



Araştırma Makalesi
(Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2021, 58 (4):523- 531
<https://doi.org/10.20289/zfdergi.836585>

Meltem EVİRGEN¹

Deniz İŞTİPLİLER¹

Muzaffer TOSUN¹

Hülya YILMAZ TEMEL²

Ferit TURANLI³

Fatma AYKUT TONK^{1*}

¹ Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 35100, İzmir/Türkiye

² Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 35100, İzmir/Türkiye

³ Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, İzmir/Türkiye

*İletişim (correspondence) e-posta:

fatma.aykut@ege.edu.tr

Anahtar kelimeler: buğday, Rus buğday afidi, *Diuraphis noxia*, SSR, ayrıntılı haritalama

Keywords: wheat, Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia*, SSR, fine mapping

Ekmeklik buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Rus buğday afidine dayanıklılık geninin ayrıntılı genetik haritalaması*

Fine Mapping of Russian Wheat Aphid Resistance Gene in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.)

* Bu makale birinci yazarın yüksek lisans tez çalışmasının sonuçlarından düzenlenmiştir.

Alınış (Received): 07.12.2020

Kabul Tarihi (Accepted): 31.03.2021

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı Rus buğday afidine dayanıklılık sağlayan *Dn100695* geninin bulunduğu 7D kromozomunu SSR markörleriyle ayrıntılı bir şekilde taramak ve dayanıklılık genini çevreleyen yeni SSR markörlerini belirlemektir.

Materyal ve Yöntem: Basribey x IG 100695 melezinin 190 bireyinden oluşan F₂ populasyonu haritalama amacıyla kullanılmıştır. Haritalama populasyonu daha önceki markörlere ilave olarak 7D kromozomunda bulunan 20 yeni SSR markörleri ile taranmıştır. Zararının popülasyondaki kloroz, kıvrılma ve afit yoğunluğu özellikleri fenotipik veriler olarak ele alınmıştır.

Araştırma Bulguları ve Sonuç: Çalışma sonucunda 85 polimorfik markör içerisinde 46'sı toplamda 1226.9 cM'lık bir genom bölgesini haritalandırmış ve 14 farklı bağlantı grubu oluşturmuştur. 7D kromozomu üzerinde dayanıklılık genini çevreleyen özgün bir SSR markörü (GWM121) belirlenmiş ve *Dn100695* genini her iki yönden çevreleyen markörler haritalanmıştır. Ayrıca markör regresyon analizi sonucunda Rus buğday afidi dayanıklılığına katkı sağlama potansiyeli bulunan SSR markörleri de saptanmıştır.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to screen the chromosome 7D with SSR markers and to identify unique markers surrounding the Russian wheat aphid resistance gene *Dn100695*.

Material and methods: The F₂ population consisting of 190 individuals of the Basribey x IG 100695 cross was used for mapping. The mapping population was screened with 20 SSR markers located on the 7D chromosome in addition to the previous markers. Chlorosis, rolling and aphid density characteristics of the pest in the population were considered as phenotypic data.

Results and conclusion: As a result of the study, 46 of the 85 polymorphic markers mapped a genome region of 1226.9 cM in total and formed 14 different linkage groups. A unique SSR marker (GWM121) flanking the resistance gene was identified on the 7D chromosome, and markers flanking the *Dn100695* gene from both directions were mapped. Additionally, as a result of the marker regression analysis, SSR markers that have the potential to contribute to Russian wheat aphid resistance were determined.

GİRİŞ

Buğday (*Triticum aestivum* L.), içerdiği vitaminler, mineraller, karbonhidratlar, lif ve diğer besin öğelerini nedeniyle tüm dünyada ve ülkemizde önemli bir yere sahiptir (Tonk ve ark., 2017). Buğday üretiminde çok sayıda hastalık ve zararlı önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Buğday zararlılarından olan afitler buğday üretim alanlarında oluşturdukları verim kayıplarından dolayı önemli bir yere sahiptir. Buğday afitleri arasında yer alan Rus buğday afidi [*Diuraphis noxia* Kurdj. (Hemiptera; Aphididae)]'nin, Rusya'nın güney kesiminde ortaya çıktığı ve daha sonra Avustralya dışındaki diğer ülkelere yayıldığı bildirilmektedir (Webster et al., 1987; Miller et al., 2001). Rus buğday afidi dünyadaki buğday üretim alanlarında olduğu gibi ülkemizde de zaman zaman epidemiy yaparak önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Ayrıca zararının ülkemizde bazı bölgelerde yılda 22-25 döl vermesi zararlı ile mücadeleyi daha da önemli kılmaktadır (Turanlı ve ark., 2014).

Rus buğday afidi floem özsuğu ile beslenmektedir (Fouche et al., 1984). Bitkide görülen tipik zararları yaprak kenarlarının ve başakların kıvrılması, yaprakta boyuna çizgilerin oluşması ve bitki ölümüdür (Quick et al., 1991). Bu semptomlarla bağlantılı olarak bitki boyunda, sürgün ağırlığında ve tane veriminde azalmalara neden olabilmektedir (Girma et al., 1993). Yapraklardaki kıvrılmalar nedeniyle kimyasal mücadele imkânsızlaşmaktadır. Zararının buğday veriminde neden olduğu kayba ek olarak mücadelesinde kullanılan insektisit maliyeti de göz önüne alınmaktadır. Bu nedenlerden dolayı zararlı ile mücadelede en etkili ve en çevreci seçenek olan dayanıklı çeşit kullanımı yapılan çalışmaların ana konusunu oluşturmaktadır.

D. noxia'ya dayanıklılık genleri *Dn* (*Dn1*, *Dn2*, *Dn3*, *Dn4*, *Dn5*, *Dn6*, *Dn7*, *Dn8*, *Dn9* ve *Dnx* gibi) kodlarıyla isimlendirilmektedir. Yapılan çalışmalarla bu genleri taşıyan dayanıklı çeşitlerin farklı *D. noxia* biyotiplerince zarara uğratıldıkları ve önemli kayıpların olduğu ortaya konulmuştur (Haley et al., 2004; Malinga et al., 2007; Lapitan et al., 2007). Amerika Birleşik Devletlerinde Biyotip 2 olarak tanımlanan bir biyotipin daha önce dayanıklı olarak bilinen buğday çeşitlerinde önemli zararlara neden olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle yeni dayanıklılık genlerinin araştırılması çalışmaları süreklilik ve hız kazanmıştır (Turanlı ve ark., 2014).

Ülkemizde Rus buğday afidine karşı yeni dayanıklılık genlerinin ve dayanıklılık mekanizmasının belirlendiği ve ülkemizde bulunan buğday çeşitlerinde var olan dayanıklılık genlerinin araştırıldığı kapsamlı bir çalışma tamamlanmıştır (Turanlı ve ark., 2014). Ayrıca bu çalışmada dayanıklılık sağlayan genin 7D kromozomunun kısa kolu üzerinde yer aldığı saptanmış ve buna ek bir çalışmayla da bu gen bölgesindeki SSR markörleri (GWM44, CFD14, CFD46, BARC126) belirlenmiştir (Tonk et al., 2016).

Bu çalışmanın amacı ise önceki araştırmaların sonucunda belirlenen Rus buğday afidine dayanıklılık geninin bulunduğu 7D kromozomunu, söz konusu çalışmalarda kullanılmayan çok sayıda SSR markörüyle daha ayrıntılı bir şekilde taramak ve dayanıklılık gen bölgesinde markör olarak kullanılabilecek yeni SSR markörlerini belirlemektir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmanın haritalama materyalini anne ebeveyn olarak kullanılan duyarlı Basribey çeşidi ile baba ebeveyn olarak seçilen ve dayanıklı olarak saptanan ICARDA kökenli IG 100695 hattı (FL302//BUC/PVN/3//RSK/CA8055//CHAM6) arasında yapılan melezlemenin 190 bireyden oluşan F_2 generasyonu oluşturmuştur.

Populasyonun Rus buğday afidi ile dayanıklılık testlemesi sera koşullarında bitkiler fide döneminde iken Haley et al. (2004)'ün belirttiği ayırtılma setiyle birlikte $F_{2:3}$ ailelerinde gerçekleştirilmiştir. Dayanıklılık testlerinde en virülent olduğu belirlenen İzmir populasyonu (Türkiye RWA2) kullanılmıştır. Her bir F_2 tek bitkisinden elde edilen 10-13 arasındaki F_3 bitkisi tek sıralar halinde yetiştirilmiş ve bitkiler 2-4 yapraklı dönemde iken her bir bitkiye 5 adet afit verilmiştir. Bulaştırmadan 28 gün sonra bitkilerde kloroz,

kıvrılma ve afit yoğunluğu özellikleri ölçümlenmiştir. Kloroz skala değeri 1-6, kıvrılma skala değeri 1-3 ve afit yoğunluğu skala değeri 0-3 arasında değişmiştir (Ennahli et al., 2009).

Ebeveynlerle birlikte F₂ generasyonunu oluşturan 190 adet bitki 15-20 cm boyuna geldiklerinde DNA ekstraksiyonu için yaprak örnekleri alınmış ve Doyle and Doyle (1987)'nin yöntemine göre mini DNA ekstraksiyon metodu kullanılarak DNA'ları elde edilmiştir. PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) bileşenleri Tonk et al. (2016)'nin uyguladığı yöntemle göre toplamda 10 µl hacimde olacak şekilde 50 ng/µl genomik DNA, 2 mM MgCl₂, 0.5 mM deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs), 1x PCR buffer, 0.5 U Taq DNA polimeraz ve 0.5 µM F ve R primerden oluşmuştur (Çakir et al. 2009). PZR'nda Turanlı ve ark. (2014) ve Tonk et al. (2016) tarafından haritalanmış SSR markörlerine ek olarak ayrıntılı haritalamada 7D kromozomunda bulunan toplam 20 adet SSR primeri kullanılmıştır (Çizelge 1). Primerlerin baz dizilişleri GrainGenes (2017) sayfasından elde edilmiştir. PZR, Bio-RadT100 Thermal Cycler cihazında ve Tonk et al. (2016)'nin protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri %8'lik poliakrilamid jelde, Protean II xi cell (Bio-rad) dikey elektroforez sisteminde sabit 90 V'da yaklaşık olarak 16 saat yürütülmüştür. Standart markör olarak 50 bp'lik DNA ladder (NEB) kullanılmıştır. Jeller ethidium bromide ile boyanmış ve UV transilluminator (BIO-VISION 1000) ile UV ışık altında görüntülenmiştir.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan SSR markörleri

Table 1. SSR markers used in the study

No	Markör	Forward	Reverse
1	CFD21	CCTCCATGTAGCGGAAATA	TGTGTCCCATCTACTAACC
2	WMC702*	GAATCATATCGAATGGATCTCA	GAGGCCTTTTCGATATTCTGC
3	GWM473	TCATACGGGTATGGTTGGAC	CACCCCTTGTGGTCCAC
4	BARC128*	GCGGGTAGCATTATGTTGA	CAAACCAGCAAGAGTCTGA
5	WMC653	AGTGTTTTAGGGGTGGAAGGGA	CGGAACCCTAAACCCTAGTCG
6	WMC182	GTATCTCAGGACATAACACAA	GAAAGTGTATGGATCATTAGGC
7	CFD2.1	GGTTGCAGTTTCCACCTTGT	CATCTATTGCCAAAATCGCA
8	WMC489	CGAAGGATTTGTGATGTGAGTA	GGACAACATCATAGAGAAGGAA
9	WMC630	ATAATGCACGGTAGGACTGAGG	CATACTGAGACAATTTGGGGGT
10	WMC473*	TCTGTTGCGCGAAACAGAATAG	CCCATTGGACAACACTTTCACC
11	CFD193*	GCTGCCGCTACTGTCTGTC	GGCACACTCACACACCACAC
12	WMC488*	AAAGCACAAACCAGTTATGCCAC	GAACCATAGTCACATATCACGAGG
13	BARC172	GCGAAATGTGATGGGGTTTATCTA	GCGATTTGATTTAACTTTAGCAGTGAG
14	GWM121*	TCCTCTACAAACAAACACAC	CTCGCAACTAGAGGTGTATG
15	WMC150*	CATTGATTGAACAGTTGAAGAA	CTCAAAGCAACAGAAAAGTAAA
16	BARC121	ACTGATCAGCAATGTCAACTGAA	CCGGTGTCTTTCCTAACGCTATG
17	WMC797*	CGAAACCCTAGATGAAGC	ACACAACCACAGGTGAGTTGTTCT
18	GWM111*	TCTGTAGGCTCTCTCCGACTG	ACCTGATCAGATCCCCTCG
19	BARC214*	CGCTTTCGGGACAGTGAAGGTGTAT	CGGTACGCGGAGGAGGAAGAAGG
20	CFD68*	TTTGCAGCATCACACGTTTT	AAAATTGTATCCCCCGTGGT

* Ebeveynlerde polimorfik olarak saptanan markörler

İncelenen tüm SSR primerleri kodominant yapı göstermiş ve bu nedenle F₂ bireyi ana bandına sahipse A (ana), baba bandına sahipse B (baba), her iki bandı da barındırıyorsa H (heterozigot) skorunu almıştır. Önceki çalışmalarda kullanılan primerlerle birlikte elde edilen veri matrixi JOINMAP version 4.0 programında (Van Ooijen, 2006) analiz edilmiş, primerlerin linkage grupları oluşturulmuştur. Haritaların oluşturulması ve incelenen fenotipik özelliklerle markörler arasındaki bağlantının ortaya konması için linkage haritaları ve QTL analizleri MAP QTL 6.0 (Van Ooijen, 2009) programında yapılmıştır. QTL analizlerinde Markör Regresyon Analizi ve Interval mapping metodları kullanılmıştır. Rekombinasyon frekansları Kosambi (Kosambi, 1944) haritalama fonksiyonuna dönüştürülmüş ve önemli QTL'lerin incelenen özelliklere bağlı olduğu belirtilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Moleküler haritalama çalışmaları sonucunda oluşturulan bağlantı grupları, her gruptaki markör sayısı ve grupların genetik uzunlukları (cM) Çizelge 2’de gösterilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde çalışmada kullanılan 85 polimorfik markör içerisinde 46’sı toplamda 1226.9 cM’lık bir genom bölgesini haritalandırmış ve 14 farklı bağlantı grubu oluşturmuştur. Ayrıca lokuslar arası ortalama uzaklık ise 26.67 cM olarak hesaplanmıştır. Ekmeklik buğdayda yapılmış genetik haritalama çalışmaları incelendiğinde Somers et al. (2004) tarafından toplamda 1235 SSR markörü kullanılarak 2569 cM’lık bir bölge haritalandırmış ve iki lokus arası ortalama uzaklık 2.2 cM bulunmuştur. Bir diğer çalışmada A ve B genomu üzerinde toplam 1898 lokus haritalandırılmış, toplam harita uzunluğu ve marköler arası ortalama mesafe ise sırasıyla 3058.6 ve 1.6 cM olarak saptanmıştır (Marone et al., 2012). Bu sonuçlardan kullanılan polimorfik markör sayısının, haritalandırılan bölgenin uzunluğu ve haritanın çözünürlüğü ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmada belirlenen birinci bağlantı grubu (BG1) 365.9 cM’lık uzunluğu ile en uzun bağlantı grubu olup haritalandırılan markörlerin %15’i (7 adet) bu grup içerisinde yer almaktadır. Toplam markör sayısının %10.7’sini (5 adet) içerisinde bulunduran BG9 187.2 cM’lık genetik uzunluğu ile BG1’i takip etmektedir. En az markör sayısına sahip (2 adet) BG4, BG6, BG8, BG13 ve BG14 gruplarının genetik uzunlukları sırası ile 29.9, 11.3, 31.5, 12.5 ve 22.5 cM’dır. Haritalandırılan tüm genom bölgesinde iki markör arası ortalama uzaklık 26.67 cM olarak hesaplanırken, en fazla marköre sahip olan BG1 için iki markör arası ortalama uzaklık 52.27 cM olarak bulunmuştur. Bu çalışmada kullanılan markörler ile oluşturulmuş olan bağlantı grupları (Şekil 1) Somers et al. (2004) tarafından oluşturulmuş genetik haritalama ile uyumluluk göstermiştir.

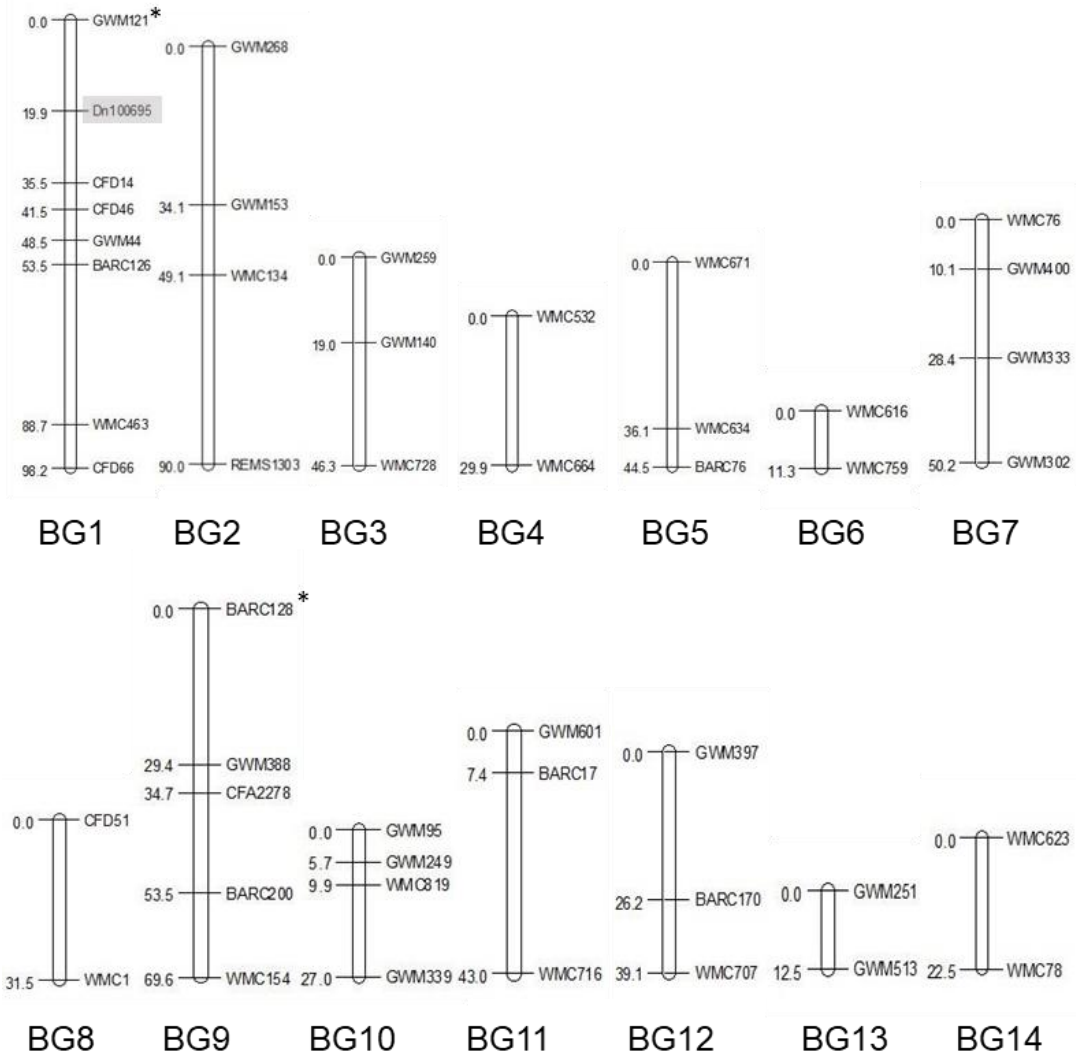
Çizelge 2. F_2 Populasyonunda incelenen polimorfik SSR markörlerinin bağlantı gruplarına göre dağılımları

Table 2. Distribution of polymorphic SSR markers used in F_2 population on different linkage groups

Bağlantı Grubu (LG)	Uzunluk (cM)	Markör Sayısı	İki Markör Arası Ortalama Uzaklık (cM)
BG1	365.9	7 (%15.22)	52.27
BG2	173.2	4 (%8.7)	43.3
BG3	65.3	3 (%6.4)	21.77
BG4	29.9	2 (%4.2)	14.95
BG5	80.6	3 (%6.4)	28.87
BG6	11.3	2 (%4.2)	5.65
BG7	88.7	4 (%8.7)	22.18
BG8	31.5	2 (%4.2)	15.75
BG9	187.2	5 (%10.7)	37.44
BG10	42.6	4 (%8.7)	10.65
BG11	50.4	3 (%6.4)	16.8
BG12	65.3	3 (%6.4)	21.77
BG13	12.5	2 (%4.2)	6.25
BG14	22.5	2 (%4.2)	11.25
Toplam	1226.9	46	26.67

Rus buğday afidine hassas olan Basribey çeşidi ile dayanıklılık geni taşıyan IG 100695 no’lu hattın melezinin F_2 generasyonunda Turanlı ve ark. (2014) tarafından haritalandırılmış olan SSR markörleri ve bu markörlere ek olarak bu çalışmada haritalandırılan markörlerin yer aldığı bağlantı grupları Şekil 1’de verilmiştir. Ayrıntılı haritalama için kullanılan 11 polimorfik SSR marköründen 2 tanesi (GWM121 ve BARC128) Turanlı ve ark. (2014) tarafından oluşturulmuş olan bağlantı haritasına eklenmiştir (Şekil 1.). Eklenen markörlerden BARC128 BG9’a dahil olurken, GWM121 BG1 içerisinde ve Tonk et al. (2016) tarafından belirlenen RWA dayanıklılık geni *Dn100695*’i çevreleyen bir bölgede haritalandırılmıştır (Şekil 1.). Liu et al. (2009) QTL çalışmalarında bir geni çevreleyen komşu markörlerin belirlenmesinin bitki ıslahı programlarında markör destekli seleksiyonun kullanım etkinliğini arttırdığını bildirmişlerdir. Bunun yanında

bir QTL'i çevreleyen markörlerin, gene 1 cM'dan daha kısa bir genetik uzaklıkta bulunması durumunda MAS'ın etkin olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Landjeva et al., 2007; Tolmay et al., 2020). Bu çalışmada *Dn100695* genine komşu markörler GWM121 ve CFD14, dayanıklılık genine sırasıyla 19.9 ve 15.6 cM uzaklıktadır (Şekil 1). Çalışmada elde edilen en yüksek markör sayısına (7 adet) sahip olan ve *Dn100695* RWA dayanıklılık genini içeren BG1 grubundaki markörler ekmeklik buğdayda 7D kromozomu üzerinde bulunmaktadır (Somers vd., 2004). Dayanıklılık ile ilişkili genler genellikle belirli kromozom bölgeleri üzerinde yoğunlaşmaktadır (Keller et al., 2000). Buğdayda 7. kromozom üzerinde bir RWA dayanıklılık geni (*Dn*) kümesinin bulunduğu ve içerisinde *Dn1*, *Dn2*, *Dn5*, *Dn6*, *Dnx* ve 4 tane daha karakterize edilmemiş dayanıklılık geni bulunduğu bildirilmiştir (Liu et al., 2005; Tonk et al., 2016). Bugüne kadar 7D kromozomu üzerinde RWA dayanıklılığıyla ilişkili olarak GWM111 (Liu et al., 2005; Valdez et al., 2012), GWM437, GWM44 (Miller et al., 2001; Liu et al., 2002) ve GWM635 (Liu et al., 2001) markörleri belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen dayanıklılık geni ve dayanıklılık ile ilişkili markörlerin çoğunluğunun 7 nolu kromozom üzerinde bulunması (Şekil 1, Çizelge 3) önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.



Şekil 1. 46 SSR markörü ile oluşturulan bağlantı grupları. *: Ayrıntılı haritalama sonucunda belirlenen markörler.

Figure 1. The linkage groups consisting of 46 SSR markers. *: The markers obtained from fine mapping

Çalışmada kullanılan ve ebeveynler (Basribey ve IG 100695) arasında polimorfik olarak saptanmış olan 85 markörün fenotipik veriler ile ilişkilerinin belirlenmesi için markör regresyon analizi yapılmış ve afid uygulaması altında ölçümlenmiş 3 farklı karaktere (kloroz, kıvrılma, afid yoğunluğu) ait sonuçlar Çizelge 3’de gösterilmiştir. Ölçümlenen 3 farklı özellik için toplam 19 fenotip - markör ilişkisi tespit edilmiş ve markörlerin LOD skorları 1.81 ile 19.81 arasında değişkenlik göstermiştir. LOD değeri QTL analizi sırasında bağlantı haritası üzerindeki birçok pozisyonda hesaplanan test istatistiği olarak tanımlanmaktadır (Van Ooijen, 1999). Farklı çalışmalarda, bir özellik için belirlenen markörün önemliliğinin test edilmesi için farklı LOD eşikleri önerilmiştir. Van Ooijen (1999) F_2 populasyonlarında belirlenen bir markörün en az 2.7 LOD değerine sahip olması gerektiğini önerirken, Kumar et al. (2006) bu eşiğin 3 olması gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışmada karakterler ile ilişkili bulunan markörlerden 8 tanesinin LOD değeri 2.7’nin üzerindeyken, geri kalan 11 markör 2.7’nin altında LOD değerine sahip olmuştur.

Çizelge 3. İncelenen özelliklerin markör regresyon analizi sonuçları

Table 3. Marker regression analysis results of investigated traits

	Markör	Bağlantı Grubu (BG)	R^2	LOD
Kloroz	CFD14	BG1	7	2.99
	CFD46	BG1	5.3	2.26
	WMC463	BG1	4.5	1.89
	WMC702	Bağımsız	4.4	1.88
	BARC126	BG1	4.4	1.84
	WMC112	BG8	4.4	1.84
	WMC150	Bağımsız	4.3	1.81
Kıvrılma	CFD14	BG1	38.1	19.81
	CFD46	BG1	35.9	18.36
	GWM44	BG1	29.3	14.31
	BARC126	BG1	21	9.74
	WMC702	Bağımsız	16.7	7.54
	GWM121	BG1	7.1	3.06
	GWM388	BG9	5.9	2.53
	WMC463	BG1	5.3	2.26
	BARC214	Bağımsız	4.6	1.93
Afid Yoğunluğu	WMC407	Bağımsız	6.4	2.72
	CFD49	Bağımsız	5.4	2.28
	WMC463	BG1	4.6	1.96

Çalışmada kullanılan markörlerden 7 tanesi kloroz ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 3.). BG1 grubunda bulunan CFD14 markörünün analize alınan markörler içerisinde kloroz ile en yüksek ilişkili markör olduğu belirlenmiş olup bu markör için R^2 değeri 7 ve LOD skoru 2.99 olarak tespit edilmiştir. Yine BG1’de bulunan CFD46 ($R^2 = 5.3$, LOD = 2.26) ve WMC463 ($R^2 = 4.5$, LOD = 1.89) markörleri ise CFD14’ün ardından kloroz ile ilişkili olarak bulunan diğer markörler olmuşlardır. Herhangi bir bağlantı

grubunda yer almayan WMC150 markörü ise kloroz ile en az ilişkili markör olarak tespit edilmiş olup bu marköre ait R^2 ve LOD değerleri sırasıyla 4.3 ve 1.81 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.). Joukhadar et al. (2013) buğdayın 7D kromozomu üzerindeki wPt-3018 (7DL), wPt-3291 (7DL) ve wPt-665471 (7DS) markörlerinin kloroz karakteri ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada kloroz karakteri ile ilişkili olarak saptanan 7 markörden 4'ü BG1 yani 7D kromozomu üzerinde tespit edilmiştir ve sonuçlar Joukhadar et al. (2013) ile paralellik göstermektedir.

Kıvrılma karakterine ait markör regresyon analizi sonuçlarına göre bu karakter ile ilişkili toplam 9 farklı SSR markörü tespit edilmiş ve BG1 grubunda yer alan CFD14 ($R^2 = 38.1$, LOD = 19.81) bu karakter ile en yüksek ilişkili SSR markörü olarak tespit edilmiştir. Yine BG1 içerisindeki CFD46 ($R^2 = 35.9$, LOD = 18.36) ve GWM44 ($R^2 = 29.3$, LOD = 14.31) markörleri CFD14'ün ardından bitkide afid etkisiyle meydana gelen kıvrılma ile ilişkili olarak tespit edilen diğer markörler olmuşlardır. Bu çalışmada belirlenen GWM44 markörü farklı araştırmalar sonucunda da RWA'ya dayanıklılık ile ilişkili olarak saptanmıştır (Liu et al., 2002; Liu et al., 2005; Castro et al., 2005; Heyns et al., 2006). Kıvrılma karakteri üzerine etkisi en düşük olan markör hiçbir bağlantı grubunda yer almayan BARC124 ($R^2 = 4.6$, LOD = 1.93)'dür (Çizelge 3.). Rus buğday afidine dayanıklılık ile ilişkili markörleri bulmayı amaçlayan bir başka araştırmada 7DS kromozomu üzerindeki wPt-733729 markörünün yaprak kıvrılması ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Joukhadar et al., 2013).

RWA epidemisi sırasındaki afid yoğunluğunun bitki genotiplerine, mevsimlere ve epideminin şiddetine göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Cockrell et al., 2020). Afid yoğunluğu için markör regresyon analiz sonuçları incelendiğinde çalışmada analiz edilen markörlerden yalnızca 3 tanesi bu karakter ile ilişkili bulunmuş olup hiçbir bağlantı grubu içerisinde yer almayan WMC407 ($R^2 = 6.4$, LOD = 2.72) bu karakter üzerine etkisi en yüksek markör olarak tespit edilmiştir. Yine bağımsız CFD49 markörü ise $R^2 = 5.4$ ve LOD = 2.28 değerleri ile WMC407'nin ardından afid yoğunluğunu etkileyen diğer SSR markörü olarak tespit edilmiştir. BG1 içerisinde yer alan WMC463 ($R^2 = 4.6$, LOD = 1.96) markörü ise bu karakterle en az ilişkili SSR markörü olarak belirlenmiştir (Çizelge 3).

SONUÇ

Bu araştırmada Basribey x IG 100695 melez populasyonunda Tonk et al. (2016) tarafından haritalandırılmış olan *Dn 100695* Rus buğday afidine dayanıklılık geninin bulunduğu buğday 7D kromozomunun ayrıntılı genetik haritalaması yapılmış ve söz konusu dayanıklılık genini çevreleyen özgün bir SSR markörü (GWM121) belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *Dn 100695* genini her iki yönden çevreleyen markörler haritalanmıştır. Belirlenen bu markörlerin gene olan uzaklıkları dikkate alındığında ilerideki çalışmalarda bu gene daha yakın markörlerin araştırılması önerilebilir. Ayrıca markör regresyon analizi sonucunda Rus buğday afidi dayanıklılığına katkı sağlama potansiyeli bulunan SSR markörleri de bu çalışma sonucunda araştırmacıların bilgisine sunulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje NO:117 O 049) ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje NO: 2015-ZRF-050) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Castro, A.M., A. Vasicek, M. Manifiesto, D.O. Giménez, M.S. Tacaliti, O. Dobrovolskaya, M.S. Röder, J.W. Snape and A. Börner. 2005. Mapping antixenosis genes on chromosome 6A of wheat to greenbug and to a new biotype of Russian wheat aphid. *Plant Breeding*, 124(3):229-233.
- Cockrell, D.M., T.L. Randolph, C.B. Walker, R. Sitz, S.D. Haley and F.B. Peairs. 2020. Damage and yield response of wheat lines with *Dn4* and *Dn7* genes resistant to Russian wheat aphid biotype RWA2. *Southwestern Entomologist*, 45(2):369-380.

- Çakir, M., J. Vitou, D. Kollehn, W. Lawson, H. Ilbi, S. Haley, F. Peairs, D. Mornhinweg, M. Bohssini, F. Ogbonnaya, J. Lage, V. Tolmay, J. Malinga, O. Edwards, M. Christopher, A.M. Castro, J. Franckowiak, H. Kuchel, B. Jacobs, I. Barclay, and J. Sheppard. 2009. "A Global Effort in Breeding for Resistance to Russian Wheat Aphid in Wheat and Barley", Proc. of 19th, International Triticeae Mapping Initiative–3rd COST Tritigen, Clermont-Ferrand-France, p. 38.
- Doyle, J.J., J.L. Doyle. 1987. A Rapid DNA Isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.
- Ennahli, S., M. El Bouhssini, S. Grando, R. Anathakrishnan, T. Niide, L. Starkus, S. Starkey and C.M. Smith. 2009. Comparison of categories of resistance in wheat and barley genotypes against biotype 2 of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov). *Arthropod-Plant Interactions*, 3:45-53.
- Fouche, A., R.L. Verhoeven, P.H. Hewitt, M.C. Walters, C.F. Kriel and J. De Jager. 1984. Russian aphid (*Diuraphis noxia*) feeding damage on wheat, related cereals and a *Bromus* grass species. Progress in Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia* Mordw.) research in the Republic of South Africa. M. C. Walters. Bloemfontein, Technical Communication Department of Agriculture Republic of South Africa, 191, 22-23.
- Girma, M., G.E. Wilde and T.L. Harvey. 1993. Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) affects yield and quality of wheat. *Journal of Economic Entomology*, 86:594-601.
- GrainGenes, 2017: GrainGenes 2.0: A Database for Triticeae and Avena. USDA-ARS, Washington, DC. Available at: <http://wheat.pw.usda.gov/cgi-bin/graingenes/browse.cgi?class=marker> Erişim Mayıs 2017.
- Haley, S.D., F.B. Pearis, C.B. Walker, J.B. Rudolph, T.L. Randolph. 2004. Occurrence of a New Russian Wheat Aphid Biotype in Colorado. *Crop Science*, 44:1589-92.
- Heyns, I., E. Groenewald, F. Marais, F. Du Toit and V. Tolmay. 2006. Chromosomal location of the Russian wheat aphid resistance gene, Dn5. *Crop Science*, 46(2):630-636.
- Joukhadar, R., M. El-Bouhssini, A. Jighly and F.C. Ogbonnaya. 2013. Genome-wide association mapping for five major pest resistances in wheat. *Molecular Breeding*, 32(4):943-960.
- Keller, B., C. Feuillet and M. Messmer. 2000. Genetics of disease resistance. In *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*. Springer, Dordrecht, pp 101-160.
- Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics*, 12:172-5.
- Kumar, N., P.L. Kulwal, A. Gaur, A.K. Tyagi, J.P. Khurana, P. Khurana, H.S. Balyan and P.K. Gupta. 2006. QTL analysis for grain weight in common wheat. *Euphytica*, 151(2): 135-144.
- Landjeva, S., V. Korzun and A. Börner. 2007. Molecular markers: Actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. *Euphytica*, 156(3):271-296.
- Lapitan, N.L.V., J.H. Peng and V. Sharma. 2007. A high-density map and PCR markers for Russian wheat aphid resistance gene Dn7 on chromosome 1RS/1BL. *Crop Science*, 47:811-820.
- Liu, S., M.D. Hall, C.A. Griffey and A.L. McKendry. 2009. Meta-Analysis of QTL associated with fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Science*, 49(6):1955–1968.
- Liu, X.M., C.M. Smith and B.S. Gill. 2002. Identification of microsatellite markers linked to Russian wheat aphid resistance genes Dn4 and Dn6. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6-7):1042-1048.
- Liu, X.M., C.M. Smith, B.R. Friebe and B.S. Gill. 2005. Molecular mapping and allelic relationships of Russian wheat aphid-resistance genes. *Crop Science*, 45(6):2273-2280.
- Liu, X.M., C.M. Smith, B.S. Gill and V. Tolmay. 2001. Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(4):504-510.
- Malinga, J.N., M.G. Kinyua, A.W. Kamau, J.K. Wanjama, J.O. Awalla and R.S. Pathak. 2007. Biotypic and genetic variation within tropical populations of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae) in Kenya. *Journal of Entomology*, 4(5):350- 61.
- Marone, D., G. Laidò, A. Gadaleta, P. Colasuonno, D.B.M. Ficco, A. Giancaspro, S. Giove, G. Panio, M.A. Russo, P. De Vita, L. Cattivelli, R. Papa, A. Blanco, A.M. Mastrangelo. 2012. A high-density consensus map of A and B wheat genomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(8):1619-1638.
- Miller, C.A., A. Altinkut and N.L.V. Lapitan. 2001. A microsatellite marker for tagging Dn2, a wheat gene conferring resistance to the Russian wheat aphid. *Crop Science*, 41(5):1584-1589.

- Quick, J. S., K.K. Nkongolo, W. Meyer, F.B. Peairs and B. Weaver. 1991. Russian wheat aphid reaction and agronomic and quality traits of a resistant wheat. *Crop Science*, 31:50-53.
- Somers, D.J., P. Isaac and K. Edwards. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109(6):1105-1114.
- Tolmay, V.L., S.L. Sydenham, T.N. Sikhakhane, B.N. Nhlapho and T.J. Tsilo. 2020. Elusive diagnostic markers for Russian wheat aphid resistance in bread wheat: Deliberating and reviewing the status quo. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21):8271.
- Tonk, F.A., D. İştıpliler ve M. Tosun. 2017. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) genotiplerinde özellikler arası ilişkiler ve path analizi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(1):85-89.
- Tonk, F.A., D. İştıpliler, M. Tosun, F. Turanlı, H. İlbi and M. Çakir. 2016. Genetic mapping and inheritance of Russian wheat aphid resistance gene in accession IG 100695. *Plant Breeding*, 135(1):21–25.
- Turanlı, F., M. Tosun, E. İlker, A.H. Sekmen ve F.A. Tonk. 2014. Rus Buğday Afidi (*Diuraphis noxia* Homoptera:Aphididae)'ne Dayanıklı Buğday Çeşitlerimizin ve Dayanıklılık Mekanizmalarının Saptanması'. TÜBİTAK, Proje no: 110 0 636, Ankara.
- Valdez, V.A., P.F. Byrne, N.L.V. Lapitan, F.B. Peairs, A. Bernardo, G. Bai and S.D. Haley. 2012. Inheritance and genetic mapping of Russian wheat aphid resistance in Iranian wheat landrace accession PI 626580. *Crop Science*, 52(2):676-682.
- Van Ooijen, J.W. 1999. LOD significance thresholds for QTL analysis in experimental populations of diploid species. *Heredity*, 83(5):613-624.
- Van Ooijen, J.W. 2006. JoinMap 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma BV, Wageningen, the Netherlands.
- Van Ooijen, J.W. 2009. MapQTL 6, software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Kyazma BW, Wageningen, the Netherlands.
- Webster, J.A., K.J. Starks and R.L. Burton. 1987. Plant resistance studies with *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae), a new United States wheat pest. *Journal of Economic Entomology*, 80:944-949.