

M. Alp FURAN²
Süer YÜCE³

¹ Dr. Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi
Tarla Bitkileri Bölümü,
65080 Van
alpforan@hotmail.com

² Prof. Dr. E.Ü. Ziraat Fakültesi
Tarla Bitkileri Bölümü,
35100 Bornova, İzmir

Buğdayda Sarı Pasa Dayanıklı ve Duyarlı Bazı Çeşit ve Hatların SSR Analizleri¹

SSR analysis on some susceptible and resistant wheat varieties and lines against to stripe rust

¹ Bu çalışma Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne sunulan doktora tez çalışmasının bir bölümüdür.

Alınış (Received): 24.08.2008 Kabul tarihi (Accepted): 17.12.2008

Anahtar Sözcükler:

SSR markörleri, buğday, sarı pas

Key Words:

SSR markers, wheat, yellow rust

ÖZET

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

ABSTRACT

The aim of this study is investigate to genetic analysis of search at the DNA level according to resistance and susceptible to stripe rust between some of bread wheat genotypes. The genetic relationship between of resistant and susceptible genotype is going to be worked on determine using SSR markers analysis. In this research project, a local variety which is susceptible to stripe rust was crossed with a single gene line which has resistant gene and, genetic analysis were made using the SSR markers on parents with their F₁ and F₂ offsprings. 5 primers were used to be forward and reverse in the part of SSR analysis. As a result of SSR marker analysis were displayed differences and similarities between susceptible varieties and resistance lines to stripe rust Furthermore had been to emphasized importance of using molecular marker thanks to this study.

GİRİŞ

Bugün için hastalıklarla savaşın en ekonomik en kesin yolu dayanıklı çeşitler geliştirilerek bunların üretilmesidir. Çeşit ıslahında yüksek verim, yüksek kalite, kışa ve ku-rağa dayanıklılığın yanında hastalıklara karşı dayanıklılık en önemli hedefler arasında yer almaktadır. Bu nedenle yeni dayanıklı çeşitler geliştirilmeli veya yüksek verimli mevcut çeşitlere dayanıklılık genleri aktarılmalıdır (Demir ve ark. 1999). Ülkemizde buğdayda en yaygın olan pas hastalığı sarı pas hastalığıdır. Epidemisi olduğu yıllarda özellikle hastalığa hassas çeşit ekildiğinde %30-40'lara varan verim kaybına neden olmaktadır. Verim kaybının yanında tanelerin kırışık ve cılız olmasına yol açtığı için

kalite değerini de azaltmaktadır. Kalıtım şekilleri, morfolojik, biyokimyasal ve DNA düzeyinde izlenebilen karakterlere genetik markörler denir. Bu karakterlerin markör olarak isimlendirilmesinin sebebi incelenen organizmadaki ilgilenilen özellikler hakkında sağlıklı bilgi sağlamalarıdır (Yıldırım ve Kandemir 2001). Tekrarlanan DNA dizileri mutasyonlar nedeniyle (delesyon, adisyon) çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrar sayıları olarak farklılıklar göstermektedir. Ortaya çıkan bu polimorfizm SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizilerinin primer olarak kullanılmasına imkan tanımaktadır (Gupta ve ark. 1994). Xia ve ark. (2007). 98 Çin buğday kültüründe ve geliştirilmiş hatlarda sarı pas fide dönemi dayanıklılık genlerinin bulunduğunu varsayarak 26 farklı *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* izolatatının reaksiyonlarını incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlardan 42 kültür ve hatta Yr9 dayanıklılık geninin bulunduğunu, bu genin ya yek başına dayanıklılık sağladığını ya da diğer dayanıklılık genleri ile bir dayanıklılık gösterdiklerini belirtmişlerdir. 19 aksesyonun ya Yr24 ya da Yr26 genini taşıdıklarını belirlemişlerdir. 7 kültür test edilen 26 izolata dayanıklılık gösterirken kültürden ve hatlardan 6'sı bütün izolatalara duyarlılık göstermişlerdir. Yr10, Yr15, Yr24 ve Yr26 genlerinin Çin sarı pas izolatalarına etkili bir şekilde dayanıklılık sergilediğini belirten araştırmacılar Yr1 ve Yr6 genlerinin bütün izolatalara duyarlılık gösterdiklerini de belirlemişlerdir. SSR markörleriyle yaptıkları çalışmalarında Xgwm498 ve Xwms273 markörlerinin Çin buğday kültürü Chuanmai'de bulunan YrCH42 genine sırasıyla 1,6 cM ve 2,7 cM uzaklıkta bulduklarını belirlemişlerdir. YrCH42, Yr24 ve Yr26 genlerinin reaksiyon şekillerine, kromozom lokasyonlarına ve orijinlerine göre muhtemelen yaygın genler olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca buğday hattı Zhou 8425B'de yeni bir sarı pas dayanıklılık geninin bulunduğunu ve bunun 7BL kromozomunda lokalize olduğunu vurgulamışlardır. Fahima ve ark. (1998). Genetik haritalamada kullanılacak uygun ebeveynleri belirlemek amacıyla daha önceden sarı pas dayanıklılıkları bilinen bazı *Triticum dicoccoides* aksesyonları arasında genetik farklılığı ölçümlenmiştir. 19'u sarı pas dayanıklı, 2'si duyarlı toplam 21 aksesyon kullanan araştırmacılar, 23 buğday mikrosatelit markörü kullanarak bu aksesyonlar arasında DNA polimorfizmini belirlemişlerdir. Çalışmalarına bu materyale ek olarak 2 *T. durum* ve 1

T. aestivum hattını da dahil etmişlerdir. Kullandıkları 23 buğday mikrosatelit markörü 23 kromozom kolunda lokalize olmuş ve toplam 30 allele A ve B genomlarının 14 kromozomunu göstermişlerdir. Markör başına 5 ile 18 allel belirleyen araştırmacılar ortalama allel sayısını da 10 olarak belirtmişlerdir. Genotiplere ait genetik farklılık verilerini kullanarak aksekyonlar arasında da dendrogram elde etmişlerdir. Gold ve ark., (1999). Lr35 ve Sr39 dayanıklılık genlerini taşıyan bazı Thatcher yakın izogenik hatları ile bu genleri taşımayan ve tekrarlanan ebeveyn olarak kullanılan Thatcher hattı arasında polimorfik ISSR bantları saptamışlardır. Bu 2 gen *Aegilops speltoides*'den aktarılan kromozom segmentinde lokalize olmuş ve linkage durumunda olan genlerdir. Açılma gösteren bir popülasyonu inceleyen araştırmacılar ISSR primerlerinden bir tanesinin bu iki genin her ikisi ile de linkage durumunda olduğunu saptamışlardır. Söz konusu primeri SCAR primerine dönüştürmüşlerdir. *Aegilops speltoides*'den aktarılan kromozom segmentinde Lr35 ve Sr39 genlerini taşıyan 6 buğday hattında bu primerin markörünü belirlemişlerdir. Bu çalışmada CIMMYT'den temin edilmiş sarı pasa dayanıklı tek gen hat olarak isimlendirilen, Dünyada ayırıcı set olarak bilinen yakın izogenik test hatlarından seçilmiş Lee hat'ı ile sarı pasa duyarlı 3 ticari çeşit arasında yapılmış melezleme kombinasyonları sonucu incelemeye alınmıştır. Duyarlı Cumhuriyet 75 çeşidi ile dayanıklı tek gen hat barındıran Lee test hattının melez kombinasyonu ve bu kombinasyona ait F₂ generasyonlarının ekmeleklik buğdaylarda sarı pasa dayanıklı hatlar ve duyarlı çeşitler arasındaki genetik ilişki, moleküler düzeyde SSR (Simple Sequence Repeat) markörlerinin kullanılması ile incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Ma ve ark., (2001) hem sarı pasa hem de külleme hastalığına dayanıklılık sağlayan buğday-*Haynaldia villosa* 6AL.6VS translokasyon hatlarından R55 ile duyarlı çeşit Yumai 18 arasında yapılan melezin F₂ popülasyonunu kullanmışlardır. Sarı pasa dayanıklılığın tek bir dominant gen tarafından idare edildiğini ve bu genin Yr26 olduğunu düşünen araştırmacılar söz konusu genin lokasyonunu 6VS olarak belirtmişlerdir. Bulk Segregant Analizi ve mikrosatelit primerlerini kullanarak belirtilen F₂ popülasyonunda 1B mikrosatelit lokus markörlerini (*Xgwm11*, *Xgwm18*, *Xgwm413*) Yr26'ya çok yakın olduğunu belirlemişlerdir.

Yr26, *Xgwm11/Xgwm18* markörlerinden 1.9 cM uzaklıkta, *Xgwm413*'den de 3.2 cM uzaklıkta lokalize olmuştur. Sonuç olarak *Yr26* geninin 1B kromozomunun kısa kolunda lokalize olduğunu saptamışlardır. Ayrıca *Yr26* geninin orjinini ve dağılımını incelemek için kalıtımını ve moleküler markör analizini araştırmışlar ve *Yr26* geninin *T. turgidum* L.'den geldiğini belirtmişlerdir. PCR'a dayalı mikrosatelit markörlerinin açılma gösteren bir popülasyonda *Yr26* genini belirlemek için çok etkili bir yöntem olduğunu ve buğday ıslahında uygulanabileceğini saptamışlardır. İlgilenilen karakterlerin seleksiyonu için yapılan çalışmalarda RAPD, AFLP, SSR, RFLP, SCAR, STS, ISA ve ALP gibi markörleri F₂ ve geri melez popülasyonları, yakın izogenik hatlar, double haploidler ve rekombinant kendilenmiş hatlar üzerinde kullanılması gerekliliği vurgulanmıştır (Mohan ve ark., 1997).

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmanın materyalini aşağıda belirtilen, CIMMYT'den Temin edilmiş sarı pasa (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) dayanıklılı 3 buğday hattı (Lee, Compare ve CarstensV) ile Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiş sarı pasa duyarlı 3 buğday çeşidinin (Kaşifbey, Cumhuriyet-75, Seri-82) ebeveyn materyaller olarak kullanılmış olduğu bir ön çalışmadan seçilmiştir. Cumhuriyet 75 duyarlı çeşidi ile dayanıklılılık geni barındıran Lee yakın izogenik test hattı ve bunlara ait F₁ ve F₂ döllerini, çiçeklenme dönemlerindeki uygunluk göz önünde bulundurularak çalışmanın başarı yüzdesini artırmak amacıyla seçilmiş ve ebeveynlerden duyarlı çeşitler anaç olarak kullanılmıştır. Çalışmada baba olarak kullanılan "Lee" test hattının barındırdığı dayanıklılılık geni ve lokasyonu ile birlikte pedigrisi aşağıda verilmiştir.

Lee

- Genom lokalizasyonu 2BL.
- Barındırdığı dayanıklılılık geni Yr-7
- Orijinal kaynağı *Triticum turgidum* durum.
- Linkage durumunda olduğu diğer genler Sr9g
- Test hatlarındaki diğer genler Lee1, Lee2
- Düşük enfeksiyon tipi gösterir, enfeksiyon okuma değerleri fide(2) ergin (2)
- Yakın izogenik olup test hattı olarak kullanılmaktadır.
- Gen referansı (Macer, RCF, Hereditas Suppl 2:127-142) (URL1)

DNA İzolasyonu

DNA'ların elde edilmesinde Doyle ve Doyle (1987) metoduna göre CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide) izolasyon yöntemi kullanılmıştır. DNA'lar da miktar tayini ve uygun seyreltme işlemleri için spektrofotometre de bu örneklerin ölçüm-leri yapılmıştır. Yapılan ölçümlerden elde edilen OD verileri ile hesaplanan DNA miktarlarına göre PCR analizi için µl'de 25 ng olacak şekilde TE (Tris-EDTA) tamponu ile seyreltilmiştir.

SSR Markörleri

Her tüpte toplam hacim 15 µl olacak şekilde; 50ng genomik DNA, her bir dNTP'den 200 µM (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)F+R 1+1 pmol/µl primer, 10xPCR tamponu (750 mM Tris-HCL, pH: 8.8, 200 mM (NH₄)₂ SO₄, - MgCl₂ ve % 0.1 Tween20), 25mM MgCl₂, 5U/µl Taq DNA polimeraz enzimidinden (Sigma) oluşmaktadır. PCR işlemi için forward ve reverse olmak üzere 22 baz uzunluğunda 5 (F+R) farklı SSR primeri kullanılmıştır. (Roy ve ark. 1991).

Agaroz Jel Elektrofrezisi

PCR işleminden sonra amplifiye olan DNA'lar elektroforezde % 2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Jel ve elektrot tampon çözeltisi için 10xTBE (216 gr Tris, 110 gr borik asit, 80 ml 0.5M EDTA pH 8.0 destile su ile 2litreye tamamlanır) kullanılmıştır. Örnekler 5 µl yükleme tamponu (49ml %98 formamid, 50 µl 1M EDTA pH 8.0, 0.125gr %0.25 bromphenol blue, 0.125 gr %0.25 xilenecyanol destile su ile 50 ml'ye tamamlanır.) ile boyanarak jeldeki gözle pipet yardımıyla yerleştirilmiştir. Standart markör olarak GeneRuler 100 bp'lik DNA ladder kullanılmıştır.

Çizelge 1. SSR markörlerinin kullanılan primer sekans dizileri.

Primer İsmi	Baz Dizilişi
WMC24-F	5'-GTGAGCAATTTTGATTACTG-3'
WMC24-R	5'-TACCCTGATGCTGTAATATGTG-3'
WMC25-F	5'- TCTGGCCAGGATCAATATTACT -3'
WMC25-R	5'- TAAGATACATAGATCCAACACC -3'
WMC27-F	5'- AATAGAAACAGGTCACCATCCG -3'
WMC27-R	5'- TAGAGCTGGAGTAGGGCCAAAG -3'
WMC41-F	5'- TCCCTCTCCAAGCGCGGATAG -3'
WMC41-R	5'- GGAGGAAGATCTCCCGGAGCAG -3'
WMC43-F	5'- TAGCTCAACCACCCTACTG -3'
WMC43-R	5'- ACTTCAACATCCAAACTGACCG -3'

Fotoğraf Çekimi

Bantların değerlendirilebilmesi için jeller ethidium bromide ile boyama işleminden sonra UV ışık altında incelenmiş ve Nikon coolpix-3200 dijital fotoğraf makinası ile fotoğrafları çekilmiştir.

DNA bantlarının değerlendirilmesi

Genotipler arasındaki genetik benzerlik ve genetik uzaklık değerleri, SSR bantlarının varlığında 1 yokluğunda 0 olacak şekilde hazırlanmış olan veri matrisinden yararlanarak Nei and Li (1979)'nin formülüne göre hesaplanmış ve NTSYS-pc (Rohlf, 1998) istatistik paket programında genotiplere ait dendrogram elde edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

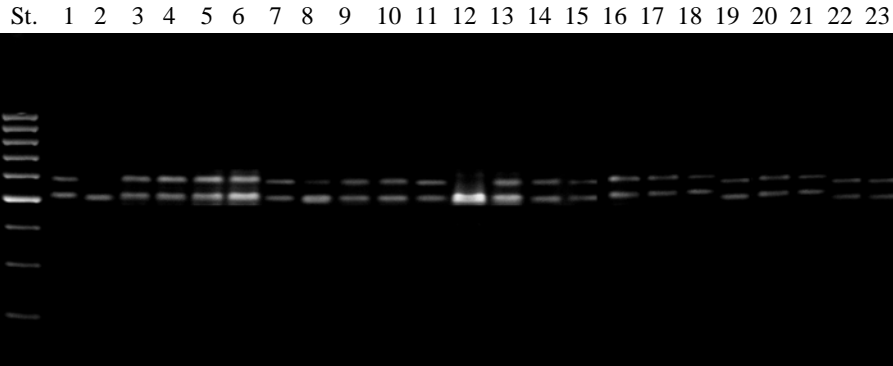
Yapılan bu çalışmada hedeflenen amaca uygun olarak ekmeçlik buğdaylarda sarı pasa dayanıklı tek gen test hatları içerisinde seçilmiş 02 nolu (Lee) hat ile sarı pasa duyarlı ticari çeşit Cumhuriyet75 arasında, pasa dayanıklılık açısından DNA düzeyinde genetik farklılıklar ve benzerlikler incelenmiş ve genetik benzerlik ve farklılıkların saptanması için moleküler düzeyde SSR (Simple sequence repeat) markörlerinden faydalanılmıştır.

Çizelge 2. Kullanılan SSR primerlerinin ebeveyn ve F₁, F₂ döllerindeki polimorfizm oranları.

Primerler	Bant Sayıları			
	Toplam	Monomorfik	Polimorfik	% Polimorfizm
WMC-24	3	1	2	66.7
WMC-25	2	0	2	100
WMC-27	3	0	3	100
WMC-41	3	0	3	100
WMC-43	7	0	7	100

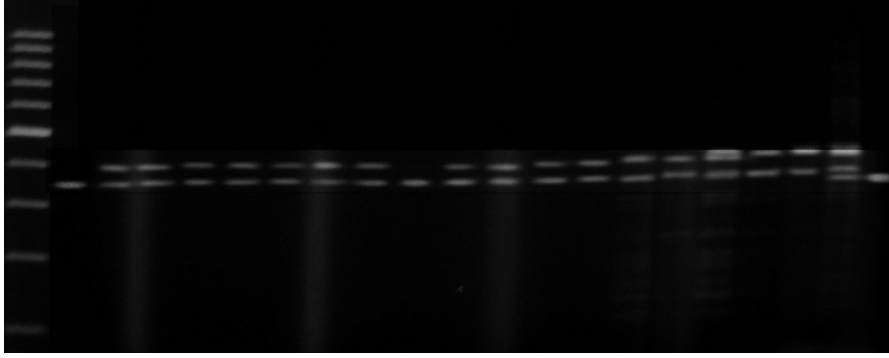
Çalışmanın SSR analizleri seçilen Cumhuriyet-75 x 02 nolu (Lee) tek gen hat kombinasyonunun F₁ ve F₂ döllerinde yapılmış, 5 adet SSR primeri (forward + Reverse) (WMC-24-F, WMC-24-R, WMC-25-F, WMC-25-R, WMC-27-F, WMC-27-R, WMC-41-F, WMC-41-R, WMC47-F ve WMC47-R) kullanılmıştır. Toplam 441 bant değerlendirmeye tabi tutulmuş, en fazla bant veren primer WMC-27, en az bant veren primer ise WMC-25 primeri olarak gözlenmiştir.

Bant desenleri incelendiğinde ise 1 nolu kulvardaki dayanıklı hat ve 2 nolu kulvardaki duyarlı çeşit polimorfik bantlar verirken SSR markörlerinin kodominant özelliği sayesinde F₁ melezi her iki ebeveynine de ait bant vermiştir. Cumhuriyet-75 x 02 nolu hat kombinasyonunda ebeveyn, F₁ ve F₂ populasyonunu içeren SSR sonuçlarına ait dendrogram Şekil 3'de verilmiştir. Dendrogram incelendiğinde genotiplerin başlıca 2 ana gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Ebeveynlerden Cumhuriyet-75 ve donör olarak kullanılan 02 nolu(Lee) dayanıklı tek gen hattı tamamen ayrı gruplar içerisinde yer almıştır. F₁ melezi tozlayıcı olarak kullanılan 02 nolu dayanıklılık geni barındıran test hattıyla aynı ana grup içerisinde yer alırken, daha alt gruplar incelendiğinde baba ve F₂ bireylerinden farklı olarak tek başına yer almıştır. Açılma gösteren F₂ populasyonunu oluşturan bireyler 02 nolu hat ile aynı grupta yer almıştır. 3, 10 ve 40 nolu F₂ bitkileri baba olarak kullanılan 02 nolu Lee hattına yakın yer almıştır.

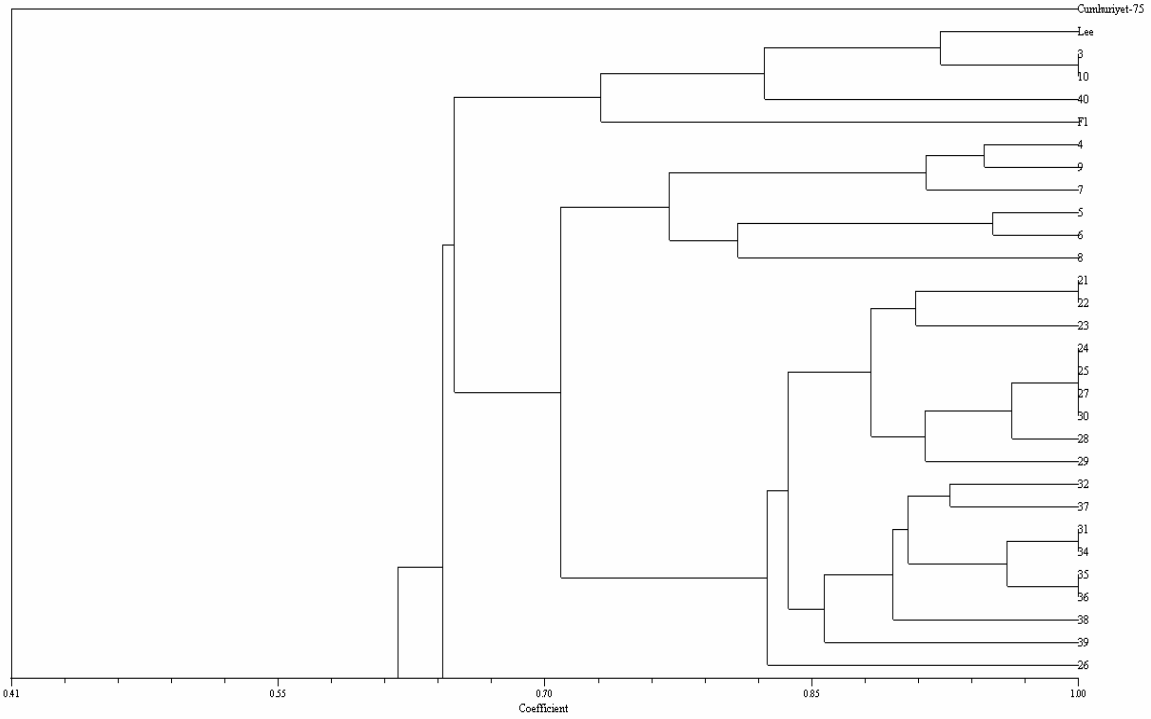


Şekil 1. WMC-27(F+R) primerinin sonuçları:1. St: Standart markör, 1: Cumhuriyet-75, 2: 02 nolu hat, 3: Cumhuriyet-75x 02 F₁, 4-23: Cumhuriyet-75x 02 F₂ genotipleri.

St 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43



Şekil 2. WMC-27(F+R) primerinin sonuçları:2. St: Standart markör, 24-43: Cumhuriyet-75x 02 F₂ genotipleri



Şekil 3. Cumhuriyet-75 x 02 nolu hat kombinasyonunun F₁ ve F₂ genotiplerine ait SSR dendrogramı

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tüm dünyada hastalığa dayanıklılığın kabule-dilebilir seviyeleriyle genotipleri seçmek için hem doğal enfeksiyon hem de yapay düzenlenmiş salgın koşulları altında tarla değerlendirmeleri yapılmaktadır. Düşük pas tepkisine bağlı markör kullanımı fenotipik seleksiyon için alternatiftir. Son zamanlarda pas hastalıkları için moleküler markörler geliştirilmektedir. Farklı markör geliştirme teknolojileri

restriction fragment length polymorphism (RFLP) amplified fragment length polymorphism (AFLP) microsatellite simple sequence repeat polymorphism (SSR) ve sequence characterised amplified regions (SCAR)'ları içermektedir (Bariana, 2001). Bitki ıslahında marköre dayalı seleksiyonda kullanılan başlıca teknikler proteinler, izoenzimler, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment

Length Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) markörleridir (Staub and Serquen, 1996). Xu ve ark. (2005) yüksek seviyede yavaş yaprak pas dayanıklılığı (slow rusting resistance) gösteren CI 13227 hattı ile Suwon92 melezinden geliştirilen rekombinant kendilenmiş hatlarda moleküler markörlerden yararlanarak bu dayanıklılığı araştırmışlardır. 459 AFLP ve 28 SSR markörünü de kullanan araştırmacılar ayrıca hastalık şiddetini, gelişimini, enfeksiyon oranını ve süresini incelemişlerdir. Hastalığın gelişimi, şiddeti ve enfeksiyon oranı ile ilişkili 2 kantitatif özellik lokusu bulmuşlardır. Hastalık süresi ile ilgili üçüncü bir lokusu 2DS kromozomu üzerinde saptamışlardır. Tahıllar üzerine yapılan çalışmalarda markör tekniklerinden özellikle RFLP, AFLP, RAPD, SSR, STS ve SNP teknikleri sıklıkla kullanılırken, konuyla ilgili yeni markör tekniklerinin geliştirilmesi çalışmalarına da devam edilmektedir (Korzun, 2002). Bu çalışmada sarı pasa dayanıklılık geni barındıran tek gen test hattı Lee ile duyarlı yerel çeşit Cumhuriyet75 ebeveynleri ve bunlardan türetilen döl generasyonlarının genetik analizleri SSR markörleri aracılığıyla incelenmiştir. PCR temelli moleküler DNA markörü olan SSR (Simple Sequence Repeat) basit dizi tekrarları olarak da adlandırılmaktadırlar. SSR veya mikrosatelitler ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Mikrosatelitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotiplerde çalışan SSR'ların PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Kodominant özelliğe sahip bu moleküler markörler sayesinde dayanıklılık genini barındırdığı bilinen yakın izogenik test hattı Lee ile, sarı pasa duyarlı olduğu bilinen Cumhuriyet75 çeşidi ve bunların F1 ve F2 generasyonu tek bitkilerinde genetik farklılıkları bakımından DNA analizi gerçekleştirilmiş, dayanıklı ve duyarlı ebeveynlerin birbirinden ayrımı moleküler düzeyde incelenmiştir. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin oluşturduğu bant desenleri incelendiğinde ortaya çıkan farklılıkların kesin bir markör olarak öne sürülmesi söz konusu olmasa da dayanıklı ve duyarlı bitkilerin farklı bantlar verdiği ve bu kombinasyondan elde edilmiş F₁ bitkilerinin kodominant kalıtım gösterdiği, makalede verilmiş

olan WMC-27 SSR primeri örnek bant desenlerinde açıkça ortaya konmuştur. Ekmeklik buğdayda mikrosatelit çalışmalarında ilk işbirliği WMC (Wheat Microsatellite Consortium) tarafından 1996 yılında yapılmıştır. Bundan sonra 1997 Şubatında Uluslararası Buğday Mikrosatelit Haritalama Ağı (IWMMN) kurulmuş ve özellikle WMC'nin belirlediği primerleri genetik haritalama ile desteklemeye başlamıştır. Bu işbirliği çerçevesinde 10 üye mikrosatelit haritalama çalışmalarını sürdürmektedir. Bu gruptan Gupta ve ark. (2002) daha önceden haritalanan 384 lokusa ilaveten yeni 66 mikrosatelit lokusunu haritalamışlardır. Röder ve ark. (1998 b)'nın kullandığı materyalle aynı materyali (70 rekombinant kendilenmiş hat) kullanan araştırmacılar 58 primer çifti ile 66 mikrosatelit lokusunu belirlemişlerdir. Genellikle RFLP, AFLP ve polimeraz zincir reaksiyonuna dayanan RAPD, SCAR, STS, SSR ya da diğer bir adıyla mikrosatelit markörleri gibi moleküler markörler, bitki ıslahçılarında buğdayda, hastalığın bulunduğu çevrelerde dayanıklılık genleri için indirekt seleksiyonun uygulanmasında ve dayanıklılık genlerinin piramitleştirilmesinde önemli bir araç sağlamaktadır (Röder ve ark. 1998 b; Gupta ve ark. 1999). Özet olarak PCR a dayalı bir yöntem olan SSR markörlerinin genellikle ko-dominant kalıtım gösterme ve stabilite özelliklerinden bu çalışmada yararlanılmış ve kodominant kalıtım özelliği bir kez daha vurgulanmıştır. Röder et al. (1998a), 25 "Chinese Spring" delesyon hattında çok sayıda SSR primeri kullanarak ekmeklik buğdayın 2 homoelog kromozom grubunda dinükleotid mikrosatelit markörlerinin fiziksel dağılımını araştırmışlar ve 31 adet mikrosatelit markörü ile 2A kromozomunda 14 lokus, 2B kromozomunda 9 lokus ve 2D kromozomunda 10 lokus saptamışlardır. Mikrosatelit lokuslarının kromozom boyunca dağıldıklarını belirten araştırmacılar, tanımladıkları 28 fiziksel aralıktan 18'ini mikrosatelit markörleriyle işaretlemişlerdir. Bunun ötesinde mikrosatelit için kullanılan PCR yöntemi diğer ko-dominant kalıtım gösteren moleküler markörler ile kıyaslandığında ise daha kolay, daha hızlı, daha ucuz ve daha az DNA'ya ihtiyaç göstermektedir. Tek izogenik hatların kullanımıyla dayanıklılık genlerine ait DNA markörlerini geliştirmek için yapılan çalışmalarda kullanışlı oldukları kadar yeni çeşitler üzerinde de arzu edilen dayanıklılık genlerini birleştir-

mede ve piramitleştirmenin sağlanmasındaki faydaları ortaya çıkmaktadır (Chelkowski ve ark. 2003). Çalışma materyali olarak kullanılan duyarlı ticari çeşit ve dayanıklı tek gen test hattı DNA düzeyinde incelenmiştir. Çalışma, sarı pas hastalığına karşı markör geliştirme çalışmalarına kaynak teşkil edebilecek bir ön araştırma niteliğine sahip olmasının

yanında modern ıslah çalışmalarında SSR markörlerinin kullanımının sağlıklı sonuçlar elde edebilmek açısından önemini de ortaya koymuştur. Diğer taraftan yapılacak olan dayanıklılık ıslahı çalışmalarında kullanılacak olan moleküler markör yöntemlerinin gerekliliği ve faydaları vurgulanmaya çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

- Bariana H.S., 2001, Marker-Assisted selection for rust resistance in wheat in Australia: Meeting the challenge of yellow rust in cereal crops: Proceedings of the first regional conference on yellow rust in the central and west Asia and North Africa region, 8-14 may , Karaj, Iran.
- Chelkowski, J., Golka, L. and Stepien, L., 2003, Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. thatcher, *J. Appl. Genet.* 44(3):323-338.
- Demir, İ., Yüce, S., Bilgen, G., Tanyolaç, B. ve Akçali Can, R., 1999, Arpa, buğday ve mısır çeşitleri ve biber hatlarının RAPD markörleri ile tanımlanması üzerine bir araştırma, E.Ü. Araştırma Fonu Projesi, Proje No:98-ZRF/018/1, E.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümü, Bornova/İzmir, 29s
- Doyle J.J. and Doyle J.L., 1987, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissues, *Phytochemical Bulletin*, 19(1):11-15.
- Fahima, T., Röder, M.S., Grama A. and Nevo, E., 1998, Microsatellite DNA Polymorphism Divergence in *Triticum dicoccoides* Accessions Highly Resistant to Yellow Rust. *Theor. Appl. Genet.*, 96: 187-195.
- Gold, J., Harder, D., Townley-Smith, F., Aung T. and Procunier, J., 1999, Development of a Molecular Marker for Rust Resistance Genes *Sr39* and *Lr35* in Wheat Breeding Lines, *EJB Electronic Journal of Biotechnology* Vol:2, No:1, Issue of April 15.
- Gupta, R.B., Paul, J.G., Cornish, G.B., Palmer, G.A., Bekes, F., and Rathjen, A.J., 1994, Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties *J. Cereal Sci.* 19:9-17.
- Gupta, P. K., Balyan, H. S., Edwards, K. J., Isaac, P., Korzun, V., Röder, M., Gautier, M.-F., Joudrier, P., Schlatter, A. R., Dubcovsky, J., De la Pena, R. C., Khairallah, M., Penner, G., Hayden, M. J., Sharp, P., Keller, B., Wang, R. C. C., Hardouin, J. P., Jack, P. and Leroy, P., 2002, Genetic mapping of 66 microsatellite (SSR) loci in bread wheat, *Theor. Appl. Genet.* 105:413-422.
- Gupta, P., Varshney, R., Sharma, P. and Ramesh, B., 1999, Molecular markers and their applications in wheat breeding, *Plant Breed.* 118: 369-390.
- Roy, J.K. Bandopadhyay, R., Rustgi, S., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. 1991. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. Department of Plant Pathology, University of Minnesota, 495 Borlaug Hall, 1991 Upper Buford Circle, St. Paul, MN 55108, USA
- Korzun, V., 2002, Use of molecular markers in cereal breeding, *Cellular & Molecular Biology Letters* 7:811-820.
- Ma, J., R. Zhou, Y. Dong, L. Wang, X. Wang and J. Jia, 2001, Molecular Mapping and Detection of the Yellow Rust Resistance Gene *Yr26* in Wheat Transferred from *Triticum turgidum* L. Using Microsatellite Markers, *Euphytica* 120: 219-226, 2001.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T. G., Yano, M., Bhatia, C. R. and Sasaki, T., 1997, Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants, *Molecular Breeding* 3:87-103.
- Nei, M., and Li, W.H., 1979, Mathematical model for studying variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 76:5269-5273.
- Rohlf, F.J., 1998, *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0, User's Guide*. New York: Exeter Software.
- Röder, M. S., Korzun, V., Gill, B. S. and Ganal, M. W., 1998a, The physical mapping of microsatellites markers in wheat, *Genome* 41:278-283.
- Röder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.-H., Leroy, P., and Ganal, M.V., 1998b. A microsatellite map of wheat. *Genetics Society of America* 149: 2007-2023 August
- Staub, J.E. and Serquen, F.C., 1996, Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding, *Hort Science*, 31(5):729-740.
- Xia, X.C., Li, Z.F., Li, G.Q., He, Z.H. and Singh, R.P., 2007, Stripe Rust Resistance in Chinese Bread Wheat Cultivars and Lines, *Wheat Production in Stressed Environments*, 77-82.

- Xu, X., Bai, G., Carver, B. F., Shaner, G. E. and Hunger, R. M., 2005, Molecular characterization of slow leaf-rusting resistance in wheat, *Crop Sci.* 45:758-765.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001, Genetik markörler ve analiz metodları, 334-363, *Bitki Bitoteknolojisi II-Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, S.Özcan, E.Gürel ve M.Babaoğlu (Derl.), Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya, 456s.
- URL1 http://www.cdl.umn.edu/res_gene/wstr_loc.html Wheat Stripe Rust Resistance Genes: Source, Genome Location, Low Infection Type and Tester Lines. 2001, *Euphytica* 120:219-226.