



**BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK BUĞDAY GENOTİPLERİNDE
KAHVERENGİ PASA DAYANIKLILIĞIN MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE
BELİRLENMESİ**

HAZAL NASİRİAN

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN

2023

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK BUĞDAY GENOTİPLERİNDE
KAHVERENGİ PASA DAYANIKLILIĞIN MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE
BELİRLENMESİ

HAZAL NASİRİAN

ORCID: 0000-0002-6899-5505

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

OCAK-2023
Her hakkı saklıdır.

ARAŞTIRMA FONU DESTEĐİ BEYANI

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan ve Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışması; Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi BAP tarafından NKUBAP.03.YL.22.360 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Hazal Nasirian

20/01/2023



ÖZET

BAZI YERLİ VE YABANCI EKMEKLİK BUĞDAY GENOTİPLERİNDE KAHVERENGİ PASA DAYANIKLILIĞIN MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE BELİRLENMESİ

Hazal NASİRİAN

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

Geçmişten günümüze buğday insan beslenmesinde önemli bir besin maddesi olmuştur ve gelecekte de bu önemini korumaya devam edecektir. Buğdayın; adaptasyon yeteneğinin yüksek, işleminin kolay ve az maliyetli olmasından dolayı dünyanın birçok bölgesinde üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Geniş alanlarda yayılış göstermiş olan buğday, sadece insan beslenmesinde değil hayvan beslenmesinde ve endüstri alanında da kullanılmaktadır. Birçok alanda kullanılan buğdayın gelecekteki talebi karşılayabilmesi için verim kayıplarının önüne geçilmesi ve birim alandan elde edilen veriminin artırılması gerekmektedir. Buğdayda verim kayıplarının nedenlerinden biri de kahverengi pas hastalığıdır. Bu kayıpların engellenebilmesi ve verimin artırılabilmesi için yeni çeşitlerin ıslah edilmesi gerekmektedir. Çeşitlerin ıslahında, moleküler destekli ıslah ile klasik ıslah metotlarının birlikte kullanılması daha etkili ve hızlı sonuçlar alınmasını sağlayabilmektedir. Yapılan tez çalışmasında buğdayda kahverengi pas dayanıklılık geni olan Lr gen bölgelerinden; *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr46*, *Lr47*, *Lr49* ve *Lr58* gen bölgeleri çalışılmıştır. Çalışma da PCR optimizasyonu sağlanan *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr37* ve *Lr47* gen bölgeleri ile 96 buğday genotipi kahverengi pasa dayanıklılık açısından test edilmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin kahverengi pasa dayanıklılık genleri içeren çeşitlerin buğday ıslah programlarında kullanılmasına önemli bilgiler sağlayacağı ve etkili ıslah programlarının oluşturulmasında önemli paya sahip olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kahverengi Pas, *Lr* Genleri, Moleküler Belirteçler, *Triticum aestivum*

ABSTRACT

DETERMINATION OF LEAF RUST RESISTANCE IN SOME LOCAL AND FOREIGN BREAD WHEAT GENOTYPES VIA MOLECULAR MARKERS

Hazal NASİRİAN

Department of Agricultural Biotechnology

MSc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Behiye Banu BİLGEN

Wheat has been a significant nutrient in human nutrition from past to present and will continue to maintain this importance in the future. Wheat; due to its high adaptability, easy processing, and low cost, it can be produced in many regions of the world. Wheat, which has spread over wide areas, is used not only in human nutrition but also in animal nutrition and industry. In order to meet future demand, it is necessary to prevent yield losses and increase the yield obtained from the unit area. One of the reasons for yield losses in wheat is leaf rust disease. In order to prevent these losses and increase the yield, new varieties need to be developed. In the breeding of varieties, more effective and faster results can be obtained with molecular-assisted classical breeding programs. In the thesis, leaf rust resistance genes in wheat; *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr46*, *Lr47*, *Lr49*, and *Lr58* genes were studied. Among the studied Lr genes, the *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr37*, and *Lr47* gene regions were optimized with PCR and determined in terms of resistance to leaf rust in 96 wheat genotypes. It is thought that the data obtained from the study provide important information for the use of varieties containing leaf rust resistance genes in wheat breeding programs and have important implications in the creation of effective breeding programs.

Keywords: Leaf Rust, *Lr* Genes, Molecular Markers, *Triticum aestivum*

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
TEŞEKKÜR.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	2
1.1.1 Buğdayın Önemi ve Özellikleri.....	2
1.1.2 Buğdayda Pas Hastalıkları.....	4
1.1.3 Kahverengi Pas Hastalığı ile İlgili Yapılan Moleküler Belirteç Çalışmaları	7
1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı.....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
2.1 Bitki Materyali ve Çimlendirilmesi	11
2.2 DNA İzolasyonu	12
2.3 DNA Miktar ve Kalite Belirlenmesi	14
2.4 Moleküler Belirteç Çalışması	14
2.4.1 PCR Analizleri	16
2.4.2 Elektroforez	22
2.5 Verilerin Değerlendirilmesi	23
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	24
3.1 <i>Lr1</i> (Lr1RGA1F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	24
3.2 <i>Lr9</i> (J13/1/2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	24
3.3 <i>Lr10</i> (Lrk10D1/D2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	27
3.4 <i>Lr13</i> (Xgwm630F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	27
3.5 <i>Lr14a</i> (Xgwm146F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	27
3.6 <i>Lr 19</i> (GBR/F) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	28
3.7 <i>Lr21</i> (Lr21F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	29
3.8 <i>Lr22a</i> (Xgwm455F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	29
3.9 <i>Lr24</i> (J091/2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	29
3.10 <i>Lr34</i> (csLV34F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	30

3.11 <i>Lr35</i> (SR39F2/3) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	31
3.12 <i>Lr37</i> (URIC/LN2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	32
3.13 <i>Lr39</i> (Xgwm210F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	32
3.14 <i>Lr46</i> (STS1BL9F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	32
3.15 <i>Lr47</i> (PS10LR) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları	33
3.16 <i>Lr49</i> (Xbarc163F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	33
3.17 <i>Lr58</i> (Xcfd50F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları.....	33
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR.....	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan yerli ve yabancı buğday çeşitlerine ait bilgiler	11
Çizelge 2.2. Özütleme tamponu içeriği	13
Çizelge 2.3. <i>Lr</i> gen bölgeleri, ilişkili moleküler belirteçler ve primer dizileri.....	15
Çizelge 2.4. <i>Lr1</i> (Lr1RGA1F/R) ve <i>Lr13</i> (Xgwm630F/R) için PCR içeriği	16
Çizelge 2.5. <i>Lr9</i> (J131/2) için PCR içeriği	16
Çizelge 2.6. <i>Lr10</i> (Lrk10D1/D2) için PCR içeriği	17
Çizelge 2.7. <i>Lr14a</i> (Xgwm146) için PCR içeriği.....	17
Çizelge 2.8. <i>Lr19</i> (GBF/R) için PCR içeriği	17
Çizelge 2.9. <i>Lr21</i> (Lr21F/R), <i>Lr46</i> (STS1BL9F/R), <i>Lr49</i> (Xbarc163F/R) ve <i>Lr58</i> (Xcfd50F/R) için PCR içeriği.....	18
Çizelge 2.10. <i>Lr22a</i> (Xgwm455F/R) için PCR içeriği.....	18
Çizelge 2.11. <i>Lr24</i> (J091/2) için PCR içeriği.....	18
Çizelge 2.12. <i>Lr34</i> (csLV34F/R) ve <i>Lr47</i> (PS10LF/R) için PCR içeriği.....	19
Çizelge 2.13. <i>Lr35</i> (SR39F2/F3) ve <i>Lr39</i> (Xgwm210F/R) için PCR içeriği	19
Çizelge 2.14. <i>Lr37</i> (URIC/LN2) için PCR içeriği.....	19
Çizelge 2.15. <i>Lr1</i> (Lr1RGA1F/R) ve <i>Lr13</i> (Xgwm630F/R) için PCR koşulları.....	20
Çizelge 2.16. <i>Lr9</i> (J13F/R) için PCR koşulları	20
Çizelge 2.17. <i>Lr10</i> (Lrk10D1/D2) için PCR koşulları	20
Çizelge 2.18. <i>Lr14a</i> (Xgwm146F/R) ve <i>Lr34</i> (csLV34F/R) için PCR koşulları	21
Çizelge 2.19. <i>Lr19</i> (GBF/R) için PCR koşulları	21
Çizelge 2.20. <i>Lr21</i> (Lr21F/R) ve <i>Lr46</i> (STS1BL9F/R) için Gradient-PCR koşulları.....	21
Çizelge 2.21. <i>Lr22a</i> (Xgwm455F/R) için PCR koşulları	21
Çizelge 2.22. <i>Lr24</i> (J091/2) için PCR koşulları	21
Çizelge 2.23. <i>Lr35</i> (SR39F2/F3) için PCR koşulları	22
Çizelge 2.24. <i>Lr37</i> (URIC/LN2) için PCR koşulları.....	22
Çizelge 2.25. <i>Lr39</i> (Xgwm210F/R) için Gradient-PCR koşulları.....	22

Çizelge 2.26. <i>Lr47</i> (PS10LF/R) için PCR koşulları	22
Çizelge 3.1. Buğday çeşitlerinin kahve rengi pas hastalığına karşı dayanıklılığı (<i>Lr</i> geni var +, <i>Lr</i> geni yok -).....	25



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Verimli Hilal (Özberk vd., 2016)	3
Şekil 1.2. Buğdayın kökeni (Atar, 2017).....	4
Şekil 3.1. <i>Lr13</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	27
Şekil 3.2. <i>Lr14a</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	28
Şekil 3.3. <i>Lr19</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	28
Şekil 3.4. <i>Lr22a</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	29
Şekil 3.5. <i>Lr24</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	30
Şekil 3.6. <i>Lr34</i> geni için agaroz jel görüntüsü.....	31
Şekil 3.7. <i>Lr34</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	31
Şekil 3.8. <i>Lr37</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	32
Şekil 3.9. <i>Lr47</i> geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol).....	33

SİMGELER DİZİNİ

bç	Baz çifti (Base pair, bp)
cM	Harita birimi, santimorgan (Centimorgan)
dk	Dakika
gr	Gram
M	Molarite
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
pH	Potansiyel hidrojen
rpm	Rounds per minute (Dakikadaki devir sayısı)
sn	Saniye
U	Ünite (Enzim birimi)
Volt	Voltaj
%	Yüzde
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
~	Yaklaşık

KISALTMALAR DİZİNİ

C:I	Chloroform isoamylalcohol
CTAB	Cetyl trimethylammonium bromide
dH ₂ O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik asit
dATP	Deoksiadenozin trifosfat
dCTP	Deoksisitidin trifosfat
dGTP	Deoksiguanozin trifosfat
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
dTTP	Deoksitimidin trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
HCl	Hidroklorik asit
K	Kontrol
<i>Lr</i>	Kahverengi pas dayanıklılık geni
MAS	Marker assisted selection (Markıra dayalı seleksiyon)
MgCl ₂	Magnezum klorür
NaCl	Sodyum klorür
NIL	Yakın izogenik hat
PCR	Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RAPD	Random amplification of polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RFLP	Restriction fragment length polymorphism (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi)
SSR	Simple sequence repeats (Basit dizi tekrarları)
TBE	Tris borat EDTA tamponu
TE	Tris EDTA tamponu
TNKÜ	Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
UV	Ultraviyole
vd.	ve diğerleri

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sadece tez çalışmamda değil her konuda destekçi olup yol gösteren, sabırla ve sevgiyle vaktini bana ayıran değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN'e teşekkürü bir borç bilirim. Tezimin son şeklini almasında önerileri ve katkılarını esirgemeyen tez savunma jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ'ye (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü) ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hayat TOPÇU'ya (TNKÜ, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü) teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmasında kullanılan ekmeklik buğday çeşitlerine ait tohumları temin etmemizi sağlayan Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyeleri Prof. Dr. İsmet BAŞER, Prof. Dr. Oğuz BİLGİN ve Doç. Dr. Alpay BALKAN'a teşekkür ederim. Hayatım boyunca her zaman yanımda olan kardeşim Balca NASİRİAN'a, annem Hülya NASİRİAN'a ve babam Azim NASİRİAN'a, ayrıca tez çalışmamın her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Tuğba ARI'ya ve desteğinden dolayı Deniz AŞKAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Hazal NASİRİAN

Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Kültüre alınan ilk gıda maddelerinden olan buğdayın kültüre alınması tarih öncesine dayanmaktadır. Temel gıda olarak Avrupa, Batı Asya ve Kuzey Afrika'daki medeniyetlerde kullanılmıştır. Günümüzde de artan dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılamada ilk sıralarda yer alacak ürün olarak görülmektedir (Aykut, 2007).

Buğday; farklı çeşitlere sahip olması, adaptasyon yeteneği ve kullanım alanlarının çeşitliliğinden dolayı kutuplardan ekvatora, yüksek yaylalardan alçak ovalara, verimli topraklardan verimliliği düşük topraklara kadar geniş alanlarda yayılış göstermektedir. Tüm dünyada yaygın olması, insan ve hayvan beslenmesinde, endüstride kullanılması buğdayın stratejik bir ürün olmasında etkilidir (Polat ve Yağdı, 2021). Neredeyse dünyanın her yerinde yetiştirilebilmesi, işleme kolaylığının olması ve az maliyetli olması buğdayın ıslahı ve üretiminin arttırılmasında önemli rol oynamaktadır (Zeybek, Ardiç, Sezer ve Olgun, 2021).

Bitkisel üretimde verim artışları; gübreleme, sulama, zirai ilaç kullanımı ve bakım işlemleri ile sağlanmakta fakat bu kadar yoğun uygulamalar çevrenin ve ekim alanlarının olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır. Üretim için gerçekleştirilen bu uygulamalar ile de belirli bir noktadan sonra istenen değerler elde edilememektedir. Bu ortaya çıkan olumsuz etkiler ve istenilenin elde edilmemesinden dolayı klasik ıslah ve tarım alanlarında kullanılan yöntemlerle gıda üretiminin yeterli miktarda gerçekleştirilemeyeceği görülmektedir. Bu nedenle moleküler ıslah yöntemleri bitki ıslahında kullanıma başlanmıştır (Polat ve Yağdı, 2021).

Bitki ıslahı, bir bitki popülasyonundaki varyasyonlardan uygun seleksiyon yöntemlerinin tercih edilmesiyle istenilen özelliğe sahip yeni çeşit geliştirilmesi olarak tanımlanabilir (Orton, 2020). Buğday ıslahında istenilen doğrultuda kalite ve verim özelliklerini geliştirebilmek için biyotik ve abiyotik stres faktörlerine uygun materyallerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Fakat bitkinin genetik özelliklerinden dolayı çeşitlendirmede ortaya sorunlar ve teknik zorluklar çıkmaktadır. Bu durumlar hedefe kısa sürede ulaşabilmeyi engellemektedir (Sönmez vd., 2022). Buğday ıslah programlarında başarıyı etkileyen en önemli ölçütlerden biri ebeveyn seçimidir. Genetik çeşitlilik çalışmaları melezleme için daha farklı ebeveynlerin seçilmesine olanak sağladığından buğday ıslah programlarında önemlidir, alellerin uygun kombinasyonlarda yeniden gruplanma olasılığının artmasına neden olur (Casagrande, Mezzomo, Cruz, Borem ve Nardino, 2020). Bunun

yanısına çeşitli hastalıklara dayanıklılık için gerçekleştirilen çalışmalarda etkili olan hastalık ırkının bilgileriyle beraber melezlemede kullanılacak olan ebeveyn genotiplerinin dayanıklılık durumunun da bilinmesi gerekmektedir. Buğdayın üretimini ve kalite özelliklerini sınırlayan biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dirençli genleri yerel çeşitler genel olarak içerdiklerinden dolayı ıslah için amaca uygun genetik kaynaklar arasındadır. Bu nedenle özellikle yerel ırklarda dayanıklılık genlerinin belirlenmesine yönelik moleküler tarama çalışmaları önem taşımaktadır (Sönmez vd., 2022).

Moleküler belirteçler genetik karakterizasyon için en güçlü araçlardır (Mirzaei, 2021). Moleküler belirteçler kültür çeşitlerinin tanımlanmasında, genetik haritalamada, genetik akrabalıkların saptanmasında, duplike genotiplerin saptanmasında, gen kaynaklarının karakterizasyonunda, genetik kaynağın tekrar organizasyonunda, ıslah programında yer alan ebeveynlerin belirlenmesinde, germplazm ıslahının etkinliğini artırmak için germplazm yönetiminde ve markır destekli seleksiyon (MAS) analizlerinde kullanılırlar (Yorgancılar, Yakışır ve Erkoyuncu, 2015; Mirzaei, 2021). Islah çalışmalarında moleküler belirteçler ile erken gelişim evrelerinde seçim yapma imkânı bulunmakta ve hastalık direnci ile ilgili gen bölgeleri kolaylıkla belirlenebilmektedir. (Shah vd., 2018).

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Buğdayın Önemi ve Özellikleri

Buğday, ekonomik önemine ek olarak toplumsal, kültürel, tarihi ve arkeolojik olarak da önemli bir bitkidir. Tarih boyunca uygarlıklarla bütünleşerek gelişmiş olan buğday, insanların yaşam şekillerini de etkilemiştir. Buğdayın insanlarla olan beraberliği yaklaşık olarak 10 bin yıl öncelere kadar dayanmaktadır. Bu durum Verimli Hilal olarak adlandırılan, yani bugün İran, Türkiye, Irak, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i kapsayan bölgede başlamıştır (Özberk vd., 2016) (Şekil 1.1).

Günümüzde buğday gıda ihtiyacını karşılama konusunda değişmeyen bir yiyecek olarak Avrupa'nın batısından Hindistan'ın kuzeyine, İskandinavya ve Rusya'dan Mısır'a kadar olan coğrafyada kabul edilmiştir. Türkiye'ye bakıldığında ise gıdadan fazla bir anlam taşımaktadır. Bereketi, nimeti ve geleneği ifade etmektedir. Dünya genelinde gıda olarak tüketimi dışında saplari kerpiç yapımında, insan ve hayvan sağlığı için ilaç olarak kullanılmıştır ve kullanılmaya da devam etmektedir (Atar, 2017).

Tek yıllık otsu bir bitki olan buğday hem bilimsel açıdan hem de sosyo-ekonomik açıdan en çok dikkat çeken bitkilerdendir (Akan, Ünsal ve Ünsal, 2021). Buğdayın, dünyada ekim ve üretim açısından da insan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında ilk sırada yer almasında etkili olan en önemli faktör adaptasyon yeteneğinin yüksek olmasıdır (Dörtok ve Aksoy, 2018) ve bunun yanında önemli kalori (%18) ve protein (%20) kaynağına sahip olmasıdır (Geren, 2021). İnsan beslenmesinde kullanılmasına ek olarak bitkinin sapsı kağıt-karton yapımında ve hayvan beslenmesinde de kullanılabilir (Tüfekçi, Yerlikaya, Polat ve Yağdı, 2017). Türkiye’de ekmek şeklinde tüketilmesiyle günlük enerji ihtiyacının bir kısmı karşılanırken ayrıca niasinin, demir, protein, kalsiyum, B1 vitamini ve B2 vitamini alınımını da sağlamaktadır (Özberk vd., 2016).

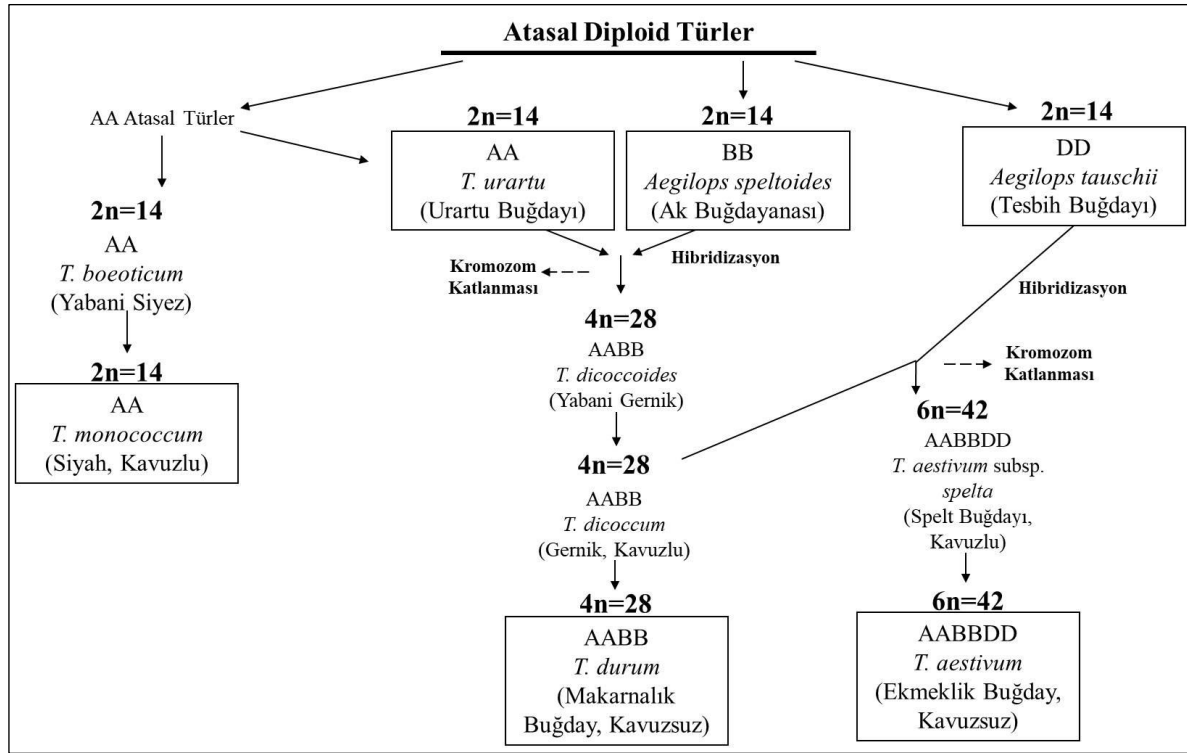


Şekil 1.1. Verimli Hilal (Özberk vd., 2016)

Buğday tüm tahıllar arasında en eski ve en çok yetiştirilen bitki olup Poaceae (Buğdaygiller) ailesinin bir üyesidir. Buğday türleri (*Triticum spp.*) içerisinde en fazla yetiştirilen tür ekme buğday (*Triticum aestivum* L.) türüdür (Cooper, 2015; Albayrak, Kızılgöç, Yıldırım ve Akıncı, 2020).

Buğdayın geçmişten bugüne yabani atalarından kullandığımız duruma gelmiş halinin aşamaları Şekil 1.2’de verilmiştir. Kültürü yapılan ilk buğdaylar kavuzlu ve olgunlaşma döneminde başak eksenini kırarak başakçıkları ayrılan bir yapıya sahipti. Günümüzde

hekzaploid ekmeklik buğday (*T. aestivum* L., $6n=42$, AABBDD) ve tetraploid sert veya makarnalık buğdayın (*T. durum* Desf., $4n=28$, AABB) yaygın üretimi yapılmaktadır. Burada buğdaylardan gelen genomlar; *T. urartu* Thumanjan ex Gandilyan'dan A ($2n=14$), *Aegilops speltoides* Tausch'dan B ($2n=14$) ve *Aegilops tauschii* Coss.'den D ($2n=14$) olarak kabul edilmektedir. Azot tepki endeksi ve verimlerinin yüksek olması bu buğdayların üretimde en çok tercih edilme nedenleridir. Türkiye'deki yerel çeşitlerin adaptasyon yeteneklerinin yüksek olmasına, kaliteli içeriklerine ve kurağa-sıcağa dayanıklı olmalarına rağmen ekimde tercih edilmemektedir. Bunun nedenleri başında verimliliğinin düşük olması gelmektedir. Ayrıca azot tepkimesinin düşük olması, koleoptil boyunun uzun olması ve bazı yaprak hastalıklarına hassas olması da etkilidir (Atar, 2017).



Şekil 1.2. Buğdayın kökeni (Chantret, Salse, Sabot, Rahman ve Bellec, 2005)

1.1.2 Buğdayda Pas Hastalıkları

Dünya için önemli olan tahıllardan buğdayda pas hastalıkları üretimde büyük tehdit oluşturmaktadır (Khan vd., 2005). Özellikle nemli bölgelerde görülen pas hastalıklarının 3 farklı türü bulunmaktadır. Bunlar; kahverengi pas (*Puccinia triticina* Eriks), sarı pas (*Puccinia striiformis* Westendorp f. sp. *tritici* Eriks) ve kara pas (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks. and E. Henn)'tır (Gessese, 2019). Pas hastalığına neden olan fungus türleri bitkilerde benzer şartlarda benzer hastalık semptomlarına neden olurlar. Bitkinin üzerinde

oluşturdukları pas görünümünden dolayı pas hastalıkları olarak adlandırılırlar. Pas hastalığına neden olan fungus türleri besinlerini kendileri üretmek yerine canlı veya ölü konukçudan elde ederler. Bu mantarların bulaşması tohum, toprak, rüzgâr, su, böcek, hayvan ya da insan ile gerçekleşebilir (Polat, 2019).

İlkbahar ve yaz aylarında oluşan, pas hastalıklarında etkili rolü olan ürediosporların taşınması bitkilerde enfeksiyonlara sebep olur. Ürediosporlar ılıman bölgelerde kışı güzlük ekinler ve yabancı buğdaygillerde geçirirler. Uygun nem ve sıcaklık koşulları oluştuğunda ilkbaharda oluşan yazlık sporlar, bulaştırıcılar ile yeni enfeksiyonları oluştururlar (Bolton, Kolmer ve Garvin, 2008; Gessese, 2019).

Pas hastalıkları tarihsel olarak ele alındığında büyük önem taşımaktadır. Buğday pasları, temel besin kaynaklarının yok olmasına neden olarak uygarlıkların gidişatını değiştirmiş ve oluşan gıda kıtlıkları nedeniyle göçler meydana gelmiştir (Kılıç, 2017).

Buğdayda en yaygın olarak görülen pas hastalığı *P. triticina* fungusunun neden olduğu kahverengi pas hastalığıdır (Bolton vd., 2008). Yaprak pası ya da turuncu pas olarak da adlandırılmaktadır. Yaprak ayasında ve yaprak kınının üst yüzeyinde, üst boğum arasında ve kılıçlarda kahverengi pas püstülleri olarak görülürler. İlk başladığında oval, küçük, dairesel ve sarı sporlar olarak başladıklarından sarı pas ile karıştırılırlar. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde sporlar turuncu püstüllere dönüşürler ve ileriki aşamalarda kahverengi paslar, rastgele dağılmış olarak gözlemlenirler. Çok sayıda spor üreterek püstüllerini yaprak yüzeyinden kolaylıkla uzaklaştırırlar (Kılıç, 2017).

Buğday yetiştirilen bölgelerde görülen kahverengi pasın oluşturduğu zarar, enfeksiyon sırasında buğdayın gelişim dönemine ve pasın gelişim devresine bağlıdır. Çiçeklenme öncesi ya da çiçeklenme sürecinde oluşan salgınlar ve bayrak yaprağı enfeksiyonu olduğunda kayıplar ciddi boyutlara ulaşmaktadır. Kahverengi pas püstülleri yapraklarda oluştuğu zaman fotosentezi de kısıtlamaktadır. Kahverengi pasın oluşturduğu zararlar; ürün kaybı, baştaki tane sayısının azalması, tane boyutunun küçülmesi, 1000 tane ağırlığının azalması, protein içeriğinin azalması şeklinde görülür (Örs, 2018).

Yaprak pası olarak da adlandırılan kahverengi pasın buğdayda neden olduğu kayıplar ve düşük tohum kalitesinden dolayı ilaç kullanımı gerektirmektedir. Pas hastalıkları ile mücadelede ilaç kullanımı, çiftçi girdisini arttırdığı gibi aynı zamanda çevre kirliliğine de

neden olmaktadır. Bu hastalığı kontrol altına almak için başka bir yöntem ise en etkili, ekonomik ve çevre dostu olan dirençli çeşitler yetiştirmektir (Qui vd., 2007).

Gelişmekte olan dünyada pas patojenlerinin mantar öldürücülere karşı direnç kazanma olasılığı nedeniyle çiftçiler mantarlara karşı dirençli çeşitlerin kullanımını tercih etmektedirler. Genetik direnci sağlamak için, buğday çeşitlerinin ya da buğdayla ilgili türlerin germplazmalarında yeni veya etkili direnç genlerinin tanımlanması gereklidir (Aktar-Uz-Zaman, Khatun, Hanafi ve Sahebi, 2017).

Kahverengi pas fungusunun birçok ırkı vardır ve birkaç yılda bir yeni ırkları oluşmaktadır. Bu oluşan ırklar dayanıklı çeşitleri duyarlı hale getirmektedir (Omara, Nehela, Mabrouk ve Elsharkawy 2021). Kahverengi pasa dayanıklılık 2 ile 4 yıl arasında değişmektedir. Bu nedenle yeni çeşitlere yeni dayanıklılık genlerinin aktarılmasına devam edilmelidir. İki temel ıslah yöntemi kahverengi pasa karşı kullanılabilir. Biri tam dayanıklılık sağlayan major dayanıklılık genlerinin (*Lr* genleri) piramitleştirilmesidir. Diğeri ise kantitatif dayanıklılığı olan minör genlerin bir araya getirilmesidir (Örs, 2018).

Patojenin sürekli yeni ırklarının ortaya çıkması yetiştiriciler için önemli bir zorluktur. Bu nedenle, daha fazla direnç kaynağı belirlemeye devam etmek ve bunları seçkin üreme hatlarına dahil etmek gerekmektedir. Dar bir genetik temele sahip olan buğdayda hastalık direnci için yabancı akrabaları yeni genlerin kaynağı olarak kullanılabilir (Kuraparthi vd., 2007).

Buğday ve akrabalarının oluşturduğu gen havuzu birkaç yüz ana hastalık direnci geni bulundurur. Bu tür direnç genlerinin; çok büyük genom boyutu, yüksek tekrarlayan dizi içeriği, üç alt genomun fazlalığı ve aktif bir transpozon etiketleme sisteminin olmaması nedeniyle buğday genomundan izolasyonu zordur (Qui vd., 2007).

Buğday bitkisinde kahverengi pasa karşı dayanıklı çeşit geliştirmek için klasik ıslah yöntemini kullanarak farklı dayanıklılık genlerine sahip çeşitlerin melezlenmesiyle dayanıklılık genleri tek bir çeşitte toplanmaya çalışılmıştır. Bu yöntemin zaman alıcı, iş gücü gerektiren bir yöntem olması ve belirteç destekli seleksiyona oranla daha büyük popülasyonlara ihtiyaç duyulmasından dolayı DNA çalışmaları yapılarak moleküler belirteçler geliştirilmiştir. Böylelikle tahıllarda verim, kalite, hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi konularda yapılan çalışmalarda belirteç destekli seleksiyon ile başarılı sonuçlara ulaşılmıştır (Polat ve Yağdı, 2021).

1.1.3 Kahverengi Pas Hastalığı ile İlgili Yapılan Moleküler Belirteç Çalışmaları

21 buğday kromozomunun tamamına dağılmış 80'den fazla *Lr* geni tanımlanmıştır ve bu genlerin çoğunun, buğday kromozomlarının kısa kollarında yer aldığı bilinmektedir (Kumar vd., 2022). Farklı ülkelerde yetiştirilen 68 buğday çeşidinde yapılan çalışmada moleküler belirteçler kullanılarak yaprak pası direnç genleri (*Lr1*, *Lr9*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr26* ve *Lr34*) tanımlanmıştır. Bu çalışma sonucu yaprak pası direnç genlerinin buğday genomlarında birbirinden farklı olduğunu göstermiştir. Yirmi altı buğday çeşidinde çalışılan 8 genin hiçbiri bulunmazken, iki *Lr* geni taşıyan on dört çeşit tespit edilmiştir. Genlerin belirlenmesi bitki ontogenesinin herhangi bir aşamasında en hızlı ve güvenilir yöntemin moleküler belirteçler olduğunu göstermiştir (Urbanovich, Malyshev, Dolmatovich ve Kartel, 2006).

Durum buğdayında (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) *P. triticina*'nın neden olduğu yaprak pası önemli bir hastalıktır ve bu hastalığa karşı belirlenmiş birkaç direnç geni bulunmaktadır. Bazı basit dizi tekrarları işaretçisi yaprak pas direnci geni ile ilişkilendirilmiştir. Direnç tepkisi, kromozomal pozisyon bulunan genin *Lr14a* olduğunu göstermiştir. Böylelikle makarnalık buğdayın yaprak pasına karşı direncini arttırmak için *Lr14a* geninin diğer dayanıklılık genleri ile kombinasyon halinde kullanılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır (Herrera-Foessel vd., 2008)

Puccinia triticina'nın neden olduğu yaprak pasına karşı *A. tauschii* Coss.'tan elde edilen yaprak pas direnci geni *Lr42*'nin moleküler haritalaması ve pas direnci kaynağı olarak ıslah koşullarında kullanıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada kromozom 1DS üzerinde *Lr42* ile ilişkili iki belirteç tespit edilmiştir ve *Lr42*'ye bağlı belirteçlerin 1DS'de olduğu doğrulanmıştır. Çalışmada ditelosomik ve nullitetrasomik buğday genetik stoklarıyla beraber moleküler belirteçler ile genin fiziksel yerini belirlemede *Lr42* için NILs (yakın izogenik) kullanılmış, zıt NILs arasındaki çaprazlamadan oluşturulan popülasyonda *Lr42* ile ilişkili iki belirteç tanımlanmıştır (Sun, Bai, Carver ve Bowden, 2010).

Pakistan'da buğdayda yaprak pasının başlıca bir sorun olduğu bilinmektedir. Bu nedenle 25 Pakistan buğday germplazmını taramak için moleküler çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada yaprak pas direnci *Lr10* genine bakılmıştır. Çalışmada 25 hattan on sekizinde *Lr10* geni tespit edilmiştir, yedisinde ise bu gen bölgesinin bulunmadığı görülmüştür. Çalışma Pakistan germplazmında *Lr10* gen bölgesinin tanımlanması ile buğday çeşitlerinde farklı

buğday direnç genlerinin piramitlenmesi ve yapılacak olan ıslah programlarını hızlandırmaya yönelik olarak gerçekleştirilmiştir (Hussain vd., 2011).

Türkiye’de buğdayda kahverengi pas hastalığına dayanıklılık bölgeleri olarak bilinen *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* ve *Lr28* genlerinde çalışma yapılmıştır. Çalışmada bu gen bölgelerinin moleküler belirteçlerle gerçekleştirilen seleksiyonlarda kullanımı ve *Lr* gen bölgelerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir (Aybeke, 2015).

Kolmer, Bernardo, Bai, Hayden ve Chao (2018) tarafından yapılan çalışmada, kısmi Thatcher çeşidi kullanılarak oluşturulan rekombinant kendilenmiş hat içeren 2 populasyonda kahverengi pasa dayanıklılık genlerinin kromozom üzerinde konumu belirlenmeye çalışılmış, belirlenen gen *Lr78* olarak adlandırılmıştır.

2018 yılında yapılan çalışmada on üç SSR belirteci kullanılarak 57 buğday hattında pas hastalığıyla mücadele için en uygun buğday çeşidi belirlenmeye çalışılmıştır. Dirençli genler *Lr9*, *Lr13*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr32*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr37*, *Lr39* ve *Lr49* çalışılmıştır. Çalışmada dirençli gen lokuslarının tanımlanmasında dört SSR belirtecinde başarılı sonuç elde edilmiştir (*Lr13*, *Lr32*, *Lr34* ve *Lr35*). Hatlar arasında frekansı en yüksek olan *Lr32* hattıdır ve bu genlerin pas hastalığına karşı mücadelede diğer dirençli genlerle birlikte kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır (Ali vd., 2018).

Ekmeklik buğday üretiminde Türkiye’de yoğun olarak kullanılan çeşitlerde kahverengi pas hastalığına dayanıklılık *Lr10* geninin varlığı ve dayanıklı-duyarlı genotipler arasındaki gerçekleştirilen melezlemelerde dayanıklılık genlerinin aktarımı incelenmiştir. Çalışmada kullanılan buğday çeşitlerinde; *Lr10* dayanıklılık geni SSR yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir ve yürütülecek olan ıslah çalışmalarında çeşitlerin ebeveyn seçiminde dayanıklılık genlerini bulunduranların tercih edilmesi ile başarılı bir ıslah programı oluşturulacağı sonucuna varılmıştır (Polat ve Yağdı, 2021).

Ekmeklik buğdayda (*T. aestivum* L.) kahverengi pasın neden olduğu verim kayıplarından dolayı, önemli direnç geni olan *Lr19* geninin işlevselliğine yönelik yapılan çalışmada 25 buğday genotipi kullanılmıştır. *Lr19*’a ait kullanılan 7 belirteçten GB ve Xwmc221 olmak üzere sadece iki tanesinin işlevsel olduğu görülmüş ve moleküler destekli seleksiyon için önerilmiştir (Kiel vd., 2020).

Türkiye'nin kuzeybatısında bulunan Trakya Bölgesi'nde yetiştirilen yirmi dört buğday çeşidinde yaprak pası direnç genleriyle ilgili yapılan bir çalışmada ekmeklik buğday çeşitlerinde bulunan *Lr* direnç genleri ve bitkilerin yaprak pasına dayanıklılık seviyesi belirlenmiştir. Buğday çeşitlerinde *Lr9*, *Lr14*, *Lr19*, *Lr24* ve *Lr47* genlerini belirlemek için beş farklı moleküler belirteç kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda tüm ekmeklik buğday çeşitleri *Lr19*, *Lr14a* ve *Lr24* genlerini bulundurduğu, on üç tanesinin *Lr9* genini taşımadığı, yirmi bir ekmeklik buğday çeşidinin *Lr47* genini içerdiği görülmüştür (Başer vd., 2020).

Buğday yaprak pasının dünya genelinde buğdayın en önemli hastalıklarından biri olmasından dolayı Çin ve diğer ülkelerden 66 buğday çeşidi 17 *P. triticina* ırkı ile test edilmiştir (Yuan, Gebrewahid, Pei-Pei, Zai-feng ve Da-qun, 2021). Çalışmada *Lr* genleriyle ilgili 12 moleküler belirteç kullanılmıştır. Toplam sekiz *Lr* geni (*Lr1*, *Lr10*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37* ve *Lr46*) tek başına veya kombinasyon halinde otuz iki çeşitte bulunmuştur ve yavaş pas hastalığı direnci on yedi çeşitte görülmüştür (Yuan vd., 2021).

1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu tez çalışmasında, 96 adet yerli ve yabancı ekmeklik buğday genotiplerinin kahverengi pasa dayanıklılıklarının belirlenmesinde *Lr* genlerinin varlığı moleküler belirteçler kullanılarak ortaya konulması amaçlanmıştır. *Lr* genlerine özgü moleküler belirteçlere ait primerlerin belirlenmesinde literatür taraması yapılmış ve tez çalışmasında bu primerler kullanılmıştır. Çalışma kapsamında öncelikle *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr46*, *Lr47*, *Lr49* ve *Lr58* gen bölgeleri taranmıştır. Moleküler belirteç analizinde uygun PCR optimizasyonu sağlanan *Lr13*, *Lr14a*, *Lr19*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr34*, *Lr37* ve *Lr47* gen bölgeleri kullanılarak 96 buğday genotipinde analizler tamamlanmıştır. Ayrıca kullanılan belirteçlerin ıslah programlarında önemli yere sahip Markıra Dayalı Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanımlarının uygun olup olmadığı ve ıslah programlarında kullanılabilirliği belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Bitki Materyali ve Çimlendirilmesi

Bu araştırma, 2022 yılında TNKÜ, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. TNKÜ, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü'nden bu tez çalışmasında kullanılmak üzere yerli ve yabancı buğday çeşitlerine ait tohumlar temin edilmiştir. Buğday çeşitlerinin numaralandırılması ve çeşit adları Çizelge 2.1 'de verilmiştir.

Buğday tohumları arasından çimlendirmek için tanesi sert olanlar, kırık olmayanlar, embriyo kararması bulanmayanlar tercih edilmiştir. Çimlendirme; yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumların steril petri kaplarında kurutma kağıtlarının üzerine yerleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Yüzey sterilizasyonu için %5'lik sodyumhipoklorit (NaClO) çözeltisi kullanılmıştır. 15 dk NaClO çözeltisiyle sterilize edilen tohum örnekleri 3'er kez 5'er dk saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Yeterli büyüklüğe ulaşan bitki örnekleri 2 ml'lik steril santrifüj tüplerine konularak ve DNA izolasyonuna kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan yerli ve yabancı buğday çeşitlerine ait bilgiler

Örnek Kodu	Çeşit Adı	Örnek Kodu	Çeşit Adı	Örnek Kodu	Çeşit Adı
1	Aglica	33	Alka	65	MAY 8462
2	Esperia	34	Artico	66	Nota
3	Genesi	35	Avorio	67	Rumeli
4	Kate A1	36	Bono Dea	68	Saban
5	MAY 8059	37	Dena	69	TT 601
6	Mihelca	38	Enola	70	Venka 1
7	Nogal	39	Fiorino	71	Benostaja 1
8	Tekirdağ	40	Glosa	72	Bereket
9	Tsarevets	41	Hakan 1	73	Delebrad 2
10	Yüksel	42	Iridium	74	Geya 1
11	Antille	43	İnci 20	75	BC Mandica
12	Albatros	44	Kaan	76	Milena
13	Atilla 12	45	Montar	77	Momtchill
14	BC Anica	46	Nina	78	Muratbey

Çizelge 2.1 (Devam)

Örnek Kodu	Çeşit Adı	Örnek Kodu	Çeşit Adı	Örnek Kodu	Çeşit Adı
15	Dropia	47	Prostor	79	Nomade
16	Enargo	48	Sarı Mustafa	80	Rebelde
17	Fetih	49	Selimiye	81	Safir
18	Galayeta	50	Tanya	82	Segor
19	Gelibolu	51	Tekira	83	Sagittario
20	Hüseyinbey	52	Turkuaz	84	MV Suba
21	Köprü	53	Yunak	85	Syrena odes'ka
22	Krasunia odes'ka	54	BC Bernarda	86	Viktoria
23	KWS WW-01	55	BC İrena	87	Quality
24	Pehlivan	56	BC Lira	88	NKÜ Asiya
25	Prima	57	BC Tena	89	Maden
26	Saraybosna	58	Deya	90	Sana
27	Sertori	59	NKÜ Ergene	91	Pandas
28	Turan	60	Flamura 85	92	Bora
29	Yubileynaya 100	61	Golia	93	Andino
30	Adagio	62	İveta	94	NKÜ Lider
31	Adelaide	63	KWS WW-02	95	Tina
32	Aldane	64	Lorena	96	Tosunbey

2.2 DNA İzolasyonu

Buğday örneklerinden kaliteli ve yeterli miktarda DNA izolasyonunun gerçekleştirilebilmesi için Dellaporta, Wood ve Hicks (1983) ile Doyle ve Doyle (1990) DNA izolasyon metodlarından modifiye edilerek oluşturulmuş olan protokol kullanılmıştır. Gerçekleştirilmiş olan DNA izolasyon çalışmaları sonucunda miktar ve kalite değerleri açısından yeterliliği sağlayan genomik DNA'lar elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen DNA izolasyonu protokolü basamakları şu şekildedir:

1. Çimlendirme işlemi gerçekleştirilmiş olan buğdaylardan yaklaşık 2 cm uzunluğundaki örnekler alınıp 2 ml santrifüj tüplerine konulmuştur. Tüplerdeki örneklere 2 metal bilye eklenerek Retch MM400 Vibrasyonlu öğütücü'de 30 frekansta 2 dk ezme işlemi uygulanmıştır. Tam olarak homojenize olan örnekler cihazdan alınmıştır. Örnekleri

vibrasyonlu öğütücüden aldıktan sonra çok kısa bir santrifüj yapıp, kapakta kalan örneklerin tüp içerisine indirilmesi sağlanmıştır.

2. Özütleme tamponu önceden hazırlanmış ve 65 °C’de ısıtılmış olarak tüplere 750 µl eklenmiştir. Özütleme tamponu içeriği Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Özütleme tamponu içeriği

Ana Stok Çözelti	1X	Son Konsantrasyon
1 M Tris-HCl	0,2 ml	200 mM
0.5 M EDTA	0,1 ml	500 mM
4 M NaCl	0,5 ml	2 M
%20 CTAB	0,1 ml	% 2
14,3 M β-Mercaptoethanol	3 µl	% 0,3
dH ₂ O	0,1 ml	-
Total	1 ml	-

3. Özütleme tamponu eklenmiş olan tüplere PVP (0,025 gr) eklenerek karışması için vorteks yapılmıştır.
4. Tüpler, inkübasyon için 65 °C’de 60 dakika 800 rpm’de ısıtıcı blokta çalkalanmıştır.
5. İnkübasyon işleminden sonra tüplere 700 µl kloroform:izoamilalkol (C:I, 24:1) eklenmiştir ve iyice karışması için 10 dakika vortekslenmiştir.
6. Tüpler 10 dakika 10000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işlemi bitikten sonra tüplerin süpernatantından 700 µl çekilerek 1,5 ml’lik steril tüplere aktarılmıştır.
7. Tüplere 700 µl C:I (24:1) eklenmiştir ve iyice karışması için 10 dakika vortekslenmiştir.
8. Tüpler 10 dakika 10000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işlemi bitikten sonra tüplerin süpernatantından 400 µl çekilerek 1,5 ml’lik steril tüplere aktarılmıştır.
9. Tüplerin her birine 500 µl soğuk isopropanol (-20 °C), 60 µl sodyum asetat (3M), 50 µl potasyum asetat (5M) eklenmiştir ve tüpler nazik bir şekilde karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi gerçekleştirilmiş olan tüpler -20 °C’de 2 saat beklemeye alınmıştır.
10. -20 °C’den çıkarılan tüpler 10 dakika 13000 rpm’de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüplerdeki pelletlerin düşmemesine dikkat edilerek sıvı kısım dökülmüştür ve tüpler kurumaları için ters çevrilerek 15 dakika bekletilmiştir.
11. Kuruması tamamlanmış olan tüplerde pelletler yerinden nazikçe oynatılmıştır ve üzerlerine 1000 µl etil alkol (%70) eklenmiştir. Tüpler 10 dakika 13000 rpm’de santrifüj

yapılmıştır. Santrifüjden sonra tüplerdeki pelletlerin düşmemesine dikkat edilerek sıvı kısım dökülmüştür ve tüpler kurumaları için ters çevrilerek 15 dakika bekletilmiştir.

12. Kuruması gerçekleşmiş olan tüplerde pelletler yerinden nazikçe oynatılmıştır ve üzerlerine 1000 µl etil alkol (%70) eklenmiştir. Tüpler 10 dakika 13000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra pelletlerin düşmemesine dikkat edilerek sıvı kısım dökülmüştür. Pelletler tamamen kuruyana kadar beklenmiştir.
13. Tüpler iyice kuruduktan sonra tüplerdeki pelletlerin üzerine 100 µl TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH:8) tamponu eklenmiştir. Tampon eklenen tüpler 37 °C’de 30 dakika inkübe edilmiştir.
14. İnkübasyon işlemi bittikten sonra izole edilmiş olan DNA’lar +4 °C’de dolaba konulmuştur.

2.3 DNA Miktar ve Kalite Belirlenmesi

Spektrofotometre ile yapılan ölçümler TNKÜ, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde buğday yapraklarından izole edilmiş olan DNA’ların Nanodrop® LITE spektrofotometre cihazı ile absorbans (260nm/280nm) değerleri belirlenmiş, miktar ve kalite tayini yapılmıştır. Elde edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları 50 ng/µl ve 10 ng/µl olacak şekilde sulandırılmıştır.

2.4 Moleküler Belirteç Çalışması

Moleküler belirteçler genomdaki herhangi bir gen bölgesi veya gen bölgesi ile ilgili DNA parçası olarak tanımlanır. DNA belirteçleri farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya çıkarırlar (Yorgancılar vd., 2015). Moleküler belirteç ile yapılan çalışmalar DNA dizilerindeki farklılıkları ortaya çıkarmada kullanılmıştır ve bu durum biyolojik bilimlerde devrim niteliğini taşımaktadır (Filiz ve Koç, 2011). Genetik belirteçler kullanılarak morfolojik olarak birbirine çok yakın olan kültür çeşitlerinde tanımlamalar ve ayırmalar yapılmaktadır (Yorgancılar vd., 2015). Yapılan literatür çalışması sonucunda kahverengi pasa dayanıklılığın belirlenebileceği *Lr* genlerinin seçiliminde kullanılacak belirteçler belirlenmiştir (Liu, Gebrewahid, Zhang, Li ve Liu, 2021; Vida vd., 2010). Bu tez çalışmasında buğdayda *Lr* gen bölgeleri ve bu bölgelerin belirlenmesinde kullanılan moleküler belirteçlerin primerleri Çizelge 2.3’te belirtilmiştir.

Çizelge 2.3. *Lr* gen bölgeleri, ilişkili moleküler belirteçler ve primer dizileri

<i>Lr</i> Geni	Markır	Primer Dizisi	Allel Büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>Lr1</i>	Lr1RGA1	Lr1RGA1F: 5' ATGGCGGCGGCTCTCG 3' Lr1RGA1R: 5' AACCTCATTCCCCGTCAA 3'	605	Qiu vd. (2007)
<i>Lr9</i>	J13	J13/1: 5' TCCTTTTATTCCGCACGCCGG 3' J13/2: 5' CCACACTACCCCAAAGAGACG 3'	1100	Schachermayr vd. (1994)
<i>Lr10</i>	Lrk10	Lrk10D1: 5' GAAGCCCTTCGTCTCATCTG 3' Lrk10D2: 5' TTGATTCATTGCAGATGAGATCACG 3'	282	Schachermayr vd. (1997)
<i>Lr13</i>	Xgwm630	Xgwm630F: 5' GTGCCTGTGCCATCGTC 3' Xgwm630R: 5' CGAAAGTAACAGCGCAGTGA 3'	123	Seyfarth vd. (2000)
<i>Lr14a</i>	Xgwm146	Xgwm146F: 5' CCAAAAAAAGTGCCTGCATG 3' Xgwm146R: 5' CTCTGGCATTGCTCCTTGG 3'	174	Röder vd. (1998)
<i>Lr19</i>	GB	GBF: 5' CATCCTTGGGGACCTC 3' GBR: 5' CCAGCTCGCATAACATCCA 3'	130	Prins vd. (2001)
<i>Lr21</i>	Lr21	Lr21F: 5' CCAAAGAGCATCCATGGTGT 3' Lr21R: 5' CGCTTTTACCGAGATTGGTC 3'	885	Huang ve Gill (2001)
<i>Lr22a</i>	Xgwm455	Xgwm455F: 5' ATTCGGTTCGCTAGCTACCA 3' Xgwm455R: 5' ACGGAGAGCAACCTGCC 3'	147	Röder vd. (1998)
<i>Lr24</i>	J09	J09/1: 5' TCTAGTCTGTACATGGGGGC 3' J09/2: 5' TGGCACATGAACTCCATACG 3'	350	Schachermayr vd. (1995)
<i>Lr34</i>	csLV34	csLV34F: 5' GTTGGTTAAGACTGGTGATGG 3' csLV34R: 5' TGCTTGCTATTGCTGAATAGT 3'	150	Lagudah vd. (2006)
<i>Lr35</i>	SR39	SR39F2: 5' AGAGAGAGTAGAAGAGCTGC 3' SR39F3: 5' AGAGAGAGAGCATCCACC 3'	900	Seyfarth vd. (1999)
<i>Lr37</i>	URIC / LN2	URIC: 5' GGTCGC CCTGGCTTGCACCT 3' LN2: 5' TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA 3'	285	Helguera vd. (2003)
<i>Lr39</i>	Xgwm210	Xgwm210F: 5' TGCATCAAGAATAGTGTGGAAG 3' Xgwm210R: 5' TGAGAGGAAGGCTCACACCT 3'	182	Raupp vd. (2001)
<i>Lr46</i>	STS1BL	STS1BL9F: 5' CACCGTCATTGTGTCCATC 3' STS1BL9R: 5' TGTTCACACAAGTTCCAAC 3'	400	Mateos-Hernandez vd. (2006)
<i>Lr47</i>	PS10L	PS10LF: 5' GGGCAGGCGTTTATTCCAG 3' PS10LR: 5' GCTGATGACCTGACCGGT 3'	282	Helguera vd. (2000)
<i>Lr49</i>	Xbarc163	Xbarc163F: 5' GCGTGTTTTAAAGGATTTTCCATTTCT 3' Xbarc163R: 5' GCGCATCCTGTTCCCTCCATTCATA 3'	199	Bansal vd. (2008)
<i>Lr58</i>	Xcfd50	Xcfd50F: 5' TTCTGCAACATTTTGTCCCA 3' Xcfd50R: 5' CGTATGATCCTAACGAGGGC 3'	261	Kuraparthi vd. (2007)

2.4.1 PCR Analizleri

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu); hızlı bir şekilde DNA üzerindeki belirli dizilerin çoğaltılması olarak tanımlanır (Garcia, Cristancho, Vera ve Begambre, 2015). PCR için kalıp DNA, deoksiribonükleotid trifosfat (dATP, dTTP, dGTP ve dCTP), iki (ileri ve geri) primer, DNA polimeraz enzimi, tampon çözeltisi ve magnezyum (polimeraz enziminin kofaktörü) gerekli olup bunların bir dizi termal döngü tamamlamasıyla gerçekleşen süreçtir. Bu termal döngüler çift sarmallı DNA kalıbının denatürasyonu, hedefe özgü primerlerin bağlanması ve bağlanmış primerlerin DNA polimeraz ile uzatılması şeklinde gerçekleşir (Mullis vd., 1986). Bu tez çalışmasında *Lr* gen bölgeleri için optimize edilmiş olan PCR içeriği Çizelge 2.4, Çizelge 2.5, Çizelge 2.6, Çizelge 2.7, Çizelge 2.8, Çizelge 2.9, Çizelge 2.10, Çizelge 2.11, Çizelge 2.12, Çizelge 2.13 ve Çizelge 2.14'te belirtilmiştir.

Çizelge 2.4. *Lr1* (Lr1RGA1F/R) ve *Lr13* (Xgwm630F/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl ₂ (25 mM)	0,8 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,6 µl	0,6 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (50 ng/µl)	2,5 µl	125 ng
dH ₂ O	2,8 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.5. *Lr9* (J131/2) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl ₂ (25 mM)	0,8 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,3 µl	0,3 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	4 µl	40 ng
dH ₂ O	1,6 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.6. *Lr10* (Lrk10D1/D2) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl₂ (25 mM)	0,8 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,4 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	4 µl	40 ng
dH₂O	1,5 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.7. *Lr14a* (Xgwm146) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl₂ (25 mM)	1 µl	2,5 mM
dNTPs (10 mM)	0,4 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (50 ng/µl)	2 µl	100 ng
dH₂O	2,3 µl	-
Betaine	1 µl	% 10
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.8. *Lr19* (GBF/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl₂ (25 mM)	1 µl	2,5 mM
dNTPs (10 mM)	0,3 µl	0,3 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	4 µl	40 ng
dH₂O	1,4 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.9. *Lr21* (Lr21F/R), *Lr46* (STS1BL9F/R), *Lr49* (Xbarc163F/R) ve *Lr58* (Xcfd50F/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl ₂ (50 mM)	0,4 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,6 µl	0,6 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (50 ng/µl)	1,5 µl	75 ng
dH ₂ O	4,2 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.10. *Lr22a* (Xgwm455F/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1,5 µl	1X
MgCl ₂ (50 mM)	0,6 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,6 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1,5 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1,5 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (50 ng/µl)	2 µl	100 ng
dH ₂ O	7 µl	-
Toplam	15 µl	-

Çizelge 2.11. *Lr24* (J091/2) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl ₂ (25 mM)	0,8 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,4 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	5 µl	50 ng
dH ₂ O	0,5 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.12. *Lr34* (csLV34F/R) ve *Lr47* (PS10LF/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Dream Taq Buffer	1 µl	1X
dNTPs (10 mM)	0,3 µl	0,3 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	4 µl	40 ng
dH₂O	2,4 µl	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.13. *Lr35* (SR39F2/F3) ve *Lr39* (Xgwm210F/R) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl₂ (25 mM)	0,8 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,4 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	5,5 µl	55 ng
dH₂O	-	-
Toplam	10 µl	-

Çizelge 2.14. *Lr37* (URIC/LN2) için PCR içeriği

PCR Karışımı	1X	Son Konsantrasyon
10X Buffer	1 µl	1X
MgCl₂ (25 mM)	0,6 µl	1,5 mM
dNTPs (10 mM)	0,4 µl	0,4 mM
Primer F (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Primer R (5 µM)	1 µl	0,5 µM
Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,3 µl	1,5 U
DNA (10 ng/µl)	4 µl	40 ng
dH₂O	1,7 µl	-
Toplam	10 µl	-

PCR tüplerinin diplerine uygun hacimde DNA'lar konulduktan sonra *Lr* gen bölgesine göre hazırlanmış olan PCR içeriği, PCR tüplerine ilave edilmiştir. Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler ve Applied Biosystems® Proflex™ PCR System Thermal Cycler kullanılarak *Lr* gen bölgeleri için optimize edilmiş olan PCR programlarında DNA amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

Lr gen bölgelerine göre DNA amplifikasyonları için PCR koşulları Çizelge 2.15, Çizelge 2.16, Çizelge 2.17, Çizelge 2.18, Çizelge 2.19, Çizelge 2.20, Çizelge 2.21, Çizelge 2.22, Çizelge 2.23, Çizelge 2.24, Çizelge 2.25 ve Çizelge 2.26'da belirtilmiştir.

Çizelge 2.15. *Lr1* (Lr1RGA1F/R) ve *Lr13* (Xgwm630F/R) için PCR koşulları

94°C	5 dk	35 Döngü
95°C	1 dk	
53°C	1 dk	
72°C	1 dk 30 sn	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.16. *Lr9* (J13F/R) için PCR koşulları

95°C	5 dk	40 Döngü
95°C	1 dk	
62°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	5 dk	

Çizelge 2.17. *Lr10* (Lrk10D1/D2) için PCR koşulları

95°C	10 dk	38 Döngü
95°C	1 dk	
55°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.18. *Lr14a* (Xgwm146F/R) ve *Lr34* (csLV34F/R) için PCR koşulları

95°C	5 dk	35 Döngü
95°C	1 dk	
56°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.19. *Lr19* (GBF/R) için PCR koşulları

95°C	5 dk	40 Döngü
95°C	1 dk 30 sn	
56°C	1 dk 30 sn	
72°C	45 sn	
72°C	5 dk	

Çizelge 2.20. *Lr21* (Lr21F/R) ve *Lr46* (STS1BL9F/R) için Gradient-PCR koşulları

94°C	5 dk	35 Döngü
95°C	1 dk	
50-60°C	1 dk	
72°C	1 dk 30 sn	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.21. *Lr22a* (Xgwm455F/R) için PCR koşulları

95°C	5 dk	40 Döngü
95°C	1 dk	
53°C	1 dk	
72°C	1 dk 30 sn	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.22. *Lr24* (J091/2) için PCR koşulları

95°C	5 dk	40 Döngü
95°C	1 dk 30 sn	
56°C	1 dk 30 sn	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.23. *Lr35* (SR39F2/F3) için PCR koşulları

95°C	10 dk	40 Döngü
95°C	1 dk	
60°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.24. *Lr37* (URIC/LN2) için PCR koşulları

95°C	10 dk	35 Döngü
95°C	1 dk	
62°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.25. *Lr39* (Xgwm210F/R) için Gradient-PCR koşulları

94°C	5 dk	35 Döngü
95°C	1 dk	
51-62°C	1 dk	
72°C	1 dk 30 sn	
72°C	10 dk	

Çizelge 2.26. *Lr47* (PS10LF/R) için PCR koşulları

95°C	5 dk	40 Döngü
95°C	1 dk	
62°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	

2.4.2 Elektroforez

Elektroforez yöntemi; elektrik yüklü alanda DNA, RNA veya protein gibi makromoleküllerin moleküler ağırlık veya yük gibi fiziksel özelliklerine göre anot-katot yönünde hareket etmesine ve ayrılmasına dayanan biyoteknolojik bir tekniktir (Syaifudin, 2021).

Bu tez çalışmasında örneklerin PCR işlemi gerçekleştirildikten sonra istenilen ürünlerin elde edilip edilmediğini kontrol etmek için elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi için RedSafe Nucleic Acid Staining Solution eklenen (2,5 µl/100 ml) %1,5'luk Agaroz jel hazırlanmıştır. PCR ürünleri %1,5'luk agaroz jelde, 1X TBE tamponunda ortalama 100 dakika ve 110 voltta yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.5 Verilerin Değerlendirilmesi

Elektroforez işleminden sonra jellerin Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 cihazında UV ışık altında görüntüleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Görüntüleme işlemi sonucunda PCR ürünlerinin istenilen nitelikte olup olmadığı ve PCR işleminin düzgün gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir. Her bir *Lr* geni için gözlenen allel büyüklükleri baz çifti (bç) olarak hem kontrol ile hem de literatürde verilen *Lr* genine özgü amplifikasyon allellerinin büyüklükleri ile karşılaştırılarak *Lr* genine ait dayanıklılık olup olmadığı her bir buğday genotipi için belirlenmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

İzole edilen DNA örneklerinde yapılan spektrofotometrik ölçümlerin sonuçlarında DNA konsantrasyonlarında en düşük değer 173,4 ng/µl iken en yüksek değer 1495,0 ng/µl olarak, UV absorbans değerlerinin sonuçlarında (260 nm/280 nm) en düşük değer 1,99 iken en yüksek değer 2,14 olarak belirlenmiştir. Ölçümler sonucunda elde edilen değerler doğrultusunda DNA konsantrasyonlarının 10 ng/µl ve 50 ng/µl olacak şekilde sulandırılması gerçekleştirilmiştir.

96 buğday çeşidinde kahverengi pasa karşı dayanıklı olanları belirlemede kullanılan markıra ait primerlerin çoğalttığı PCR ürünlerinin boyutu baz çifti (bç) olarak tespit edilmiştir. Bu doğrultuda çeşitlerin kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı olup olmadığı belirlenmiştir ve bunlar Çizelge 3.1’de ifade edilmiştir. Çalışmada PCR amplifikasyonları olmayan örneklerde tekrar DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Tekrar DNA’sı izole edilen çeşitlerde PCR işlemi en az üç defa tekrar edilmiştir. Elektroforez sonucu yapılan UV görüntülemeye PCR amplifikasyon alleli görülmeyen çeşitler kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklı gen bölgesini taşımadığı şeklinde yorumlanmıştır.

3.1 *Lr1* (Lr1RGA1F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Qui vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada *Lr1* geni ile bağlantılı markır (Lr1RGA1) ile elde edilen allelin büyüklüğü ~605 bç olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda Lr1RGA1 markırını ile ilgili farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda Lr1RGA1 markırını için bir optimizasyon sağlanamamış, denemeler sonucunda *Lr1* geni ile ilişkili beklenen bölgede PCR amplifikasyonu görülmemiştir.

3.2 *Lr9* (J13/1/2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Schachermayr vd. (1994) tarafından *Lr9* gen bölgesiyle ilgili çalışmada J13 markırını için 1100 bç’de allel gözlenmiştir. Çalışmamızda *Lr9* gen bölgesiyle ilişkili J13 markırını ile ilgili farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda J13 markırını için bir optimizasyon sağlanamamış, denemeler sonucunda *Lr9* gen bölgesiyle ilişkili markıra ait bölgede PCR amplifikasyonu görülmemiştir.

Çizelge 3.1. Buğday çeşitlerinin kahve rengi pas hastalığına karşı dayanıklılığı (*Lr* geni var +, *Lr* geni yok -)

Örnek Kodu	Örnek Adı	<i>Lr13</i> 123 bç	<i>Lr14a</i> 174 bç	<i>Lr19</i> 130 bç	<i>Lr22a</i> 147 bç	<i>Lr24</i> 300 bç	<i>Lr34</i> 150 bç	<i>Lr37</i> 285 bç	<i>Lr47</i> 282 bç
1	Aglica	+	+	+	+	+	-	+	+
2	Esperia	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Genesi	+	+	+	+	+	-	+	+
4	Kate A1	+	+	+	+	+	-	+	+
5	MAY 8059	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Mihelca	+	+	+	+	+	-	+	+
7	Nogal	+	+	+	+	+	-	+	+
8	Tekirdağ	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Tsarevets	+	+	+	+	+	-	+	+
10	Yüksel	+	+	-	-	+	-	+	+
11	Antille	+	+	+	+	+	-	+	+
12	Albatros	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Atilla 12	+	+	+	+	+	-	+	+
14	BC Anica	+	+	+	+	+	-	+	+
15	Dropia	+	+	+	+	+	-	+	+
16	Enargo	+	+	+	+	+	-	+	+
17	Fetih	+	+	+	+	+	-	+	+
18	Galayeta	+	+	+	+	+	-	+	+
19	Gelibolu	+	+	+	+	+	-	+	+
20	Hüseyinbey	+	+	+	+	+	-	+	+
21	Köprü	+	+	+	+	+	-	+	+
22	Krasunia odes'ka	+	+	+	+	+	-	+	+
23	KWS WW-01	+	+	+	+	+	-	+	+
24	Pehlivan	+	+	+	+	+	-	+	+
25	Prima	+	+	+	+	+	-	+	+
26	Saraybosna	+	+	+	+	+	-	+	+
27	Sertori	+	+	+	+	+	-	+	+
28	Turan	+	+	+	+	+	-	+	+
29	Yubileynaya 100	+	+	+	+	+	-	+	+
30	Adagio	+	+	+	+	+	-	+	+
31	Adelaide	+	+	+	+	+	-	+	+
32	Aldane	+	+	+	+	+	-	+	+
33	Alka	+	+	+	+	+	-	+	+
34	Artico	+	+	+	+	+	-	+	+
35	Avorio	+	+	+	+	+	-	+	+
36	Bono Dea	+	+	+	+	+	-	+	+
37	Dena	+	+	+	+	+	+	+	+
38	Enola	+	+	+	+	+	+	+	+
39	Fiorino	+	+	+	+	+	-	+	+
40	Glosa	+	+	+	+	+	+	+	+
41	Hakan 1	+	+	+	+	+	-	+	+
42	Iridium	+	+	+	+	+	-	+	+
43	İnci 20	+	+	+	-	+	-	+	+
44	Kaan	+	+	+	+	+	-	+	+
45	Montar	+	+	+	+	+	-	+	+
46	Nina	+	+	+	+	+	-	+	+
47	Prostor	+	+	+	+	+	-	+	+
48	Sarı Mustafa	+	+	+	-	+	-	+	+

Çizelge 3.1 (Devam)

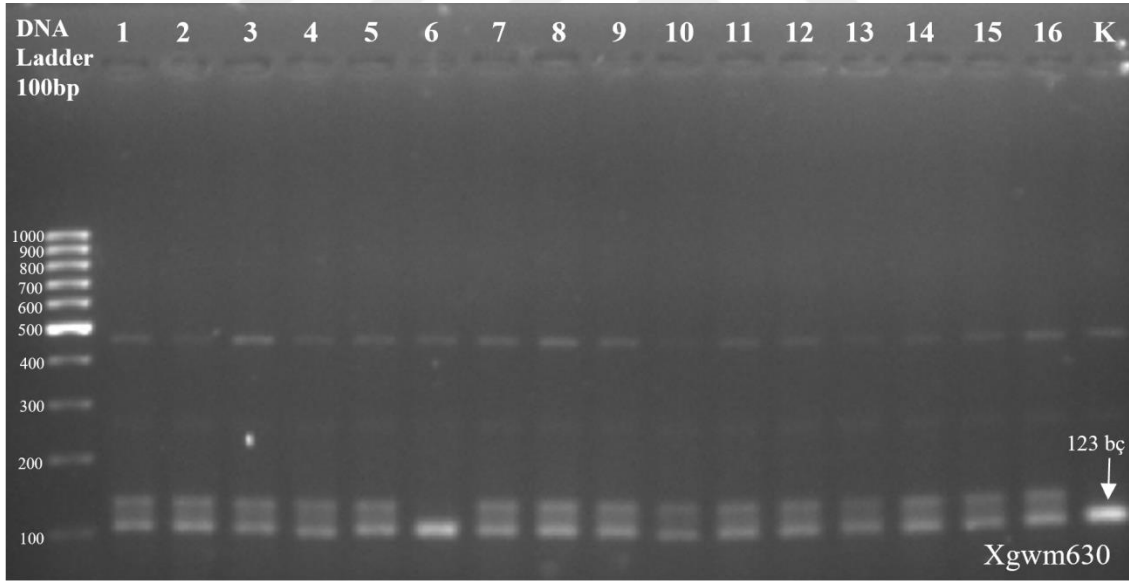
Örnek Kodu	Örnek Adı	Lr13 123 bç	Lr14a 174 bç	Lr19 130 bç	Lr22a 147 bç	Lr24 300 bç	Lr34 150 bç	Lr37 285 bç	Lr47 282 bç
49	Selimiye	+	+	+	+	+	-	+	+
50	Tanya	+	+	+	+	+	-	+	+
51	Tekira	+	+	+	-	+	-	+	+
52	Turkuaz	+	+	+	+	+	-	+	+
53	Yunak	+	+	+	+	+	-	+	+
54	BC Bernarda	+	+	+	+	+	-	+	+
55	BC İrena	+	+	+	+	+	-	+	+
56	BC Lira	+	+	+	+	+	-	+	+
57	BC Tena	+	+	+	+	+	-	+	+
58	Deya	+	+	+	+	+	-	+	+
59	NKÜ Ergene	+	+	+	+	+	+	+	+
60	Flamura 85	+	+	+	+	+	+	+	+
61	Golia	+	+	+	+	+	-	+	+
62	İveta	+	+	+	+	+	+	+	+
63	KWS WW-02	+	+	+	+	+	-	+	+
64	Lorena	+	+	+	+	+	-	+	+
65	MAY 8462	+	+	+	+	+	-	+	+
66	Nota	+	+	+	+	+	-	+	+
67	Rumeli	+	+	+	+	+	+	+	+
68	Saban	+	+	+	+	+	+	+	+
69	TT 601	+	+	+	+	+	+	+	+
70	Venka 1	+	+	+	+	+	+	+	+
71	Bezostaja 1	+	+	+	+	+	+	+	+
72	Bereket	+	+	+	+	+	-	+	+
73	Delebrad 2	+	+	+	+	+	+	+	+
74	Geya 1	+	+	+	+	+	-	+	+
75	BC Mandica	+	+	+	+	+	-	+	+
76	Milena	+	+	+	+	+	+	+	+
77	Momtchill	+	+	+	+	+	+	+	+
78	Muratbey	+	+	+	+	+	+	+	+
79	Nomade	+	+	+	+	+	-	+	+
80	Rebelde	+	+	+	+	+	-	+	+
81	Safir	+	+	+	+	+	-	+	+
82	Segor	+	+	+	+	+	-	+	+
83	Sagittario	+	+	+	+	+	-	+	+
84	MV Suba	+	+	+	+	+	-	+	+
85	Syrena odes'ka	+	+	+	+	+	+	+	+
86	Viktoria	+	+	+	+	+	+	+	+
87	Quality	+	+	+	+	+	-	+	+
88	NKÜ Asiya	+	+	+	+	+	+	+	+
89	Maden	+	+	+	+	+	+	+	+
90	Sana	+	+	+	+	+	-	+	+
91	Pandas	+	+	+	+	+	+	+	+
92	Bora	+	+	+	+	+	+	+	+
93	Andino	+	+	+	+	+	-	+	+
94	NKÜ Lider	+	+	+	+	+	+	+	+
95	Tina	+	+	+	+	+	-	+	+
96	Tosunbey	+	+	+	+	+	-	+	+

3.3 *Lr10* (Lrk10D1/D2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr10 gen bölgesiyle ilgili yapılan çalışmada Lrk10 markırına ait PCR amplifikasyonu sonucunda 282 bç'de allel saptanmıştır (Schachermayr, Feuillet ve Keller, 1997). *Lr10* gen bölgesiyle ilişkili Lrk10 markırını için tez çalışmamızda farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda *Lr10* gen bölgesi ile ilişkili Lrk10 markırına ait primerin çalışmadığı sonucuna varılmıştır.

3.4 *Lr13* (Xgwm630F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

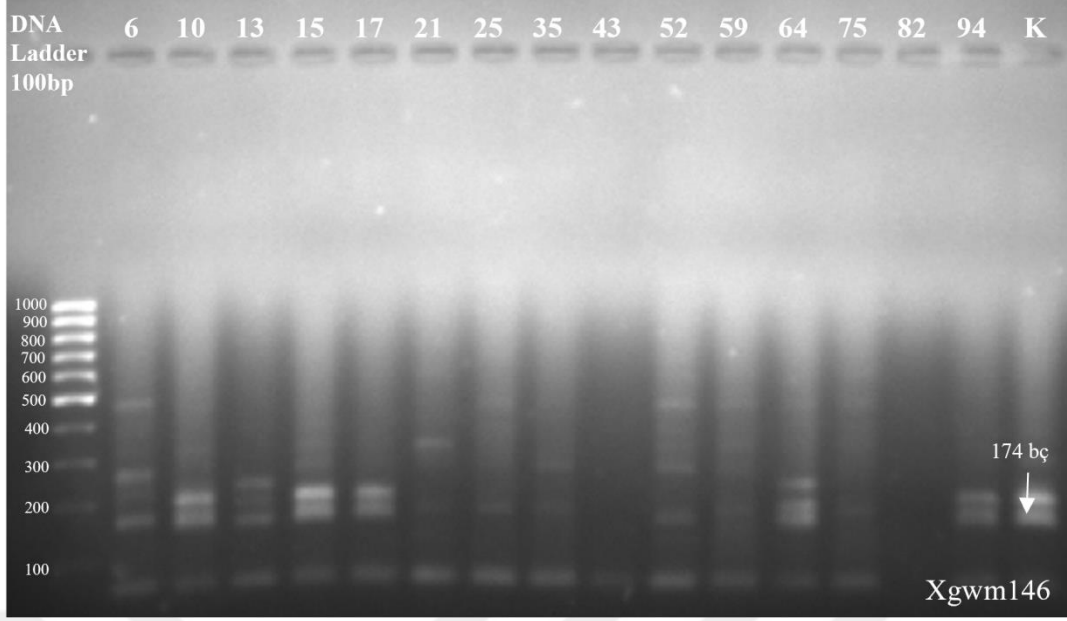
Yapılan çalışmalarda *Lr13* gen bölgesini taşıyan hatlarda Xgwm630 markırında 123 bç'de allel varlığı bildirilmiştir (Seyfarth, Feuillet ve Schachermayr, 2000; Mustafa, Alam, Khan, Naveed ve Mumtaz, 2013). Bu tez çalışmasında 96 buğday çeşidinde gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu sonucunda bütün çeşitlerde *Lr13* geni ile ilişkili Xgwm630 bölgesine ait 123 bç'de allel görülmüştür. Xgwm630 markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. *Lr13* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.5 *Lr14a* (Xgwm146F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

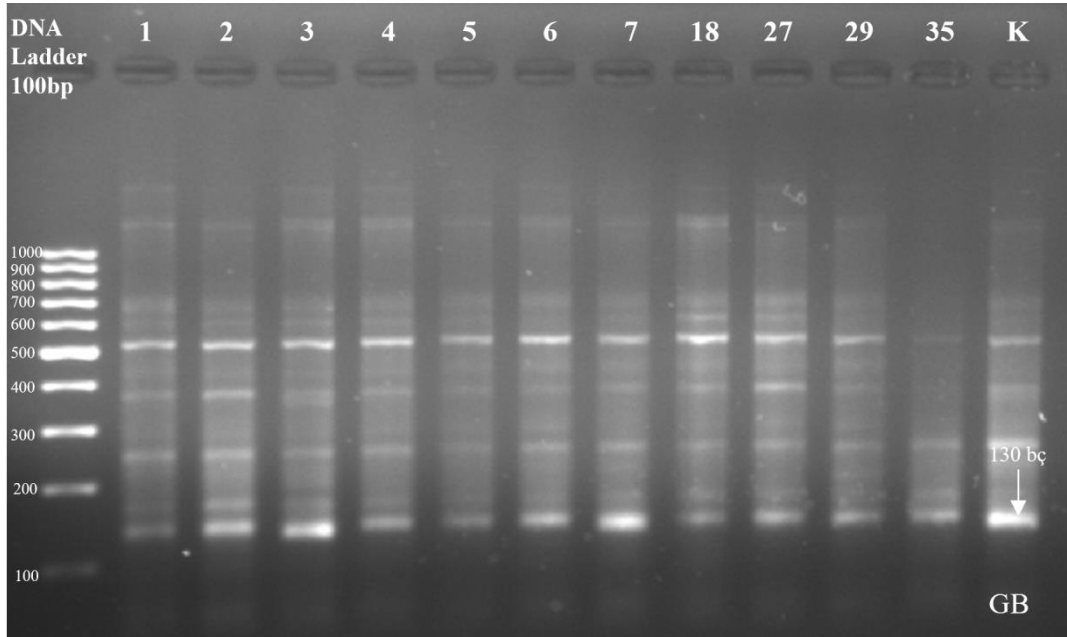
Röder vd. (1998) tarafından yapılan çalışma sonucunda Xgwm146 markırını için 174 bç'de allel bildirilmiştir. 96 buğday çeşidi ile yapılan bu tez çalışmasında *Lr14a* gen bölgesi ile ilişkili Xgwm146 markırına ait allel bütün örneklerde görülmüştür. Xgwm146 markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. *Lr14a* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.6 *Lr 19* (GBR/F) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Kahverengi pasa dirençli hatların *Lr19* gen bölgesi ile ilişkili GB markırına ait 130 bç büyüklüğündeki alleli taşıdığı rapor edilmiştir (Prins, Groenewald, Marais, Snape ve Koebner, 2001). Tez çalışmasında PCR amplifikasyonu ve elektroforez işlemi sonucunda 95 buğday çeşidinde *Lr19* gen bölgesi ile ilişkili GB markırına ait allel görülmüşken Yüksel çeşidinde görülmemiştir. GB markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.3'te verilmiştir.



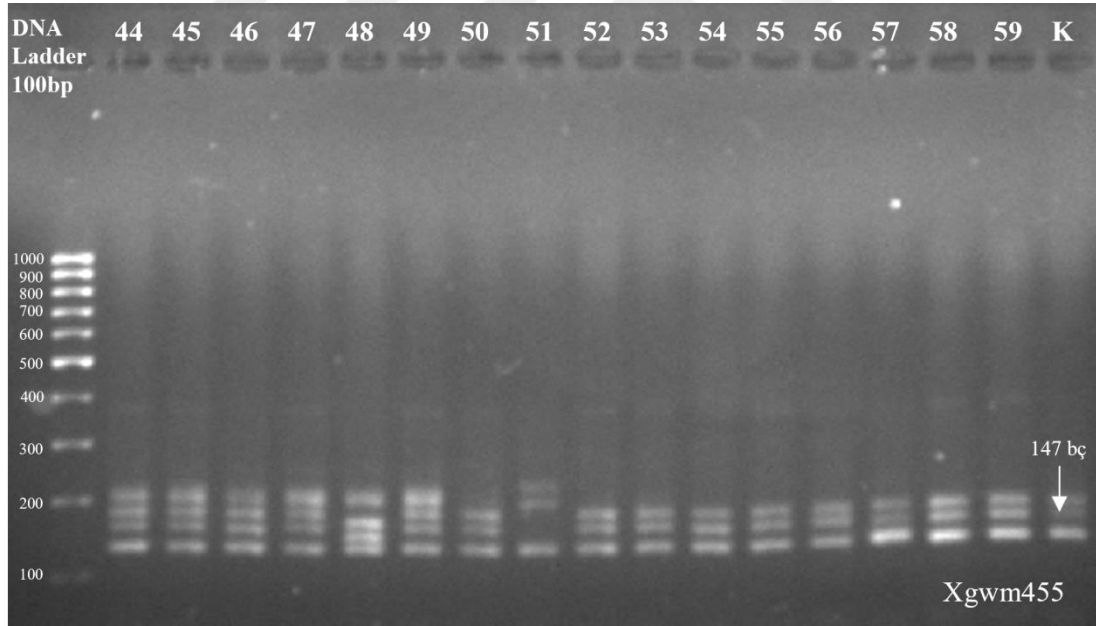
Şekil 3.3. *Lr19* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.7 Lr21 (Lr21F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr21 gen bölgesiyle ilgili yapılan çalışma sonucunda *Lr21* markırı için 885 bç'de allel bildirilmiştir (Huang ve Bill, 2001). *Lr21* gen bölgesiyle ilgili bu tez çalışmasında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda *Lr21* gen bölgesi için bir optimizasyon sağlanamamış, denemeler sonucunda *Lr21* markırına ait beklenen bölgede PCR amplifikasyonu görülmemiştir.

3.8 Lr22a (Xgwm455F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr22a gen bölgesiyle ilgili yapılan çalışmada Xgwm455 markırına ait PCR amplifikasyonu sonucu 147 bç'de allel görülmüştür (Röder, Korzun, Gill ve Ganal, 1998). Bu tez çalışmasında 92 buğday çeşidinde *Lr22a* gen bölgesi ile ilişkili Xgwm455 markırına ait allel tespit edilmiştir. Xgwm455 markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.4'te verilmiştir. Yüksel, İnci 20, Sarı Mustafa ve Tekira çeşitlerinde Xgwm455 markırına ait allel görülmemiştir.

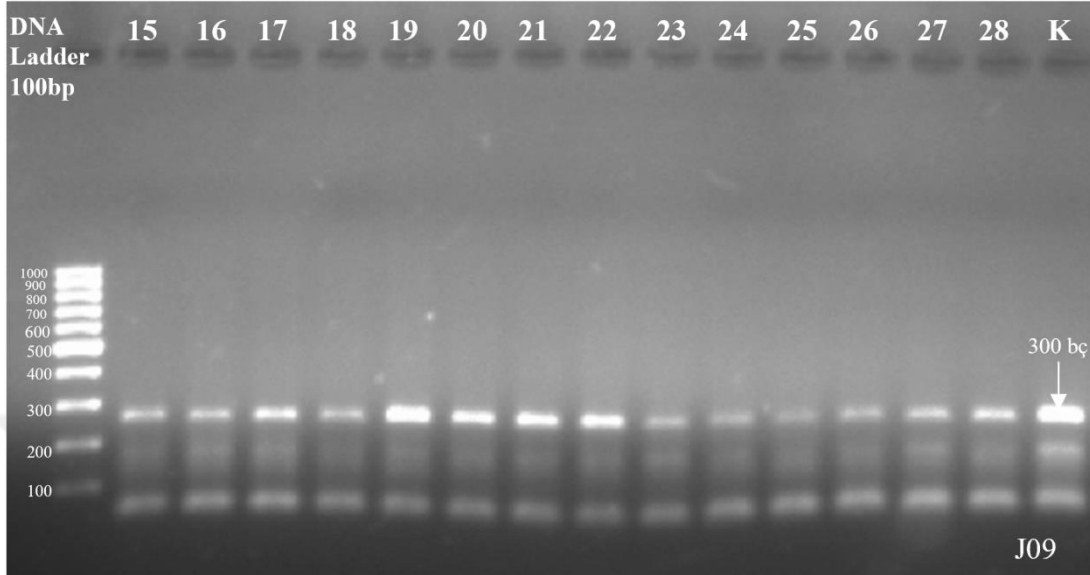


Şekil 3.4. *Lr22a* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.9 Lr24 (J091/2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Schachermayr vd. (1995) tarafından yapılan çalışmada *Lr24* gen bölgesi ile ilişkili J09 markırına ait allel 350 bç'de görülmüştür. Yapılan bir başka çalışmada ise J09 markırının PCR amplifikasyonu sonucunda 310 bç'de allel görülmüştür (Mustafa vd., 2013). Bu tez

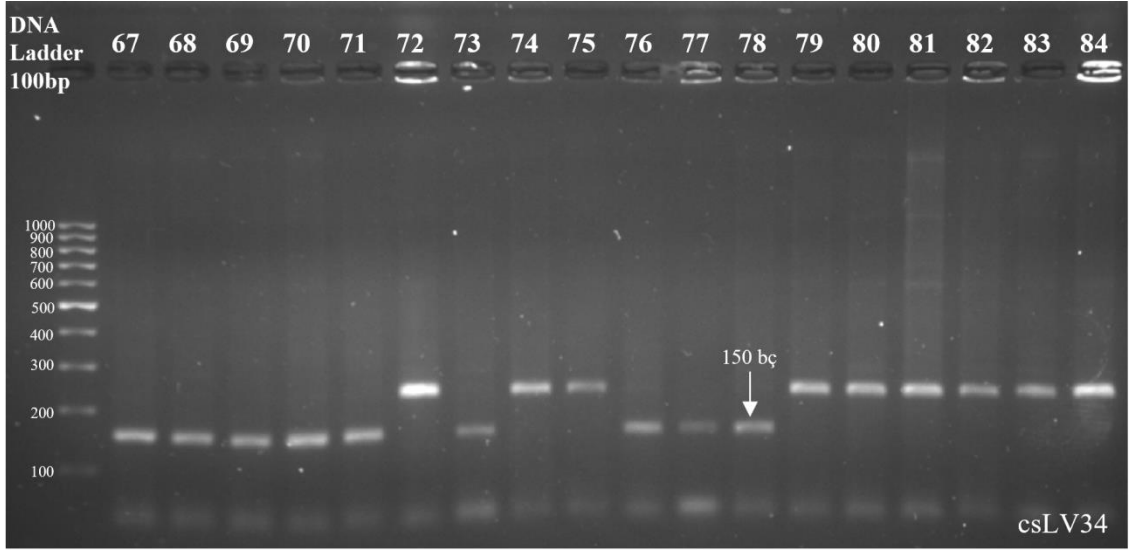
çalışmasında J09 markırı için gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu sonucu yapılan elektroforez işleminden elde edilen görüntülerde ~300 bç civarında 96 çeşitte de allel görülmüştür. *LR24* gen bölgesine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.5'te verilmiştir.



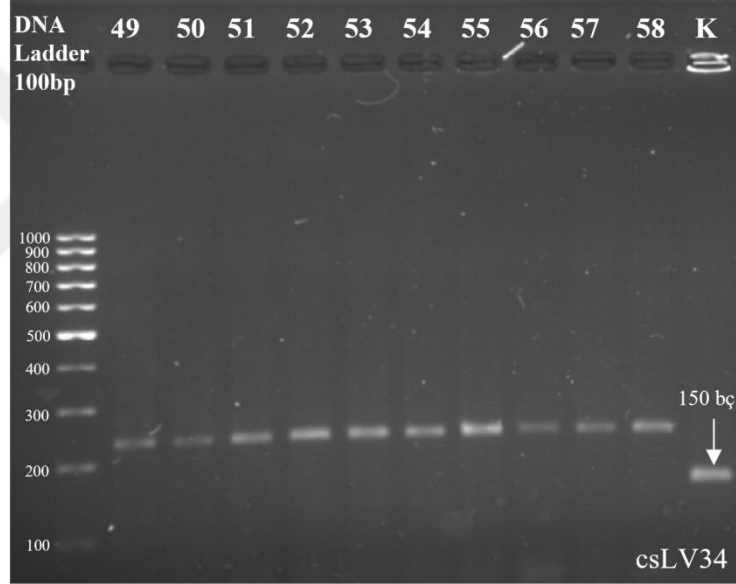
Şekil 3.5. *Lr24* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.10 *Lr34* (csLV34F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr34 gen bölgesini taşıyan hatlarda csLV34 markırı için 150 bç'de allel bildirilmiştir (Lagudah, McFadden, Singh, Huerta-Espine, Bariana ve Spielmeier, 2006). Bu tez çalışmasında 26 buğday çeşidinde PCR amplifikasyonu sonucu *Lr34* gen bölgesi ile ilişkili csLV34 markırına ait allel görülmüştür. *Lr34* gen bölgesine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.6 ve Şekil 3.7'de verilmiştir. csLV34 markırına ait allel görülen çeşitler; Esperia, MAY 8059, Tekirdağ, Albatros, Dena, Enola, Glosa, NKÜ Ergene, Flamura 85, İveta, Rumeli, Saban, TT 601, Venka 1, Brnostaja 1, Delebrad 2, Milena, Momtchill, Muratbey, Syrenaodes'ka, Viktoria, NKÜ Asiya, Maden, Pendas, Bora ve NKÜ Lider'dir. Diğer buğday çeşitlerinde csLV34 markırı için beklenen büyüklükte allel gözlenmemiştir.



Şekil 3.6. *Lr34* geni için agaroz jel görüntüsü



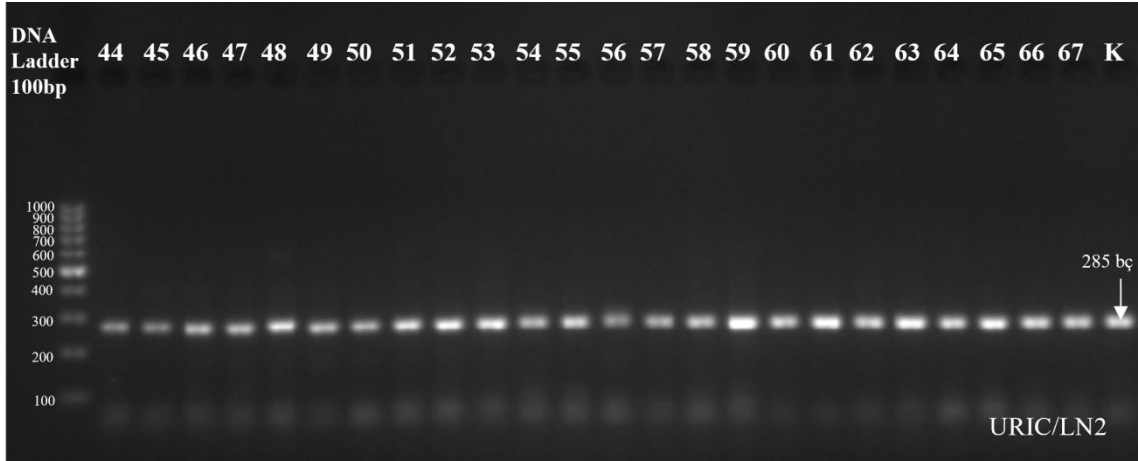
Şekil 3.7. *Lr34* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.11 *Lr35* (SR39F2/3) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr35 gen bölgesi için yapılan çalışma sonucunda SR39 markırına ait 900 bç'de allel görülmüştür (Seyfarth, Feuillet, Schachermayr, Winzeler ve Keller, 1999). Çalışmamızda *Lr35* gen bölgesi ile ilişkili SR39 markırında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda *Lr35* gen bölgesi için SR39 markırında bir optimizasyon sağlanamamış, denemeler sonucunda SR39 markırına ait beklenen bölgede PCR amplifikasyonu görülmemiştir.

3.12 *Lr37* (URIC/LN2) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr37 gen bölgesini için gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu sonucu URIC/LN2 markırına ait 285 bç'de allel rapor edilmiştir (Helguera vd., 2003). Bu tez çalışmasında 96 buğday çeşidinde de *Lr37* geni ile ilişkili URIC/LN2 markırına ait allel görülmüştür. URIC/LN2 markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.8'de verilmiştir.



Şekil 3.8. *Lr37* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.13 *Lr39* (Xgwm210F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

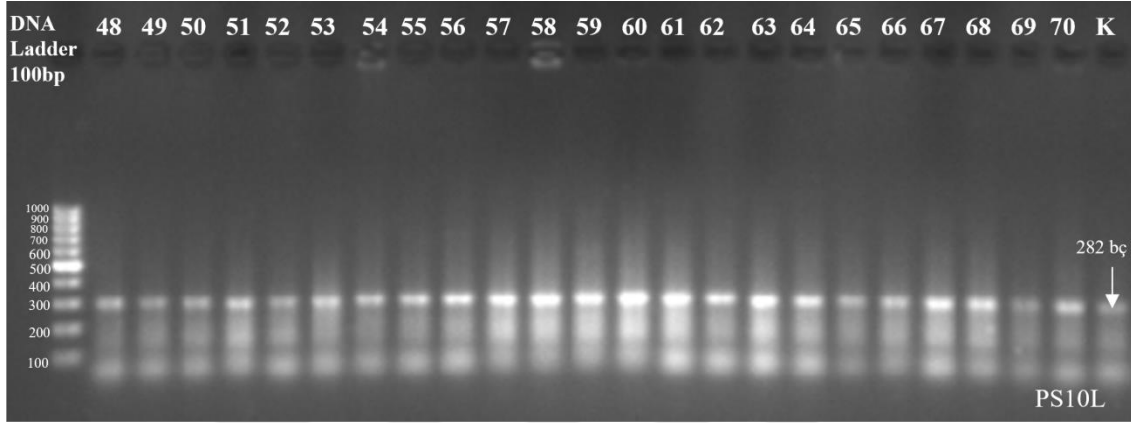
Lr39 gen bölgesini için gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu sonucu Xgwm210 markırına ait 182 bç'de allel saptanmıştır (Raupp, Sukhwinder-Singh, Brown-Guedira ve Gill, 2001). *Lr39* gen bölgesiyle ilişkili Xgwm210 markırında bu tez çalışmasında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda Xgwm210 markırında bir optimizasyon sağlanamamıştır, beklenen bölgede PCR amplifikasyonu görülmemiştir.

3.14 *Lr46* (STS1BL9F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Mateos-Hernandez vd. (2006) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Lr46* gen bölgesi ile ilişkili STS1BL markırına ait 400 bç'de allel görülmüştür. STS1BL markırını ile ilgili bu tez çalışmasında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda STS1BL markırını için bir optimizasyon sağlanamamıştır, denemeler sonucunda *Lr46* geni ile ilişkili beklenen bölgede allel görülmemiştir.

3.15 *Lr47* (PS10LR) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Lr47 gen bölgesini taşıyan hatlarda PS10 markırında 282 bç'lik allel bildirilmiştir (Helguera, Khan ve Dubcovsky, 2000). Bu tez çalışmasında PCR amplifikasyonundan sonra yapılan elektroforez işlemlerinde 96 buğday çeşidinde *Lr47* gen bölgesi ile ilişkili PS10 markırına ait 282 bç büyüklüğünde allel olduğu görülmüştür. PS10 markırına ait agaroz jel görüntüsü Şekil 3.9'de verilmiştir.



Şekil 3.9. *Lr47* geni için agaroz jel görüntüsü (K: Kontrol)

3.16 *Lr49* (Xbarc163F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Bansal vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada *Lr49* gen bölgesi ile ilişkili Xbarc163 markırında 199 bç'de allel bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında *Lr49* gen bölgesiyle ilgili Xbarc163 markırında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Çalışmalar sonucunda optimizasyon sağlanamamış ve elektroforez sonucunda beklenen bölgede allel görülmemiştir.

3.17 *Lr58* (Xcfd50F/R) Geni İçin Moleküler Belirteç Bulguları

Kuraparthi vd. (2007) tarafından *Lr58* gen bölgesiyle ilişkili Xcfd50 markırında yapılan çalışma sonucunda 261 bç'de allel saptanmıştır. *Lr58* gen bölgesiyle ilgili Xcfd50 markırında bu tez çalışmasında farklı enzimler, farklı kombinasyonlarda PCR içeriği ve PCR koşulları denenmiştir. Fakat denemeler sonucunda Xcfd50 markırı için bir optimizasyon sağlanamamış, denemeler sonucunda *Lr58* genine ait beklenen bölgede allel görülmemiştir.

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması 96 çeşit yerli ve yabancı ekmeklik buğday genotiplerindeki kahverengi pas dayanıklı gen (*Lr*) bölgelerinin tespiti için farklı moleküler belirteçler kullanılmıştır. Buğday çeşitlerinin petri kaplarında ekimleri ve çimlendirilmeleri gerçekleştirilmiştir. Yeterli büyüklüğe ulaşan buğday filizlerinden örnekler alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonucu elde edilen DNA örneklerinin PCR işleminde *Lr1RGA1F/R (Lr1)*, *J13/1/2 (Lr9)*, *Lrk10D1/D2 (Lr10)*, *Xgwm630F/R (Lr13)*, *Xgwm146F/R (Lr14a)*, *GBF/R (Lr19)*, *Lr21F/R (Lr21)*, *Xgwm455F/R (Lr22a)*, *J091/2 (Lr24)*, *csLV34F/R (Lr34)*, *SR39F2/F3 (Lr35)*, *URIC/LN2 (Lr37)*, *Xgwm210F/R (Lr39)*, *STS1BL9F (Lr46)*, *PS10LF/R (Lr47)*, *Xbarc163F/R (Lr49)* ve *Xcdf50F/R (Lr58)* primerleri kullanılmıştır. PCR optimizasyonu *Xgwm630F/R (Lr13)*, *Xgwm146F/R (Lr14a)*, *GBF/R (Lr19)*, *Xgwm455F/R (Lr22a)*, *J091/2 (Lr24)*, *csLV34F/R (Lr34)*, *URIC/LN2 (Lr37)* ve *PS10L/R (Lr47)* primerlerinde sağlanmıştır. PCR ile ilgili markıra ait DNA bölgelerinin çoğaltımı gerçekleştirilerek hangi çeşitlerin kahverengi pas hastalığına karşı dayanıklılığa sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Pakistan'da ticari olarak kullanılan bazı buğday çeşitlerinde yaprak pasına dayanıklı gen bölgeleri ile ilgili çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada buğday çeşitlerinde *Lr10* (F1.2245, *Lr10-6/r2*), *Lr13* (Xgwm630-2B), *Lr21* (*Lr21L*, *Lr21R*), *Lr24* (J09/1, J09/2), *Lr26* (P6M12-P), *Lr27* (Xgwm389), *Lr31* (Xgwm251) gen bölgeleri incelenmiştir ve bitkilerin dayanıklılık genlerinin taşıyıp taşımadıkları değerlendirilmiştir. *Lr10* gen bölgesinde 310 bç'de, *Lr13* gen bölgesinde 123 bç'de, *Lr21* gen bölgesinde 669 bç'de, *Lr24* gen bölgesinde 310 bç'de, *Lr26* gen bölgesinde 360 bç'de ve *Lr31* gen bölgesinde 130 bç'de allel görülmüştür. Bu bölgelerde amplifikasyon alleleline sahip çeşitler dayanıklı olarak ifade edilmiştir. Çalışmada moleküler belirteçlerin kahverengi pas hastalığına karşı gerçekleştirilen buğday hatlarının seçilmesinde daha etkili olduğu ve genlerin piramitlenmesi ile gelecekte ortaya çıkacak olan yaprak pası mutant ırklarına karşı direnç geliştirmek için bir yenilikçi bir yaklaşım olduğu sonucuna varılmıştır (Mustafa vd., 2013). *Lr13* gen bölgesi için yapılan bu çalışmada belirlenen allel büyüklükleri ile tez çalışmasının sonuçları aynıdır.

Röder vd. (1998) tarafından ekmeklik buğdayda mikrosatellitler ile ilgili çalışma yapılmıştır. Çalışmada 230 polimorfik primer setinin gelişimi ve yedi homolog kromozom grubunu kapsayan 279 mikrosatellit içeren buğday genomunun genetik haritalaması yapılmıştır. Çalışmada kullanılan *Lr14a* gen bölgesine ait *Xgwm146F/R* primeri ile

gerçekleştirilen PCR amplifikasyonu sonucunda 174 bç'de allel görülmüştür. Tez çalışmasında da aynı primer kullanılmış ve 174 bç'de allel gözlenmiştir.

Thinopyrum'dan türetilen yaprak pas direnci olan *Lr19* genini içeren buğday kromozomal bölgelerinin haritalaması için AFLP belirteçleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada; *Lr19* gen bölgesini taşıyan hatlarda 130 bç'de allel bildirilmiştir (Groenewald, Fourie, Marais ve Marais, 2005). Bir başka çalışmada ise farklı ülkelerde yetiştirilmiş olan buğday çeşitlerinde yaprak pası direnç genleri olan *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr26* ve *Lr34* ile çalışılmıştır. Çalışmada buğday genomlarında direnç genlerinin farklı olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada direnç genlerini taşıyan buğday çeşitlerinde; *Lr1* gen bölgesinde 560 bç'de, *Lr10* gen bölgesinde 282 bç'de, *Lr19* gen bölgesinde 130 bç'de, *Lr20* gen bölgesinde 542 bç'de, *Lr21* gen bölgesinde 885 bç'de, *Lr24* gen bölgesinde 350 bç'de, *Lr26* gen bölgesinde 267 bç'de ve *Lr34* gen bölgesinde 254 bç'de allel görülmüştür (Urbanovich vd., 2006; Vanzetti vd., 2011). Yapılan bu iki çalışma ve tez çalışmasına *Lr19* gen bölgesi açısından bakıldığında aynı sonuçlar elde edilmiştir.

Hiebert, Thomas, Somers, McCallum ve Fox (2007)'nin çalışmasında yetişkin bitkilerde yaprak pasına dayanıklılıkta önemli olan *Lr22a* geninin mikrosatellitler kullanılarak haritalaması yapılmıştır. Xgwm455 lokusuna ait geliştirilen SSR primer çifti kullanılarak yaklaşık 150 bç büyüklüğünde (Röder vd., 1998) allel tespit edilmiş ve Xgwm455 lokusunun *Lr22a* genine olan mesafesinin 4.4 cM olduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan buğday genotiplerinden Yüksel, İnci 20, Sarı Mustafa ve Tekira çeşitleri hariç diğer bütün genotiplerin *Lr22a* geni bakımından dayanıklılığa sahip olduğu bulunmuştur.

Agropyron elongatum'dan türetilmiş olan yaprak pasına dayanıklılık geni *Lr24* ile bağlantılı olan moleküler belirteçleri belirlemek üzere iki yakın izogenik hat (Arina ve *Lr24/7*Arina*) üzerinde çalışma yapılmıştır. Çalışmada 115 RFLP probu ile polimorfizm açısından tarama gerçekleştirilmiştir ve 360 RAPD belirteci ile izogenik hatların polimorfizmine bakılmıştır. Çalışmada buğdayın *Lr24* direnç genine bağlı moleküler belirteçler tanımlanmıştır. *Lr24* direnç geninde J09/1 ve J09/2 primerlerinde 350 bç'de allel gözlemlenmiştir. Bir RAPD ve altı RFLP belirtecinin *Lr24* geni ile tamamen bağlantılı olduğu görülmüştür (Schachermayr vd. 1995). Mustafa vd. (2013)'nin çalışmasında ise *Lr24* gen bölgesi için 310 bç'de ayırt edici allel bildirilmiştir. *Lr24* gen bölgesi için tez çalışmasında yapılan çalışmalara paralel olacak şekilde 300 bç'de allel görülmüştür. Çalışmalarda gözlenen allel büyüklüğünde ki farklılıkların kullanılan elektroforez çeşidi ve DNA standardından

ortaya çıkan farklılıklar kaynaklı olabileceği düşünülmüş, çalışmalarda *Lr24* gen bölgesi açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Helguera vd. (2000)'de farklı yaprak pası suşlarına karşı direnç sağlayan *Lr47* gen bölgesiyle ilgili RFLP belirtecinin ABC465 primerinin PCR tabanlı belirtece dönüştürülmesini amaçlayan bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada *Lr47* gen bölgesi için PS10R ve PS10L primerlerinde kullanılan örneklerde 282 bç'de allel görülmüştür ve allel görülen örneklerde direnç genlerinin bulunduğu saptanmıştır. *Lr47* geni *Triticum speltoides*'in 7S kromozomundan heksaploid buğday olan *T. aestivum*'un 7A kromozomuna aktarılmıştır. RFLP belirteçleri ticari ekmeklik buğday çeşitlerinde *Lr47* gen bölgesinin yayılmasını hızlandırmak için kullanılabilse dahi çok miktarda DNA ve hibridizasyon tekniklerinin kullanımına ihtiyaç duyulduğundan RFLP lokusu Xabc465'in PCR tabanlı belirtece dönüştürülmüştür. Fakat poliploid türlerde PCR tabanlı belirteç geliştirilmesi diploidlere göre daha karmaşıktır. Bundan dolayı çalışmada ortaya çıkan sorunların üstesinden gelmek için farklı homoaleller sıralanmıştır ve hedeflenen allel için spesifik primerler tasarlanmıştır.

Başer vd., (2020) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde yoğun olarak yetiştirilen 24 ekmeklik buğday çeşidi genetik materyal olarak kullanılmıştır. Tarla koşullarında suni yaprak pası salgını oluşturmak için hem kullanılan çeşitler hem de iki duyarlı çeşit (Morocco ve Cumhuriyet 75) ekilmiş ve çeşitlerin yaprak pasına karşı reaksiyonları tarla koşullarında incelenmiştir. CIMMYT'den elde edilen *Lr9*, *Lr14*, *Lr19*, *Lr24* ve *Lr47* genlerini taşıyan izogenik hatlar, moleküler analizlerde kontrol genotipleri olarak kullanılmıştır. Tarla koşullarında Pehlivan, Selimiye, Sagittario, Tina, Anapo, Montchill ve Saraybosna genotipleri en hassas genotipler olmasına rağmen, en dayanıklı ekmeklik buğday çeşitleri Nota, Kate A1, Prostor ve Sana olmuştur. Moleküler belirteç analizi ile Sana, Pehlivan, Golia, Falmura 85, Saroz 95, Renan, Sirena, Kate A1, Selimiye, Bezostojal, Saraybosna, Nina ve Tina çeşitlerinin *Lr9* genine sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm ekmeklik buğday çeşitlerinin (Krasunia, Aldane ve Gelibolu çeşitleri hariç) *Lr14*, *Lr19*, *Lr24* ve *Lr47* genlerini taşıdığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında da tüm genotiplerin *Lr14*, *Lr24* ve *Lr47* genlerini taşıdığı, *Lr19* genini ise Yüksel çeşidi hariç tüm genotiplerin taşıdığı belirlenmiştir.

Lagudah vd., (2006) tarafından yapılan çalışmada *Lr34* gen bölgesini taşıyan hatlarda 150 bç'de amplifikasyon alleli görülmüştür. Sönmez vd., (2022) tarafından yapılan çalışmada 123 yerel ve modern ekmeklik buğday çeşitinde yetişkin bireylerde kahverengi pasa dayanıklılık sağlayan *Lr34* geni taranmıştır. Çalışmada yapılan moleküler analizler sonucunda

123 çeşitten 6 tanesinde (Ankara093-44, Altındane, Bezostajal, Alpu2001 ve Esperia) *Lr34* geninin varlığı tespit edilmiştir. Sönmez vd., (2022)'nin çalışmasının aksine bu tez çalışmasında Bezostajal ve Esperia çeşidinin *Lr34* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında 26 genotipin *Lr34* geni ile ilişkili markıra ait 150 bç alleli taşıdığı belirlenmiştir.

Helguera vd., (2003)'nin çalışmasında *Lr37* gen bölgesi için gerçekleştirilen URIC-LN2 markırına ait PCR amplifikasyonu sonucu 285 bç'de allel görülmüştür. Bu tez çalışmasında 96 genotipin *Lr37* geni ile ilişkili markırında 285 bç büyüklüğünde alleli taşıdığı belirlenmiştir. Xu vd., (2017) tarafından yapılan çalışmada da ticari buğday çeşitlerinde URIC-LN2 primeri kullanılarak pas hastalığına dirençlilik için 285 bç allel gözlemediği, negatif kontrol olarak kullanılan genotipte ise PCR amplifikasyon bandı gözlenmediği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmalar ve tez çalışmasında *Lr37* gen bölgesi açısından bakıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Dünyada buğdaya olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Çoğu bölgede biyotik ve abiyotik streslerin ana nedeni olan iklim değişikliği, tarımı olumsuz bir şekilde etkilemektedir. İklim değişikliği, kuraklık, yüksek sıcaklık, zararlılar, sel, fırtına ve hastalık salgınlarıyla mahsulü önemli ölçüde etkilemektedir (Atia vd., 2021). Pas hastalıkları da diğer buğday hastalıklarından daha sık meydana gelmesinden dolayı buğday üretiminde ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Ye vd., 2022). Pas hastalıklarına karşı genetik direnç ile yapılan ıslah, hastalıkla gelecek olan kayıplara karşı önlem olarak en ekonomik, güvenilir ve çevre dostu bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Elshafei vd., 2021).

Gelecekteki dünya nüfusunun hızla artmakta olan ihtiyacı karşılamak için buğdayda birim alandan elde edilen verimin artırılması gerekmektedir. Tarımı olumsuz yönde etkileyen etmenlere karşı ve istenilen özelliklerde buğday elde etmek için ıslah ve yeni çeşitlerin geliştirilmesi büyük bir önem taşımaktadır. Buğdayda ıslah ve yeni çeşit geliştirme çalışmalarında hem zamandan kazanmak hem de daha kesin sonuçlar elde etmek için moleküler belirteçler kullanılarak genetik karakterizasyonları yapılmalıdır. Tez çalışmasının amacı; ıslah programlarında dayanıklı genleri içeren çeşitlerin kullanılmasını sağlamaktır. Islah programlarında dayanıklı genleri içeren çeşitlerin kullanılmasıyla kesin sonuçlara daha kısa sürede ulaşma imkânı sağlayacağı ve kahverengi pas hastalığından dolayı verim kayıplarının minimuma indirilmesinde etkili olacağı sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışma ıslah çalışmalarında moleküler belirteçlerin daha aktif kullanılması gerektiğininide göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Akan, E., Ünsal, N. E. ve Ünsal, A. S. (2021). Kuru koşullarda durum buğday çeşitlerinin verim ve kalitelerini etkileyen önemli parametrelerin belirlenmesi. *ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi*, 5(1), 246-256.
- Aktar-Uz-Zaman, M., Tuhina-Khatun, M., Hanafi, M. M. ve Sahebi, M. (2017). Genetic analysis of rust resistance genes in global wheat cultivars: av overview. *Agriculture and Envirobmental Biotechnology*, 31(3), 431-445.
- Albayrak, Ö., Kızılgöçü, F., Yıldırım, M. ve Akıncı, C. (2020). Farklı çevrelerde yetiştirilen yazlık ekmeçlik buğday genotiplerinin tane verimi ve kalite özellikleri yönünden incelenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35(2), 164-174.
- Ali, B., Munir, I., Iqbal, A., Ahmad, M. A., Maqsood, I. ve Hafeez, M. (2018). Molecular characterization of weat advanced lines for leaf rust resistant genes using SSR markers. *Microbial Pathogenesis*, 123, 348-352.
- Atar, B. (2017). Gıdamız buğdayın, geçmişten geleceğe yolculuğu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi*, 2(1), 1-12.
- Atia, M. A. M., El-Khateeb, E. A., El-Maksoud, R. M. A., Aboud-Zeid, M. A., Salah, A. ve Abdel-Hamed, A. M. E. (2021). Mining of leaf rust resistance genes content in Egyptian bread wheat collection. *Plants*, 10(7), 1378.
- Aybeke, M. (2015). Screening of Lr genes providing resistance to leaf rust in wheat using multiplex pcr method. *Trakya University Journal of Natural Science*, 16(1):45-49.
- Aykut, F. (2007). *Buğdayda kahverengi pasa dayanıklılık genleri ile ilgili moleküler markörler üzerinde araştırmalar* (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Bansal, U. K., Hayden, M. J., Venkata, B. P., Khanna, R., Saini, R. G. ve Bariana, H. S. (2008). Genetic mapping of adult plant leaf rust resistance genes Lr48 and Lr49 in common wheat. *Theoretical and Applied Genetic*, 117(3), 307-312.
- Başer, İ., Bilgen, B. B., Balkan, A., Korkut, Z. K., Bilgin, O. ve Gülfidan, E. (2020). Comparison of bread wheat genotypes for leaf rust resistance genes. *Journal of Agricultural Sciences*, 26(1), 22-31. doi: 10.15832/ankutbd.447752.
- Bolton, M. D., Kolmer, J. A., ve Garvin, D. F. (2008). Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Molecular Plant Pathology*, 9(5), 563-575.
- Casagrande, C. R., Mezzomo, H. C., Cruz, C. D., Borem, A. ve Nardino, M. (2020). Choosing parent tropical wheat genotypes through genetic dissimilarity based on REML/BLUP. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 20(3): e329120316.
- Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A. (2005). Molecular basis of evolutionary events that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*). *Plant Cell*, 17: 1033-1045.

- Cooper, R. (2015). Re-discovering ancient wheat varieties as functional foods. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 138-143.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 19-21.
- Doyle, J. J. ve Doyle, J. I. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Dörtok, A. ve Aksoy, A. (2018). Türkiye buğday sektörünün eşanlı model yöntemiyle tahmini. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(4), 580-586.
- Elshafei, A. A., Motawei, M. I., Esmail, R. M., Al-Doss, A. A., Hussien, A. M., Ibrahim, E. I. ve Amer, M. A. (2021). Molecular breeding for rust resistance in wheat genotypes. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 731-742.
- Filiz, E. ve Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Garcia, L. T., Cristancho, L. M., Vera, E. P. ve Begambre, O. (2015). A new multiplex-PCR for urinary tract pathogen detection using primer design based on an evolutionary computation method. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(10), 17114-1727.
- Gessese, M. K. (2019). Description of wheat rusts and their virulence variations determined through annual pathotype surveys and controlled multi-pathotype tests. *Advances in Agriculture*, Article ID 2673706.
- Geren, H. (2021). Wheat importance, history and adaptation. *Theoretical and practical new approaches in cereal Science And Technology* (3rd ed.) (3). Ankara: Iksad Publications.
- Groenewald, J. Z., Fourie, M., Marais, A. S. ve Marais, G. F. (2005). Extension and use of a physical map of the Thinopyrum-derived Lr19 translocation. *Theor Appl Genet*, 112, 131-138. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0113-1>
- Helguera, M., Khan, I. A. ve Dubcovsky, J. (2000). Development of PCR markers for the wheat leaf rust resistance gene Lr47. *Theoretical and Applied Genetic*, 100(7), 1137-1143.
- Helguera, M., Khan, I. A., Kolmer, J., Lijavetzky, D., Zhong-qi, L. ve Dubcovsky, J. (2003). PCR assays for the Lr37-Yr17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science*, 43(5), 1839-1847.
- Herrera-Foessel, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., William, H. M., Garcia, V., Djurle, A. ve Yuen, J. (2008). Identification and molecular characterization of leaf resistance gene Lr14a in durum wheat. *Plant Disease*, 92(3), 469-473.
- Hiebert, C. W., Thomas, J. B., Somers, D. J., McCallum, B. D., Fox, S. L. (2007). Microsatellite mapping of adult-plant leaf rust resistance gene Lr22a in wheat. *Theor Appl Genet.*, 115(6):877-84. doi: 10.1007/s00122-007-0604-3.
- Huang, L. ve Gill, B. S. (2001). An RGA-like marker detects all known Lr21 leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat. *Theoretical and Applied Genetic*, 103(6), 1007-1013.

- Hussain, W., Inamullah, I., Ahmad, H., Iqbal, M. S., Abbassi, F. M., Rabnawaz, R., Ahmad, W., Liaqat, L. ve Hussain, S. (2011). Identification of leaf rust resistant gene Lr10 in Pakistani wheat germplasm. *African Journal of Biotechnology*, 10(43), 8578-8584. doi:10.5897/AJB11.521.
- Khan, R. R., Bariana, H. S., Dholakai, B. B., Nail, S. V., Lagu, M. D., Rathjen, A. J., Bhavani, S. ve Gupta, V. S. (2005). Molecular mapping of stem and leaf rust resistance in wheat. *Theoretical and Applied Genetic*, 111(5), 846-850. doi: 10.1007/s00122-005-0005-4.
- Kılıç, G. Ç. (2017). *Buğdayda Kahverengi pas dayanıklılık genlerinin (Lr9, Lr19 ve Lr24) seleksiyonunda kullanılacak moleküler belirteçlerin belirlenmesi* (Yüksek lisans Tezi), Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Kiel, A., Weigt, D., Karpinska, M., Kurasiak-Popowska, D., Niemann, J., Tomkowiak, A., Mikolajczyk, S. ve Nawracala, J. (2020). An analysis of the functionality of molecular markers related to the Lr19 gene conditioning resistance to wheat leaf rust. *Zemdirbyste-Agriculture*, 107(1), 63-70. doi:10.13080/z-a.2020.107.009.
- Kolmer, J. A., Bernardo, A., Bai, G., Hayden, M. J. ve Chao, S. (2018). Adult plant leaf rust resistance derived from Toropi wheat is conditioned by Lr78 and three minor QTL. *Genetics and Resistance*, 108, 246-253.
- Kumar, K., Jan, I., Saripalli, G., Sharma, P.K., Mir, R.R., Balyan, H. S. ve Gupta, P. K. (2022). An update on resistance genes and their use in the development of leaf rust resistant cultivars in wheat. *Frontiers in Genetics*, 13, 816057.
- Kuraparthi, V., Sood, S., Chhhuneja, P., Dhaliwal, H. S., Kaur, S., Bowden, R. L. ve Gill, B. S. (2007). A cryptic wheat – translocation with leaf rust resistance gene Lr58. *Crop Science*, 47(5), 1995-2003. doi:10.2135/cropsci2007.01.0038.
- Lagudah, E. S., McFadden, H., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Bariana, H. S. ve Spielmeier W. (2006). Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(5), 889-898.
- Liu, Y., Gebrewahid, T. W., Zhang, P., Li, Z. ve Liu, D. (2021). Identification of leaf rust resistance genes in common wheat varieties from China and foreign countries. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(5), 1302-1313.
- Mateos-Hernandez, M., Singh, R. P., Hulbert, S. H., Bowden, R. L., Huerta-Espino, J., Gill, B. S., Brown-Guedira G. (2006). Targeted mapping of ESTs linked to the adult plant resistance gene *Lr46* in wheat using synteny with rice. *Funct. Integr. Genomic*, 6(2), 122-131.
- Mirzaei, S. (2021). Application of molecular markers in plant sciences; An overview. *Central Asian Journal of Plant Science Innovation*, 1(4), 192-200.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. ve Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, 51, 263-73.

- Mustafa, G., Alam M. M., Khan, S. U., Naveed, M. ve Mumtaz, A. S. (2013). Leaf rust resistance in semi dwarf wheat cultivars: A conspectus of post green revolution period in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 45(SI), 415-422.
- Omara, R. I., Nehela, Y., Mabrouk, O. I., Elsharkawy, M. M. (2021). The emergence of new aggressive leaf rust races with the potential to supplant the resistance of wheat cultivars. *Biology*, 10, 925. <https://doi.org/10.3390/biology10090925>
- Orton, T. J. (2020). Mass Selection and the Basic Plant Breeding Algorithm. *Horticultural Plant Breeding* (85-95). Elsevier, Academic Press.
- Örs, E. (2018). *Ekmeklik Buğday (Triticum aestivum L.) genotplerinin kahverengi pas hastalığına dayanıklılığının doğal koşullarda morfolojik belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Özberk, İ., Atay, S., Altay, F., Cabi, E., Özkan, H. ve Atlı, A. (2016). *Türkiye'nin Buğday Atlası*. <https://www.wwf.org.tr/?6140/turkiyeninbugdayatlasi>
- Polat, P. Ö. K. (2019). *Ekmeklik Buğdayda (Triticum aestivum L.) kahverengi pas (Puccinia triticina) hastalığına dayanıklılık genlerinin basit dizi tekrarlı (SSRs) moleküler markörü kullanılarak saptanması* (Doktora Tezi), Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Polat, P. Ö. K. ve Yağdı, K. (2021). Bazı ekmeklik buğday genotiplerinde SSR (mikrosatelit) markörü kullanılarak kahverengi pas dayanıklılık geni Lr10'un belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(4), 850-858.
- Prins, R., Groenewald, J. Z., Marais, G. F., Snape, J. W. ve Koebner, R. M. D. (2001). AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(4), 618-624.
- Qui, J. W., Schürch, A. C., Yahiaoui, N., Dong, L. L., Fan, H. J., Zhang, Z. J., Keller, B. ve Ling, H. Q. (2007). Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene Lr1 of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 115(2), 159-168.
- Raupp, W. J., Sukhwinder-Singh, Brown-Guedira, G. L. ve Gill, B. S. (2001). Cytogenetic and molecular mapping of the leaf rust resistance gene Lr39 in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 347-352.
- Röder, M. S., Korzun, V., Gill, B. S. ve Ganal, M. W. (1998). The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome*, 41, 278-283.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. ve Ganal, M. W. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149, 2007-2023.
- Schachermayr, G., Feuillet, C. ve Keller, B. (1997). Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene Lr10 in diverse genetic background. *Molecular Breeding*, 3, 65-74.

- Schachermayr, G., Messmer, M. M., Feuillet, C., Winzeler, H. ve Keller, B. (1995). Identification of molecular marker linked to the agropyron elongatum-derived leaf rust resistance gene Lr24 in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 90, 982-990.
- Schachermayr, G., Siedler, H., Gale, M. D., Winzeler, H., Winzeler, M. ve Keller, B. (1994). Identification and localization of molecular markers linked to the Lr9 leaf rust resistance gene of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 88, 110-115.
- Seyfarth, R., Feuillet, C., Schachermayr, G., Winzeler, M. ve Keller, B. (1999). Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene Lr35 in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 554-560.
- Seyfarth, R., Feuillet, C. ve Schachermayr, G. (2000). Molecular mapping of the adult-plant rust resistance gene Lr13 in wheat *Triticum aestivum* L. *J. Genet. Breed.*, 54, 193-198.
- Shah, L., Rehman, S., Ali, A., Yahya, M., Riaz, M. W., Si, H., Ma, C. ve Lu, J. (2018). Genes responsible for powdery mildew resistance and improvement in wheat using molecular marker-assisted selection. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125, 145-158.
- Sönmez, M. E., Güleç, T., Demir, B., Bayraç, C., Çakmak, M. ve Aydın, N. (2022). Molecular screening of the landraces from Turkey and modern bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars for HMW-GS, wbm, waxy genes and Lr34 gene. *Genetic Resources and Crop Evolution*. doi:10.1007/s10722-022-01460-0.
- Sun, X., Bai, G., Carver, B. F., ve Bowden, R. L. (2010). Molecular mapping of wheat leaf rust resistance gene Lr42. *Crop Science*, 50, 59-66.
- Syaifudin, M. (2021). Gel electrophoresis: The applications and its improvement with nuclear technology. *AIP Conference Proceedings*, 2331, 050008.
- Tüfekçi, Ş., Yerlikaya, D. Ü., Polat, P. Ö. K. ve Yağdı, K. (2017). Ekim öncesi tohumu uygulanan bazı kimyasalların ekme kılık buğday (*Triticum aestivum* var. *aestivum* L.) çeşitlerinin çimlenme özellikleri ve fide gelişimine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(1), 79-87.
- Urbanovich, O. Y., Malyshev, S. V., Dolmatovich, T. V. ve Kartel, N. A. (2006). Identification of leaf rust resistance genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using molecular markers. *Russian Journal of Genetics*, 42(5), 546-554.
- Vanzetti, L. S., Campos, P., Demichelis, M., Lombardo, I. A., Aurelia, P. R., Vaschetto, L. M., Bainotti, C. T., Helguera, M. (2011). Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers. *Electronic Journal of Biotechnology*, ISSN: 0717-3458.
- Vida G., Gal M., Uhrin, A., Veisz O., Wang Z., Kiss T., Karsai I. ve Bedo, Z. (2010). Application of molecular markers in breeding for leaf rust resistance in wheat. 60. *Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*, 65-71.
- Xu, X. F., Li, D. D., Liu, Y., Gao, Y., Wang, Z. Y., Ma, Y. C., Yang, S., Cao, Y. Y., Xuan, Y. H., Li, T. Y. (2017). Evaluation and identification of stem rust resistance genes Sr2, Sr24, Sr25, Sr26, Sr31 and Sr38 in wheat lines from Gansu Province in China. *Peer J*, 5, e4146.

- Ye, B., Singh, R. P., Yuan, C., Liu, D., Randhawa, M. S., Huerta-Espino, J., Bhavani S., Lagudah, E. ve Lan, C. (2022). Three co-located resistance genes confer resistance to leaf rust and stripe rust in wheat variety Borlaug 100. *The Crop Journal*, 10, 490-497.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
- Yuan, L., Gebrewahid, T.W., Pei-Pei, Z., Zai-feng, L. ve Da-qun, L. (2021). Identification of leaf rust resistance genes in common wheat varieties from China and foreign countries. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(5), 1302-1313.
- Zeybek, Ş., Ardıç, M., Sezer, O. ve Olgun, M. (2021). 6 farklı buğday çeşidinin bazı ekofizyolojik ve morfolojik parametrelerin incelenmesi. *Research Journal of Biology Sciences*, 14(2), 222-226.

