Microsatellite Variation in *Avena sterilis* Oat Germplasm. Theor Appl Genet 114: 10229-11038.
- Gul'tyaeva EI, Kanyuka IA, Alpat'eva NV, Baranova OA, Dmitriev AP, Pavlyushin VA 2009. Molecular Approaches in Identifying Leaf Rust Resistance Genes in Russian Wheat Varieties. Russian Agricultural Sciences, 35(5): 316-319.
- Güngör H 2019. Allelic Variations And Agronomic Comparisons of Durum Wheat Cultivars Under East-Mediterranean Conditions International Journal of Agriculture And Biology 21(4):891-898 Doi: 10.17957/Ijab/15.0972.
- Güngör H, Dumlupınar Z 2019. Bolu Koşullarında Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinin Verim, Verim Unsurları ve Kalite Yönünden Değerlendirilmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6(1): 44-51.
- He X, Bjornstad A 2012. Diversity of North European Oat Analyzed by SSR, AFLP And Dart Markers. Theor Appl Genet 125: 57-70.
- Kekilli Ö 2019. Bazı Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Allel Spesifik DNA Markörlerle Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

- Kahramanmaraş, S 30.
- Kiraz H, Yüce İ, Kaya E, Kekilli Ö, Ocaktan H, Topsakal M, Gürocak NY, Osanmaz H, Kılınç FM, Başkonuş T, Dumlupınar Z 2019. Characterization of M₃ Mutants of Seri 82 Bread Wheat Cultivar Using Functional Markers. *BSJ Agri*, 2(4): 194-202.
- Koebner RMD 1995. Generation of PCR-Based Markers For The Detection of Rye Chromatin in A Wheat Background. *Theoretical And Applied Genetics*, 90(5): 740-745.
- Korzun V, Roder MS, Worland AJ, Borner A 1997. Intrachromosomal Mapping of The Genes For Dwarfing (*Rht12*) And Vernalisation Response (*Vrn1*) in Wheat By Using RFLP And Microsatellite Markers. *Plant Breeding* 116: 227-232.
- Leisova L, Kucera L, Dotlacil L 2007. Genetic Resources of Barley And Oat Characterized by Microsatellites. *Czech J Genet Plant* 43: 97-104.
- Leisova L, Ovesna J 2001. The Use of Microsatellite Analysis For The Identification of Wheat Varieties. *Czech J Genet Plant* 116: 227-232.
- Li YC, Fahima T, Peng JH, Roder MS, Kirzhner VM, Beiles A, Korol AB, Nevo E 2000. Edaphitic Microsatellite DNA Divergence in Wild Emmer Wheat, *Triticum dicoccoides*, At A Microsite: Tabigha, Israel. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1029-1038.
- Medini M, Hamze S, Rebai A, Baum M 2005. Analysis of Genetic Diversity in Tunisian Durum Wheat Cultivars And Related Wild Species By SSR And AFLP Markers. *Genet Resour Crop Ev* 52: 21-31.
- Montilla-Bascon G, Sanchez-Martin J, Rispail N, Rubiales D, Mur L, Langdon T, Griffiths I, Howarth C, Prats E 2013. Genetic Diversity And Population Structure Among Oat Cultivars And Landraces. *Plant Mol Biol Rep* 31: 1305-1314.
- Nersting LG, Andersen SB, Von Bothmer R, Gullord M, Jorgensen RB 2006. Morphological And Molecular Diversity of Nordic Oat Through One Hundred Years of Breeding. *Euphytica* 150: 327-337.
- Oliver RE, Obert DE, Hu G, Bonman JM, O'Leary-Jepsen E, Jackson EW 2010. Development of Oat-Based Markers From Barley And Wheat Microsatellites. *Genome*, 53(6): 458-471.
- Özberk İ, Zencirci N, Özkan H, Özberk F, Eser V 2010. Dünden Bugüne Makarnalık Buğday Islahı ve Geleceğe Bakış. *Makarnalık Buğday ve Mamulleri Konferansı*, 17-18 Mayıs, 2010.
- Özcan B 2008. Kendilenmiş Monoik Atlantik Sakızı Popülasyonunda Genetik Haritalama İçin Polimorfik Yöntem ve Markörlerin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 68s.
- Randhawa M, Bansal U, Valarik M, Klocova B, Dolezel J, Bariana H 2014. Molecular Mapping of Stripe Rust Resistance Gene *Yr51* in Chromosome 4AL of Wheat. *Theoretical And Applied Genetics*, 127: 317-324.
- Richmond TA, Somerville CR 2001. Integrative Approaches to Determining CSL Function. *Plant Mol. Biol* 47: 131-143.
- Rohlf FJ 2005. NTSYS-Pc: Numerical Taxonomy And Multivariate Analysis System Version 2.2. Setauket, Exeter Publishing, New York, USA.
- Roussel V, Leisova L, Exbrayat F, Stenho Z, Balfourier F 2005. SSR Allelic Diversity Changes in 480 European Bread Wheat Varieties Released From 1840 To 2000. *Theor Appl Genet* 111: 162-170.
- Weir BS 1996. Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinauer Associates, Inc., Sunderland., MA.
- Yakışır E 2015. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Genotiplerinin Kurağa Karşı Tepkilerinin SSR Markörleri ile Belirlenmesi. Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Konya. S 56.
- Yüce İ 2018. Karakılçık M₄ Bireylerinde Hastalık ve Kalite ile İlgili Allellerin Moleküler Analizlerle Tespiti. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Kahramanmaraş. S. 29.