



**BAZI MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNİN  
MAKARNA KALİTESİ BAKIMINDAN ISLAHI**

**Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**Doktora Tezi  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM  
2010**

**Her hakkı saklıdır.**

**T.C.  
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**BAZI MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNİN MAKARNA  
KALİTESİ BAKIMINDAN ISLAHI**

**Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**TOKAT  
2010**

**Her hakkı saklıdır.**

Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM danışmanlığında, Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 20/08/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Cemalettin Yaşar ÇİFTÇİ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM

İmza :

Üye : Doç. Dr. Nejdet KANDEMİR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Mehmet Ali SAKİN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Abdulvahit SAYASLAN

İmza :

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

  
Prof. Dr. Metin YILDIRIM  
Enstitü Müdürü  
20/08/2010  


## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

## ÖZET

Doktora Tezi

### BAZI MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNİN MAKARNA KALİTESİ BAKIMINDAN ISLAHI

Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM

Türkiye yüksek kaliteli makarnalık buğday üretebilecek uygun ekolojiye sahip olmasına rağmen makarna sanayinin istediği kalitede ürünün yeterli miktarda üretilmemesi nedeniyle son yıllarda makarnalık buğday ithal edilmektedir. Kaliteli makarnalık buğday ihtiyacının karşılanabilmesi için Türk makarnalık buğday çeşitlerinin modern ıslah yöntemleri kullanılarak verimlerini olumsuz yönde etkilemeden kalitelerinin artırılması gerekmektedir.

Bu çalışma ile makarna kalitesini doğrudan etkileyen önemli kalite genleri ( $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin) dört adet tescilli Türk makarnalık buğday çeşidine (Sarıçanak-98, Salihli-92, Kızıltan-91 ve Selçuklu-97) geri melezleme ıslahı yöntemi ile aktarılmıştır. Çalışmada tekrarlanan anaç olarak makarnalık kalitesi yüksek olan Kanada çeşidi Kyle kullanılmıştır. Melezlemeler sonucu elde edilen her bir F1 ve geri melez (GM) bitkisi, kendi tekrarlanan anacı ile üç kez geriye melezlenmiş ve her bir generasyonda hedeflenen QTL bölgelerini taşıyan geri melez bitkileri markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi ile seçilmiştir. MAS yöntemi embriyo kültürü ve kontrollü sera koşullarında hızlı bitki yetiştirme teknikleri ile kombine edilerek uygulanmıştır. Makarna kalitesini doğrudan etkileyen bu gen bölgelerinin saptanması ve aktarılması işlemlerinde moleküler DNA markörleri (SSR, STS ve GAG) ile A-PAGE ve SDS-PAGE yöntemleri kombine bir şekilde kullanılmıştır.  $\gamma$ -gliadin 45'in seleksiyonu için A-PAGE, LMW-2 glutenin'in seleksiyonunda SDS-PAGE ve her iki bölgenin seleksiyonunda dört adet SSR primeri (Xgwm550, Xgwm608, Stm553actc, Stm542acag), bir adet STS primeri ve bir adet GAG5-6 primeri alternatifli veya kombinasyon halinde hep birlikte kullanılmıştır. Heterozigot GM3F1 bitkileri kendilenerik GM3F2 generasyonu elde edilmiştir. GM3F2 bitkilerinden homozigot olanların tohumları kendilenmiş ve elde edilen GM3F3 tohumları kendilenerik tarlada çoğaltılmıştır. Durulmuş geri melez ıslah hatları (GM3F4) ile anaç bitkilerin tohumlarında kalite analizleri gerçekleştirilerek aktarılan QTL bölgelerinin kalite üzerindeki etkileri saptanmıştır. Birbiriyle bağlantılı olan  $\gamma$ -gliadin 45 içeren *Gli-B1* ve LMW-2 glutenin içeren *Glu-B3* lokuslarının aynı melezleme programında beraberce yeni çeşit adaylarına aktarılması kalitede artış sağlamıştır. Sonuçta klasik ıslah yaklaşımında yaklaşık altı yıl sürececek bir süreç üç yılda tamamlanarak % 50'lik bir zaman tasarrufu sağlanmış ve üstün kaliteli çeşit adayları elde edilmiştir.

2010, 119 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Makarnalık Buğday, *Triticum durum*, Geri Melezleme Islahı,  $\gamma$ -Gliadin 45, LMW-2 Glutenin, A-PAGE, SDS-PAGE, SSR.

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### BREEDING OF SOME DURUM WHEAT CULTIVARS FOR PASTA QUALITY

Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Gaziosmanpasa University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM

Although Turkey has suitable ecology for generating high quality durum wheat, it has imported durum wheat in recent years. The most important reason is the demand of quality product of pasta industry which is not supplied in sufficient quantities. Therefore, end use quality of the Turkish durum wheat varieties must be increased using the modern breeding methods without adversely affecting their yields.

In this study, important genes ( $\gamma$ -gliadin 45 and LMW-2 glutenin) affecting the quality of pasta were transferred to four Turkish durum wheat varieties, (Sarıçanak-98, Salihli-92, Kızıltan-91 and Selçuklu-97), in a backcross breeding method. A Canadian durum wheat cultivar Kyle, with a high quality, was used as the donor parent. Each of F1 and backcross (BC) plants was backcrossed three times to the recurrent parent and in all of the generations, backcrossed plants carrying the targeted QTLs were selected by marker assisted selection (MAS). MAS method was employed in combination with embryo culture and rapid plant growth in a controlled greenhouse conditions. In identifying and transferring processes of the gene regions, molecular DNA markers (SSR, STS and GAG) were employed with A-PAGE and SDS-PAGE methods. A-PAGE was used for selection of  $\gamma$ -gliadin 45, SDS-PAGE was used for selection of LMW-2 glutenins, and four SSR primers (Xgwm550, Xgwm608, Stm553actc, Stm542acag), one STS primer and one PCR primer (GAG5-6) were used for selection of  $\gamma$ -gliadin 45 and LMW-2 glutenins either all together or alternatively. Heterozygous BC3F1 plants were selfed to generate BC3F2 plants. In BC3F2 plants, homozygous ones were selfed and obtained seeds of BC3F3 were increased by selfing in field. Quality analysis performed on the seeds of inbred backcross lines (BC3F4) and parent plants, so effects on the quality of the transferred QTL region were determined. Transferring of *Gli-B1* locus containing  $\gamma$ -gliadin 45 and *Glu-B3* locus containing LMW-2 glutenin to new candidate varieties together in the same breeding program was provided raise in pasta quality. As a result, the study was completed in three years instead of six years required in a classical backcross breeding study, meaning about 50 % time saving, and was obtained high quality candidate varieties.

2010, 119 pages

**Key words:** Durum Wheat, *Triticum durum*, Backcross Breeding,  $\gamma$ -Gliadin 45, LMW-2 Glutenin, A-PAGE, SDS-PAGE, SSR.

## TEŞEKKÜR

Doktora ve yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve birikimleriyle çalışmalarına yön veren, eğitim hayatıma farklı bir bakış açısı kazandıran, deneyimlerini benimle paylaşarak kendimi geliştirme olanağı sağlayan, kendine has kişiliği ile farklılığını ortaya koyan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM'a, lisansüstü eğitimim boyunca yalnızca bilgi olarak değil aynı zamanda hayata dair öğrettikleriyle de her zaman yolumu aydınlatan, anlayışla ve olumlu yönlendirmeleriyle uzaktayken bile yanımda olan, insanın ruhunu dinlendiren konuşmalarıyla her daim hatırımda kalacak olan değerli hocam Prof. Dr. Sabri GÖKMEN'e, laboratuvar tekniklerini öğrenmemde büyük katkısı olan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, zaman zaman bilimin sert yüzünü gösteren, ancak yeri geldiğinde sıcak gülümsemesiyle yüreğimizi ısıtan değerli hocam ikinci danışmanım Doç. Dr. Nejdet KANDEMİR'e, tez çalışmamın özellikle kalite analizi kısmında kendi alanında bilgi, birikim ve görüşlerini paylaşan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Abdulvahit SAYASLAN'a, sera ve arazi çalışmalarıyla ilgili sorduğum sorulara sabırla cevap veren ve bilgilerini paylaşan, tez yazımında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehmet Ali SAKİN'e, iş ve mesai saatlerinin her anını birlikte geçirdiğim, sıkıcı ve zor işlerde bile neşe ile çalıştığım, tek bakışla anlaşabildiğim sevgili arkadaşım manevi kardeşim Arş. Gör. Tuğba ESERKAYA GÜLEÇ'e, tezimdaki A-PAGE ve SDS-PAGE metotlarının son şeklini almasında katkısı olan ve kalite analizlerini yapmamda yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Mehmet KOYUNCU'ya, sera ve laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Ümmühan YÖNDEMLİ, Buğra ERDEM ve Ruveyda ALTUNTAŞ'a, arazi çalışmaları sırasında yağmur altında ıslanmalarına rağmen büyük gayret ve emeklerini esirgemeyen Arş. Gör. Ahmet KINAY ve Arş. Gör. İbrahim SAYGILI'ya, hayatımın her safhasında yanımda olup, attığım her adımda desteklerini, anlayış ve sevgilerini eksik etmeyen değerli aileme, doktora eğitimim süresince Tokat Ankara yollarını aşındıran, her ihtiyacım olduğunda yanımıza gelen sevgili anneme, lisansüstü eğitimim boyunca her konuda yardımcı ve destekçim olan, tüm enerjisi ve sabrıyla kızıma ve bana yardımcı olan, yaşamı birlikte göğüslediğim sevgili eşim Savaş SÖNMEZOĞLU'na, doktora eğitimimin yoğun zamanında dünyaya gözlerini açan, henüz minicik olmasına rağmen onun küçücük yüreğine sığınarak anlayış beklediğim ve sabırla annesinin eve dönmesini bekleyen, zaman zaman yorgunluğuma yorgunluk katan, ancak sevgisiyle başardığıma inandığım tez çalışmamda aslında hem engelim hem de en büyük desteğim olan biricğim küçük kızım İpek SÖNMEZOĞLU'na teşekkür ederim.

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 107O004 numaralı araştırma projesi kapsamında yürütülmüş ve 2008/43 numaralı proje kapsamında BAP tarafından desteklenmiştir. Doktora eğitimim süresince Yurt İçi Doktora Bursu ile beni destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na teşekkür ederim.

**Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**  
**Ağustos, 2010**

## SİMGE ve KISALTMALAR

<b>Simges</b>	<b>Açıklama</b>
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
$\omega$	Omega
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
A	Adenin
C	Sitozin
cm	Santimetre
cM	Cantimorgan
dH <sub>2</sub> O	Distile Su
dk	Dakika
FeSO <sub>4</sub>	Demir Sülfat
gr	Gram
G	Guanin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidroklorik asit
K	Potasyum
kb	Kilo Baz Çifti
kDa	Kilo Dalton
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
ng	Nanogram
nM	Nanomolar
pH	Hidrojenin Gücü (Power of Hydrogen)
RNase	Ribonuclease A
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı (Revolution per minute)
T	Timin
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{l}$	Mikrolitre



<b>Kısaltma</b>	<b>Açıklama</b>
AFLP	Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı (Amplified Fragment Length Polymorphism)
A-PAGE	Asidik Poliakrilamid Jel Elektroföresi
APS	Ammonium Persulfate
BME	Beta Mercapto Etanol
CTAB	Cetyhrimetilamoniumbromide
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EU	Enzim Aktivitesi
FAO	Food and Agriculture Organization
Gli-B1	Gliadin-B1 Lokusu
Glu-B3	Glutenin-B3 Lokusu
GM	Geri Melez
HMW	Yüksek Molekül Ağırlıklı (High Molecular Weight)
LMW	Düşük Moleküler Ağırlıklı (Low Molecular Weight)
LOX	Lipoksijenaz/Lipoksidaz
MAS	Markör Destekli Seleksiyon
POD	Peroksidaz
PPO	Polifenol Oksidaz
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QTL	Kantitatif Karakter Lokusu (Quantitative Trait Locus)
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı (Randomly Amplified Polymorphic DNA)
RFLP	Kesilmiş Parçaların Uzunluk Farklılığı (Restriction Fragment Length Polymorphism)
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroföresi
SSR	Basit Dizi Tekrarı /Mikrosatelit (Simple Sequence Repeat)
Stm	Sequence Tagged Microsatellite
STS	Dizisi Etiketlenmiş Alanlar (Sequence Tagged Site)
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TCA	Trikloroasetik Asit
TE	Tris EDTA (Tampon Çözelti)
TEMED	Tetramethylethylenediamine
Tris	Trizma Base
Tris-HCl	Trizma Hidroklorür
Xgwm	Gatersleben Wheat Microsatellite
Xwmc	Wheat Microsatellite Consortium

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	iv
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	4
<b>2.1. Makarnalık Buğday Üretimi ve Önemi</b> .....	4
<b>2.2. Makarnalık Buğdayda Kalite ve Kaliteyi Etkileyen Faktörler</b> .....	6
<b>2.3. Makarnalık Buğdayda Kalite Islahı</b> .....	12
<b>2.4. Geri Melezleme Islahı</b> .....	14
<b>2.5. Markör Destekli Seleksiyon</b> .....	15
<b>2.5.1. Moleküler Markörler</b> .....	18
<b>2.5.2. Protein Markörleri</b> .....	22
<b>2.6. Embriyo Kültürü</b> .....	25
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	28
<b>3.1. Materyal</b> .....	28
<b>3.2. Yöntem</b> .....	29
<b>3.2.1. DNA İzolasyonu ve Markör Taramaları</b> .....	29
<b>3.2.2. Gliadin ve Glutenin Elektroforezi</b> .....	34
<b>3.2.2.1. <math>\gamma</math>-Gliadin 42 ve <math>\gamma</math>-Gliadin 45 Proteinleri</b> .....	34
<b>3.2.2.1.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları</b> .....	35
<b>3.2.2.1.2. Gliadin Proteinlerinin Ekstraksiyonu</b> .....	36
<b>3.2.2.1.3. Jel Dökme ve Yükleme</b> .....	36
<b>3.2.2.1.4. Boyama ve Boya Giderme</b> .....	37
<b>3.2.2.2. LMW-1 Glutenin ve LMW-2 Glutenin Proteinleri</b> .....	37
<b>3.2.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları</b> .....	38
<b>3.2.2.2.2. Glutenin Proteinlerinin Ekstraksiyonu</b> .....	39
<b>3.2.2.2.3. Jel Hazırlama ve Yükleme</b> .....	39
<b>3.2.2.2.4. Jelin Boyanması ve Görüntülenmesi</b> .....	40
<b>3.2.3. Melezleme Çalışmaları</b> .....	41
<b>3.2.4. Embriyo Kültürü Çalışmaları</b> .....	45
<b>3.2.5. Kalite Analizleri</b> .....	47
<b>3.2.5.1. Hektolitre (Test) Ağırlığı</b> .....	48
<b>3.2.5.2. Bin Tane Ağırlığı</b> .....	48

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
3.2.5.3. Camsı, Unsu ve Dönmeli Tane Oranı.....	48
3.2.5.4. Pigment İçeriği.....	48
3.2.5.5. Oksidatif Enzimlerin (LOX, POD, PPO) Aktiviteleri.....	48
3.2.5.6. Nem İçeriği.....	49
3.2.5.7. Protein İçeriği.....	49
3.2.5.8. Kül İçeriği.....	49
3.2.5.9. Sedimentasyon Değeri.....	49
3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	50
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>51</b>
4.1. Moleküler Taramalar.....	51
4.2. A-PAGE ve SDS-PAGE Taramaları.....	59
4.3. Kalite Analizi Sonuçları.....	75
4.3.1. Fiziksel Özellikler.....	75
4.3.1.1. Bin Tane Ağırlığı.....	75
4.3.1.2. Hektolitire (Test) Ağırlığı.....	77
4.3.1.3. Camsı, Unsu ve Dönmeli Tane Oranı.....	78
4.3.1.4. Nem İçeriği.....	80
4.3.2. Protein Miktar ve Özellikleri.....	81
4.3.2.1. Protein Miktarı.....	81
4.3.2.2. Sedimentasyon Değeri.....	84
4.3.2.3. Kül İçeriği.....	89
4.3.3. Pigment İçerikleri ve Oksidatif Enzim Aktiviteleri.....	90
4.3.3.1. Pigment İçeriği.....	90
4.3.3.2. Oksidatif Enzimlerin (LOX, POD, PPO) Aktiviteleri.....	92
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>96</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>100</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>115</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. İzole edilen DNA'ların % 1'lik agaroz jeldeki görünümü.....	31
Şekil 3.2. 1BS kromozomunda bulunan <i>Glu-B3</i> ve <i>Gli-B1</i> lokuslarıyla bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları..	31
Şekil 3.3. PZR'de kullanılan thermal cyclers.....	34
Şekil 3.4. % 3'lük metaphor agaroz jel örneği .....	34
Şekil 3.5. A-PAGE ve SDS-PAGE jel sistemlerinde kullanılan dikey elektroforez.....	36
Şekil 3.6. Geri melez bitkilerinde A-PAGE yöntemiyle $\gamma$ -gliadin desenlerinin belirlenmesi.....	37
Şekil 3.7. Geri melez bitkilerinde SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi.....	41
Şekil 3.8. İlk kez melezlenen bitkiler.....	42
Şekil 3.9. Geri melezlemeleri yapılan bitkiler.....	42
Şekil 3.10. Heterozigot GM3F1 bitkilerinin kendilenerak GM3F2 generasyonunun elde edilmesi.....	43
Şekil 3.11. Genler açısından homozigot olan GM3F3 bitkilerinin tarlada kendilenerak tohum çoğaltımı amacıyla yetiştirilmesi.....	44
Şekil 3.12. Embriyo kültürüne alınan olgunlaşmamış tohumlar.....	45
Şekil 3.13. Embriyoların izole edilmeleri.....	46
Şekil 3.14. İzole edilen embriyoların besi ortamına yerleştirilmesi.....	46
Şekil 3.15. Besi ortamında çimlenen olgunlaşmamış embriyolar.....	46
Şekil 3.16. Embriyo kültüründe çimlenen bitkilerin sera şartlarına alıştırılması.....	47
Şekil 4.1. Yapılan taramalarda polimorfik çıkmayan primerler .....	51
Şekil 4.2. <i>Stm542acag</i> (% 3'lük metaphore agarose jel).....	52
Şekil 4.3. <i>Xgwm 550</i> (% 3'lük metaphore agarose jel).....	52
Şekil 4.4. <i>Xgwm 608</i> (% 3'lük metaphore agarose jel).....	52
Şekil 4.5. <i>Stm553actc</i> (% 3'lük metaphore agarose jel).....	53
Şekil 4.6. GAG (% 1'lik agarose jel) .....	53
Şekil 4.7. STS resmi (% 1'lik agarose jel).....	54
Şekil 4.8. F1 bitkilerinde GAG5-6 primeri kullanılarak yapılan moleküler taramalar.....	54
Şekil 4.9. TMB1 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	55
Şekil 4.10. TMB2 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	56

<b>Şekil</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Şekil 4.11.</b> TMB3 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	56
<b>Şekil 4.12.</b> TMB1 ve TMB3 melez ailelerine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin Stm542acag primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	56
<b>Şekil 4.13.</b> TMB1 ve TMB2 melez ailelerine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin Stm542acag primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	57
<b>Şekil 4.14.</b> TMB1 melez ailesine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin GAG5-6 primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	57
<b>Şekil 4.15.</b> TMB4 melez ailesine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin GAG5-6 primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar.....	58
<b>Şekil 4.16.</b> TMB1 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	60
<b>Şekil 4.17.</b> TMB2 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	61
<b>Şekil 4.18.</b> TMB3 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	61
<b>Şekil 4.19.</b> TMB4 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	62
<b>Şekil 4.20.</b> TMB1 melez ailesine ait GM2F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	63
<b>Şekil 4.21.</b> TMB4 melez ailesine ait GM2F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	63
<b>Şekil 4.22.</b> TMB1 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	64
<b>Şekil 4.23.</b> TMB2 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	65
<b>Şekil 4.24.</b> TMB2 ve TMB3 melez ailelerine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları.....	65
<b>Şekil 4.25.</b> TMB4 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları	66
<b>Şekil 4.26.</b> TMB1 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları	67
<b>Şekil 4.27.</b> TMB2 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları	67
<b>Şekil 4.28.</b> TMB3 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları	68
<b>Şekil 4.29.</b> Melez anaçlarına ait SDS-PAGE glutenin elektroforezleri.....	70
<b>Şekil 4.30.</b> Geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi.....	71
<b>Şekil 4.31.</b> Geri melez hatlarına ait tohumlarda yapılan SDS-PAGE taramaları.....	72
<b>Şekil 4.32.</b> TMB1 melez ailesine ait durulmuş geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi.....	73
<b>Şekil 4.33.</b> TMB3 melez ailesine ait durulmuş geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi.....	74
<b>Şekil 4.34.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının bin tane ağırlıkları.....	76
<b>Şekil 4.35.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının hektolitre ağırlıkları.....	77
<b>Şekil 4.36.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının camsılık oranları.....	79
<b>Şekil 4.37.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının nem oranları.....	81

<b>Şekil</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Şekil 4.38.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının protein miktarları.....	<b>83</b>
<b>Şekil 4.39.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının sedimentasyon hacimleri.....	<b>85</b>
<b>Şekil 4.40.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının spesifik sedimentasyon hacimleri.....	<b>86</b>
<b>Şekil 4.41.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının kül içerikleri.....	<b>89</b>
<b>Şekil 4.42.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının pigment içerikleri.....	<b>92</b>
<b>Şekil 4.43.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının LOX enzimi aktiviteleri.....	<b>93</b>
<b>Şekil 4.44.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının POD enzimi aktiviteleri.....	<b>94</b>
<b>Şekil 4.45.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının PPO enzimi aktiviteleri.....	<b>95</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Çizelge 3.1.</b> Araştırmada kullanılan tescilli makarnalık buğday çeşitleri, tescil edildikleri yıllar, tohumun alındığı kuruluş ve $\gamma$ -gliadin tipi.....	<b>28</b>
<b>Çizelge 3.2.</b> Geri melezleme ıslahında kullanılan melez aileleri ve kodlandırılmış isimleri.....	<b>29</b>
<b>Çizelge 3.3.</b> Taramalarda kullanılan <i>Gli-B1</i> ve <i>Glu-B3</i> bölgeleriyle bağlantılı DNA markörleri.....	<b>32</b>
<b>Çizelge 3.4.</b> Taramalarda kullanılan $\gamma$ -gliadin 45 için spesifik DNA markörleri.....	<b>32</b>
<b>Çizelge 3.5.</b> Çalışmada kullanılan çeşitler için polimorfik markörler.....	<b>33</b>
<b>Çizelge 4.1.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının önemli fiziksel özellikleri.....	<b>75</b>
<b>Çizelge 4.2.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının protein içerikleri, sedimentasyon hacimleri ve kül miktarları.....	<b>82</b>
<b>Çizelge 4.3.</b> Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri.....	<b>91</b>

## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık % 35'inin temel besin maddesi olan buğday, dünyada ve Türkiye'de en fazla yetiştirilen kültür bitkisidir. Dünyada 2008 yılı itibariyle 224 milyon hektar alanda, yaklaşık 690 milyon ton üretim yapılmıştır (Anonim, 2008a). Ülkemizde ise 8,1 milyon hektarlık ekim alanından 17,8 milyon ton ürün alınmıştır (Anonim, 2008b).

Buğdaylar genom yapısına göre kaplıca (diploid), makarnalık (tetraploid) ve ekmeçlik buğday (hekzaploid) olmak üzere üç grup altında incelenmektedir. Diploid buğdaylar çok sınırlı alanlarda yetiştirildiği için ekonomik önemleri yoktur. Günümüzde ticari anlamda makarnalık ve ekmeçlik buğdaylar yetiştirilmektedir. Dünyada buğday üretimine ayrılan alanın yaklaşık % 6'sında, Türkiye'de % 16'sında makarnalık buğday, geri kalan kısmında ise ekmeçlik buğday yetiştirilmektedir (Anonim, 2008b).

Türkiye birçok bitkinin olduğu gibi makarnalık buğdayın da anavatanıdır. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Ülkemiz 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 3 milyon ton makarnalık buğday üretimi ile dünyada dördüncü sırada yer almasına rağmen (Anonim, 2009), makarnalık buğday ithal etmektedir. Bunun en önemli nedeni üretilen makarnalık buğdayın ancak % 30-40'ının makarna sanayisinin istediği kalitede olmasıdır. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için öncelikle ülkemizin hangi bölgelerinde verim ve kalite bakımından iyi sonuç alınabileceğinin tespit edilmesi ve bu bölgelere uygun çeşitlerin geliştirilmesi konusunda ıslah çalışmalarına ağırlık verilmesi gerekmektedir (Gökmen ve Ateş, 2005). Makarnalık buğday yetiştiriciliğinde ülkemizin en büyük eksikliği yeterli kalitede tescilli makarnalık buğday çeşitlerine sahip olmamasıdır. Durum buğdayının kalitesini belirleyen temel kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için yapılacak ilk işlerden biri, mevcut çeşitlerimizin kalite genleri bakımından iyileştirilmesidir.



Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünün kalitesi tanenin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi ile doğrudan ilgilidir. Bu kalite kriterlerinden en önemlileri ise protein miktarı, gluten kuvveti, pigment miktarı ve oksidatif enzim aktiviteleridir. Bu kriterler kaliteli bir makarnada istenen pişme kalitesini ve sarı parlak rengi tayin eden başlıca özelliklerdir. Gluten, gliadinler ve gluteninler olarak iki grup altında sınıflandırılan proteinlerin kompleks bir karışımıdır. Belirli gliadin ve glutenin proteinleri ile gluten kuvveti ve viskoelastik özellikleri arasında kuvvetli bir korelasyon söz konusudur. Bu proteinlerden en önemlileri *Gli-B1* lokusunda bulunan  $\gamma$ -gliadin 45 ve bu lokusla çok sıkı bağlantılı olan *Glu-B3* lokusu tarafından kodlanan LMW-2 gluteninleridir.  $\gamma$ -gliadin 45 yüksek gluten kuvveti ile ilişkili olmasına rağmen,  $\gamma$ -gliadin 42 zayıf gluten ve viskoelastik özellik ile ilişkili olma eğilimindedir (Gupta ve ark., 1994). Benzer şekilde, *Glu-B3* lokusundaki LMW-2 glutenin alt ünitesinin de durum buğdayının gluten kuvvetini ve kalitesini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır.  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin proteinleri içeren buğdayların makarna pişme kalitesinin  $\gamma$ -gliadin 42 ve LMW-1 glutenin proteinleri içeren buğdaylardan çoğunlukla daha yüksek olduğu farklı araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Pogna ve ark., 1990; Gupta ve ark., 1994; Kovacs ve ark., 1995; Nieto-Taladriz ve ark., 1997; Clarke ve ark., 1998; Porceddu ve ark., 1998; D'Ovidio ve Masci, 2004; Edwards ve ark., 2007).

2007 yılı durum buğdayı üretimi ülkemizin iki katından daha fazla olan Kanada, dünya durum buğdayı ihracatının yaklaşık % 70'ini tek başına gerçekleştirmiştir (Anonim, 2007). Kanada'nın ihracatta bu kadar büyük paya sahip olmasının temel nedeni makarnalık buğday çeşitlerinin birbiriyle sıkı şekilde bağlantılı olan  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin allellerini birlikte taşıyor olmasıdır. Kanada'da, makarnalık buğday ıslahı çalışmalarında temel seleksiyon kriteri olarak  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 gluteninin varlığı kullanılmaktadır. Birbiriyle bağlantılı olan  $\gamma$ -gliadin 45 içeren *Gli-B1* ve LMW-2 glutenin içeren *Glu-B3* lokuslarının aynı melezleme programında beraberce yeni çeşit adaylarına aktarılması kalitede büyük bir artış sağlamaktadır (D'Ovidio ve ark., 1992; Kovacs ve ark., 1994; Ruitz ve Carillo, 1995; Fares ve ark., 1997).

Bu çalışma, Türkiye’de farklı yörelerde yaygın olarak yetiştirilen tescilli makarnalık buğday çeşitlerine yüksek kaliteli Kanada durum buğdayı Kyle’den önemli kalite genlerinin markör destekli seleksiyon ve doku kültürü yardımıyla hızlı bir şekilde aktarımının sağlanarak üstün kaliteli yeni çeşit adaylarının geliştirilmesi amacıyla yapılmıştır. Makarna kalitesini doğrudan etkileyen bu gen bölgelerinin saptanması ve aktarılması işleminde buğday ıslahında yaygın olarak kullanılan moleküler DNA markörleri (SSR, STS ve GAG) ile A-PAGE ve SDS-PAGE yöntemleri kombine bir şekilde kullanılmıştır. Bu ıslah çalışmasının her kademesinde istenen gen bölgelerinin aktarımı, güvenilir ve kesin sonuç veren teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmadan elde edilen çeşit adaylarının çiftçi ve sanayicilere dolayısıyla ülke tarımına, ekonomisine ve makarna sanayisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Makarnalık Buğday Üretimi ve Önemi

Temel besin maddesi olan buğday, dünyada ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen kültür bitkisidir. Buğday dünyada olduğu gibi ülkemiz açısından da çok önemli ve stratejik bir bitki olup, birçok ülkenin temel kalori, protein ve mineral kaynağı durumundadır. Türkiye’de günlük enerji gereksiniminin ortalama % 40’ı sadece buğdaydan karşılanmaktadır. Ülkemizin ekili alanları dikkate alındığında, bu alanların yaklaşık % 50’sinde tahıllar, tahıl ekim alanlarının da yaklaşık 8,1 milyon hektar ekim alanı ve 17,8 milyon ton üretimle % 70’inde buğday yetiştirilmektedir (Anonim, 2008b).

Buğdaylar genom yapısına göre kaplıca (diploid), makarnalık (tetraploid) ve ekmeklik buğday (hekzaploid) olmak üzere üç grup altında incelenmektedir. Diploid buğdaylar çok sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir. Günümüzde ticari anlamda makarnalık ve ekmeklik buğdaylar yetiştirilmektedir. Buğday temel olarak ekmeklik ve makarnalık olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Dünyada buğday üretimine ayrılan alanın yaklaşık % 6’sında, Türkiye’de % 16’sında makarnalık buğday, geri kalan kısmında ise ekmeklik buğday yetiştirilmektedir (Anonim, 2008b). Yaklaşık 690 milyon ton olan dünya buğday üretiminin 28 milyon tonu durum buğdayıdır (Anonim, 2008a). Makarnalık olarak kullanılan durum buğdayları (*Triticum durum* L.) allotetraploid ( $2n=4x=28$ , AABB) bitkiler olup, kalite özellikleri ve kullanım alanları bakımından ekmeklik buğdaylardan farklı ve özel bir konuma sahiptirler. Makarnalık buğdaylar, dünyada belirli bölgelerde yetiştirilen ve ekmeklik buğdaya göre daha yüksek fiyatla alıcı bulan değerli buğdaylardır. Bu buğday türü ılıman ve yarı kurak iklimler ile Akdeniz ülkelerinde yetiştirilmektedir. Dünya durum buğdayı üretiminin % 20’si Türkiye’nin de içinde bulunduğu Yakın Doğu Asya ülkeleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Durum buğdayı yetiştiren en önemli ülkeler ve üretim miktarları sırasıyla Kanada (5,5 milyon ton), İtalya (5,2 milyon ton), Türkiye (3 milyon ton), Kazakistan (2,6 milyon ton), A.B.D. (2,3 milyon ton) ve Fransa (2,1 milyon ton)’dır (Anonim, 2009).

Durum buğdayının ana kullanım şekli makarna ürünleri olup, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde bu amaca yönelik üretilmektedir. Bunun yanında Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerini içeren diğer bölgelerde ise makarna üretimi yanında kuskus, bulgur ve değişik tip ekmeklerin üretiminde de kullanılmaktadır (Troccoli ve ark., 2000). Geniş tüketim yelpazesi ve ürün çeşitliliği ile vazgeçilmez besinlerden olan makarnalık buğday, beslenme alışkanlıkları ve çevre şartları değişse bile temel besin maddesi olma özelliğini muhafaza etmektedir. Ekim alanlarını daha fazla artırmanın mümkün olmadığı günümüzde artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamak, ancak buğday gibi temel besin maddesi olarak kullanılan bitkilerin verimini artırmakla mümkün olacaktır. Artan dünya nüfusuna paralel olarak iç ve dış pazarların talebi de her geçen gün artmaktadır. Ülkemiz dış pazarlarda etkili olabilmek için istenen kalite ve standartlara uygun, istikrarlı bir üretim düzeyini gerçekleştirerek rekabet gücünü artırmak zorundadır. Bu açıdan makarnalık buğday üzerinde titizlikle durulması gereken bir üründür. Makarnalık buğday ve mamulleri ticaret hacminin geniş olması ve sahip olduğu ekolojik özellikler Türkiye'ye önemli avantajlar sağlamaktadır (Gökmen ve Ateş, 2005).

Türkiye birçok bitkinin olduğu gibi makarnalık buğdayın da gen merkezlerinden biridir. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Üretim özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi ile Orta Anadolu Bölgelerinde ve bir miktar da Ege Bölgesinde (Denizli-Manisa) yapılmaktadır (Anonim, 2010). Ülkemiz durum buğdayı üretimiyle dünyanın en önemli üretici ülkeleri arasında yer almaktadır. 2009 yılı verilerine göre, ülkemiz yaklaşık 3 milyon ton makarnalık buğday üretimi ile dünyada üçüncü sırada yer alırken (Anonim, 2009), aynı yıl makarnalık buğday ithal etmiş ve halen de ithalata devam etmektedir. Bunun en önemli sebebi üretilen makarnalık buğdayın ancak % 30-40'ının makarna sanayisinin istediği kalitede olmasıdır (Anonim, 2003). Ülkemizde makarna sanayinin en önemli sorunu kaliteli hammadde teminidir. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için öncelikle ülkemizin hangi bölgelerinde verim ve kalite bakımından iyi sonuç alınabileceğinin tespit edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu bölgelere uygun çeşitlerin geliştirilmesi konusunda ıslah çalışmalarına ağırlık verilmelidir. Makarnalık buğday yetiştiriciliğinde ülkemizin bu alandaki en büyük

eksikliği yeterli kalitede tescilli makarnalık buğday çeşitlerine sahip olmamasıdır. Durum buğdayının kalitesini belirleyen temel kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için yapılacak ilk iş, mevcut çeşitlerimizin kalite genleri bakımından iyileştirilmesidir.

## **2.2. Makarnalık Buğdayda Kalite ve Kaliteyi Etkileyen Faktörler**

Buğdayda kalite son ürüne uygunluk derecesidir. Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. İyi dokusal özelliklere sahip, yüzey dağılmasına dirençli durum buğdayı makarna üretimi için en iyi hammaddedir (D'Egidio ve ark., 1990, Guinea ve ark., 2004). Durum buğdayı kalitesi ve bu buğdaydan elde edilen irmiğin kalitesi makarna kalitesini belirleyen önemli parametrelerdir. Kaliteli makarna üretimi ancak uygun bir durum buğdayı ve işleme teknolojisi ile mümkündür. Buğday kalitesi kavramı üretici, değirmenci, makarna imalatçıları ve tüketiciler açısından farklılıklar göstermektedir. Üretici, ürün verimi yüksek buğdayı; değirmenci irmik verimi yüksek homojen buğdayı, imalatçı yüksek protein içeriği ve gluten kalitesine sahip pişme performansı iyi, sarı renkli makarna üretmeye uygun buğdayı tercih ederken tüketici görünüş, besin değeri, tat ve rengin yanı sıra özellikle makarna pişme kalitesi olarak ifade edilen sertlik, çiğnenebilirlik ve yapışkanlık gibi makarnanın tekstürel özellikleri ile ilgilenmektedir (Kovacs ve ark., 1997; Dexter ve Marchylo, 2001; Sayaslan, 2005).

Makarna, durum buğdayından elde edilen en önemli gıda maddesidir ve bu tahıl ürünü için en büyük pazarı oluşturmaktadır (Cubadda, 1985). Makarna kalitesi genel olarak makarnanın görünüşü ve pişme kalitesiyle değerlendirilmektedir (Cole, 1991; Feillet ve ark., 2000). Makarna pişme kalitesi, görünüş, besin değeri, tat ve rengin yanı sıra tüketici tercihini belirlemede esas rol oynaması sebebiyle buğday üreticileri ve işleyicileri için de büyük öneme sahip olup makarna üretimi sırasında özellikle dikkate alınmaktadır (D'Egidio ve Nardi, 1996; Troccoli ve ark., 2000; Güler ve ark., 2002; Yeyinli, 2006).

Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünün kalitesi tanenin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi ile doğrudan ilgilidir. Buğdayın kalite sınıfının belirlenmesinde kullanılan temel kriterlerden biri olan fiziksel özelliklerin başında tane boyutu gelmektedir. Tanenin boyutu tanenin uzunluk, genişlik ve bin tane ağırlık ölçümleri veya özel eleklerin kullanılmasıyla belirlenebilmektedir. Tanelerin sağlıklı, iri, dolgun ve homojen boyut dağılımına sahip olması un ve irmik verimlerini olumlu yönde etkilemektedir. Tane boyutuna paralel olarak kabuk ve endosperm oranı arttığı için un ve irmik verimleri de yükselmektedir. Durum buğdayları diğer buğdaylara kıyasla yaklaşık iki kat daha büyük danelidir. Ayrıca, bin dane ve hektolitre ağırlıkları daha fazla, endospermdeki kül miktarı daha yüksektir (Elgün ve Ertugay, 1995; Dziki ve Laskowski, 2005). Hektolitre ağırlığının yüksek olması tanenin sıkı (sert) yapılı olması dolayısıyla protein oranının yüksek olmasıyla ilgilidir. Makarnalık buğdaylarda hektolitre ağırlığının 80 kg dolayında olması istenmektedir (Kün, 1983).

Durum buğdayının makarnalık kalitesi; tanenin sertlik ve camsılık oranı, test (hektolitre) ağırlığı, protein miktarı ve kalitesi (gluten kuvveti), öğütme kalitesi (irmik verimi ve kül oranı), sarı pigment konsantrasyonu ile sarı renk kaybı veya renk kararmasına neden olan lipoksijenaz/lipoksidaz (LOX), polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri tarafından etkilenmektedir (Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Morris, 2004; Sissons, 2004; Koyuncu, 2009). Bunlardan özellikle tanenin protein miktarı ve kuvveti ile sarı pigment içeriği ve sarı parlak rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri oldukça önemlidir. Zira bu parametreler kaliteli bir makarnada istenen sarı parlak renk ve pişme kalitesini (pişirilirken dağılmayan ve yapışmayan, tüketilirken ağızda hissedilebilir sertlikte bir tekstür “al dente”) tayin eden başlıca özelliklerdir. Söz konusu kalite unsurları çevre faktörleri ve yetiştirme koşullarından etkilenmekle birlikte, büyük oranda çeşidin genotipik özellikleri tarafından kontrol edilmektedir.

Buğdayın uygun olduğu kullanım alanının belirlenmesini tayin eden başlıca özelliklerden biri de tane sertliğidir. Buğdayda sertlik tanenin ezme, kırma, aşındırma veya deformasyona direnç derecesi olarak tanımlanmaktadır (Bushuk, 1998; Williams,

1998). Çeşidin genotipik özellikleri tarafından kontrol edilen tane sertliği, buğdayların D genomu üzerinde (5DS) bulunan *Ha* gen bölgesi tarafından kontrol edilmektedir. Durum buğdayları tetraploid (AABB) olduklarından D genomları yoktur. Bu nedenle tanenin yumuşamasında etkili olan *Ha* gen bölgesini taşımadıklarından ekstra sertlikte tane tekstürü oluşturmaktadırlar (Turnbull ve Rahman, 2002). Durum buğdayları en sert buğdaylar olduğu için irmik verimleri ve buna bağlı olarak da makarnalık değerleri oldukça yüksektir (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995; Bushuk, 1998; Morris, 2004). Makarnalık buğday tanesi sert ve şeffaf bir endospermi bulunması ve amber renkli olması nedeniyle iri taneli irmik üretimine çok uygundur (Banasik, 1981).

Buğdayın önemli fiziksel özelliklerinden bir diğeri de tanenin camsılık oranıdır. Durum buğdayı tanelerinin camsı yapısı endospermdeki protein taneleri ve nişasta tanelerinin şeffaf olmasından kaynaklanmaktadır. Camsılık genellikle tane sertliği ile paralellik göstermektedir, ancak camsı ya da unsu yapının ortaya çıkmasının nedenleri farklıdır. Buğday sertliğinde genotip belirleyici bir role sahipken, camsılıkta çevresel faktörler daha baskındır (Bushuk, 1998). Tanenin camsı, unsu veya dönmeli bir görüntü vermesinde ışığın özellikle buğday endospermi ile olan ilişkisi (yansıma ve kırılma gibi) etkilidir. Endospermde kırık ve hava boşlukları olmayıp çok sıkı bir mikro yapıya sahip olan buğday taneleri camsı, tersi durumdaki taneler ise unsu veya dönmeli (camsı-unsu karışımı) bir yapıda olmaktadır (Hoseney, 1994; Koyuncu, 2009). Durum buğdaylarının camsılık oranları genellikle diğer buğdaylardan daha yüksektir. Ancak sarı olum döneminin uzun sürdüğü yağışlı ve serin yerlerde dönmeli danelerin oranı artmaktadır. Camsı danelerin oranının birinci derecede makarnalık buğdaylarda % 85, ikinci derecede makarnalık buğdaylarda ise % 70 olması istenir (Kün, 1983). Durum buğdaylarının camsılık oranları irmik verimleri ve parlaklık derecelerini olumlu yönde etkilemektedir (Dziki ve Laskowski, 2005). Buğdayların camsılık ve sertlik değerleri ile protein içerikleri arasında da pozitif bir ilişkinin olduğu da bilinmektedir. Ancak bu durum her zaman geçerli değildir. Düşük protein içerikli fakat sert veya camsı yapıda ya da yüksek protein içerikli fakat yumuşak veya unsu yapıda buğdaylar örnekleri de vardır (Hoseney, 1994).

Makarnalık buğdaylarda tanenin rengi de önemli bir kalite kriteridir. Makarna renginin parlak sarı olması istenir. Son ürünün rengi tane pigment konsantrasyonu, oksidatif enzimlerin aktiviteleri ve makarna üretim koşulları tarafından etkilenmektedir. Makarna renginde en belirleyici olan faktör kullanılan irmiğin sarı renkli pigment içeriğidir. Makarnalık buğdayların pigment içerikleri genotip ve yetiştirilme şartlarına bağlı olarak genellikle 4-8 mg/kg arasında değişmektedir (Hoseney, 1994; Troccoli ve ark., 2000). Makarna renginde en belirleyici olan pigmentler karotenoid ve flavonoidlerdir (Fortmann ve Joiner, 1978; Feng ve McDonald, 1989). Yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle sağlıklı beslenme açısından oldukça önemli olan karotenoidler bitkilere sarı-kırmızı rengi veren pigmentlerdir. Ancak bu gruba giren pigmentler kolay okside olmakta ve renklerini kaybederek buldukları ürünlerin ağarmasına neden olmaktadır (Laignelet, 1983; Borrelli ve ark., 1999). Bitkilere sarımtırak renk veren flavonoidler ise kuvvetli antioksidan özelliklere sahip polifenolik maddelerdir. Durum buğdaylarının toplam karotenoid ve flavonoid içerikleri genellikle diğer buğdaylardan daha yüksektir (Fortmann ve Joiner, 1978; Borrelli ve ark., 1999).

Makarnada sarı renk kaybına neden olan veya üründe koyu renk oluşumuna sebep olan oksidatif enzimlerin aktiviteleri de makarna renginde etkilidir. Buğdaylarda bulunan oksidatif enzimlerden makarna rengi üzerine en etkili olanlar LOX, PPO ve POD enzimleridir (Taha ve Sagi, 1987; Hoseney, 1994; Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Morris, 2004). Makarna üretimi sırasında sarı renkli pigmentlerin ağarmalarına ve oksidatif olarak parçalanmalarına (Troccoli ve ark., 2000; Aalami ve ark., 2007) neden olan LOX enzimleri ekmeklik buğday unlarının ağarmasına ve gluten proteinlerini dolaylı yoldan okside ederek hamurun kuvvetlenmesine neden olmaktadır (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995). Bu nedenle LOX enzim aktivitesinin ekmeklik buğdaylarda yüksek, makarnalık buğdaylarda ise düşük olması istenir. Durum buğdaylarının LOX enzim aktiviteleri genellikle diğer türlerden daha düşüktür. PPO enzimleri ise dolaylı olarak kahverengisiyah renkli komplekslerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle makarnada renk kararmasını engellemek için düşük PPO aktiviteli durum buğdayı çeşitleri belirlenmeli ve makarna sanayinde kullanılmalıdır (Whitaker ve Lee, 1995). POD enzimleri de PPO enzimleri gibi makarnanın kararmasına neden olmakta, ancak reaksiyon mekanizması



tam olarak bilinmemektedir. Renk kalitesi yüksek makarna üretebilmek için kullanılan durum buğdayının yüksek pigment içerikli olması yanında oksidatif enzim aktivitelerinin de düşük olması gerekmektedir.

Buğdayda protein miktarı kalıtsal bir özellik olmakla birlikte yetiştirme şartlarının etkisi daha baskındır. Yapılan çalışmalarda tanenin protein oranının çeşitten ziyade toprak, iklim ve gübre uygulamalarından daha fazla etkilendiği ve protein oranının % 6-25 oranında değiştiği saptanmıştır (Anonim, 1990; Menderis, 2006). Protein oranının makarna üretiminde % 13 ve daha fazla, ekmek yapımında % 12-13, bisküvi yapımında % 8.5-10.5, pasta yapımında ise % 9-9.5 olması gerekmektedir (Ünal, 1991). Dönmeli tanelerin miktarındaki her % 10'luk artış protein oranında yaklaşık % 1'lik bir düşüşe neden olmakta, düşük protein miktarı ise makarna pişme kalitesi ve besleme değerinde azalmaya sebep olmaktadır (Dhaliwal ve ark., 1981). Yüksek pişme kaliteli makarna üretimi için protein içeriği yüksek (>%13) ve aynı zamanda gluten proteinlerinin vizkoelastik ve kohezif özellikleri (gluten kuvveti) optimum düzeyde olan buğdaylar tercih edilmelidir.

Makarna kalitesi üzerine durum buğdaylarının protein oranının yanı sıra içerdikleri bazı proteinler de etkilidir. Makarnalık buğday tanesi, suda ve tuzda çözünebilir proteinler (albümin ve globulin) bakımından fakirken, alkolde çözünebilir proteinler (gliadin ve glutenin) yönünden oldukça zengindir. Tannen protein miktarı arttıkça albümin ve globulin miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Dexter ve Matsuo, 1977). Makarna pişme kalitesi ile makarna üretiminde kullanılan buğdayın içerdiği bazı gliadin ve glutenin proteinleri arasında kuvvetli bir ilişki olduğu yapılan bir çok çalışmada tespit edilmiştir (Feillet ve ark., 1989; Kovacs ve ark., 1995; Troccoli ve ark., 2000). Gluten proteinlerinin vizkoelastik ve kohezif özelliklerinde ise genetik yapı belirleyici olup çevre şartlarının etkisi sınırlıdır (Payne ve ark., 1982; Kovacs ve ark., 1994, 1995; Bushuk, 1998; Clarke ve ark., 1998; Porceddu ve ark., 1998; Troccoli ve ark., 2000; Veraverbeke ve Delcour, 2002; Koyuncu, 2009).

Gluten, gliadinler ve gluteninler olarak iki grup altında sınıflandırılan proteinlerin kompleks bir karışımıdır. Gliadinler heterojenik monomerik proteinler olup, düşük pH'da koşulan elektroforezdeki hareketlerine göre gruplara ayrılırlar. Bu gruplar

sülfürce fakir ve sistein içermeyen  $\omega$ -gliadinler ve sülfürce zengin ve zincir-içi disülfid bağlarına sahip  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -gliadinlerdir.  $\gamma$  ve  $\omega$ -gliadinler 1. grup kromozomlar üzerindeki *Gli-1* lokusu tarafından kodlanırken,  $\alpha$  ve  $\beta$ -gliadinler 6. grup kromozomlar üzerindeki *Gli-2* lokusu tarafından kodlandırılmaktadırlar (Payne ve ark., 1982; Lafiandra ve ark., 1984).

Belirli gliadin proteinleri ile gluten kuvveti ve viskoelastik özellikleri arasında kuvvetli bir korelasyon söz konusudur (Payne ve ark., 1982; Pogna ve ark., 1990; Troccoli ve ark., 2000). Bu proteinlerden en önemlileri *Gli-B1* lokusunda bulunan  $\gamma$ -42 ve  $\gamma$ -45 gliadinleri ile, bu lokusla çok sıkı bağlantılı olan *Glu-B3* lokusu tarafından kodlanan LMW-1 ve LMW-2 gluteninleridir (Gupta ve ark., 1994; Kovacs ve ark., 1995; Clarke ve ark., 1998).  $\gamma$ -gliadin 45 yüksek gluten kuvveti ile ilişkili olmasına rağmen,  $\gamma$ -gliadin 42 zayıf gluten ve viskoelastik özellik ile ilişkili olma eğilimindedir (Kosmolak ve ark., 1980). Benzer şekilde *Glu-A3*, *Glu-B2* ve *Glu-B3* lokuslarında bulunan LMW glutenin alt ünitelerinden, *Glu-B3* lokusundaki LMW-2 glutenin alt ünitesinin de durum buğdayının gluten kuvvetini ve kalitesini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır (Nieto-Taladriz ve ark., 1997). Glutenin proteinleri yüksek moleküler ağırlıklı (HMW, 80-130 kDa) ve düşük moleküler ağırlıklı (LMW, 35-80 kDa) gluteninler olarak gruplandırılmaktadır.

Yedi adet makarnalık buğday çeşidi kullanılarak makarna kalitesi ile bazı özel protein bantları arasındaki ilişkinin belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada, makarna kalitesi iyi olan tüm çeşitlerin  $\gamma$ -45 gliadin ve LMW-2 glutenin bant desenlerine sahip oldukları, düşük kaliteli çeşitlerin ise  $\gamma$ -42 gliadin içerdikleri tespit edilmiştir (Payne ve ark., 1984). Oak ve ark. (2004) tarafından yapılan araştırmada ise 24 makarnalık buğday genotipi kullanılarak  $\gamma$ -gliadin ve HMW, LMW glutenin alt üniteleri ile gluten sağlamlığı arasında sıkı bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir.

Gliadin bant desenleri buğday çeşitlerinin gerek kalitelerinin saptanması gerekse çeşitler arasındaki ve içindeki farklılıkların saptanmasında oldukça etkili bir biçimde kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada 74 makarnalık buğday çeşidinin gliadin bant desenleri belirlenerek gliadin bantları ile gluten sağlamlığı arasındaki ilişki araştırılmış

ve çalışma sonucunda  $\gamma$ -42 gliadinleri ile zayıf,  $\gamma$ -45 gliadinleri ile de sağlam gluten yapısı arasında sıkı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Damidaux ve ark., 1978). Aynı araştırmacılar, bu sonuçlar doğrultusunda ıslah çalışmasının erken generasyonlarında gliadin bant desenlerinin buğdayda pişme kalitesinin belirlenmesinde iyi bir test yöntemi olduğunu bildirmişlerdir. Autran ve ark. (1979), gliadin bant desenlerinin belirlenmesinde 10 farklı metodu karşılaştırmışlar ve A-PAGE jel yönteminden elde edilen sonuçların tekrarlanabilir ve güvenilir olduğunu tespit etmişlerdir.

Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen yedi adet ekmeklik buğday çeşidi ve bunların ikili melezlerinde yapılmış bir çalışmada gliadin bant desenleri belirlenerek mevcut genetik benzerlik ve farklılığın gösterilmesi amaçlanmıştır (Keskin ve ark., 1999). Çalışmada, ülkemizde genellikle çeşit teşhisinde kullanılan elektroforetik analizlerin, ıslah ve sertifikasyon çalışmaları ve saf tohum üretimi için de kullanılmasının yararlı olacağı bildirilmiştir.

Eser (1996) tarafından yapılan çalışmada makarnalık buğdayın bazı kalite özellikleri ve gliadin bant yapıları üç çeşit ve üç hat kullanılarak diallel analiz yöntemi ile araştırılmıştır. Kullanılan anaçlardan yalnızca Kunduru-1149 çeşidinin  $\gamma$ -45 gliadini taşıdığı diğerlerinin ise  $\gamma$ -42 gliadine sahip olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda  $\gamma$ -gliadin bantlarının aynı lokusta bulunan genler tarafından kontrol edildiği bir kez daha ortaya konulmuştur. Ayrıca incelenen kalite özelliklerinden bin tane ağırlığı ile  $\gamma$ -gliadin bantları ve camsılık oranı ile de protein oranı arasında olumlu bir ilişki olduğu da tespit edilmiştir.

### **2.3. Makarnalık Buğdayda Kalite Islahı**

Kalite kantitatif bir özellik olduğu için farklı kromozomlardaki genler ve çevresel faktörler tarafından etkilenmektedir. Bu nedenle kalite ıslahı kompleks bir çalışmadır. Kalite ıslahında karşılaşılan en önemli sorunlardan bir tanesi de kalite ve verim arasındaki negatif korelasyonlardır. Kalite ıslahının, verimi de olumsuz yönde

etkilemeyecek veya en azından yeni elde edilecek daha kaliteli çeşit adaylarının anaçlarının verim potansiyelini koruyacak şekilde tasarlanması gerekmektedir.

Makarnalık durum buğdaylarında kalite ıslahı, son ürün üzerindeki tartışılmaz etkisinden ötürü son derece önemlidir. Ülkemizin önemli bir ihracat ürünü olan makarnalık buğdayın satışında son yıllarda önemli bir azalma olmuştur. Hatta iç tüketimde dahi makarna endüstrisi kaliteli durum buğdayı için dış alımlara yönelmiştir. Türkiye, dünyada en kaliteli makarnalık buğday üretecek ekolojiye sahip ülkelerden biridir. Dolayısıyla makarnalık buğday kalitemizin en azından rakibimiz olan ülkelerin düzeyine çıkarılması büyük önem taşımaktadır. Durum buğdayı ihracatında rekabet edebilmek için üretilen durum buğdayının kalitesinin ıslah programları ile artırılması gerekmekte ve bu anlamda tarımsal biyoteknoloji ve genetik mühendisliğinden büyük ölçüde faydalanılmalıdır. Makarna kalitesini belirleyen en önemli gen bölgelerine öncelik verilmesi ve kalite ıslahının uzun vadede planlanarak adım adım ilerlenmesi gerekmektedir. Nitekim son yıllarda buğday kalite ıslahı çalışmalarında genel yaklaşımlardan ziyade, kaliteyi etkileyen önemli kantitatif karakter lokuslarının bireysel olarak çalışılması ve kaliteyi doğrudan etkileyen bölgelerin aktarılması önem kazanmıştır. Makarna kalitesini etkileyen tane özellikleri yüksek oranda kalıtsaldır ve bu nedenle ıslah yöntemleriyle aktarılabilir (Bushuk, 1998). Dünya makarnalık buğday ihracatının % 70'den fazlasını eline geçirmiş olan Kanada'da, makarnalık buğday ıslahı çalışmalarında temel seleksiyon kriteri olarak LMW-2 glutenin ve  $\gamma$ -45 gliadinin varlığı kullanılmaktadır. Kanada ıslah programlarında  $\gamma$ -42 gliadininin elemine edilmesine çalışılmaktadır (Clarke ve ark., 1998). Dolayısıyla birbiriyle bağlantılı olan *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarının aynı melezleme programında beraberce yeni çeşit adaylarına aktarılması ve *Gli-B1* lokusunda  $\gamma$ -45 gliadininin seçilmesi kalitede büyük bir artışa işaret etmektedir (D'Ovidio ve ark., 1992; Kovacs ve ark., 1994; Ruitz ve Carrillo, 1995; Fares ve ark., 1997).

Ülkemizde yetiştirilen makarnalık buğday çeşitlerinin gliadin ve glutenin protein içerikleri konusunda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Yüksek kaliteli makarna üretebilmek için yüksek protein içerikli ve özellikle  $\gamma$ -45 gliadin ve LMW-2

glutenin proteinlerini içeren durum buğday çeşitleri seçilmeli ve/veya mevcut çeşitler ıslah edilmelidir.

#### **2.4. Geri Melezleme Islahı**

Genellikle kendine döllen bitkilerde yeni çeşitlerin geliştirilmesinde introdüksiyon, seleksiyon (seçme) ve melezleme olmak üzere üç temel ıslah yöntemi uygulanmaktadır. Standart bir çeşide istenen bir karakterin kazandırılması amacıyla geri melezleme yöntemi kullanılır. Bu yöntem pek çok iyi özelliğe sahip olan, ancak bir ya da iki özelliği yetersiz olan bir çeşidin bu zayıf özelliklerinin iyileştirilmesinde kullanılır. Ebeveynlerden biri bölgeye adapte olmuş üstün verimli, sadece bir özelliği zayıf olan bir çeşit, diğer ebeveyn ise (donör) ilkinin zayıf olduğu özellik bakımından üstün bir çeşit olarak seçilir. Karakterlerin aktarılacağı standart çeşit ile istenen özelliğe sahip çeşit (donör) arasında melezleme yapılır. Elde edilen F1 bitkileri 3-6 generasyon, standart çeşit ile geriye melezlenir ve her generasyon sonucunda üstün karakterli bitkiler seçilir, açılma gösteren bitkiler ise elemine edilir (Kurt, 2004). Her bir melezleme generasyonu sonucunda, melez dölün genetik yapısına ebeveyn genlerinden bir önceki generasyonda eklenenin yarısı kadar daha eklenir.

Geri melezleme ıslahının en önemli avantajı F1 ve sonraki generasyonlarda, normal mezlere göre çok daha az sayıda bitkiye gereksinim duyulmasıdır. Her generasyonda geri melezleme seçilen 7-10 bitkide yapılır. Böylece altı geri melez generasyonu sonunda özelliğin % 99 oranında melez dölle aktarılması sağlanır. Geri melez ıslahının en önemli dezavantajı ise istenmeyen genlerin bağılılığı (linkage)'dır (Sade, 1999). Bu durum geriye melezleme yöntemi ile markör destekli seleksiyonun kombinasyon halinde birlikte kullanılmasıyla rahatlıkla ortadan kaldırılabilir. Böylece aktarılmak istenen gen bölgesi spesifik bir biçimde taranarak arzu edilmeyen özellikleri taşıyan bitkiler seçilebilir. Ayrıca bu ıslah yöntemiyle sera ve hızlı bitki yetiştirme tekniklerinden yararlanılarak bir yılda 2-3 generasyon yetiştirilebilir (Ekingen, 1992).

Geriye melezleme yöntemi hızlı sonuç vermesi, sonucun önceden tahmin edilebilmesi, az sayıda bitkiye ihtiyaç duyulması ve tekrarlanabilir olması gibi avantajları nedeniyle buğday ıslahında başarılı bir şekilde kullanılabilecek bir ıslah metodudur (Demir, 1990).

Geri melezleme yöntemi modern genetikte çoğunlukla moleküler markörler yardımıyla kullanılmaktadır. Markör destekli geri melezleme bitki ıslahı programlarında gen aktarımında rutin bir şekilde kullanılmaktadır. Bir çok araştırmacı bu iki tekniğin özellikle kantitatif karakterlerle ilgili yürütülen çalışmalarda kombine bir şekilde başarıyla kullanıldığını ifade etmişlerdir (Frisch ve Melchinger, 2005; Hospital, 2005; Kuchel ve ark., 2007; Bertrand ve ark., 2008).

## **2.5. Markör Destekli Seleksiyon**

Bitki ıslahında kantitatif karakterleri etkileyen genlerin klasik ıslah metotlarıyla aktarılmasında özellikle bağlantı sürüklenmesi (linkage drag) gibi birçok problemle karşılaşmaktadır. Buğdayda kalite ıslahında markör destekli seleksiyon (MAS) ve embriyo kültürü ile ısı-ışık kontrollü seraların kullanılması klasik bitki ıslahına oldukça yardımcı olan modern teknolojik yaklaşımlardır. Geleneksel veya klasik ıslah metotlarının başarısını ve hızını artırıcı tekniklerin başında MAS gelmektedir. MAS özellikle geri melez ıslahında zaman ve ekonomik avantajlar sağlayarak ıslah etkinliğini artırır ve yeni çeşitlerin geliştirilmesini hızlandırır (Yıldırım, 2005; 2008).

Markör destekli seleksiyon agronomik olarak önem arz eden ve birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen karakterlerin etkin bir şekilde aktarılmasını sağlar. Günümüzde markör destekli ıslah çalışmaları çoğunlukla geriye melezleme yönteminde uygulanmaktadır (Yıldırım, 2005). Klasik ıslaha kıyasla, moleküler markörlerin kullanımı geri melez ıslahının etkinliğini ve güvenilirliğini artırmaktadır. Fenotipik olarak zor belirlenen karakterler için gerçekleştirilen seleksiyonda moleküler markörlerin kullanımı seleksiyonun etkinliğini ve güvenilirliğini artırır. Markörler, hedef gen yanındaki rekombinasyon sonucu oluşan nadir döllerini bile seçebilir. Böylece bağlantı sürüklenmesinin etkileri minimize edilebilir. Klasik ıslahta resesif genlerin transferinde, her geri melez sonrası ilave kendileme gerekir. Moleküler markörler bu tür

ilave işlemleri ortadan kaldırmaktadır. Sayılanlara ek olarak, klasik ıslahla süper genotiplerin seçilme olasılığı oldukça düşüktür. İslahçılar ancak sayısız melezlemeden elde edilen döleri test ederek ya da düşük seleksiyon baskısı kullanarak bu problemin üstesinden gelebilmektedir. Oysa moleküler markörler erken generasyonda yüksek performanslı genotiplerin teşhisine olanak sağlamaktadırlar (Francia ve ark., 2005).

Markör destekli seleksiyon geri melezleme ıslahında tekrarlanan anacın mümkün olan en yüksek oranda tekrar geri elde edilmesinde de kullanılmaktadır. Fenotipik gözleme gerek kalmaksızın geni taşıyan geri melez hatlarının doğru seleksiyonunda moleküler markörler oldukça etkilidirler. Ayrıca farklı karakterlere etki eden birden fazla genin eş zamanlı aktarılmasını da mümkün kılarlar. Çevre şartlarından oldukça fazla etkilenen karakterlerin, fenotipik gözlem zorluklarını aşarak doğru bir şekilde seçilmelerine yardımcı olmaktadır (Yıldırım, 2008).

Markör destekli seleksiyonun başarısı; moleküler markörlerin ilgili agronomik QTL ile ya da major genlerle bağlı olup olmamasına, markörlerle major genler ya da QTL arasındaki bağlantının gücüne, ilgili genom ya da karaktere bağlı markörler arasındaki yeterli rekombinasyonun bulunmasına ve kullanılan moleküler markörlerin çok sayıda bireyi analiz edebilme yeteneğine bağlıdır (Dekkers, 2004). Eğer moleküler markörler hedef gen içinde bulunursa, bu durumda hedef gen doğrudan klonlanabilir. Bazı durumlarda ise, hedef genler bir ya da daha fazla QTL tarafından tanımlanabilir. Bu durumda seçilen genomik bölge birden fazla marköre ya da hedef QTL'yi çevreleyen iki polimorfik marköre (flanking marker) sahip olmalıdır (Francia ve ark., 2005).

Moleküler markörlerin geliştirilmesinden sonra markör destekli seleksiyon hız kazanmıştır. Özellikle tahıllarda verim ve kalite ile hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi konularda yapılan çalışmalar giderek artmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir. MAS yardımıyla buğdayda uzun yıllar sürecektir olan ıslah çalışmaları çok daha kısa sürede tamamlanarak sarı pas (Yıldırım ve ark., 2004), yaprak pası (Kolmer, 1996) ve külleme (Huang ve ark., 2003) gibi önemli hastalıklara dayanıklılık genlerinin yeni çeşitlere aktarımı sağlanmıştır. Schmierer ve ark. (2004), arpada yüksek malt verimi ve kalitesini sağlayan QTL'yi, moleküler markörlerle transfer etmeyi

başarmışlardır. Francia ve ark. (2005) ise birbiriyle çok sıkı bağlantılı olan düşük sıcaklığa toleranslılıkla ilgili iki QTL bölgesini, PCR markörleri yardımıyla transfer etmişlerdir. Stuber (1994) mısır bitkisinde kurağa karşı dayanıklılık sağlayan QTL’de uygun allellerin transferinde, geri melez ıslahıyla markör destekli seleksiyon yöntemini kombine etmiştir. Salvo-Garrido ve ark. (2008), markör destekli seleksiyon tekniğini kullanarak buğday genomunun yaklaşık % 93’ünü ve çeltik genomunun % 95’ini imidazolinone herbisitine dayanıklılık genleri bakımından taramışlardır. Li ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, geri melezleme ıslahıyla markör destekli seleksiyon yöntemini kombine bir şekilde kullanarak yeni bir küllemeye dayanıklılık genini (*pm41*) ekmeklik buğdaya aktarmayı başarmışlardır. Buğdayda, ekmek (Zamani ve ark., 2009) ve makarna yapma kalitesi (Watson, 2008) ile ilgili markör destekli ıslah çalışmaları da yapılmıştır.

Markör destekli seleksiyon ile ıslah çalışmaları daha kısa sürede ve daha az işgücü ile tamamlanabilmekte ve bunların yanı sıra gereksinim duyulan populasyon büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır.

Bu çalışmada modern teknolojik olanakların kombinasyonu sayesinde klasik ıslah yaklaşımında yaklaşık altı yıl sürececek bir süreç üç yılda tamamlanarak % 50’lik bir zaman tasarrufu sağlanmıştır. Sonuçta yılda iki veya daha fazla generasyon alınarak uzun yıllar sürececek bir ıslah çalışması çok daha kısa bir sürede tamamlanabilmiştir. Benzer şekilde International Triticeae Mapping Initiative (ITMI) tarafından başlatılan 80 adet MAS projesi kapsamındaki 350 adet geri melezleme programı, yılda ortalama iki generasyon ilerlenerek klasik ıslah metodundan çok daha kısa bir sürede tamamlanmıştır (Dubcovsky, 2004). Fenotipik seleksiyon yapan bir ıslahçı MAS’ı kullanan bir ıslahçıya göre yaklaşık 16.7 kat daha fazla generasyon elde etmek zorundadır (Francia ve ark., 2005). Davies ve ark. (2006), buğday ıslahında fenotipik ve moleküler seleksiyonu birlikte kullandıkları çalışmaları sonucunda geri melezleme ıslahında moleküler markörler ile seleksiyonun daha avantajlı olduğunu ve sonuca çok daha kısa bir sürede ulaşıldığını tespit etmişlerdir. MAS yöntemi yardımıyla ıslah süresinin kısılması yanında geri melez ıslahının etkinliği de artırılmaktadır. Babu ve ark. (2004), mısırdaki protein kalitesi ile ilgili yürüttükleri ıslah çalışmasında MAS



yöntemini kullanarak BC2F1 generasyonunda tekrarlanan anaç genomunun yüzdesinin % 83.7-94.8 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Cao ve ark. (2009), markör destekli seleksiyona dayalı bir buğday ıslahı programında moleküler markörlerin kullanımının tekrarlamalı seleksiyonu kolaylaştıracağını bildirmişlerdir.

### **2.5.1. Moleküler Markörler**

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

Biyokimyasal belirleyiciler ise depo proteinleri ve enzim proteinleri olarak iki ana gruba ayrılırlar. Bu markörlerin temel avantajları analizlerinin çabuk, ucuz ve güvenilir olmasıdır. Çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmezler. En büyük dezavantajları sayılarının çok az olması ile yalnızca özel dokularda ve belirli bir gelişme döneminde gözlenebilir olmalarıdır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Moleküler DNA belirleyicileri diğer belirleyicilere göre daha güvenilir olmaları, çevreden etkilenmeyişi, bitkilerin gelişmelerinin her aşamasında kullanılabilmeleri, bitkinin olgunlaşmasının beklenmemesi ve geniş bir varyasyon göstermeleri gibi avantajları nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Özcan ve ark., 2001). Bu belirleyiciler farklı genotiplere ait DNA nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyarlar. Ayrıca polimorfizm oranları klasik morfolojik veya biyokimyasal belirleyicilerden çok daha fazladır (Parmaksız, 2004; Gündüz, 2008).

DNA belirleyicileri son yıllarda kuramsal ve uygulamalı genetik çalışmalarda, bitki ve hayvan türlerinde çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bu alanların en önemlileri genetik ve fiziksel kromozom haritaları ve markör destekli seleksiyondur (Kandemir ve ark., 2004; Yıldırım ve ark., 2004). Bunlara ek olarak moleküler markörler bitkiler aleminde genetik materyalin karakterizasyonu, genetik teşhis, transformantların karakterize edilmesi ve filogenetik analizlerde de yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Rafalski ve ark., 1996; Ateş Sönmezoğlu, 2006, Dede, 2007; Kandemir ve ark., 2010). Bu belirleyiciler kullanılarak genetik varyasyon araştırılmakta ve türlerin taksonomik tanımlaması yapılarak, filogenetik akrabalıkları bulunabilmektedir (Lowe ve ark., 1996). Moleküler belirleyiciler, bitkilerin DNA parmak izlerinin çıkarılması ve çeşit tanımlamasında da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Parmak izi analizleri kullanılarak tescile sunulan çeşit adaylarının genetik özellikleri belirlenebildiği gibi çeşit adayının elde edilmesinde kullanılan anaçlar da saptanabilmektedir. Bu durum, ekonomik açıdan önemli genetik kaynakların belirlenmesi ve Türkiye gibi bir çok bitkinin gen merkezi durumunda olan ülkelerde, yabancı gen kaynaklarının korunması açısından son derece önemlidir (Yıldırım, 1999).

Moleküler DNA belirleyicilerden en önemlilerini hibridizasyona dayalı olan restriksiyon parça uzunluğu farklılığı (RFLP) (Bolstein ve ark., 1980) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PZR) dayalı olan rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) (Welsh ve McClelland, 1990), basit dizi tekrarları (mikrosatelitler veya SSR) (Hamada ve ark., 1982), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) (Vos ve ark., 1995) ve dizisi etiketlenmiş alanlar (STS) (Talbert ve ark., 1994) gibi belirleyiciler oluşturmaktadır.

PZR esaslı teknikler haritalama ve karakterizasyon çalışmalarında zaman, işgücü ve girdi tasarrufu sağladığından daha çok tercih edilmektedir (Devos ve Gale, 1992). Mikrosatelitlerin, diğer PZR'ye dayalı belirleyicilere (RAPD, AFLP vb.) kıyasla avantajları tekrarlanabilir ve ko-dominant olmaları, dolayısıyla daha çok bilgi üretebilmeleridir. RAPD'ler dominant belirleyicilerdir. RFLP belirleyicileri ise ko-dominant belirleyiciler olmasına rağmen hiçbir zaman mikrosatelitler (SSR) kadar polimorfizm göstermemektedirler. Bu nedenle mikrosatelitlere oranla daha az bilgi vermektedirler (Akkaya ve Akın, 1996). Ayrıca mikrosatelitlerin kullanımı daha az

miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması, daha yüksek polimorfizm göstermesi ve otomasyona uygunluğu nedeniyle RFLP'lerden daha kolaydır. SSR analizleri RAPD'den daha güvenilir ve AFLP'ye göre daha transfer edilebilirdir. RFLP belirleyicilerinin aksine pek çok buğday SSR markörü genoma özeldir. SSR'lar günümüzde kültür bitkilerinin genetik haritalamasında RFLP'lerin yerini almıştır. Ancak detaylı genetik haritaları üretmek için AFLP ve SSR'ın bir kombinasyonu kullanılmaktadır (Holton, 2001). Makarnalık ve ekmeklik buğday ile tritikale çeşitlerindeki genetik benzerliğin incelenmesi ve DNA parmak izinin çıkarılması amacıyla SSR, AFLP ve RAPD belirleyici sistemleri kullanılmış ve SSR'dan elde edilen dendogramların AFLP ve RAPD'den daha gerçekçi olduğu ve çeşitlerin çoğunun SSR belirleyicileriyle tanımlanabildiği görülmüştür (Garg ve ark., 2001).

RFLP, gliadin ve kantitatif karakterler kullanılarak 81 makarnalık buğday genotipi arasındaki genetik akrabalık ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada; gliadin ve kantitatif karakterlerin makarnalık buğdayda genetik varyasyonu incelemeye yeterli sonucu vermediği, RFLP'nin ise araştırmada kullanılan diğer belirleyicilere göre daha avantajlı olduğu tespit edilmiştir (Sorrells ve ark., 1995). Ancak çalışılan genetik materyaldeki polimorfizmin düşük olması veya polimorfik RFLP belirleyicilerinin az sayıda bulunması araştırmacıların çalışmalarını sınırlandırmıştır. Bu nedenle SSR gibi bol miktarda bulunan ve yüksek derecede polimorfik olan markör sistemlerine gerek duyulduğu ifade edilmiştir.

Mikrosatelitler, birbiri ardına gelen 2-20 nükleotid ünitesi tekrarları şeklinde olup, tüm genomda dağılmış olarak bulunurlar (Weber, 1980; Hamada ve ark., 1982). Bu tekrar grupları (AT)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub> veya (GACA)<sub>n</sub> şeklinde gösterilmekte ve n ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. Mikrosatelit (Litt ve Luty, 1989) veya basit dizi tekrarları (Tautz ve ark., 1986) olarak adlandırılan (GA)<sub>n</sub> ve (GT)<sub>n</sub> gibi her birinin uzunluğu 1-10 baz çifti arasında değişen DNA'nın art arda gelen tekrar birimleri ökaryotik genomlarda yaygın bir şekilde mevcuttur. Bitki genomlarında çoğunlukla iki ve üç nükleotid tekrarları mevcuttur. Ardışık SSR tekrarlarının sayısındaki farklılık PZR sonucu farklı uzunlukta parça çoğaltımı ile sonuçlanır (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Mikrosatelitler, tekrar birimlerinin sayısındaki değişimden dolayı yüksek derecede polimorfiktir.

Mikrosatelit belirleyicilerinin polimorfizm seviyesi tekrar ünitelerinin uzunluğu ile orantılı olarak değişmektedir (Saghai ve ark., 1994). Bu şekildeki uzunluk polimorfizmleri yüksek çözünürlüğe sahip jellerde kolaylıkla tespit edilebilir. SSR'lar yüksek polimorfizm seviyeleri nedeniyle pek çok organizma için populasyon genetiği ve gen haritalamada kullanılabilecek bol bulunan bir genetik markör kaynağıdır (Holton, 2001).

Mikrosatelitler ko-dominant kalıtım özelliği göstermeleri, lokusa özgü olmaları, yüksek bilgi içeriğine sahip olmaları ve PZR ile kolayca tespit edilebilmeleri gibi özellikleri nedeniyle günümüzde en çok tercih edilen moleküler belirleyicilerdir (Röder ve ark., 1995). Ayrıca SSR'lar bitki genomlarında oldukça bol olup üniform bir dağılım gösterirler. Buğday genomu her 704 kb'de bir (GT)n grubu ve her 440 kb'de bir (GA)n grubu içermektedir. Buğdayın her bir haploid genomunun  $16 \times 10^6$  kb büyüklüğünde olmasından ötürü, mikrosatelit lokuslarının toplam sayısı (GA)n için  $3,6 \times 10^4$  ve (GT)n için  $2,3 \times 10^4$ 'dür (Röder ve ark., 1995).

Mikrosatelit belirleyicileri günümüzde genotiplerin tanımlanmasında, kantitatif karakter lokuslarının (QTL) saptanması ve haritalanması ile genetik çeşitlilik araştırmalarında kullanılmaktadır (Gupta ve Varshney, 2000; Budak ve ark., 2003; Kandemir ve ark., 2010). Röder ve ark. (1995), yüksek derecede polimorfik olan mikrosatelitlerin, buğday çeşitlerinde moleküler belirleyici veri tabanlarının oluşturulmasında kullanılabilecek faydalı bir potansiyel sistem olduğunu bildirmişlerdir.

Makarnalık buğday glutenlerinin özellikleri ile sıkı bir şekilde bağlantılı olan  $\gamma$ -gliadin ve LMW glutenin genomik markörleri geliştirmek için çok sayıda PZR kökenli araştırma yapılmıştır (D'Ovidio ve ark., 1990; D'Ovidio, 1993). Durum buğdaylarının makarna yapma kalitesini etkileyen moleküler markörler 1990'lı yıllarda geliştirilmeye başlanmıştır (D'Ovidio ve ark., 1990; Pogna ve ark., 1990; D'Ovidio ve Porceddu, 1996). D'Ovidio ve Porceddu (1996), makarnalık buğdayda gluten kalite özellikleri ile ilgili LMW glutenin genlerinin seleksiyonu için bir seri PZR analizleri gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada spesifik primerlerden bir çifti kullanılarak bir buğday genotipinin LMW-2 glutenine sahip olup olmadığını gösteren tek bir amplifikasyon

ürünü elde edilmiştir. Bu çalışma ile teknolojik olarak iyi özelliklere sahip durum buğdaylarının büyük bir çoğunluğunun LMW-2 glutenin alt ünitesine sahip olduğu PZR analizleri ile saptanmıştır. Daha sonra yapılan araştırmalarda analitik PZR yaklaşımıyla  $\gamma$ -gliadin genine özgü markörler de geliştirilmiştir (von Büren ve ark., 2000).

Bu çalışmada aktarılmak istenen gen bölgelerini taşıyan her iki lokusun da (*Gli-B1* ve *Glu-B3*) moleküler haritaları bir çok araştırmacı tarafından farklı haritalama popülasyonlarında yapılmış ve markör destekli seleksiyonda kullanılabilecek değişik markör tipleri belirlenmiştir (D'Ovidio ve ark., 1992; Gale ve ark., 1995; Korzun ve ark., 1999; Nachit ve ark., 2001; Somers ve ark., 2004). Ayrıca *Gli-B1* lokusunda  $\gamma$ -42 ve  $\gamma$ -45 gliadinlerinden hangisinin bulunduğunu gösteren  $\gamma$ -gliadin 45'e spesifik bir STS markörü (D'Ovidio ve ark., 1992) ve gen spesifik bir PZR primeri (von Büren ve ark., 2000) geliştirilmiştir. Aynı şekilde  $\gamma$ -42 ve  $\gamma$ -45 gliadinlerinden hangisinin bulunduğu A-PAGE metodu ile de kolayca tanımlanabilmektedir (Clarke ve ark., 1998).

### 2.5.2. Protein Markörleri

Biyokimyasal markörler depo proteinleri ve enzim proteinleri olarak iki ana grupta incelenmektedir. Buğday tohumunda bulunan iki depo protein grubu olan gliadin ve glutenin, depo protein markörleri amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Depo proteinleri bir jel üzerinde hareket ettirilip boyandıklarında, farklı genotiplerde ortaya çıkan farklılıklar genetik belirleyici olarak kullanılabilir. Depo proteinleri analizleri çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir. Ancak, sayıları oldukça azdır. Enzim markörleri alloenzimler ve izoenzimler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Alloenzim, birbirinden ayırt edilebilen allelleri bulunan enzimleri ifade etmektedir. Alloenzimler aynı genin farklı allelleri tarafından meydana getirilmektedirler. İzoenzim, farklı genler tarafından üretilen, ancak birbirine çok benzeyen enzimleri ifade etmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Enzim markörlerinin temel avantajları analizlerinin çabuk, ucuz ve güvenilir olmasıdır. Ayrıca çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmezler. En büyük dezavantajları sayılarının çok az oluşu ile yalnızca özel dokularda ve belirli bir gelişme döneminde gözlenebilir olmalarıdır (Yıldırım, 2008).

Protein markörlerinin analizleri proteinlerin hem ayrıştırılması hem de görüntülenebilmesini sağlayan elektroforeze dayanmaktadır. Elektroforez, elektriksel bir alanda yüklü taneciklerin ya da çözeltideki iyonların hareketleridir. Çok sayıda elektroforez çeşitleri mevcuttur. Protein markörlerinde en yaygın kullanım alanı olan elektroforez tipi Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE) yöntemleridir. Ekstrakte edilen protein örnekleri, akrilamid ile akrilamid türevi olan N-N'-metilen bis-akrilamidin polimerleşmesiyle oluşturulan jel üzerinde yürütülür. Akrilamid molekülleri yan yana bağlanarak düz zincirler oluştururken, bisakrilamid molekülleri iki akrilamid zinciri arasında çapraz bağlanmalar oluşturur. PAGE sisteminde uygulanan (proteinler için) jel yüzdesi ve molekül ağırlığına göre ayrılma kapasitesi sınırları % 5'lik jel için 60-212 kDa, % 10'luk jel için 18-75 kDa ve % 15'lik jel için 15-45 kDa arasında değişmektedir (Metin, 2007). Monomerik yapıda ve seyreltik alkolde çözünen gliadin proteinleri (30-75 kDa) Asidik Poliakrilamid Jel Elektroforez (A-PAGE) sisteminde  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\omega$ -gliadinler olarak dört alt gruba ayrılmaktadır.

Protein markörlerinin analizlerinde kullanılan bir diğer elektroforez tipi Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)'dir. Polimerik yapıda ve zayıf asit veya baz çözeltilerinde çözünen glutenin proteinleri, SDS-PAGE sisteminde moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılmaktadır. SDS-PAGE yöntemi proteinlerin saflığının kontrolü ve molekül ağırlıklarının saptanması amacıyla kullanılmaktadır (Temizkan ve Arda, 2004; Metin, 2007).

Biyokimyasal markörlerden izoenzimler çoğunlukla geliştirilen yeni çeşit ile anaçların tanımlanmasında ve çeşitlerin saflıklarının muhafazasında kullanılmaktadır (Sipahi, 2004). Depo proteinleri ise tahıl ıslahında genellikle seleksiyon amaçlı kullanılmaktadır. Depo protein markörlerinde gözlenen farklılıklar ile kalite ve diğer bazı özelliklerin ilişkilendirilmesi ve erken generasyonlarda hat seçimi yapılabilmektedir. Bu alanda en çok kullanılan markör sistemlerinden biri HMW ve LMW gluteninlerdir. Uluslararası Tohumculuk Test Kuruluşu (ISTA) morfolojik özelliklerin yanı sıra buğday çeşitlerinin tanımlanmasında gliadini, arpa çeşitlerinin tanımlanmasında ise hordeini de kullanılmaktadır (Cooper, 1987). Du Cros ve ark. (1982), bitki ıslahında glutenin proteinlerinin elektroforezine dayanılarak yapılan seleksiyonun çevresel faktörlerden

etkilenmeksizin, az sayıda örnek miktarıyla genotipin tanımlanmasını sağladığını bildirmişlerdir.

Biyokimyasal markörlerin buğday kalite ıslahında kullanımı da oldukça yaygındır. Buğdayda bu alanda en çok kullanılan depo proteini glutendir. Bu proteinlerden en önemlileri yüksek gluten kuvveti ile ilişkili olan  $\gamma$ -45 gliadin ile zayıf gluten ve viskoelastik özellik ile ilişkili olan  $\gamma$ -42 gliadin ve durum buğdayının gluten kuvvetini ve kalitesini olumlu yönde etkileyen LMW-2 glutenin alt ünitesidir (Gupta ve ark., 1994; Clarke ve ark., 1998). İtalya’da yürütülen bir araştırmada  $\gamma$ -42 gliadine sahip ancak aynı zamanda da sağlam gluten yapısı gösteren bir çeşit ile dört farklı çeşit melezlenmiş ve elde edilen F2 bitkilerinin gliadin ve glutenin bant profilleri incelenmiştir (Pogna ve ark., 1990). Araştırma sonucunda gliadin bantlarının 1B kromozomunda bulunan *Gli-B1* lokusundaki genler tarafından idare edildiği saptanmıştır. Ayrıca elde edilen veriler *Glu-B3* lokusunda bulunan LMW glutenin alt ünitesini kodlayan genlerin gluten sağlamlığı ile ilişkili olduğunu, gliadin bantlarının ise gluten sağlamlığı bakımından iyi bir markör olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde makarnalık buğdayda (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) endosperm proteinleriyle kalite arasındaki ilişkinin incelendiği bir araştırmada da  $\gamma$ -gliadin 42 ve 45 ile LMW-2 gluteninlerin makarna kalitesinin belirlenmesinde uygun markörler oldukları belirlenmiştir (Carrillo ve ark., 2000).

$\gamma$ -gliadin ve LMW-2 gluteninler buğday ıslahı çalışmalarında önemli birer protein markörü olarak kullanılmaktadır. Buğday depo proteinleri (gliadin ve gluteninler) çevreden etkilenmedikleri ve doğrudan genetik yapının kontrolünde oldukları için çeşit teşhisinde uzun yıllardan bu yana kullanılmaktadır (Cook, 1984; Sofalian ve Valizadeh, 2009; Ahmed ve ark., 2010). Keskin ve ark. (1999), gliadin bant desenlerinin doğrudan genotip ile belirlendiğini, çevre şartlarının etkisi olmadığını ve bu özellikleri nedeni ile de gliadin proteinlerinin elektroforetik analizlerinin buğdayda kalite ıslahında kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Gliadin bant desenleri makarnalık buğday çeşitleri arasındaki ve içindeki genetik farklılıkların tespit edilerek kalitelerinin saptanmasında da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yüksel, 2009; Eserkaya Güleç, 2010).

Damidaux ve ark. (1980), 117 adet makarnalık buğday çeşidinin genetik farklılıklarının gliadin bant desenlerine göre belirlenmesi amacıyla yürüttükleri çalışmada kullanılan çeşitleri  $\gamma$ -gliadin bant yapılarına göre iki ana gruba ayırmışlardır. Araştırmada kullanılan çeşitlerden 47 tanesinin  $\gamma$ -42 gliadine, 66 tanesinin ise  $\gamma$ -45 gliadine sahip olduğu saptanmıştır. Araştırma sonuçları  $\gamma$ -45 gliadini taşıyan çeşitlerin daha sağlam gluten yapısına sahip olduğunu ve bu iki proteinin bant yapısının buğdayda kalitenin belirlenmesinde protein markörü olarak kullanılabileceğini bir kez daha göstermiştir. Bir başka çalışmada ise protein ve moleküler markörler yardımıyla yapılan seleksiyon ile geri melez ıslah yönteminin yapılacak ıslah çalışmalarında kombine bir şekilde başarıyla kullanılabilceğini göstermiştir (Abdel-Hady ve Naggar, 2007). Araştırmada, markör destekli seleksiyon yardımıyla yapılan ıslah çalışmalarında farklı markör tiplerinin kombinasyonunun çalışmanın güvenilirliğini ve etkinliğini artırdığı da saptanmıştır.

## 2.6. Embriyo Kültürü

Embriyo kültürünün genel olarak uygulama alanları; biyolojik temel çalışmalar, dormansi nedeniyle tohumların çimlenememesi gibi durumlar, yaşamayan embriyoların kurtarılması, haploid bitkilerin üretilmesi, tohum canlılıklarının hızlı bir şekilde test edilmesi, ender bitkilerin çoğaltılması ve ıslah süresinin kısaltılmasıdır (Bürün ve Gürel, 2001). Temel olarak olgun ve olgunlaşmamış embriyoların kültürü olmak üzere iki tip embriyo kültürü yapılmaktadır.

Buğdayda doku kültüründe, olgunlaşmış embriyo, olgunlaşmamış yaprak ve çiçek, olgun embriyo, mezokotil, tohum, apikal meristem (Özgen ve ark., 1996), anter ve izole edilmiş mikrosporlar (Delporte ve ark., 2001) gibi farklı eksplant kaynakları kullanılmaktadır. Bu dokuların bütün bir bitkiye rejenere olabilme kabiliyeti birbirinden farklıdır (Delporte ve ark., 2001). Olgunlaşmamış embriyoların buğday için ideal eksplant kaynakları olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir (Sears ve Deckard, 1982; Felfodi ve Purnhauser, 1992; Wu ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda olgunlaşmamış embriyonun, in vitro koşullarda rejenere olabilen en etkili doku olduğu tespit edilmiştir



(Özgen ve ark., 1998; Delporte ve ark., 2001). Arzani ve Mirodjagh (1999) 28 adet makarnalık buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürüne karşı tepkilerini ölçmek amacıyla yaptıkları çalışmaları sonucunda 14 günlükken alınan olgunlaşmamış embriyolarda oldukça başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Olgunlaşmamış embriyolar buğday doku kültüründe en sık kullanılan eksplant kaynağı olmasına rağmen, sadece yılın belirli bir dönemi kullanıma uygun durumdadır (Özgen ve ark., 1996). Olgunlaşmamış embriyoların rejenerasyon ve transformasyon yeteneği, alındığı bitkinin büyüme şartlarından etkilenmektedir (Delporte ve ark., 2001).

Olgunlaşmamış embriyolar buğdayda kallus kültürü çalışmaları (Hou ve ark., 1997; Özgen ve ark., 1996) ve doğrudan DNA'ya dayalı teknikler (Bommineni ve Jauhar, 1997) için çoğunlukla eksplant kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra olgunlaşmamış embriyo kültürünün, buğday ıslahında hızlı yetiştirme tekniklerini ve bitkilerdeki melezleme engellerinin olduğu durumları kapsayan uygulamaları da vardır (Kumar, 1995; Sharma ve ark., 1996). Lammerts (1942), embriyo kültürünün ıslah süresini kısaltmada etkili bir teknik olduğunu ifade etmiştir. Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada da benzer bulgular elde edilmiş ve embriyo kültürünün buğday ıslah süresini kısaltmadaki etkinliği vurgulanmıştır (Fernandez ve ark., 1999; Varshney ve Altpeter, 2002; Wu ve ark., 2003; Haliloğlu ve ark., 2005; Dejan ve ark., 2008).

Bir yıl içerisinde tarla şartlarında bir generasyon buğday üretilebilirken, embriyo kültürü ve kontrollü şartlarda hızlı bitki yetiştirme tekniklerinin kombine bir şekilde kullanılması sayesinde yılda 2-3 generasyon buğday üretilebilmektedir. Böylece embriyo kültürü ile bir yıl içerisinde iki ve daha fazla generasyon alınarak uzun yıllar sürececek bir ıslah çalışmasının çok daha kısa sürede tamamlanması mümkün olmaktadır (Yıldırım ve ark., 2009). Bu çalışmada, 20 günlükken kültüre alınan olgunlaşmamış embriyolardan yeni fideler elde edilmiş ve böylece her bir generasyon yaklaşık 30-45 gün daha erken elde edilebilmiştir. Buğdayın yanı sıra birçok bitkide de ıslah çemberinin kısaltılmasında olgunlaşmamış embriyo kültürü kullanılmaktadır. Örneğin ayçiçeğinde olgunlaşmamış embriyoların kültüre alınması ile bir yılda dört generasyon alınabilmiştir (Bhojwani ve Razdan, 1996). Bothmer ve Laursen (2008) arpa bitkisinde

yaptıkları geri melezleme ıslahında embriyo kültüründen faydalanmışlardır. Benzer bir çalışmada da Angra ve ark. (1999) geri melezlerde embriyo kültürünü kullanmışlardır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Araştırmada, markör destekli seleksiyon yöntemiyle aktarım yapılmak üzere tekrarlanan anaç olarak dört adet tescilli makarnalık buğday çeşidi kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bu çeşitler, AB COST FA0604 nolu aksiyon çerçevesinde TÜBİTAK-TBAG tarafından desteklenen (107O004) araştırma projesinde yapılan taramalar sonucunda ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen ancak  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin gen bölgelerine sahip olmayan çeşitler arasından seçilmiştir. Geri melezleme ıslahında donör anaç olarak Kanada orijinli olan ve  $\gamma$ -gliadin 45 ile LMW-2 glutenin gen bölgelerini taşıyan makarnalık buğday çeşidi Kyle kullanılmıştır. Donör anaç ile tekrarlanan anaçların her biri melezlenerek F1 bitkileri elde edilmiş ve her bir F1 bitkisi kendi tekrarlanan anaçıyla üç kez geriye melezlenmiş (Çizelge 3.2) ve markör destekli seleksiyon yöntemi yardımıyla bu iki gen bölgesi Türk makarnalık buğday çeşitlerine aktarılmıştır.

Çizelge 3.1: Araştırmada kullanılan tescilli makarnalık buğday çeşitleri, tescil edildikleri yıllar, tohumun alındığı kuruluş ve  $\gamma$ -gliadin tipi.

Sıra No	Çeşit Adı	Tescil Yılı	Tohumun Alındığı Kuruluş	$\gamma$ -gliadin Tipi
1	Sarıçanak-98	1998	GATAE	42
2	Salihli-92	1995	ÇÜZF	42
3	Kızıltan-91	1991	TBMAE	42
4	Selçuklu-97	1997	TBMAE	42
<b>Kontrol</b>	Kyle	-	SPARC	45
Kontrol	Marquis*	-	TBMAE	-
Kontrol	Lira-1*	1985	İTÜAB	42
Kontrol	Lira-2*	1985	İTÜAB	45

\* Marquis  $\gamma$ -gliadin 45 bandının yerinin belirlenmesinde, Lira-1 LMW-1 ve Lira-2 çeşidi ise LMW-2 bantlarının belirlenmesinde kontrol amacıyla kullanılmıştır.

(GATAE: Güneydoğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü; ÇÜZF: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi; TBMAE: Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü; SPARC: Semiarid Prairie Agricultural Research Center Kanada; İTÜAB: İtalya Tuscia Üniversitesi Agrobiyoloji Bölümü)

Çizelge 3.2: Geri melezleme ıslahında kullanılan melez aileleri ve kodlandırılmış isimleri.

Melez Ailesi	Kodu	Geri Melez Kodu
Sarıçanak-98 // Kyle	TMB1	TMB1GMF
Salihli-92 // Kyle	TMB2	TMB2GMF
Kızıltan-91 // Kyle	TMB3	TMB3GMF
Selçuklu-97 // Kyle	TMB4	TMB4GMF

(\*TMB: Türk Makarnalık Buğdayı)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. DNA İzolasyonu ve Markör Taramaları

F1 ve geri melez popülasyonlarında (GMF)  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenini taşıyan QTL bölgeleri bakımından tarama yapılarak, her iki bölgeyi de taşıyan bitkiler kendi tekrarlanan anaçlarıyla geriye melezlenmiştir. Bu amaçla her bir çeşide ait F1 ve GMF1 tohumları ortadan yarıya bölünerek endospermleri ve embriyoları ayrılmıştır. Alınan endospermler gliadin ve LMW glutenin analizlerinde kullanılmış, embriyolar ise çimlendirilerek genç yapraklarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bazı değişikliklerle standardize edilerek çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyonu metodu aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Doyle ve Doyle, 1990).

1) 1,5 cm boyunda bir yaprak önce ependorf tüpte 50  $\mu$ l buffer içinde öğütülür ve daha sonra üzerine 450  $\mu$ l buffer ilave edilir.

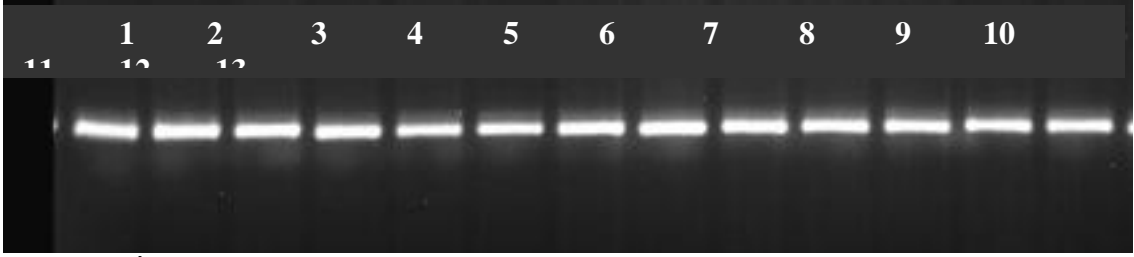
\* 100 ml buffer hazırlamak için

- 65 ml saf su (dH<sub>2</sub>O),
- 10 ml 1 M Tris (pH: 7.5),
- 14 ml 5 M NaCl ve
- 10 ml 0,5 M EDTA (pH: 8,0) karıştırılarak 65 °C'de ısıtılır ve
- 1 gr CTAB ile
- 1 ml 14 M Beta Merkpto Etanol (BME) eklenir.

2) Bir ünite Proteinase K eklendikten sonra (bir ünite 20  $\mu$ l konsantrasyon) vortekste karıştırılır.

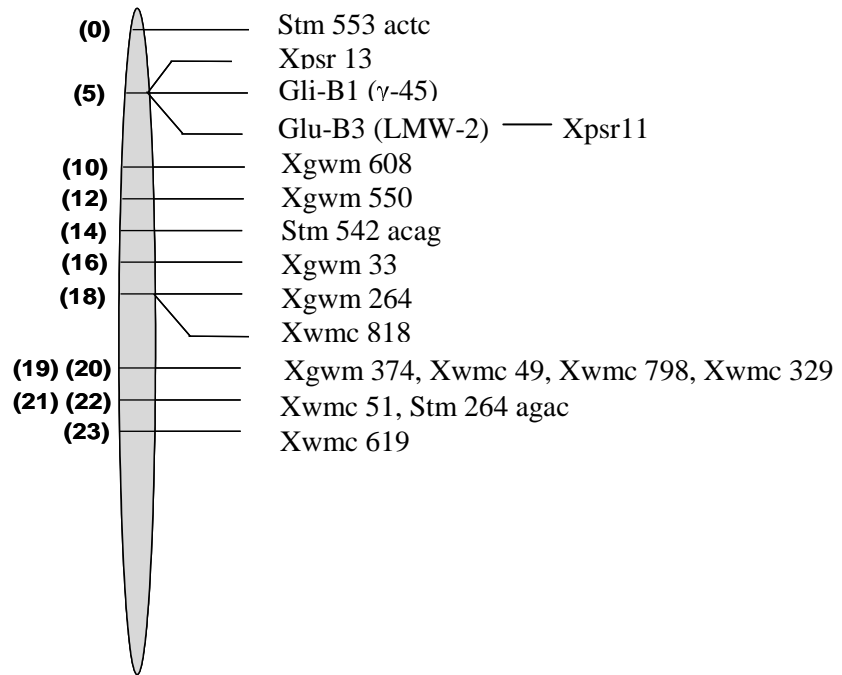
- 3) 40 µl % 20 SDS (veya 80 µl % 10 SDS) eklenerek 65 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulur ve ara sıra alt üst ederek karıştırılır.
- 4) Su banyosundan çıkarılan tüplere 2 / 3 hacim (400 µl) kloroform : isoamil alkol (24:1) eklenir. 5-10 dakika alt üst edilerek karıştırılır.
- 5) 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.
- 6) Süpernatant 2 / 3 hacim yani 300 µl 2-propanol içeren yeni bir tüpe alınır. Alt üst edilerek DNA gözle görülür hale getirilir.
- 7) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.
- 8) Sıvı dökülür. Pelet kuruduktan sonra 500 µl 1 x TE eklenir.
- 9) 10 mg / ml RNase çözeltisinden 1 µl eklenir. DNA 60 °C'deki su banyosunda 2 saat eritilir.
- 10) 400 µl kloroform: isoamil alkol (24:1) eklenir. Tüpler 5-10 dakika alt üst edilerek karıştırılır.
- 11) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.
- 12) Süpernatant 80 µl 1.2 M NaCl (veya 20 µl 5 M NaCl ) içeren yeni bir tüpe alınır ve hafifçe karıştırılır.
- 13) 800 µl % 96 soğuk etil alkol ilave edilir. Alt üst edilip karıştırılarak DNA çökeltilir.
- 14) 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilir ve sıvı dökülür.
- 15) Pelet 900 µl % 70 soğuk etil alkol ile dikkatlice yıkanır. Ters çevrilmiş halde 2 saat kurutulur.
- 16) Kuruyan pelet 100 µl 1 x TE' de çözülür. Sonuçta, toplam 20 µg civarında DNA elde edilebilir.

Kullanılacak yöntem optimize edildikten sonra her bir bitkiden yaprak örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Yaprak örnekleri sapa kalkma döneminde bitkilerin en genç yapraklarından alınmıştır. Elde edilen DNA'lar agaroz jelde koşulmuş ve görüntülenmiştir (Şekil 3.1). DNA miktarı yetersiz olan çeşitlerde izolasyon işlemi tekrarlanmıştır.



Şekil 3.1: İzole edilen DNA'ların % 1'lik agaroz jeldeki görünümü

Elde edilen tüm DNA'lar, 1B kromozomunun kısa kolunun uç kısmına haritalanmış birbiriyle sıkı şekilde bağlantılı olan *Gli-B1* lokusundaki  $\gamma$ -gliadin 45 ve *Glu-B3* lokusu tarafından kodlanan LMW-2 glutenin allellerinin varlığı açısından taranmıştır. *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarını içeren 1BS kromozomuna ait farklı haritalardan alınan ve bu bölgelerle bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2: 1BS kromozomunda bulunan *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarıyla bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları (Koyu renkli rakamlarla gösterilen değerler cM cinsinden uzaklıkları ifade etmektedir.)

Moleküler taramalarda bir çok araştırmacı tarafından haritalanan ve bu QTL ile bağlantılı olan mikrosatelit (SSR) markörleri (Çizelge 3.3) kullanılmıştır (Gale, 1995; Gupta ve ark., 2002; Somers ve ark., 2004; Hayden ve ark., 2006). Ayrıca bu allellerin varlığı açısından yapılacak taramalarda  $\gamma$ -gliadin 45'e spesifik olan bir adet PZR primeri (GAG

5-6) ile (von Büren ve ark., 2000) bir adet STS (D'Ovidio, 1993) primeri de kullanılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.3: Taramalarda kullanılan *Gli-B1* ve *Glu-B3* bölgeleriyle bağlantılı SSR markörleri

SSR markörleri	Primer Dizisi (5'--- 3')	Genetik Harita Kaynağı
Xpsr11	Forward- gTT TTC CCA gTC ACg AC Reverse- CAg gAA ACA gCT ATg AC	Gale, 1995
Xwmc49	Forward- CTC ATg AgT ATA TCA CCg CAC A Reverse- gAC gCg AAA CgA ATA TTC AAg T	Gupta ve ark., 2002
Xwmc329	Forward- ACA AAg gTg CAT TCg Tag A Reverse- AAC ACg CAT CAg TTT CAg T	Gupta ve ark., 2002
Xwmc51	Forward- TTA TCT Tgg TgT CTC ATg TcA g Reverse- TCg CAA Gat CAT CAg AAC AgT A	Somers ve ark., 2004
Xwmc550	Forward- gACCCTgTgCTgCTATggAT Reverse- gCCACCCCTggTgAATTTAC	Somers ve ark., 2004
Xwmc798	Forward- gTg Tgg TAg TgT AgC TgC CAA AAg Reverse- gTT AgC ATg gCA CAT AgA AgC Ag	Somers ve ark., 2004
Xwmc619	Forward- TTC CCT TTC CCC TCT TTC Cg Reverse- TAC AAT CgC CAC gAg CAC CT	Somers ve ark., 2004
Xgwm374	Forward- ATA gTg TgT TgC ATg CTg TgT g Reverse- TCT AAT TAG CgT Tgg CTg CC	Somers ve ark., 2004
Xgwm550	Forward- CCC ACA AgA ACC TTT gAA gA Reverse- CAT TgT gTg TgC AAg gCA C	Somers ve ark., 2004
Xgwm608	Forward- ACA TTg TgT gTg Cgg CC Reverse- Gat CCC TCT CCg CTA gAA gC	Somers ve ark., 2004
Stm553actc	TTg ATA ATg AAg ATg CTC TgA CTC A	Hayden ve ark., 2006
Stm542acag	CCC ACA AgA ACC TTT gAA gA	Hayden ve ark., 2006
Stm264agac	CAG CAC CCA TCA ACC ACC A	Hayden ve ark., 2006

Çizelge 3.4: Taramalarda kullanılan  $\gamma$ -gliadin 45 için spesifik DNA markörleri

DNA markörleri	Primer Dizisi (5'--- 3')	Genetik Harita Kaynağı
STS primeri	ATg AAg ACC TTA CTC ATC CT ACA TAC ACg TTg CAC ATg g	D'Ovidio, 1993
GAG 5	ACA ATg gCC ACA ACA ACA AC	von Büren ve ark., 2000
GAG 6	TgC CCT gRC CCT ggR C	von Büren ve ark., 2000

Yapılan ön taramalarda çok sayıda primer denenmiş (GAG 5-6, STS, Stm264agac, Stm542acag, Stm553actc, Xgwm 374, Xgwm 550, Xgwm 608, Xwmc 51, Xwmc 329, Xwmc 49, Xwmc 619, Xwmc 798) ve her çeşit için en polimorfik olan primerler tespit edilmiştir (Çizelge 3.5). Bu primerler kullanılarak geri melezleme ıslahında  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin allellerinin varlığı saptanmış ve her bir generasyonda seleksiyon işlemi oldukça kısa bir sürede gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.5: Çalışmada kullanılan çeşitler için polimorfik markörler

<i>S. No</i>	<b>Çeşit Adı</b>	<b>Polimorfik Markörler</b>
1	Sarıçanak-98	Stm542acag, Stm553actc, GAG5-6
2	Salihli-92	Stm542acag, Stm553actc, Xgwm608, GAG5-6
3	Kızıltan-91	Stm553actc, Xgwm550, GAG5-6
4	Selçuklu-97	Stm553actc, STS

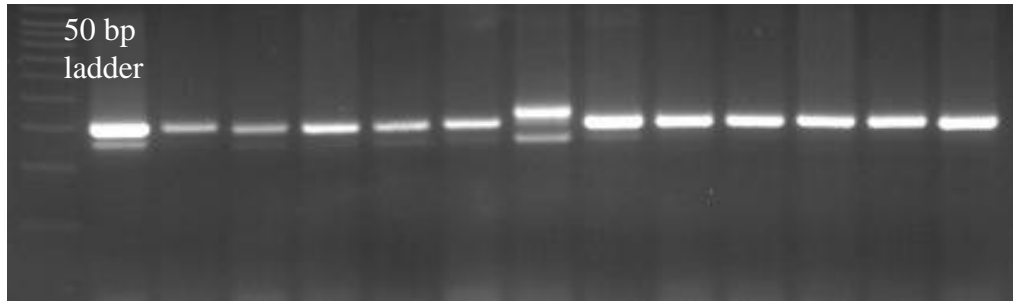
Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) her bir primer için kaynak makalelerinde gösterilen şartlarda yapılmıştır. PZR işleminin gerçekleştirildiği Thermo marka (Px2) thermal cycler Şekil 3.3'de verilmiştir. Her bir reaksiyon karışımı; 250 nM primer, deoksinükleotidlerin her birinden 0.2 mM, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 ünite Taq Polimeraz enzimi ve 50-100 ng kalıp DNA'dan oluşmaktadır. Bir PZR işlemi; 94 °C' de bir dakika denatürasyon, primere bağlı olarak 50 ile 60 °C arasında bir dakika yapıştırma, 72 °C' de bir dakika uzatma ve 72 °C' de beş dakika son uzatma sirkülasyonundan oluşmaktadır.





Şekil 3.3: PZR’de kullanılan thermal cyclers.

PZR ürünleri kullanılan primere bağlı olarak yüksek çözünürlüğe sahip % 3’lük metaphore agaroz ya da % 1’lik agaroz jelde koşulmuştur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: % 3’lük metaphor agaroz jel örneği

### 3.2.2. Gliadin ve Glutenin Elektrofrez

#### 3.2.2.1. $\gamma$ -Gliadin 42 ve $\gamma$ -Gliadin 45 Proteinleri

Buğday çeşitlerinin makarna pişme kalitesinde gösterge olarak kabul edilen  $\gamma$ -gliadin ( $\gamma$ -gliadin 42 veya 45) proteinleri bakımından taranmasında Bushuk ve Zillman (1978) tarafından geliştirilen ve Khan ve ark. (1985) tarafından modifiye edilen (Köksel ve

ark., 2000) Asidik Poliakrilamid Jel Elektroforez (A-PAGE) yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan yöntem ve çözeltiler aşağıda verilmiştir:

### 3.2.2.1.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

#### a) Tampon Çözeltisi (5 litre 1 x çözelti için)

6,25 gr Alüminyum laktat tartılarak yaklaşık iki litre saf su içinde eritilir. pH laktik asitle 3,1'e ayarlandıktan sonra son hacim saf su ile 5 litreye tamamlanır.

#### b) Ekstrakt Seyreltme Çözeltisi

4 gr sakkaroz tartılıp tampon çözeltisi ile 10 ml'ye tamamlanır ve 0,06 gr metil green ilave edilerek iyice vortekslenir.

#### c) Jel Çözeltisi

- 90 ml dH<sub>2</sub>O
- 7 gr akrilamid
- 0,3 gr bisakrilamid
- 0,05 gr askorbik asit
- 0,25 gr alüminyum-laktat

Yukarıda verilen kimyasallarla hazırlanan jel çözeltisi yaklaşık 10 dakika karıştırıldıktan sonra laktik asitle pH'sı 3,1'e ayarlanır. Daha sonra son hacim 100 ml'ye tamamlanır. Her jel için 50 ml jel çözeltisi kullanılır.

#### d) Demir Sülfat (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) stok çözeltisi (~% 1,6)

10 mg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O tartılıp üzerine 625 µl dH<sub>2</sub>O eklenerek vortekslenir. Hazırlanan stok, oksitlenene kadar + 4 °C'de muhafaza edilebilir.

#### e) Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) stok çözeltisi (% 3'lük)

1 ml % 35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerine 10 ml dH<sub>2</sub>O eklenip karıştırılır.

#### f) % 12'lik TCA (Trikloroasetikasit) çözeltisi

240 gr TCA tartılıp dH<sub>2</sub>O ile 2 litreye tamamlanır.

#### g) Boyama Çözeltisi

0,4 gr coomassie brilliant blue R-250 boyası 40 ml % 95'lik etil alkolde çözdürülür. Çözünmeden kalan partiküller filtre kâğıdıyla süzülerek üzerine 960 ml % 12'lik TCA eklenir.

#### h) Boya giderme çözeltisi

Boya giderme amacıyla doğrudan % 12'lik TCA çözeltisi (f) kullanılır.

### 3.2.2.1.2. Gliadin Proteinlerinin Ekstraksiyonu

Ayrılan endospermiler havanda toz haline gelinceye kadar ezildikten sonra tartılır ve ependorf tüplere alınarak üzerlerine ağırlıklarının üç katı kadar % 70'lik etil alkol ilave edilip 30 sn vortekslenir. Daha sonra 30 dakika kadar çalkalayıcıya konulur ve her 10 dakikada bir tekrar vortekslenir. Vorteksleme işleminin bitiminin ardından 12000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılarak üstteki gliadin çözeltisinden 30 µl alınır, böylece gliadin ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Alınan süpernatanta 39 µl (alınan süpernatant miktarının 1,3 katı kadar) ekstraksiyon seyreltme çözeltisi eklenir.

### 3.2.2.1.3. Jel Dökme ve Yükleme

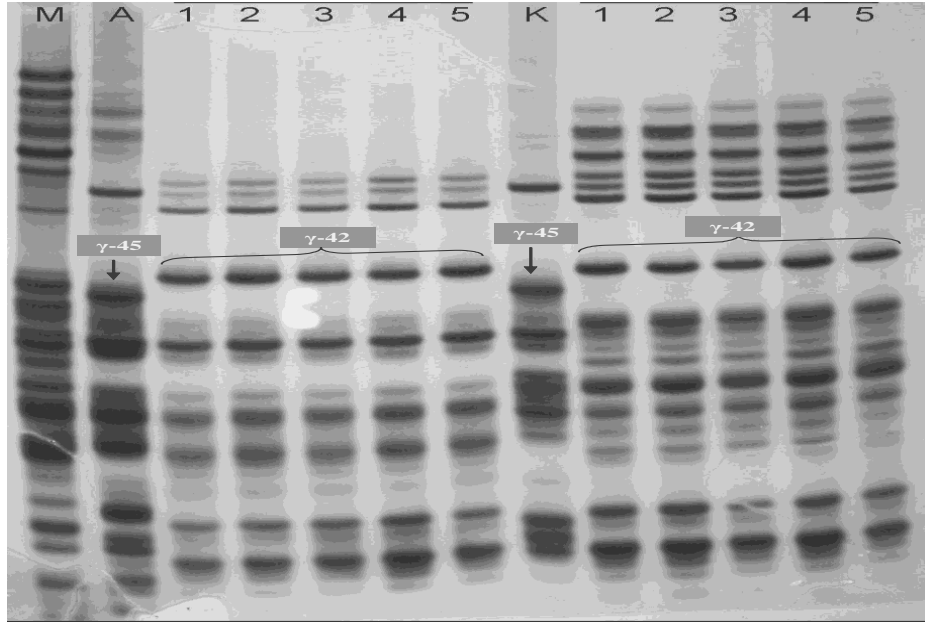
Jel çözeltisinden 50 ml alınarak içine 25 µl demir sülfat ve hızlı bir şekilde 50 µl hidrojen peroksit eklenir. Jel çözeltisi beklenmeden şırınga yardımıyla jel kalıbına dökülür ve taraklar yerleştirilir. Yaklaşık 20-30 dk sonra donan jelin tarakları çıkarılarak, hazırlanan örneklerden 10'ar µl yüklenir. Jel tankı tampon çözeltisiyle doldurulur ve A-PAGE sisteminde (Bio-Rad, Protean IIXi) 20 °C'de 500 volt sabit akımda yaklaşık üç saat koşturulur (Şekil 3.5). Bu çalışmada  $\gamma$ -gliadin 45 desenlerinin belirlenmesinde Marquis buğday çeşidi standart olarak kullanılmıştır. Ayrıca  $\gamma$ -gliadin 42 içerdiği bilinen Lira-1 ve  $\gamma$ -gliadin 45 içerdiği bilinen Lira-2 ve Kyle durum buğdayı çeşitleri de kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir.



Şekil 3.5: A-PAGE ve SDS-PAGE jel sistemlerinde kullanılan dikey elektroforez

#### 3.2.2.1.4. Boyama ve Boya Giderme

Jel yaklaşık 250 ml boyama çözeltisi içine alınarak 3-4 saat boyamaya bırakılır. Daha sonra 20-30 dk saf suda bekletilir ve ardından boya giderme çözeltisine alınır. Bu çözeltisi içerisinde bir gece bekletilir. Ertesi gün durulanan jelin fotoğrafı çekilir ve elde edilen bantlar Bushuk ve Zillman (1978)'a göre tanımlanır. Şekil 3.6'da A-PAGE jel fotoğraflarının bir örneği verilmiştir.



Şekil 3.6: Geri melez bitkilerinde A-PAGE yöntemiyle  $\gamma$ -gliadin desenlerinin belirlenmesi

(M: Marquis - standart; A: Avonlea - kontrol; K: Kyle - kontrol)

#### 3.2.2.2. LMW-1 ve LMW-2 Glutenin Proteinleri

Buğday çeşitlerinin makarna pişme kalitesinde belirleyici olan Düşük Moleküler Ağırlıklı Glutenin Desenleri (LMW-1 / LMW-2) Masci ve ark. (2000) ile Gianibelli ve ark. (2002) tarafından tanımlanan Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) yöntemi ve dikey elektroferez sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla Glutenin proteinleri, gliadin ekstraksiyonundan sonra arta kalan peletlerden Singh ve ark. (1991) tarafından tanımlanan yöntemle ekstrakte edilerek analize hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan yöntem ve çözeltiler aşağıda verilmiştir:

### 3.2.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

#### a) A çözeltisi (% 50'lik 1-propanol)

250 ml 1-propanol 250 ml saf su ile karıştırılarak hazırlanır.

#### b) B çözeltisi

50 ml 1-propanol, 8 ml 1 M Tris-HCl (pH 8,0) ve 42 ml saf su karıştırılarak hazırlanır.

#### c) B x çözeltisi (% 4'lük $\beta$ -merkaptolanol)

9,6 ml B çözeltisi ve 0,4 ml  $\beta$ -merkaptolanol karıştırılarak hazırlanır.

#### d) C çözeltisi

5 ml %10'luk SDS, 2 ml 1 M Tris-HCl (pH 8,0), 10 gr gliserol ve 5 mg bromfenol mavisi karıştırılır ve son hacim saf su ile 25 ml'ye tamamlanır.

#### e) Bisakrilamid çözeltisi (% 2'lik)

2,4 gr bisakrilamid tartılıp 100 ml saf su ile karıştırıldıktan sonra su banyosunda (65 °C) 10-15 dk ısıtılır. Tekrar karıştırılıp hacmi 120 ml'ye tamamlanır ve filtre kâğıdından süzülür. Bu çözelti ışık geçirmeyen kapalı bir kaptaki 4 °C'de muhafaza edilmelidir.

#### f) Tampon çözeltisi (1 litre 10 x Tris-Glisin-SDS)

30,3 gr Tris (Trizma-base), 144 gr glisin ve 10 gr SDS 900 ml saf içinde karıştırılarak çözdürülür. Elde edilen çözelti pH'sı derişik HCl ile 8,3'e ayarlandıktan sonra hacim 1 litreye tamamlanır.

#### g) Alt jel hazırlama tampon çözeltisi / Seperating buffer (3 M Tris-HCl, pH 8,8)

7,27 gr Tris tartılıp 10 ml saf su içinde çözdürülür. Çözelti pH'sı derişik HCl ile 8,8'e ayarlandıktan sonra hacim 20 ml'ye tamamlanır.

#### h) Üst jel hazırlama tampon çözeltisi / Stacking buffer (0,5 M Tris-HCl, pH 6,8)

0,485 gr Tris tartılır, 6 ml saf su içinde çözdürülür. Çözelti pH'sı derişik HCl ile 6,8'e ayarlanır ve hacim 8 ml'ye tamamlanır.

#### ı) Boyama çözeltisi (1 L)

0,4 gr coomassie brilliant blue R-250 boyası 40 ml % 95'lik etil alkolde çözdürülerek filtre kağıdında süzülür ve üzerine 960 ml % 12'lik TCA çözeltisi eklenerek karıştırılır.

### 3.2.2.2.2. Glutenin Proteinlerinin Ekstraksiyonu

#### a) Buğday tanesinin ezilmesi ve gluteninler dışındaki proteinlerin uzaklaştırılması

Buğday tanelerinin ayrılan endospermeleri toz haline gelinceye kadar havanda ezilerek tartılır ve 2 ml hacimli ependorf tüplere alınarak üzerlerine ağırlıklarının üç katı kadar % 70'lik etil alkol ilave edildikten sonra iyice vortekslenir ve 30 dk oda sıcaklığında karıştırılarak ekstraksiyona bırakılır (10 dk aralıklarla vorteksleme işlemi tekrarlanır). Ekstraksiyonu takiben 12000 rpm hızda 10 dk santrifüjlendikten sonra süpernatant dikkatlice uzaklaştırılır. Pelete yaklaşık 1 ml A çözeltisi ilave edilerek pelet pipetin ucu ile dağıtılır, vortekslenir ve 65 °C'de 30 dk ekstraksiyona bırakılır (10 dk aralıklarla vorteksleme işlemi tekrarlanır). Ekstraksiyondan sonra 10000 rpm'de 1 dk santrifüjlenir ve süpernatant atılır. Böylece glutenin dışındaki proteinler uzaklaştırılır. Pelet bozulmadan üzerine 0,5 ml A çözeltisi ilave edilerek pelet yüzeyi yıkanır, 10000 rpm'de 5 dk santrifüjlenir ve süpernatant atılır. Tüp peçete üzerine ters çevrilerek kalan sıvı uzaklaştırılır (10 dk).

#### b) Glutenin proteinlerinin ekstraksiyonu ve indirgenmesi (-S-S- bağlarının kırılması)

Gluteninler dışındaki proteinleri uzaklaştırılan peletin üzerine başlangıçta tartılan örnek ağırlığının 7 katı kadar Bx çözeltisi ilave edilir, pelet dağıtılır, vortekslenir, 65 °C'de 30 dk ekstrakte edilir (10 dk aralıklarla vorteksleme işlemi tekrarlanır) ve 10000 rpm'de 5 dk santrifüjlenir. Süpernatanttan 100 µl alınarak 100 µl C çözeltisi ile karıştırılır. Karışım 65 °C'de 15 dk ekstrakte edilir, vortekslenir, 10000 rpm'de 2 dk santrifüjlenerek elektroforez sistemine yüklemeye hazır hale getirilir.

### 3.2.2.2.3. Jel Hazırlama ve Yükleme

#### a) Alt jelin hazırlanması/ Seperating gel (% 10'luk akrilamid)

Uygun spacer (1,0 mm) kullanılarak elektroforez jel kalıpları usulüne uygun olarak hazırlanır ve tarağın alt ucundan 5 mm altı cam yazar kalem ile işaretlenir. 4,94 gr akrilamid, 3,2 ml % 2'lik bisakrilamid çözeltisi ve 6,5 ml alt jel tampon çözeltisi karışımının hacmi saf su ile 49,4 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltiden küçük bir behere 30 ml aktarılarak üzerine 335 µl % 10'luk SDS çözeltisi, 80 µl % 10'luk amonyum

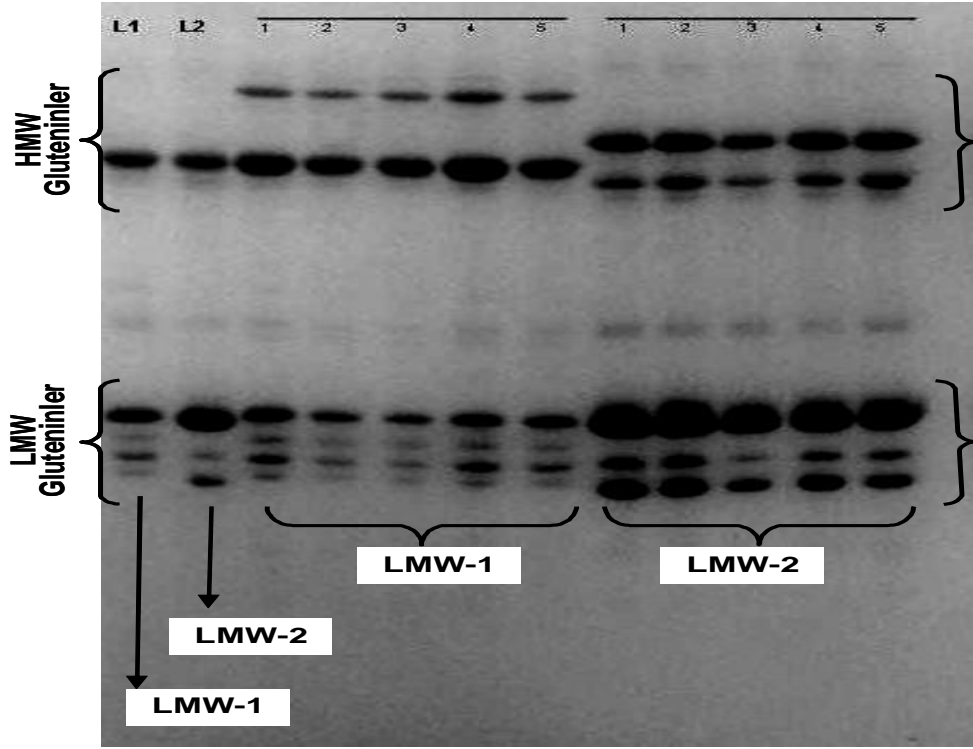
persülfat (APS) çözeltisi ve 34 µl TEMED ilave edilerek köpürtmeden karıştırılır. Şırınga vasıtasıyla jel kalıbına dökülür. Yüzeyin düzgün olması ve hava ile temasın kesilmesi için birkaç damla n-butanol damlatılır ve jelleşmeye bırakılır (~40 dk). Daha sonra jelin üst yüzeyindeki n-butanol yavaşça saf su ilave edilerek yıkanır ve süzülerek akıtılır. Kalan su kurutma kâğıdı ile jel bozulmadan uzaklaştırılır.

#### **b) Üst jelin hazırlanması / Stacking jel (% 3,7'lik akrilamid)**

0,365 gr akrilamid, 0,5 ml % 2'lik bisakrilamid ve 2,5 ml üst jel tampon çözeltisi karışımının hacmi saf su ile 9,9 ml'ye tamamlanır. Küçük bir behere bu çözeltiden 3 ml aktararak üzerine 60 µl % 10'luk SDS çözeltisi, 45 µl % 10'luk APS çözeltisi ve 9 µl TEMED ilave edilir ve yavaşça karıştırılır. Şırınga vasıtasıyla jel kalıbına (üst sınıra 2-3 mm kalana kadar) doldurulur ve tarak hava kabarcığı kalmayacak şekilde takılır. Jelleşme tamamlandıktan sonra (15-20 dk) tarak çıkarılır ve kuyucuklar saf su ile yıkanır. Jel elektroforez sistemine yerleştirildikten sonra sisteminin alt ve üst tankları saf su ile 10 kat seyreltilmiş tampon çözeltisi ile doldurulur. Örnekler her bir kuyucuğa 15 µl yükleme yapıldıktan sonra SDS-PAGE sisteminde (Bio-Rad, Protean IIXi) 15 °C'de 40 mA/jel akımda 2 saat 40 dk süreyle koşturulur. Bu çalışmada LMW glutenin desenlerinin belirlenmesinde kontrol amacıyla LMW-1 desenine sahip olduğu bilinen Lira-1 ve LMW-2 desenine sahip olduğu bilinen Lira-2 veya Kyle durum buğday çeşitleri kullanılmıştır.

#### **3.2.2.2.4. Jelin Boyanması ve Görüntülenmesi**

Jel, yaklaşık 250 ml boyama çözeltisi içeren düz bir kap (30 cm x 20 cm) içine aktarılır ve 3-4 saat hafifçe çalkalanarak boyama gerçekleştirilir. Jel, fazla boyanın giderilmesi için saf su içeren bir kapta 2-3 saat bekletilir. Boyası giderilen jel uygun bir zemine aktararak dijital kamera ile fotoğraflanır, bilgisayar ortamında işlenir ve isimlendirilir. Şekil 3.7'de SDS-PAGE jel fotoğraflarının bir örneği verilmiştir.



Şekil 3.7: Geri melez bitkilerinde SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi

### 3.2.3. Melezleme Çalışmaları

DNA markörler taramaları (SSR, STS ve GAG 5,6), A-PAGE ve gerektiğinde SDS-PAGE taramaları ile karşılaştırılarak hedeflenen QTL bölgesi açısından genotiplerin karakterizasyonları yapılmıştır. Bu taramalar sonucunda her iki bölgeyi de taşıdığı tespit edilen GMF1 bitkileri tekrarlanan anaçlarıyla yeniden melezlenmiş ve bu şekilde geriye melezleme işlemi üç kez tekrarlanmıştır (Şekil 3.8, 3.9).





Şekil 3.8: İlk kez melezlenen bitkiler



Şekil 3.9: Geri melezlemeleri yapılan bitkiler

Her bir geri melez generasyonunda tarama işlemleri kombine bir şekilde tekrar gerçekleştirilmiştir. Taramalar sonucunda geni taşıyan heterozigot geri melez hatları belirlenmiş ve bu bitkilerde melezlemeler yapılarak GM3F1 tohumları elde edilmiştir. Elde edilen heterozigot GM3F1 bitkileri kendilenerak GM3F2 tohumları elde edilmiştir (Şekil 3.10). GM3F2 bitkilerinde moleküler ve A-PAGE taramaları sonucunda genler açısından homozigot olduğu tespit edilenler kendilenerak GM3F3 tohumları çoğaltılmıştır (Şekil 3.11). GM3F3 tohumları tarlaya ekilmiş ve kendilenerak (GM3F4) tohumları çoğaltılmıştır. Elde edilen durulmuş geri melez ıslah hatları (GM3F4) ile anaç bitkilerin tohumlarında kalite analizleri gerçekleştirilerek aktarılan QTL bölgelerinin kalite üzerindeki etkileri saptanmıştır.



Şekil 3.10: Heterozigot GM3F1 bitkilerinin kendilenerak GM3F2 generasyonunun elde edilmesi



Şekil 3.11: Genler açısından homozigot olan GM3F3 bitkilerinin tarlada kendilenerak tohum çoğaltımı amacıyla yetiştirilmesi

### 3.2.4. Embriyo Kùltürü Çalışmaları

Melezlemeler sonrasında geçiş zamanını azaltmak için embriyo kùltürü yapılmıştır. Embriyo kùltürleri Arzani ve Mirodjagh (1999)'a göre gerçekleştirilmiştir. 16-20 gùnlükken alınan olgunlaşmamış embriyolar (şekil 3.12) 1 dakika % 70 etanol ve ardından 10 dakika % 5 NaOCl ile muamele edilir ve uç kez durulama yapılır.

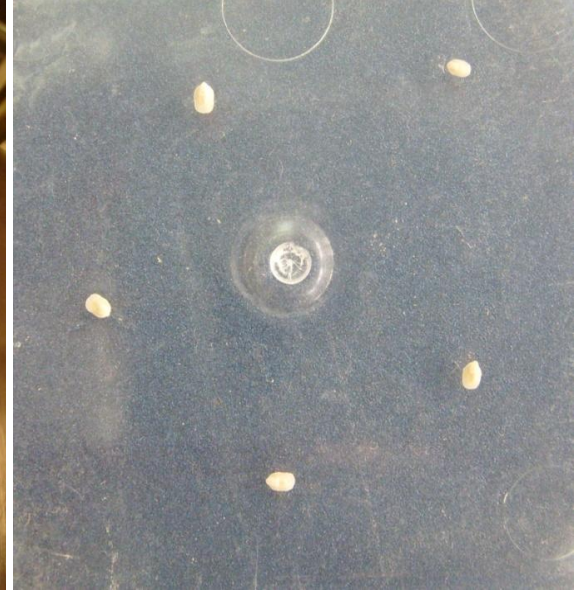


şekil 3.12: Embriyo kùltürüne alınan olgunlaşmamış tohumlar

MS ortamına ilave olarak 1 mg l<sup>-1</sup>6-benzyladenine ve 30 gr l<sup>-1</sup> sucrose katılır. Tùm ortam 2.8 gr l<sup>-1</sup> agarose (Type 1A, Sigma) ile katılaştırılır. Ortama konulan embriyolar karanlıkta 24 °C' de bir hafta veya embriyolar çimlenip 15-30 mm uzunluğa gelinceye kadar bekletilir (şekil 3.13, 3.14, 3.15).



Şekil 3.13: Embriyoların izole edilmeleri



Şekil 3.14: İzole edilen embriyoların besi ortamına yerleştirilmesi



Şekil 3.15: Besi ortamında çimlenen olgunlaşmamış embriyolar

Embriyoların çimlenmesi sonucu oluşan bitkicikler saksılara alınarak, üzerleri şeffaf plastik ile kapatılmış ve sera şartlarına alıştırmışlardır (Şekil 3.16). Bitkiler iki yapraklı döneme geldiklerinde bireysel olarak saksılara şaşırtılmışlardır.



Şekil 3.16: Embriyo kültüründe çimlenen bitkilerin sera şartlarına alıştırılması

Her bir melezlemeden sonra normalde tohumların olgunlaşması yaklaşık 45 gün sürmekte, hasat ve harman işlemleri sonrası tohumların yeniden çimlendirilmesi işlemi toplamda iki ay kadar bir süreyi almaktadır. Oysa melezlemeler sonrası 16-20 günlük olgunlaşmamış embriyoların kültüre alınması sonucu yaklaşık 24. günde yeni fideler elde edilebilmektedir. Böylece her bir generasyonda bir aydan fazla bir süre kazanılmakta ve bu da yılda yaklaşık üç aya tekabül etmektedir. Bu çalışmada olgunlaşmamış embriyo kültürü yardımıyla yılda ikiden fazla generasyon alınması sağlanmıştır.

### 3.2.5. Kalite Analizleri

Elde edilen yeni çeşit adayları anaç bitkilerle karşılaştırmalı olarak kalite analizlerine tabi tutulmuştur. Bu genotiplerden üstün kaliteye sahip olanlarda melezlemelere devam edilecek ve tescile sunulacaktır. Anaç bitkiler ve geliştirilen GM3F3 hatlarında aşağıda verilen kalite analizleri yapılmıştır.

### **3.2.5.1. Hektolitre (Test) Ağırlığı**

Buğdayların hektolitre ağırlıkları Amerikan Tahıl Kimyacıları Derneği (AACC International) tarafından önerilen standart metoda (AACC Method 55-10) göre hektolitre test cihazı kullanılarak belirlenmiş ve kg/hL olarak ifade edilmiştir (Anonim, 2000).

### **3.2.5.2. Bin Tane Ağırlığı**

Dört adet yüzer tane buğday örneği hassas terazide tartılmış ve orantı kurularak bin (1000) tane ağırlığı belirlenmiştir. Elde edilen değer % 14 nem esasına göre düzeltilerek gr/1000 tane olarak ifade edilmiştir (Elgün ve ark., 2002).

### **3.2.5.3. Camsı, Unsu ve Dönmeli Tane Oranı**

Grobecker kesit aleti kullanılarak dört adet 25 gramlık buğday tanelerinin enine kesiti elde edilmiş ve camsı, unsu ve dönmeli endosperm kesit yüzeyine sahip taneler sayılarak sonuçlar oransal (%) olarak verilmiştir (Köksel ve ark., 2000).

### **3.2.5.4. Pigment İçeriği**

Öğütülen örneklerin sarı renkli pigment (karotenoidler ve flavonoidler) içerikleri, örnekler su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstrakte edildikten sonra spektroskopik (435.8 nm) yaklaşımla ölçülmüş ve standart yöntem (AACC Method 14-50) göre hesaplanmıştır (Anonim, 2000; Köksel ve ark., 2000).

### **3.2.5.5. Oksidatif Enzimlerin (LOX, POD, PPO) Aktiviteleri**

Buğdayların irmiğe öğütülmesi ve makarnaya işlenmesi sırasında sarı renk kaybına ve/ya ürünün kararmasına neden olan lipoksijenaz (LOX), peroksidaz (POD) ve polifenol oksidaz (PPO) enzim aktiviteleri Aalami ve ark. (2007) tarafından tanımlanan spektroskopik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Öğütülen buğday örnekleri önce uygun bir tampon çözelti ile belirtilen şartlarda ekstrakte edilmiş ve santrifüjlenerek berraklaştırılmıştır. Ekstraktlar LOX aktivitesi için linoleik asit, POD aktivitesi için

*o*-dianisidin ve PPO aktivitesi için kateşol substratları ile uygun şartlarda ayrı ayrı muamele edilmiş ve absorbans değişimleri spektroskopik olarak takip edilerek her bir enzimin aktivitesi belirlenmiştir (Aalami ve ark., 2007).

### **3.2.5.6. Nem İçeriği**

Öğütülmüş buğday örneklerinin nem içerikleri 135 °C'de 60 dakika süreyle etüvde kurutma yöntemi (AACC Method 44-15A) kullanılarak belirlenmiştir (Anonim, 2000; Köksel ve ark., 2000). Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm analizlerin sonuçları % 14 nem esasına göre düzeltilmiştir.

### **3.2.5.7. Protein İçeriği**

Buğday örnekleri öğütüldükten sonra toplam azot (N) içerikleri Dumas Yakma yöntemiyle ölçülmüş ve elde edilen değer 5.7 faktörü ile çarpılarak % 14 nem esasına göre hesaplanmıştır (Anonim, 2000; Elgün ve ark., 2002).

### **3.2.5.8. Kül İçeriği**

Öğütülen buğday örneklerinin kül içerikleri, kül fırınında 570-590 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar yakma prensibi (AACC Method 08-01) kullanılarak belirlenmiş ve % 14 nem esasına göre düzeltilerek ifade edilmiştir (Anonim, 2000; Elgün ve ark., 2002).

### **3.2.5.9. Sedimentasyon Değeri**

Öğütülen buğday örneklerinin sedimentasyon değerleri, Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) sedimentasyon yöntemine (AACC Method 56-70) göre sedimentasyon test cihazı (Yücebaş Makine Analitik Cihazlar, İzmir) kullanılarak belirlenmiştir (Anonim, 2000). Spesifik sedimentasyon hacimleri ise, her bir buğdayın sedimentasyon hacminin protein içeriğine bölünmesi yoluyla hesaplanmıştır (Yüksel, 2009). Elde edilen sedimentasyon değerleri örneklerin protein içeriklerine bölünerek protein kalitesi de bulunmuştur.



### **3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme**

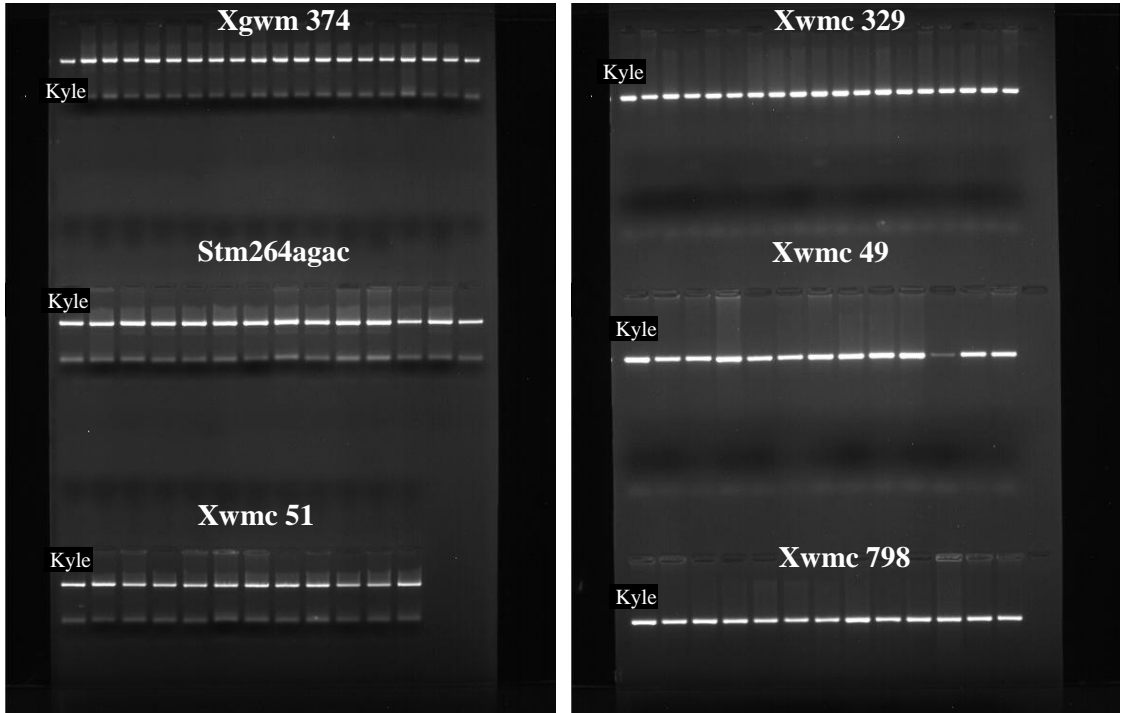
Tesadüf blokları deneme desenine göre üç veya dört tekerrürlü olarak elde edilen veriler, SPSS istatistik programı kullanılarak analiz edilmiş ve ortalamalar arası farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (Düzgüneş ve ark., 1987).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada  $\gamma$ -gliadin 45'in seleksiyonu için A-PAGE, LMW-2 glutenin'in seleksiyonunda SDS-PAGE ve her iki bölgenin seleksiyonunda dört adet SSR primeri, bir adet GAG5-6 primeri ve bir adet STS primeri alternatifli veya kombinasyon halinde hep birlikte kullanılmıştır.

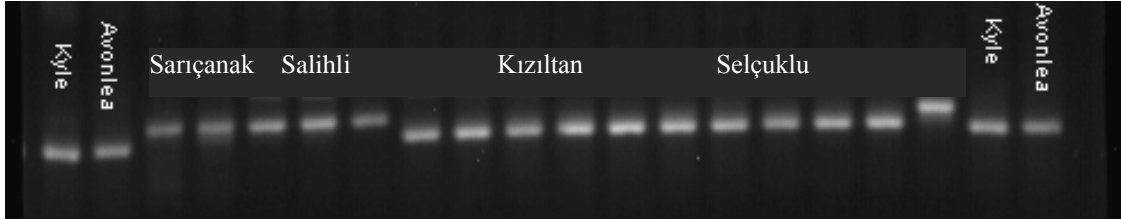
##### 4.1. Moleküler Taramalar

Çalışmada kullanılan tüm çeşitlere ait DNA'lar, 1B kromozomunun kısa kolunun uç kısmına haritalanmış birbiriyle sıkı şekilde bağlantılı olan *Gli-B1* lokusundaki  $\gamma$ -gliadin 45 ve *Glu-B3* lokusu tarafından kodlanan LMW-2 glutenin allellerinin varlığı açısından taranmıştır. Bu bölgelerle bağlantılı olan çok sayıda primer denenerek her çeşit için en polimorfik olan primerler tespit edilmiştir. Yapılan ön taramalarda *Stm264agac*, *Xgwm 374*, *Xwmc 51*, *Xwmc 329*, *Xwmc 49*, *Xwmc 619* ve *Xwmc 798* primerlerinin, kullanılan çeşitler ile Kyle arasında herhangi bir moleküler farklılığı göstermedikleri başka bir ifadeyle polimorfik olmadıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



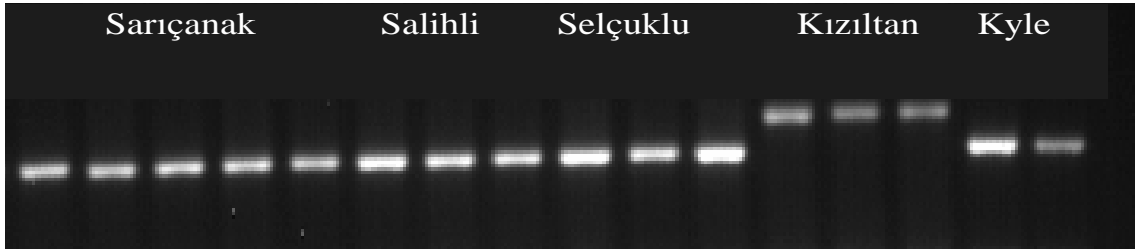
Şekil 4.1: Yapılan taramalarda polimorfik çıkmayan primerler

Yapılan moleküler taramalar sonucunda *Stm542acag*, *Stm553actc*, *Xgwm 550*, *Xgwm 608*, *GAG5-6* ve *STS* primerlerinin Kyle ile tescilli çeşitler arasında polimorfizm gösterdiği saptanmıştır. Bu primerlerden *Stm542acag*'ye göre Sarıçanak-98 ile Salihli-92 makarnalık buğday çeşitlerinin Kyle çeşidinden farklı olduğu görülmüştür (Şekil 4.2)



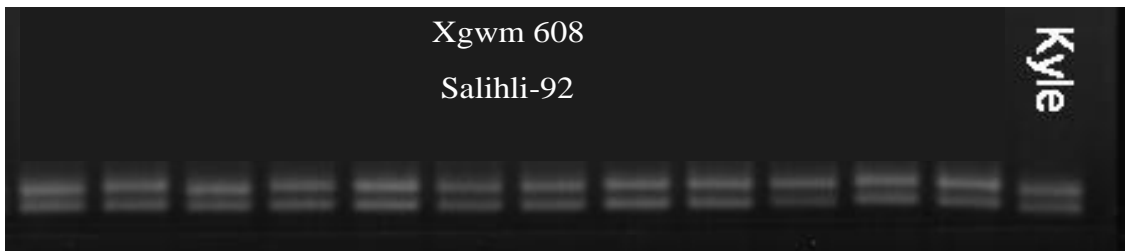
Şekil 4.2: *Stm542acag* (% 3'lük metaphore agarose jel)

1BS kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarına muhtemel uzaklığı 12 cM olan *Xgwm 550* primerine göre Kızıltan-91 çeşidi ile Kyle arasında farklılık görülürken, Sarıçanak-98, Salihli-92 ve Selçuklu-97 çeşitleri ile Kyle'nin benzer bant büyüklükleri verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.3).



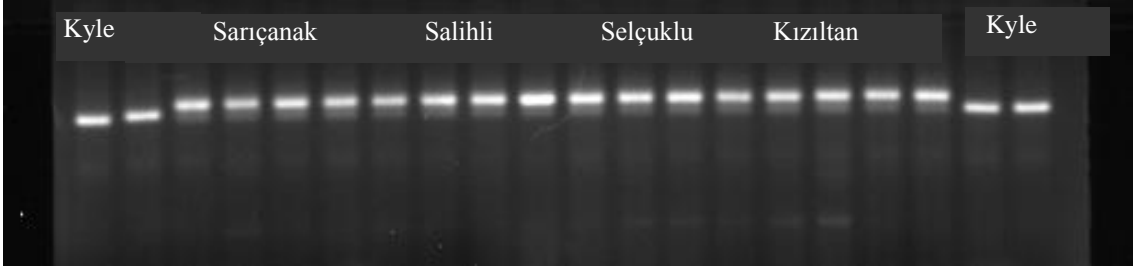
Şekil 4.3: *Xgwm 550* (% 3'lük metaphore agarose jel)

*Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarına muhtemel uzaklığı 10 cM olan *Xgwm 608* primerine göre Salihli-92 çeşidi ile Kyle arasında farklılık görülürken, Kızıltan-91, Sarıçanak-98 ve Selçuklu-97 çeşitleri ile Kyle'nin benzer bant büyüklükleri verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.4).



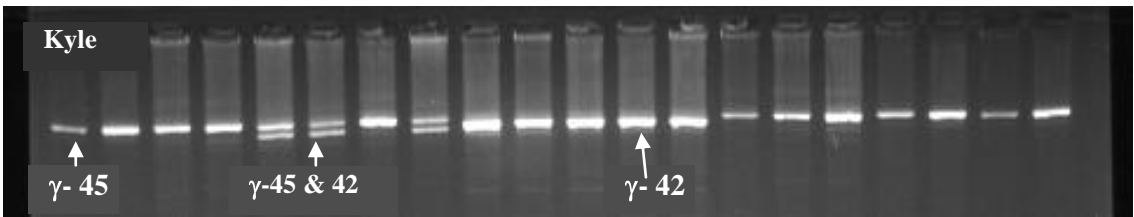
Şekil 4.4: *Xgwm 608* (% 3'lük metaphore agarose jel)

1BS kromozomunun en uç kısmına haritalanmış olan ve *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarının 5 cM üzerinde bulunan *Stm553actc* primerine göre çalışmada kullanılan makarnalık buğday çeşitlerinin tümünün geri melez ıslahında donör anaç olarak kullanılan Kyle durum buğdayı çeşidinden farklı olduğu ve bu primerin tüm çeşitler için polimorfik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



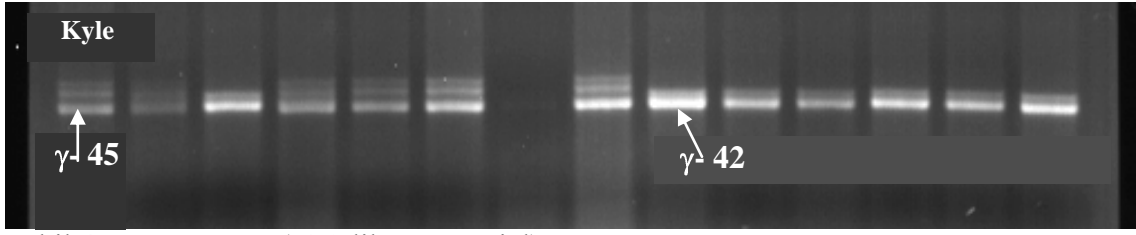
Şekil 4.5: *Stm553actc* (% 3'lük metaphore agarose jel)

$\gamma$ -gliadin 45'e spesifik olan GAG5-6 markörünün de *Stm553actc* ile benzer şekilde tüm çeşitler açısından polimorfik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Ayrıca bu primerden elde edilen bantların çok net olması ve gene spesifik bir markör olması nedeniyle geri melez hatlarının moleküler taramalarında çoğunlukla GAG5-6 markörü kullanılmıştır. Benzer bir çalışmada da  $\gamma$ -gliadin ve LMW gluteninlere özgü PZR amplifikasyonu ürünlerinin analizine dayalı olarak iyi veya kötü teknolojik özelliklere sahip makarnalık buğday çeşitleri arasındaki farklılıklar tespit edilebilmiştir (D'Ovidio ve ark., 1992).



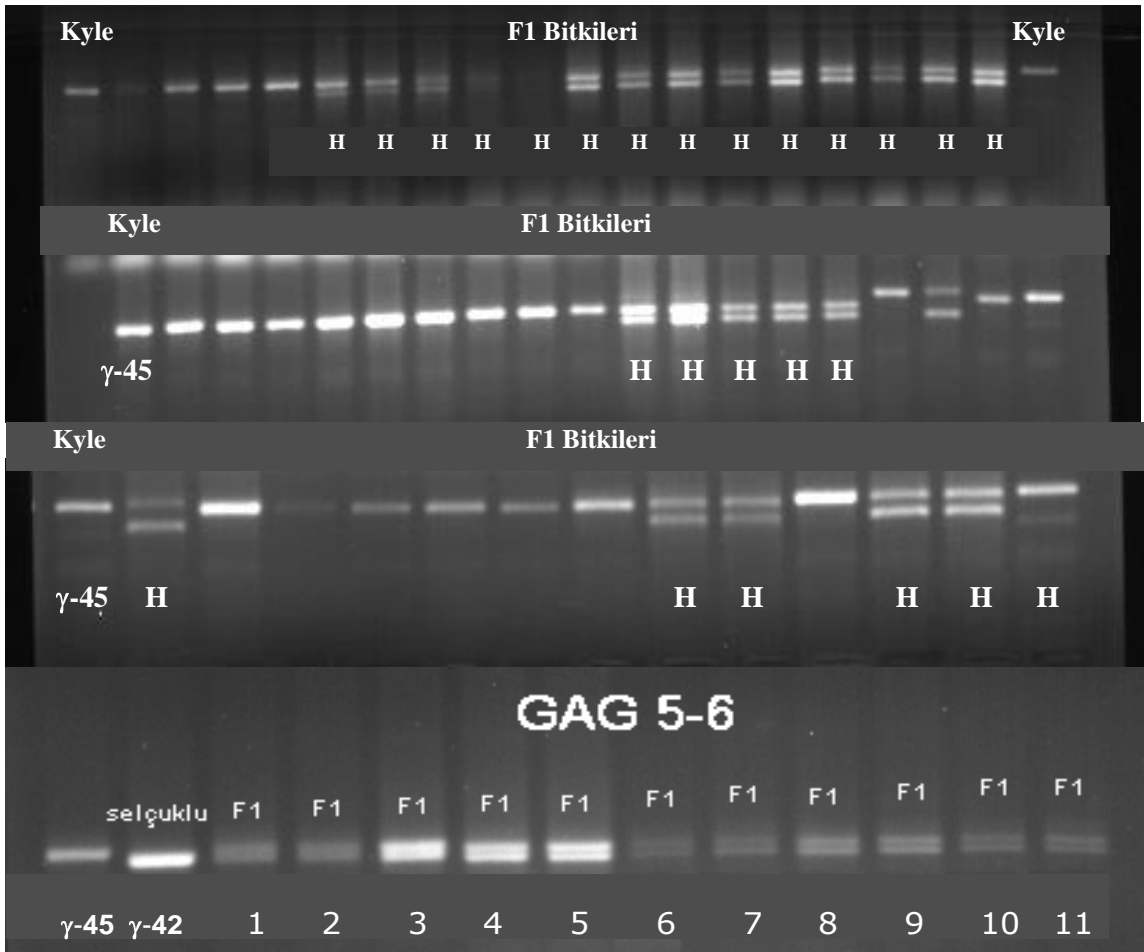
Şekil 4.6: GAG5-6 (% 1'lik agarose jel)

Çalışmada kullanılan STS markörünün ise Selçuklu-97 ile Kyle arasında farklı bant profili verdiği, Sarıçanak-98, Salihli-92 ve Kızıltan-91 çeşitleri ile Kyle arasında ise moleküler düzeyde farklı çıkmadığı saptanmıştır (Şekil 4.7).  $\gamma$ -gliadin 45'e sahip olan Kyle biri kalın ikisi ince üç bant verirken,  $\gamma$ -gliadin 45 taşımayan çeşitlerin ise biri kalın biri ince olmak üzere iki bant verdiği görülmüştür.



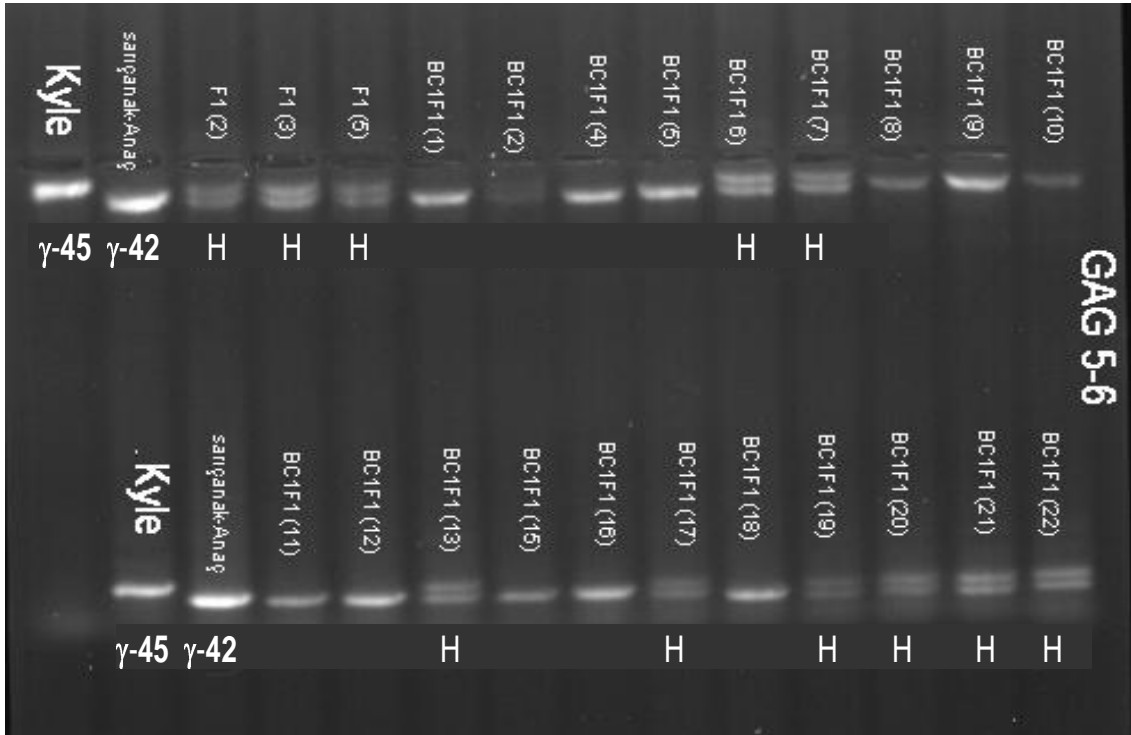
Şekil 4.7: STS resmi (% 1'lik agarose jel)

Moleküler taramalar *Gli-B1* ve *Glu-B3* QTL lokusuyla bağlantılı olan mikrosatelit markörlerinden çalışmada kullanılan çeşitler bakımından polimorfik olduğu saptanan Xgwm550, Xgwm608, Stm553actc, Stm542acag ile  $\gamma$ -45 gliadine spesifik olan GAG5-6 ve bir adet STS primeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle her bir çeşidin Kyle ile melezlenmesi ile elde edilen F1 bitkilerinin  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenini taşıyan QTL bölgeleri bakımından moleküler taramaları yapılarak, aktarılması istenen allellerin varlığı saptanmıştır (Şekil 4.8).

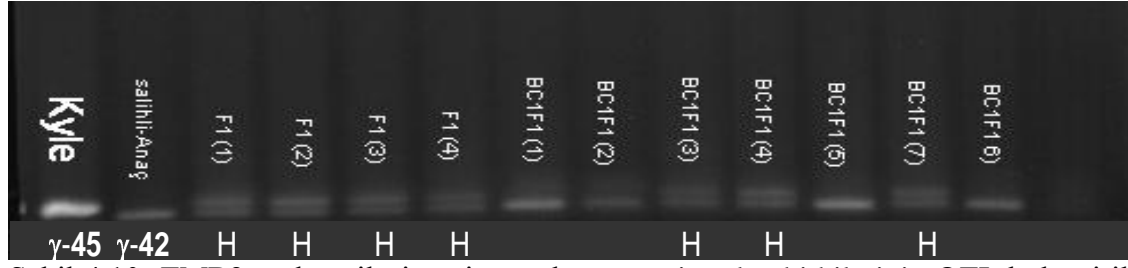
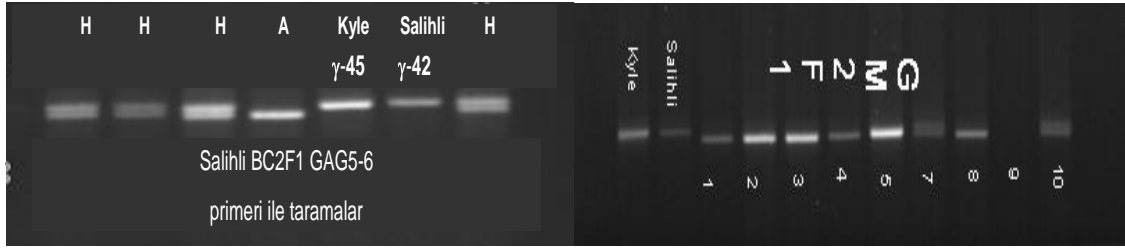


Şekil 4.8: F1 bitkilerinde GAG5-6 primeri kullanılarak yapılan moleküler taramalar (H harfi ile gösterilenler heterozigot olup, aktarılan gen bölgesini taşımaktadırlar.)

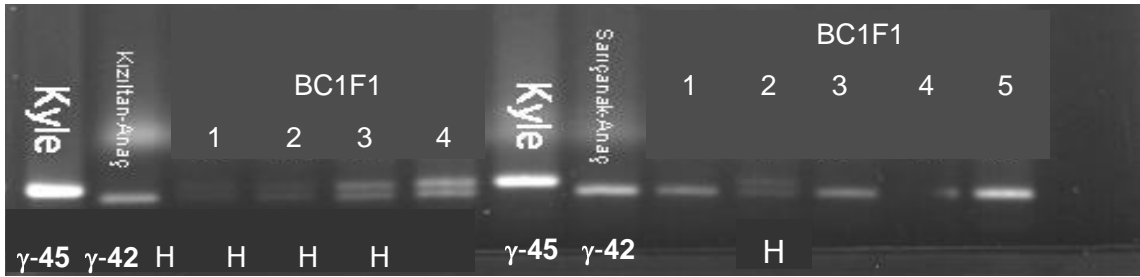
Taramalar sonucunda  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin allellerini taşıdığı saptanan her bir F1 bitkisi kendi tekrarlanan anacıyla geriye melezlenmiştir. Her bir generasyonda elde edilen geri melez (GM) populasyonlarının moleküler seleksiyonu yapılmıştır. Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12’de geri melez bitkilerinde gerçekleştirilen markör destekli seleksiyon örnekleri verilmiştir. Her generasyonda anaç çeşitlerin her birine ait geri melez tohumlarının bir kısmı olgunlaşmamış embriyo kültürüne (MS ortamı) alınarak çimlendirilmiş ve bu bitkilerde DNA izolasyonu yapılarak moleküler taramalar gerçekleştirilmiştir. Geri kalan GM tohumları ise doğal yolla olgunlaşmaya bırakılmış ve hasat edildikten sonra taneler ortadan yarıya bölünmüştür. Sadece endospermi taşıyan kısımlar A-PAGE ve SDS-PAGE taramalarında kullanılırken embriyo içeren kısım çimlendirilerek DNA’sı ekstrakte edilmiş ve elde edilen DNA’larda moleküler taramalar yapılmıştır.



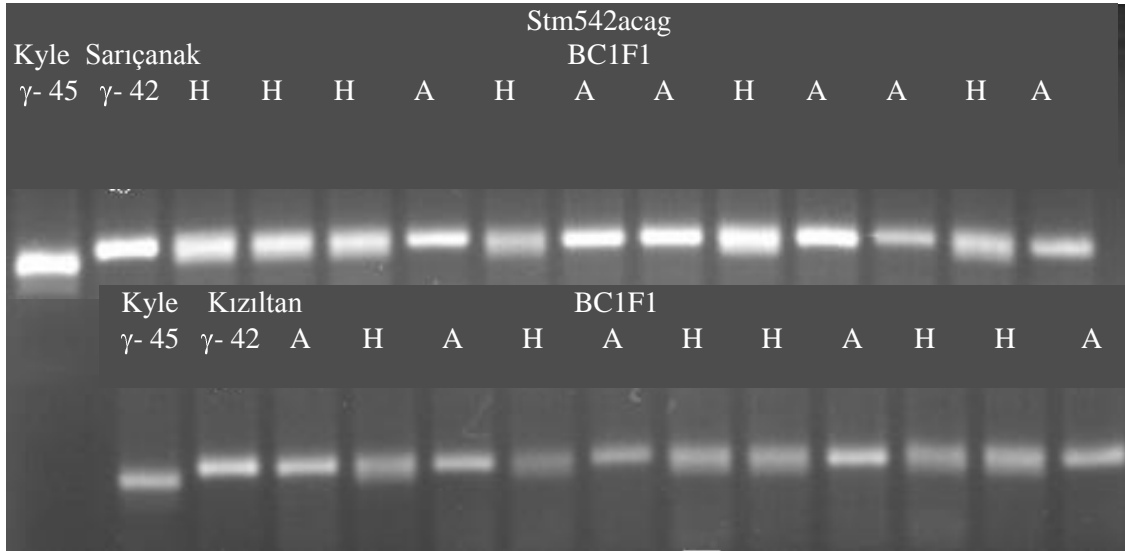
Şekil 4.9: TMB1 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar (H harfi ile gösterilen geri melez hatları heterozigot olup, aktarılan gen bölgesini taşımaktadırlar.)



Şekil 4.10: TMB2 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar

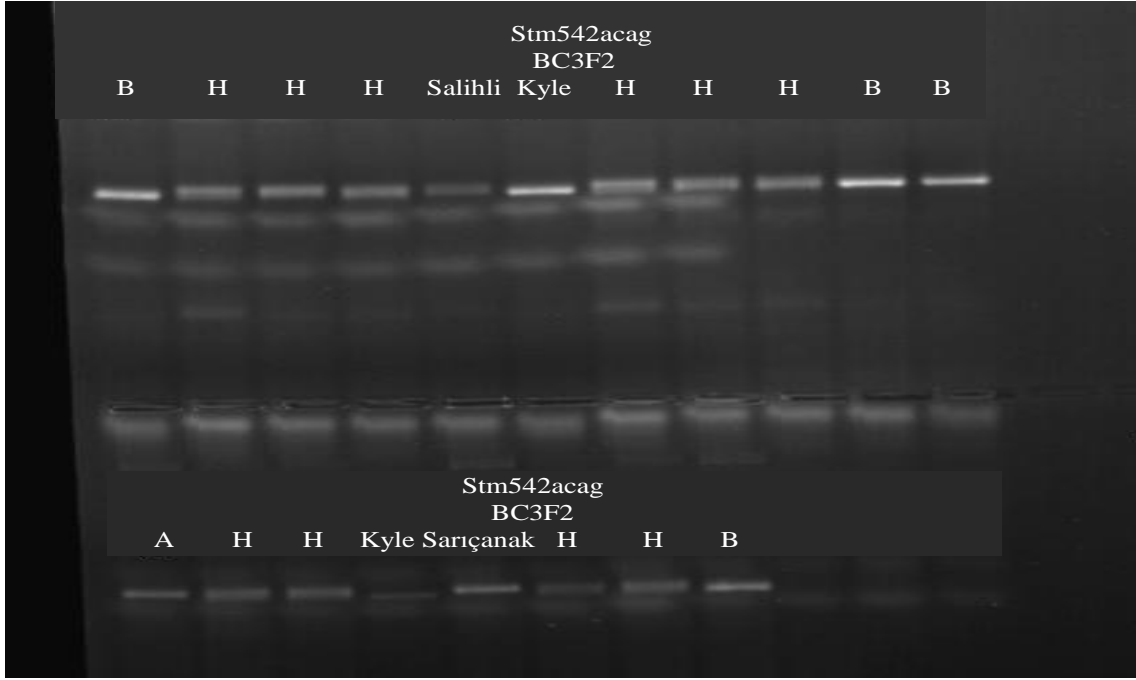


Şekil 4.11: TMB3 melez ailesine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin QTL bölgesi ile bağlantılı olan GAG 5-6 markörüyle taranmasına ait örnek sonuçlar



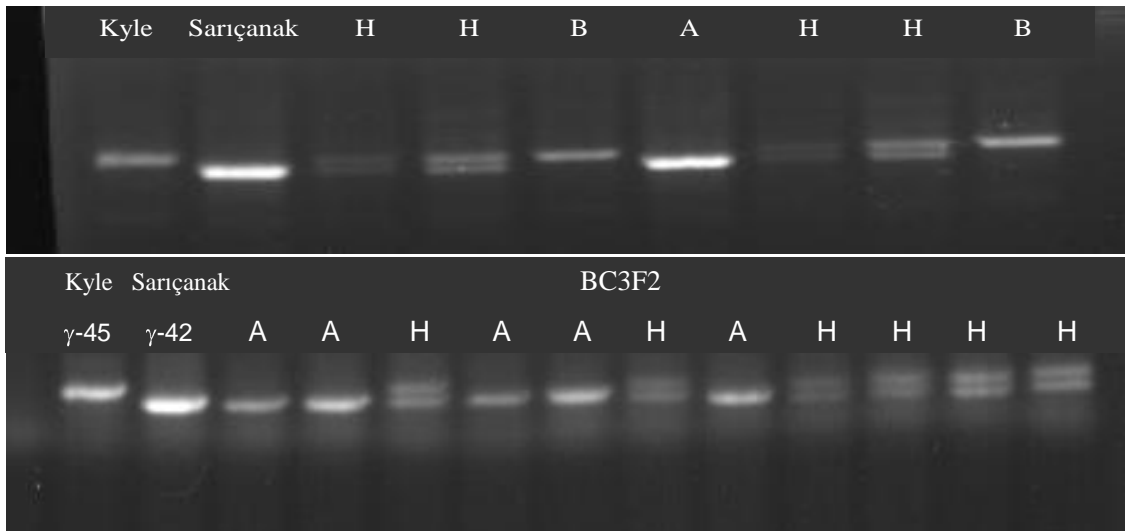
Şekil 4.12: TMB1 ve TMB3 melez ailelerine ait anaçlar ve geri melez bitkilerinin Stm542acag primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar

Taramalar sonucunda heterozigot olduğu belirlenen GM3F1 hatları kendilenerak GM3F2 tohumları elde edilmiştir. GM3F2 bitkilerinde moleküler taramalar yapılarak genler açısından homozigot olan bitkiler seçilmiş kendilenerak tohumları çoğaltılmış (Şekil 4.13, 4.14 ve 4.15) ve elde edilen GM3F3 tohumları kalite analizlerine yetecek miktarda tohum üretimi amacıyla tarlada çoğaltılmıştır.



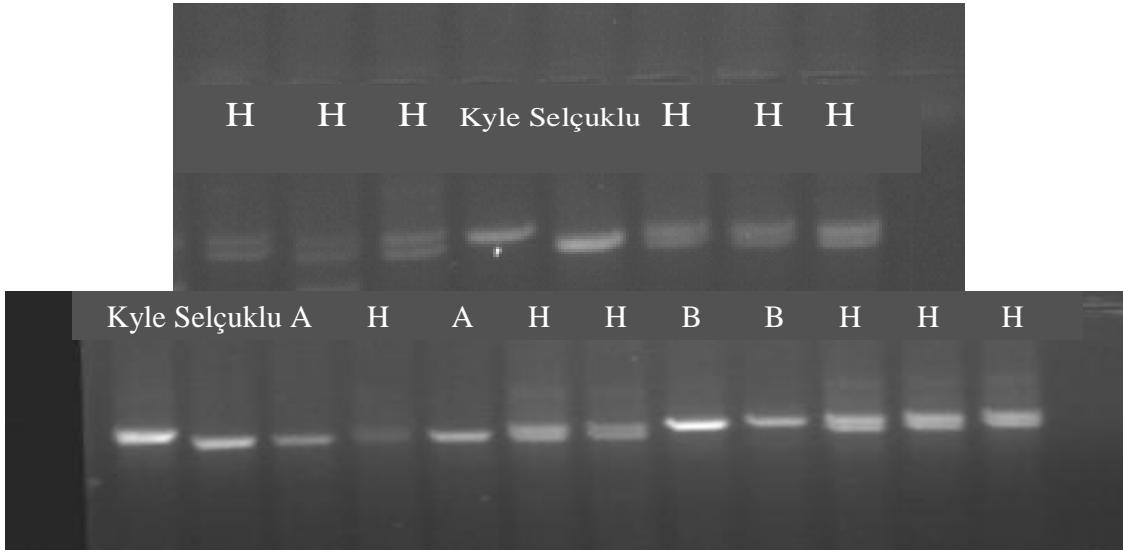
Şekil 4.13: TMB1 ve TMB2 melez ailelerine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin Stm542acag primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar

(A: Transfer edilen gen bölgesini taşımayan anaç tip geri melez bitkilerini, B: Transfer edilen gen bölgesini taşıyan homozigot geri melez bitkilerini, H: Transfer edilen gen bölgesini taşıyan heterozigot geri melez bitkilerini göstermektedir.)



Şekil 4.14: TMB1 melez ailesine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin GAG5-6 primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar





Şekil 4.15: TMB4 melez ailesine ait anaçlar ve GM3F2 bitkilerinin GAG5-6 primeriyle taranmasına ait örnek sonuçlar

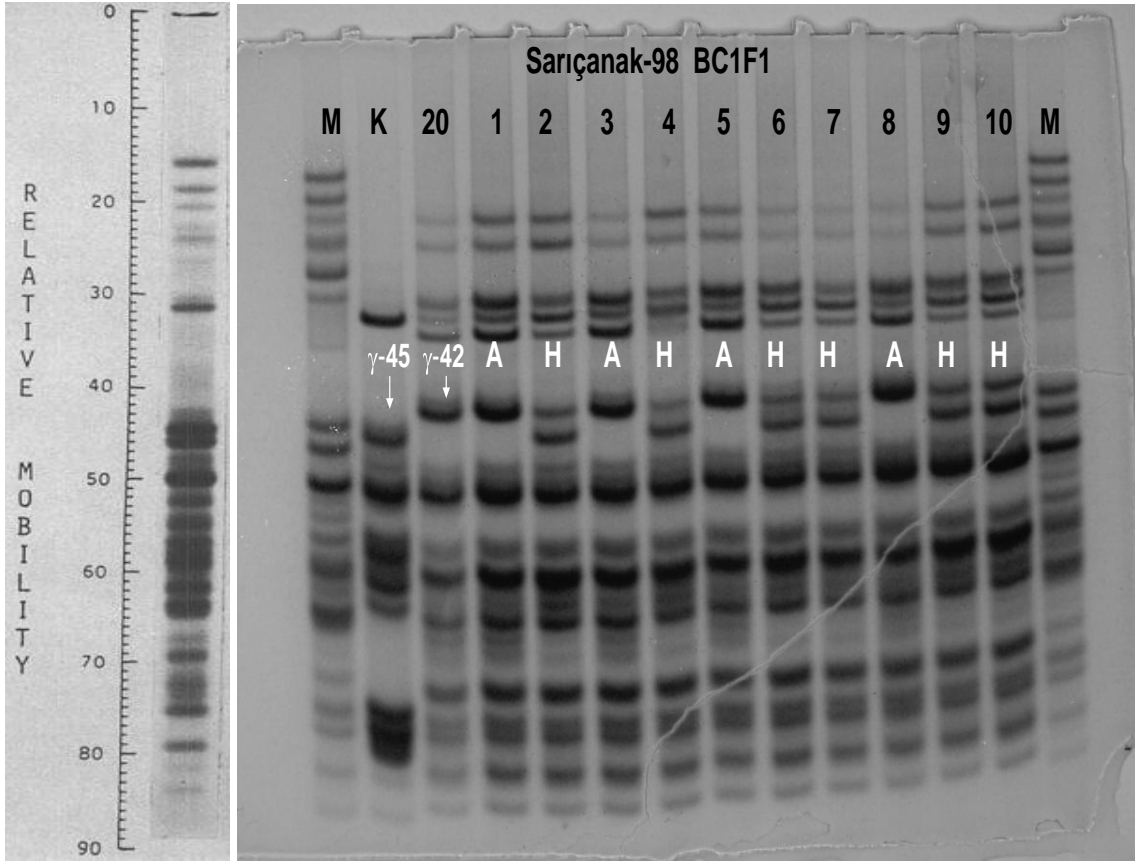
Markör destekli geri melez ıslahında geni 10-20 cM yakınında çevreleyen markörlerin kullanımını daha sonraki geri melez generasyonlarında allel frekansının azalmayacağını garanti etmektedir (Visscher ve ark., 1996). Bu çalışmada da ilgili lokusu 5-14 cM yakınında çevreleyen moleküler markörler kullanılarak seleksiyon işlemi hızlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Hua ve ark. (2009) geri melezleme aracılığıyla bir küllemeye dayanıklılık genini (*pm42*) *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* aksesyonlarından ekmeklik buğdaya aktardıkları çalışma sonucunda, markör destekli buğday ıslahı çalışmasında gene yakın bağlantılı moleküler markörlerin kullanımının genin hızlı aktarımını sağladığını tespit etmişlerdir. Luo ve ark. (2009), geni yakından çevreleyen markörlerin (flanking marker) buğday geri melezleme ıslahında kullanımının genin markör destekli aktarımını kolaylaştırdığını bildirmişlerdir. Cao ve ark. (2009) da markör destekli seleksiyona dayalı bir buğday ıslahı programında moleküler markörlerin kullanımının tekrarlamalı seleksiyonu kolaylaştırdığını ifade etmişlerdir.

Dong ve ark. (2007), buğday nişastasının agronomik özelliklerini geliştirmek amacıyla PZR'ye dayalı DNA markörü ile geri melezlemeyi kombine bir şekilde kullanmışlardır. F1 bitkileri tekrarlanan anaçlarıyla beş kez geriye melezlenmiş ve elde edilen GM5F1 bitkileri kendilenmiştir. Her generasyonda melez bitkiler Wx-D1 lokusu açısından DNA

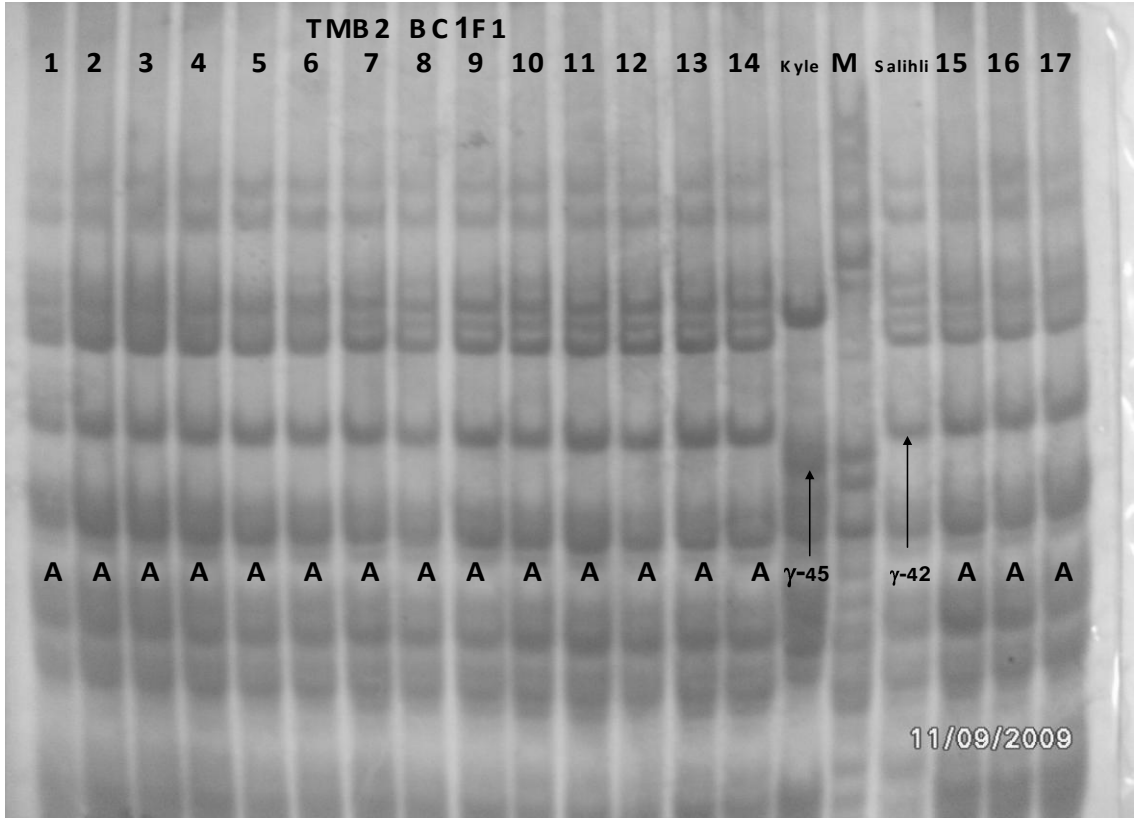
markörü ile taranmıştır. Çalışma sonuçları, bu çalışmadan elde edilen bulgularla paralellik göstermiş ve buğday ıslahında moleküler markörler ile geri melezleme ıslahının birlikte kullanımının sonuca kısa sürede ve güvenilir bir biçimde ulaşmada yararlı olduğu saptanmıştır. Shu ve Wang (2006) da, benzer bir çalışmada markör destekli seleksiyona dayalı geri melezleme ıslahı ile buğday nişastasını geliştirmişlerdir.

#### **4.2. A-PAGE ve SDS-PAGE Taramaları**

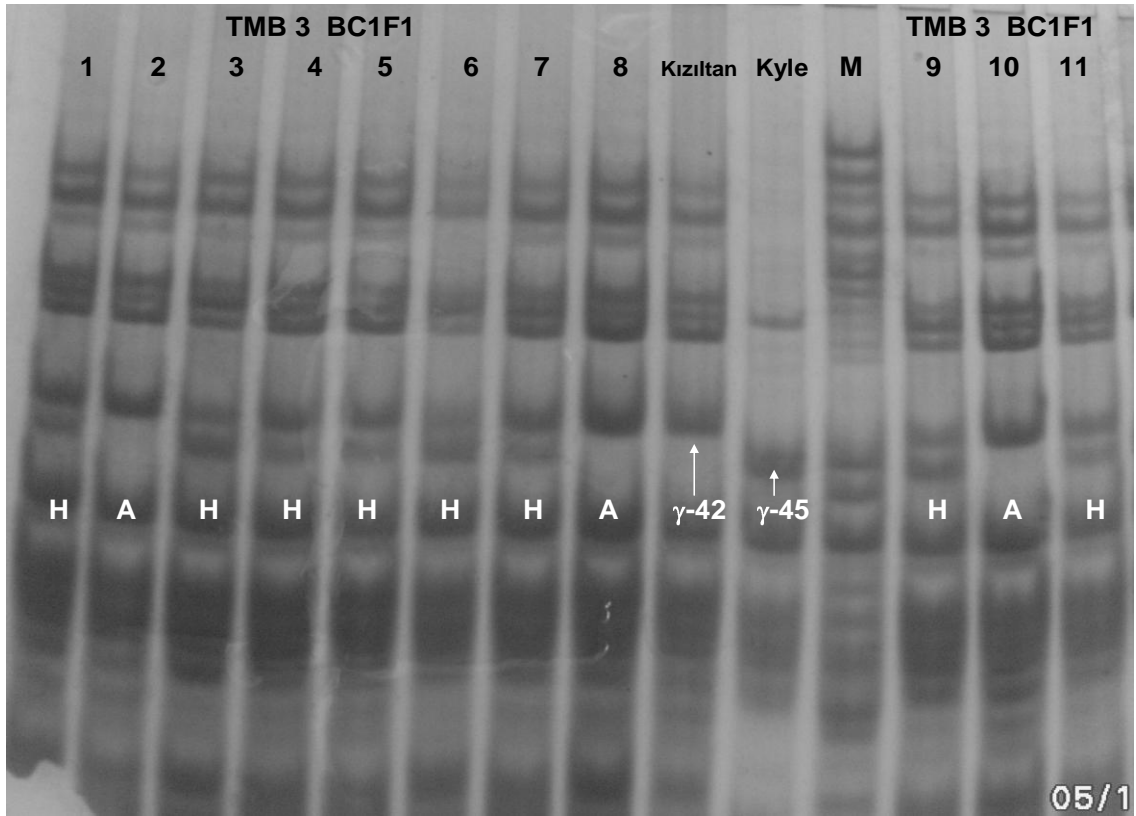
Tüm çeşitlerde geri melez bitkileri üzerindeki tohumların bir kısmı embriyo kültürüne alınmayarak olgunlaşmaya bırakılmıştır. Olgunlaştıktan sonra hasat edilen tohumların bir kısmı A-PAGE taramasına alınmıştır. Her bir geri melez generasyonunda moleküler markör taramaları, A-PAGE ve SDS-PAGE taramalarıyla alternatifli olarak veya beraberce kullanılarak istenilen lokusların aktarımı güvenilir bir biçimde gerçekleştirilmiştir. Her bir melez ailesine ait geri melez 1 bitkilerinin A-PAGE gliadin elektroforez örnekleri Şekil 4.16, 4.17, 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Şekillerde yer alan A harfi transfer edilen gen bölgesini taşımayan anaç tip geri melez bitkilerini, B harfi transfer edilen gen bölgesini taşıyan homozigot geri melez bitkilerini, H harfi ise transfer edilen gen bölgesini taşıyan heterozigot geri melez bitkilerini göstermektedir.



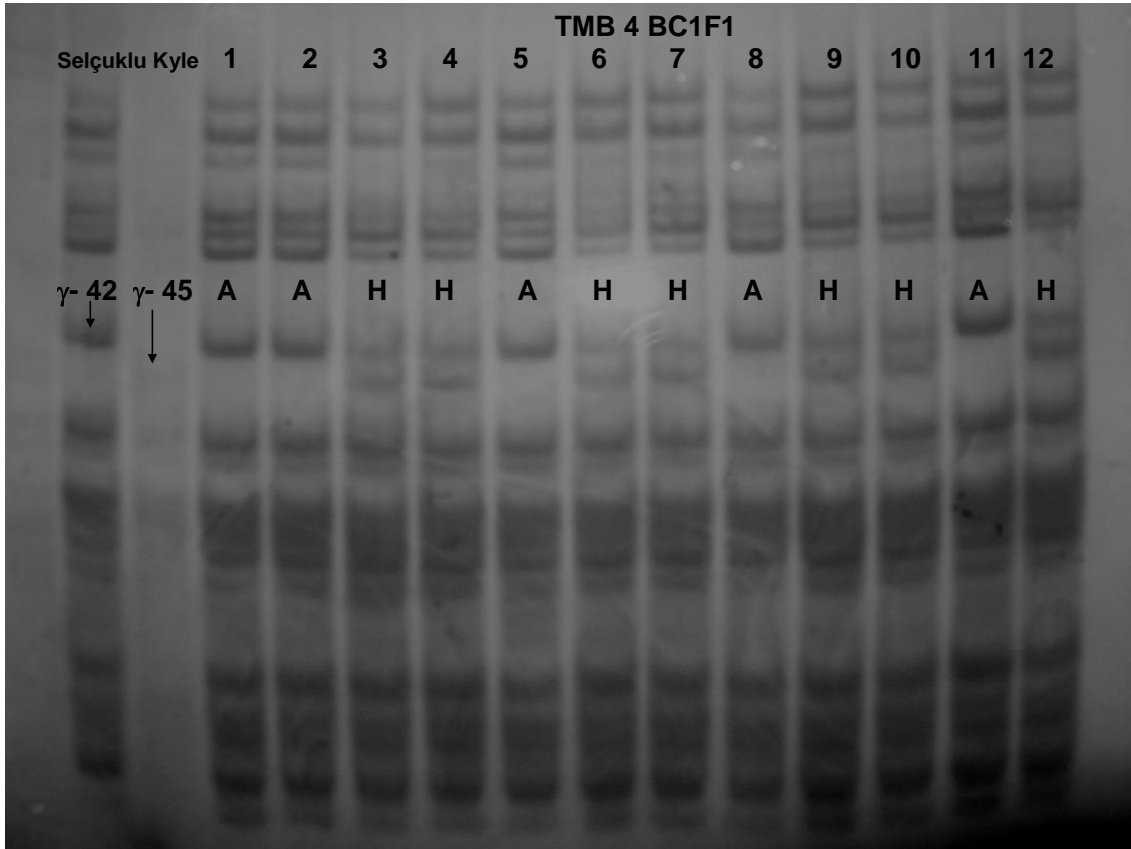
Şekil 4.16: TMB1 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları



Şekil 4.17: TMB2 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

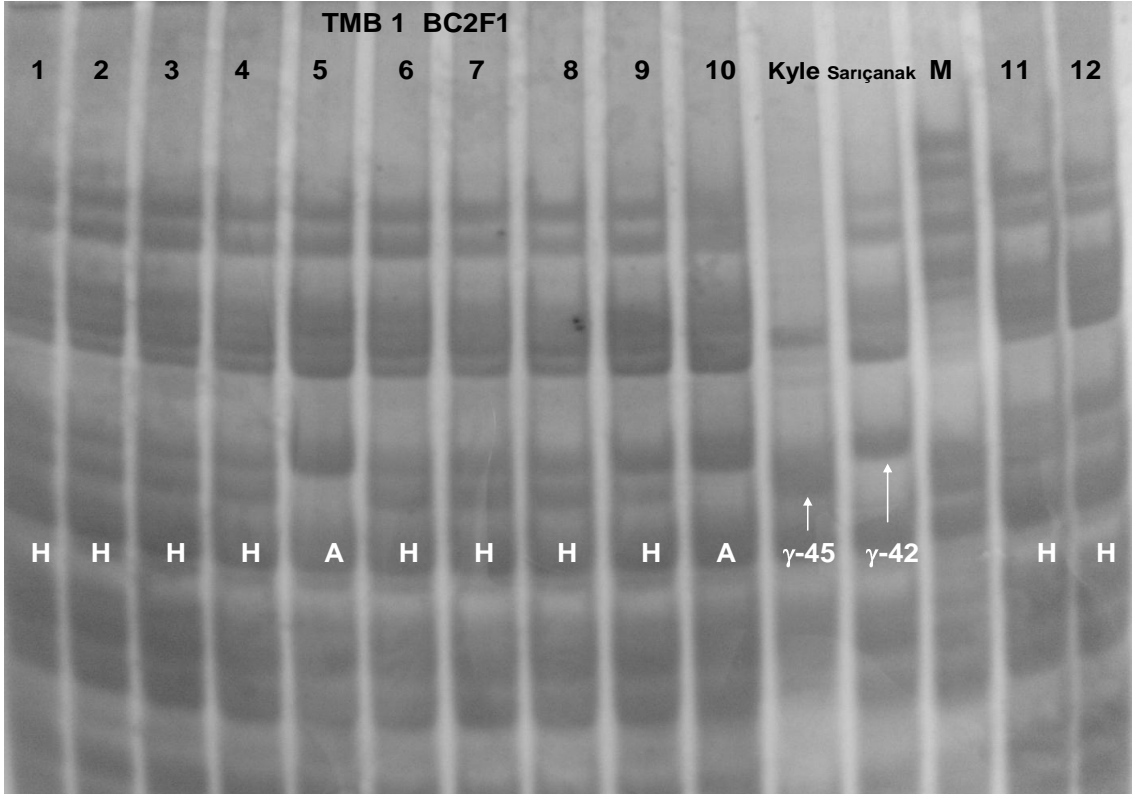


Şekil 4.18: TMB3 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

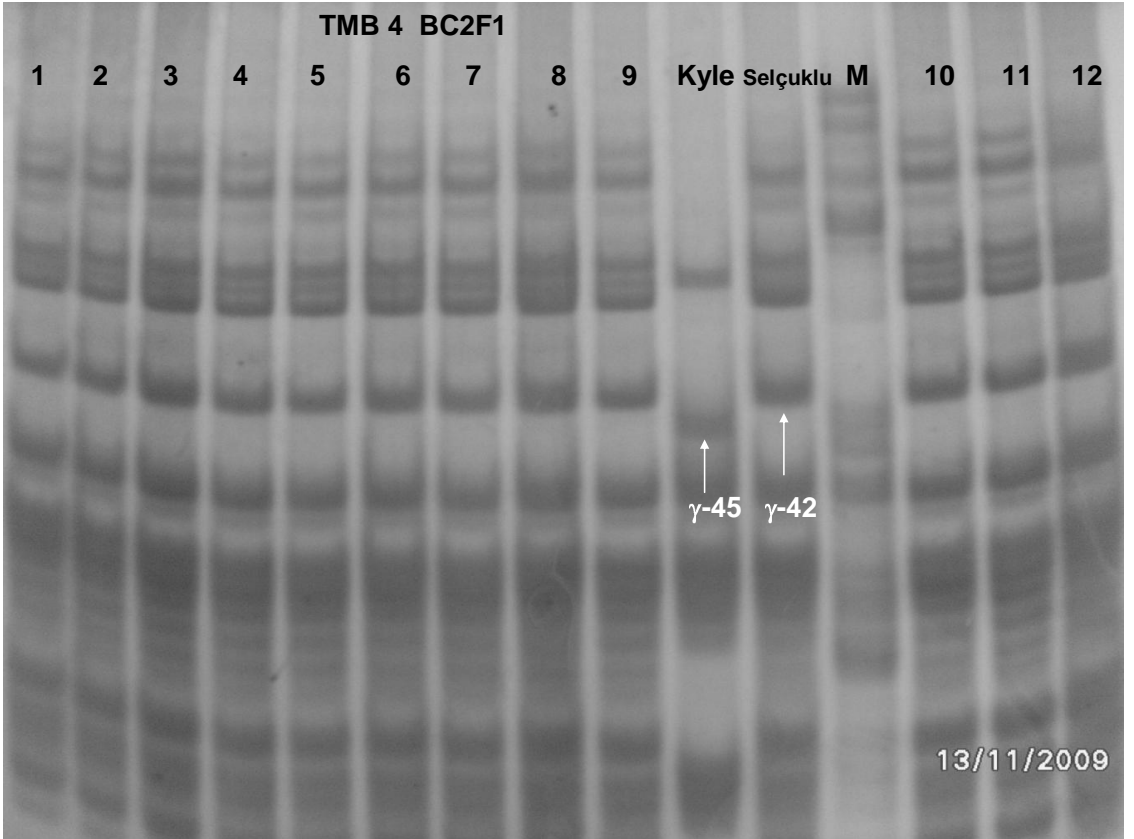


Şekil 4.19: TMB4 melez ailesine ait GM1F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

Yapılan taramalar sonucunda heterozigot olduğu saptanan GM1F1 bitkileri kendi tekrarlanan anaçlarıyla geriye mezlenerek GM2F1 bitkileri elde edilmiştir. GM2F1 generasyonunda da A-PAGE taramalarına devam edilmiştir (Şekil 4.20, 4.21) Böylece A-PAGE taramasıyla geni taşıyan heterozigot geri melez hatları tanımlanmış ve bu hatlarda da daha sonra DNA taramaları gerçekleştirilerek heterozigotluk durumu doğrulanmıştır. Çalışmada embriyo kültüründen gelen ancak A-PAGE taramaları yapılamayan hatlar, bir sonraki generasyon tohumları olgunlaşmaya bırakılarak A-PAGE taramalarına alınmıştır. Böylece her generasyonda alternatifli olarak duble kontrolle seleksiyon işlemi güvenilir bir biçimde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.20: TMB1 melez ailesine ait GM2F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

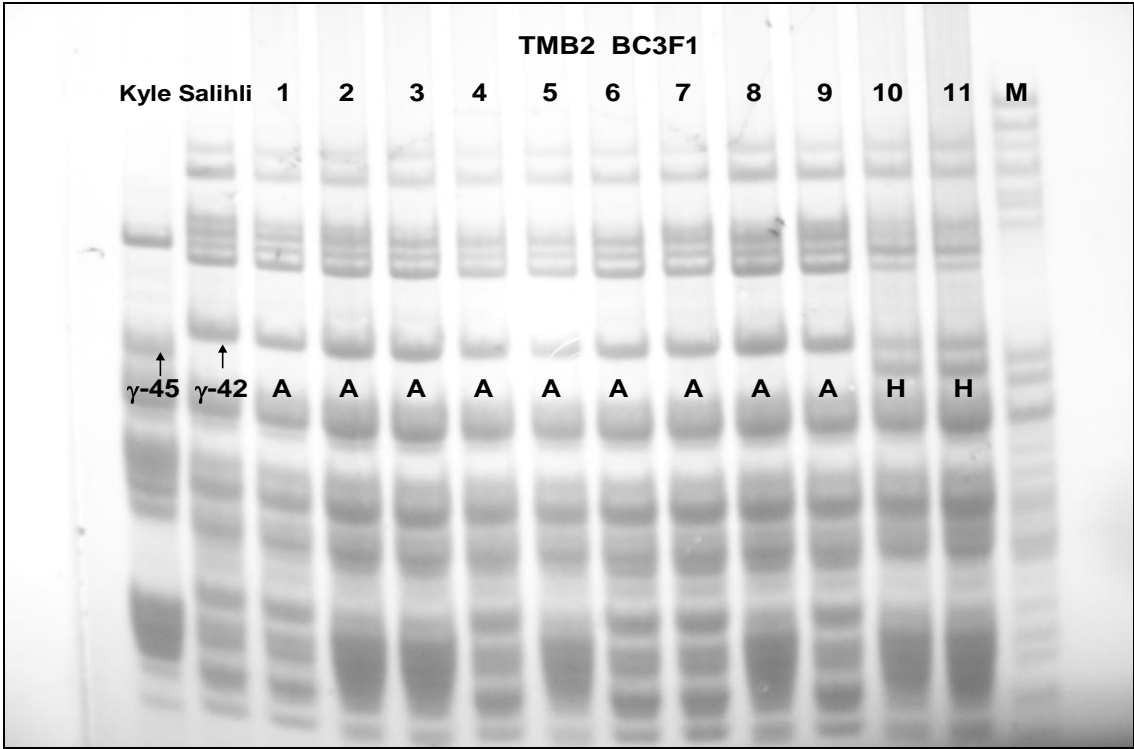


Şekil 4.21: TMB4 melez ailesine ait GM2F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

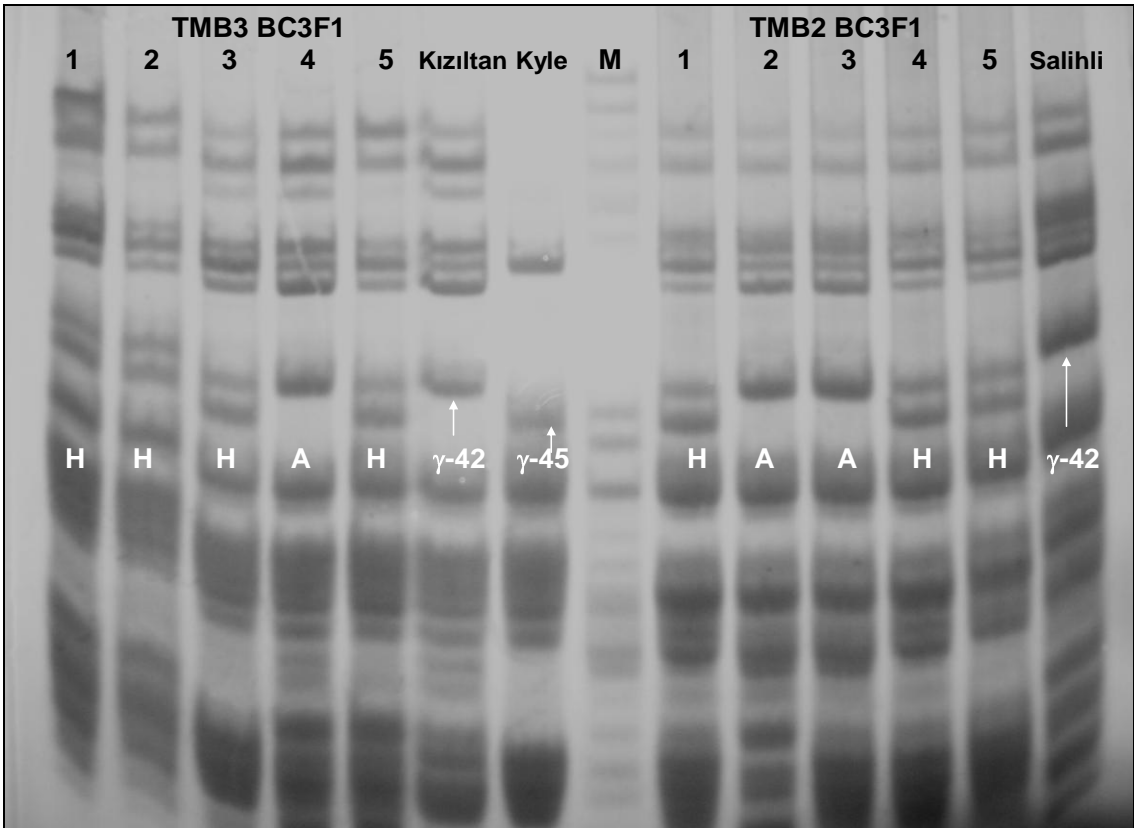
Bu taramalar sonucunda her iki bölgeyi de taşıdığı tespit edilen GM2F1 bitkileri tekrarlanan anaçlarıyla yeniden melezlenmiş ve bu şekilde geriye melezleme işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Geri melez 3 generasyonuna ait bitkilerde yapılan A-PAGE taramalarına ait örnek sonuçlar Şekil 4.22, 4.23, 4.24 ve 4.25’de verilmiştir.



Şekil 4.22: TMB1 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

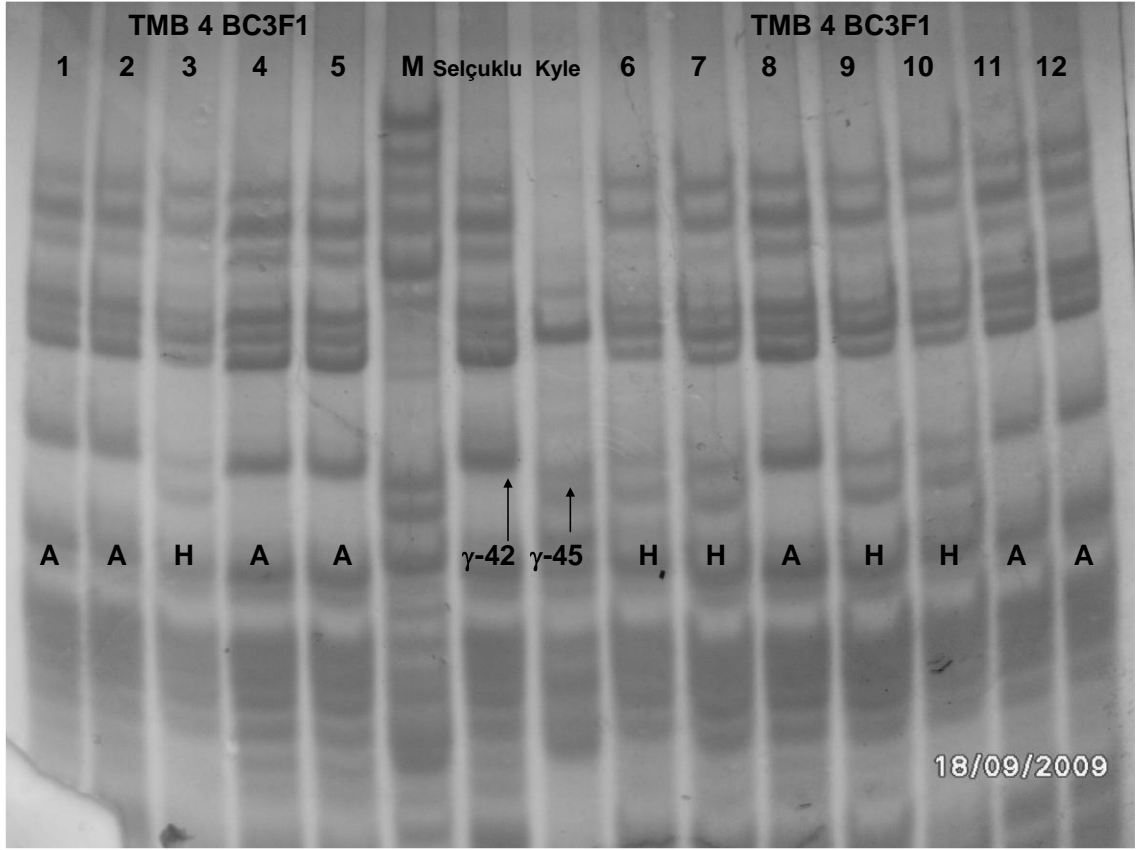


Şekil 4.23: TMB2 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları



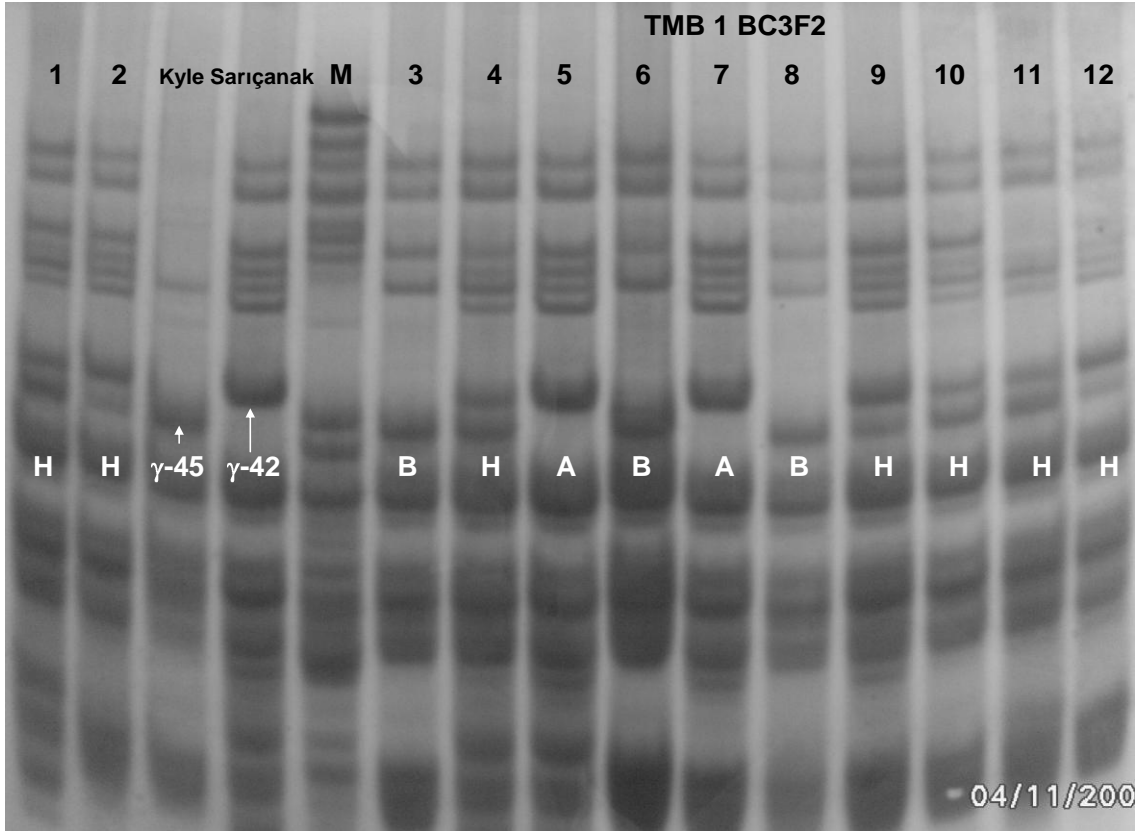
Şekil 4.24: TMB2 ve TMB3 melez ailelerine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları



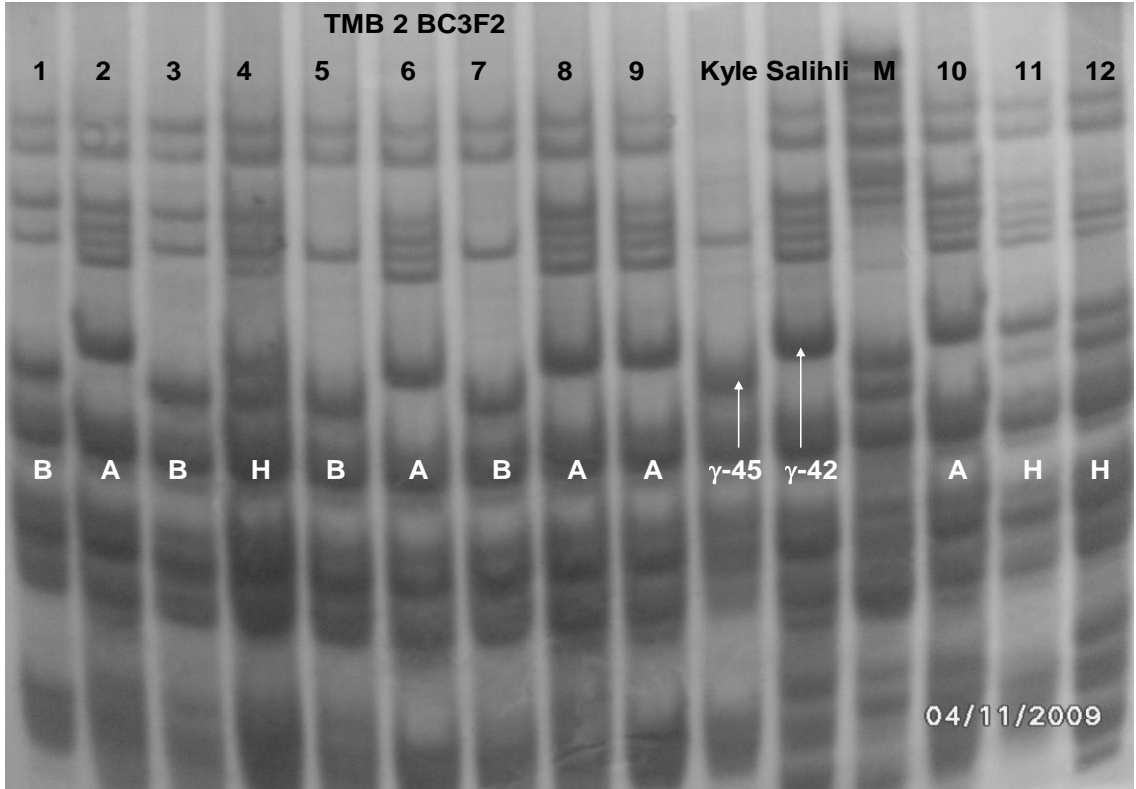


Şekil 4.25: TMB4 melez ailesine ait GM3F1 bitkilerinin A-PAGE taramaları

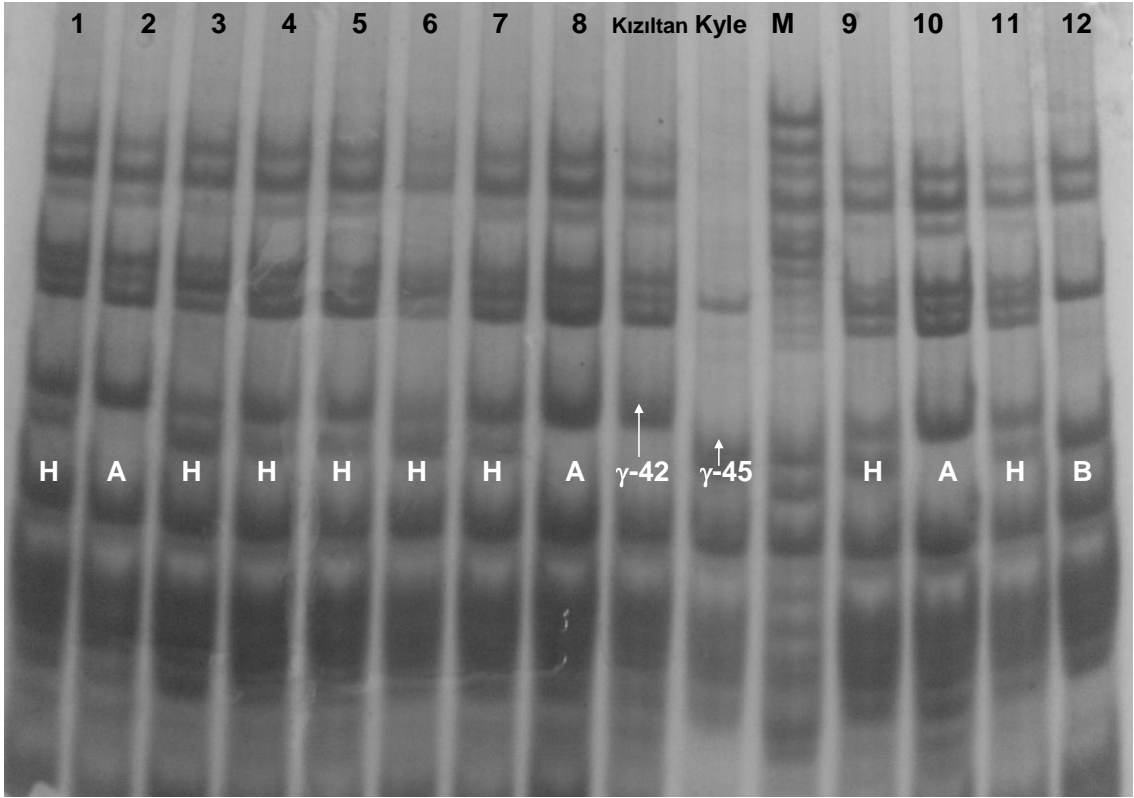
Taramalar sonucunda geni taşıyan heterozigot GM3F1 hatları belirlenmiş ve bu bitkiler kendilenerek GM3F2 tohumları elde edilmiştir. GM3F2 bitkilerinde moleküler ve A-PAGE taramaları sonucunda genler açısından homozigot olduğu tespit edilenlerin (Şekil 4.26, 4.27 ve 4.28) tohumları (GM3F3) serada çoğaltılmıştır. GM3F3 tohumları kalite analizi için tarlaya ekilip kendilenerek tohumları çoğaltılmıştır (GM3F4).  $\gamma$ -42 gliadin  $\gamma$ -45 gliadin alleleline kısmi dominant olduğundan (Du Cros ve Hare, 1983); 45 bantının 42 bantı ile eşit seviyede ortaya çıkabilmesi için endospermde iki bantın da bulunması veya homozigot olması gerekmektedir.



Şekil 4.26: TMB1 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları



Şekil 4.27: TMB2 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları



Şekil 4.28: TMB3 melez ailesine ait GM3F2 bitkilerinin A-PAGE taramaları

Durum buğdaylarının makarna yapma kalitesinin belirlenmesine yönelik yapılan çok sayıda araştırmada bu çalışmada olduğu gibi gerek moleküler gerekse protein markörlerine dayanan farklı elektroforez teknikleri kullanılmıştır (Du Cros ve ark., 1982; Starovicova ve ark., 2003; Carrillo ve ark., 2006; Mohd ve ark., 2007; De Angelis ve ark., 2008; Naghavi ve ark., 2009; Muccilli ve ark., 2010).

Durum buğdayı çeşitlerinde  $\gamma$ -gliadin 45 ile gluten sağlamlığı arasındaki ilişkinin genetik bağlantısını araştırmaya yönelik yapılan bir çalışmada farklı orijinli durum buğdayı çeşitlerinin gliadin proteinleri, elektroforez teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir (Payne ve ark., 1984). Çalışma sonucunda araştırmada incelenen çeşitlerden makarna yapma kalitesinin çok iyi olduğu bilinen çeşitlerin tümünün  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 olarak adlandırılan protein bantlarına sahip oldukları ve makarna yapma kalitesinin zayıf veya düşük olduğu bilinen çeşitlerin ise  $\gamma$ -gliadin 42 ve LMW-1 glutenin alt ünitesini içerdikleri saptanmıştır. Ayrıca, araştırmada  $\gamma$ -gliadin 45'i

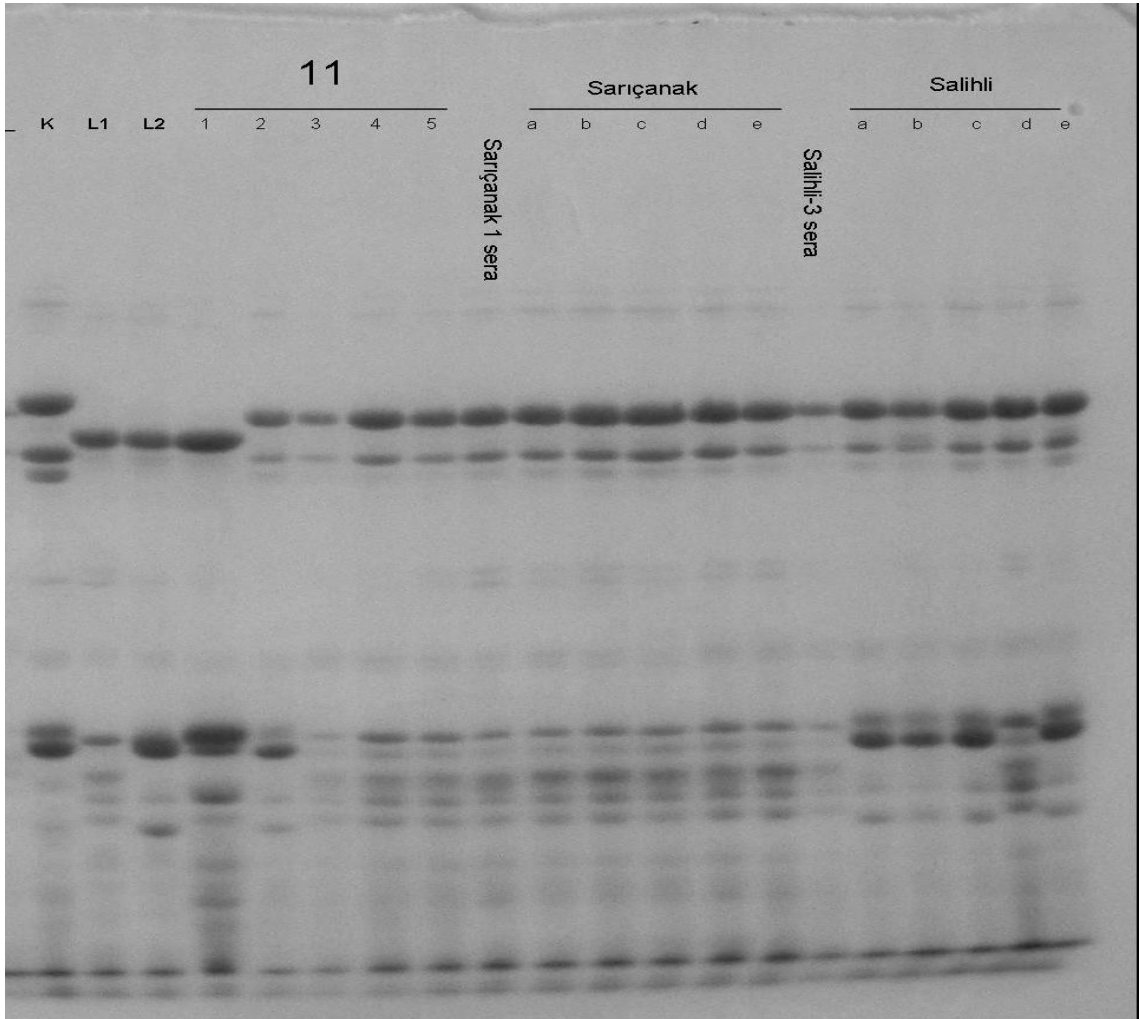
kodlayan genlerin LMW-2'yi kodlayan genlerle sıkı derecede bağı olduğu da gösterilmiştir.

Gliadin ve glutenin proteinleri yüksek derecede genetik çeşitliliğe ve yüksek kalıtım derecesine sahip olduklarından elektroforez bant profilleri yetiştirme koşullarına bağı değildir (Gregova ve ark., 1995; Galova ve ark., 2002). Bu nedenle bu proteinler çeşitlerin teşhisi, tanımlanması ve ıslahı çalışmalarında kullanılabilirler (Naghavi ve ark., 2009). Kanada'da on farklı lokasyonda gerçekleştirilen bir çalışmada da buğday çeşitlerine ait gliadin ve glutenin proteinlerinin yetiştirme yerinden ve kültürel uygulamalardan etkilenmedikleri bu nedenle de gliadin ve glutenin proteinlerinin elektroforezine dayalı seleksiyon tekniklerinin ıslah çalışmalarında ve farklı genotipleri belirlemede kullanılabilceği saptanmıştır (Zillman ve Bushuk, 1979). Naghavi ve ark. (2009), protein markörleri kullanarak 96 yerel ve 18 tescilli makarnalık buğday çeşidinin genetik benzerlik ve farklılığını inceledikleri çalışma sonucunda tohum depo proteinlerinin çevre faktörlerinden etkilenmemeleri nedeniyle ıslah çalışmalarında faydalı bir araç olarak kullanılacaklarını bildirmişlerdir. Yerel makarnalık buğday çeşitlerinde kalite ile bağılantılı gliadin ve glutenin proteinlerinin genetik varyasyonunun incelendiği başka bir çalışmada ise makarna kalitesini geliştirmek amacıyla yapılan ıslah çalışmalarında  $\gamma$ -gliadin 45 ve 42'nin varlığının markör olarak kullanımının çalışmayı kolaylaştıracağı ve hızlandıracağı ifade edilmiştir (Aguiriano ve ark., 2008).

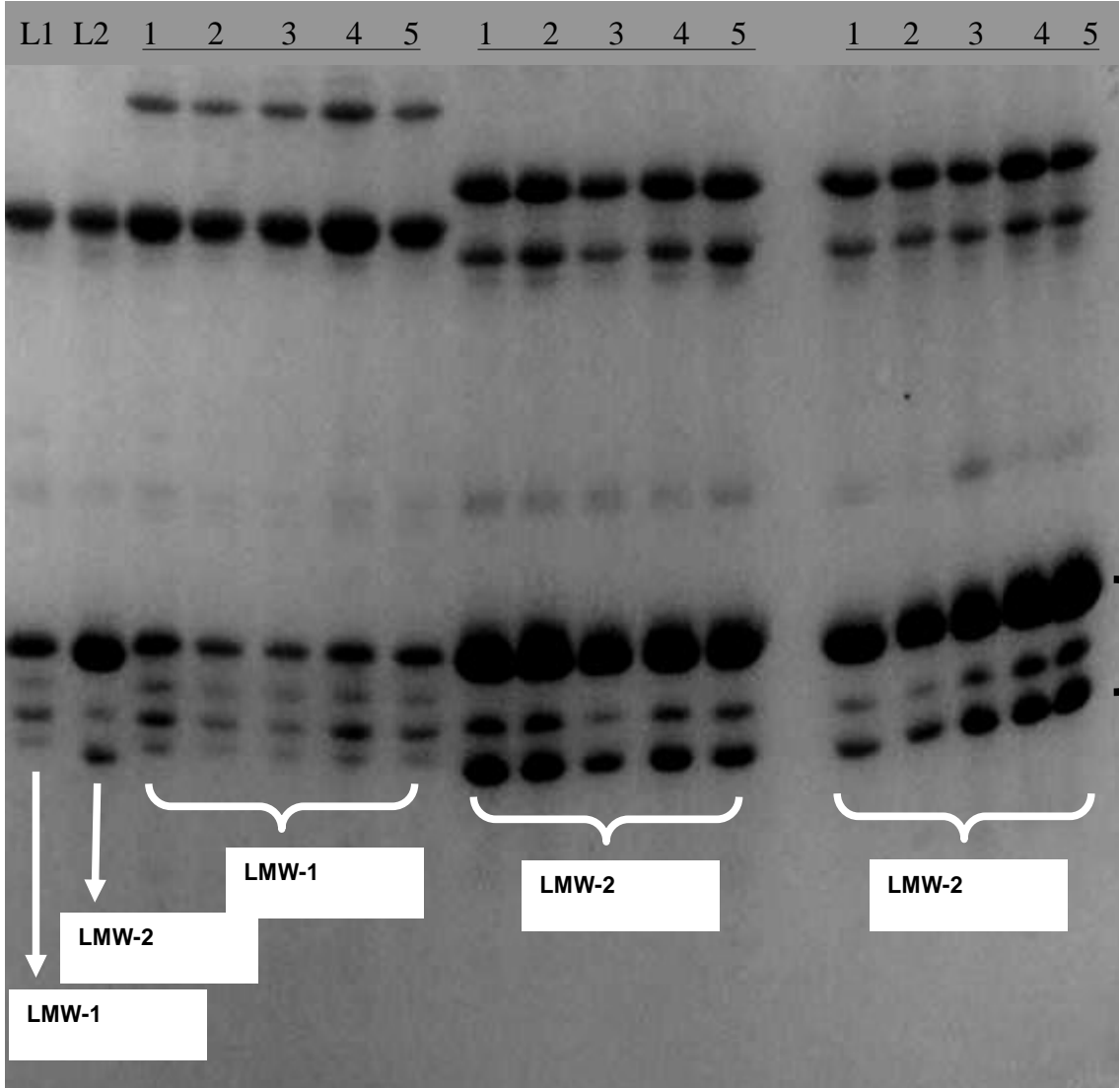
$\gamma$ -gliadin 42 ve 45 ile yakından bağılantılı düşük moleküler ağırlıklı (LMW) glutenin alt ünitelerinin durum buğdayında gluten viskoelastikliğindeki farklılıklardan sorumlu olduğu ve bu iki  $\gamma$ -gliadinin genetik markör olduğu ilk kez Payne ve ark. (1984) tarafından ortaya konulmuştur. Daha sonraki yıllarda Pogna ve ark. (1990), LMW gluteninlerinin kalitedeki kantitatif farklılıklara neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırmada da gliadin proteinlerinin yanı sıra LMW glutenin alt üniteleri de yapılan seleksiyonlarda kullanılmıştır.

Bu çalışmada SDS-PAGE yöntemi kullanılarak yapılan LMW-2 glutenin'in seleksiyonuna ait örnekler Şekil 4.29, 4.30 ve 4.31'de verilmiştir. Şekillerde tipik

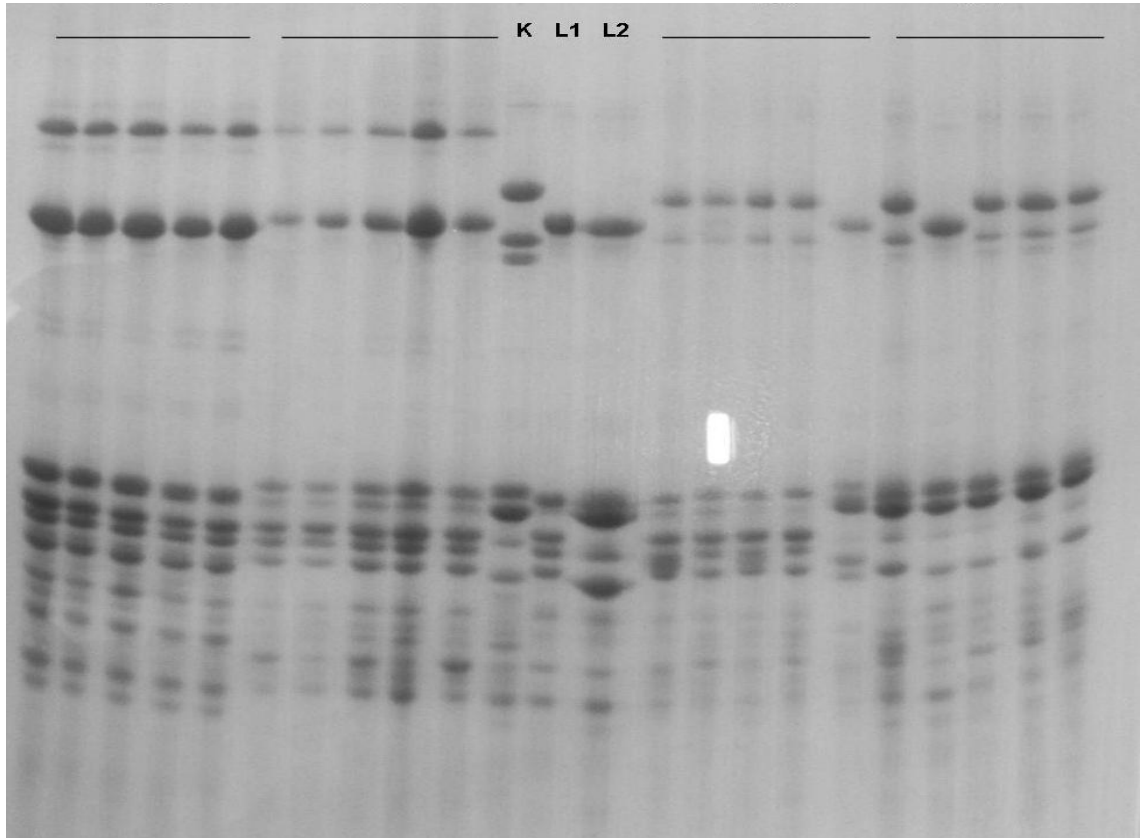
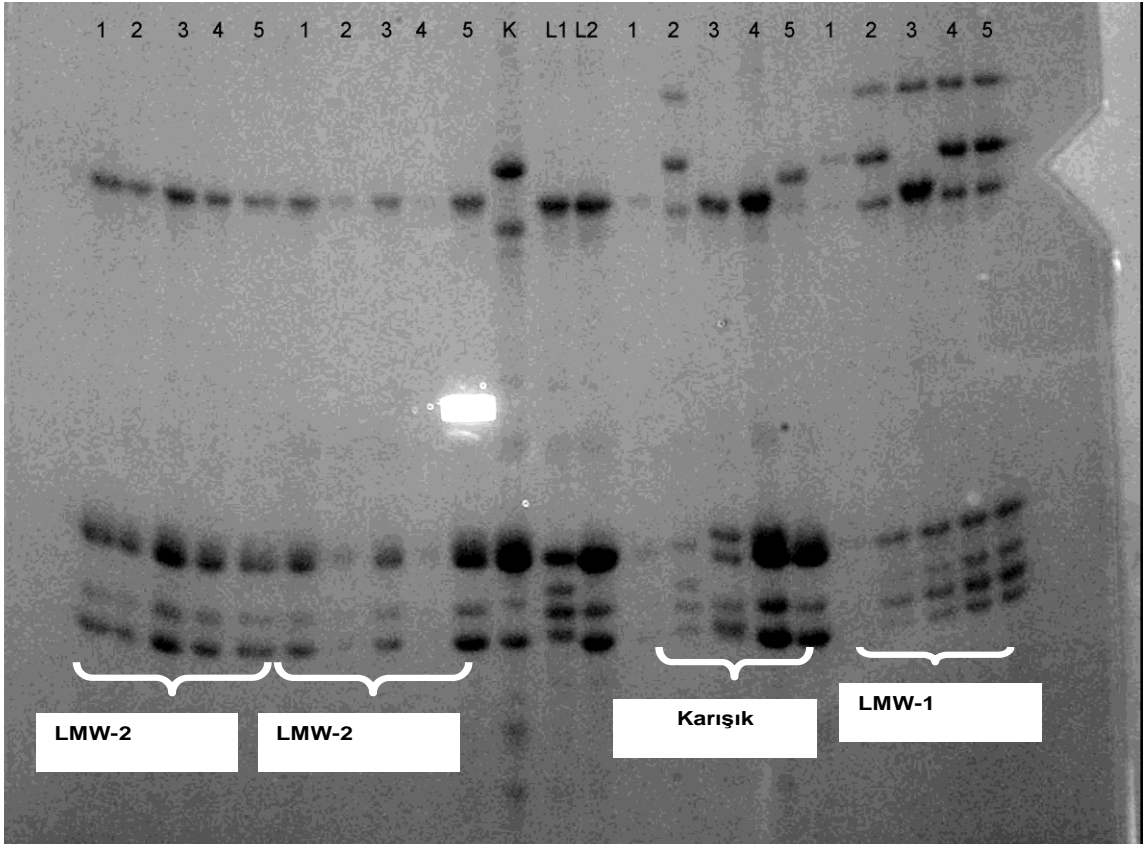
LMW-1 ve LMW-2 glutenin desenlerine sahip çeşitlerin SDS-PAGE elektroforogramları görülmektedir. Genel olarak SDS-PAGE taramaları A-PAGE taramalarıyla yani LMW glutenin desenleri ve  $\gamma$ -gliadin protein tipleriyle paralellik göstermektedir. Diğer bir ifadeyle,  $\gamma$ -gliadin 42 proteinini taşıyan buğdaylar LMW-1 glutenin desenine,  $\gamma$ -gliadin 45 taşıyan buğdaylar ise LMW-2 glutenin desenine sahiptirler. Bu nedenle çalışmada daha çok moleküler ve A-PAGE taramaları yapılmış, SDS-PAGE taramaları gerekli görüldüğü durumlarda gerçekleştirilmiştir. Farklı bir araştırmada da yapılan SDS-PAGE ve A-PAGE analizleri sonucunda  $\gamma$ -gliadin 45'e sahip çeşitlerin LMW-2 glutenin alt ünitesini de taşıdıkları,  $\gamma$ -gliadin 42'ye sahip çeşitlerin ise düşük moleküler ağırlıklı glutenin alt ünitelerinden LMW-1'i içerdikleri saptanmıştır (Impiglia ve ark., 1995).



Şekil 4.29: Melez anaçlarına ait SDS-PAGE glutenin elektroforezleri

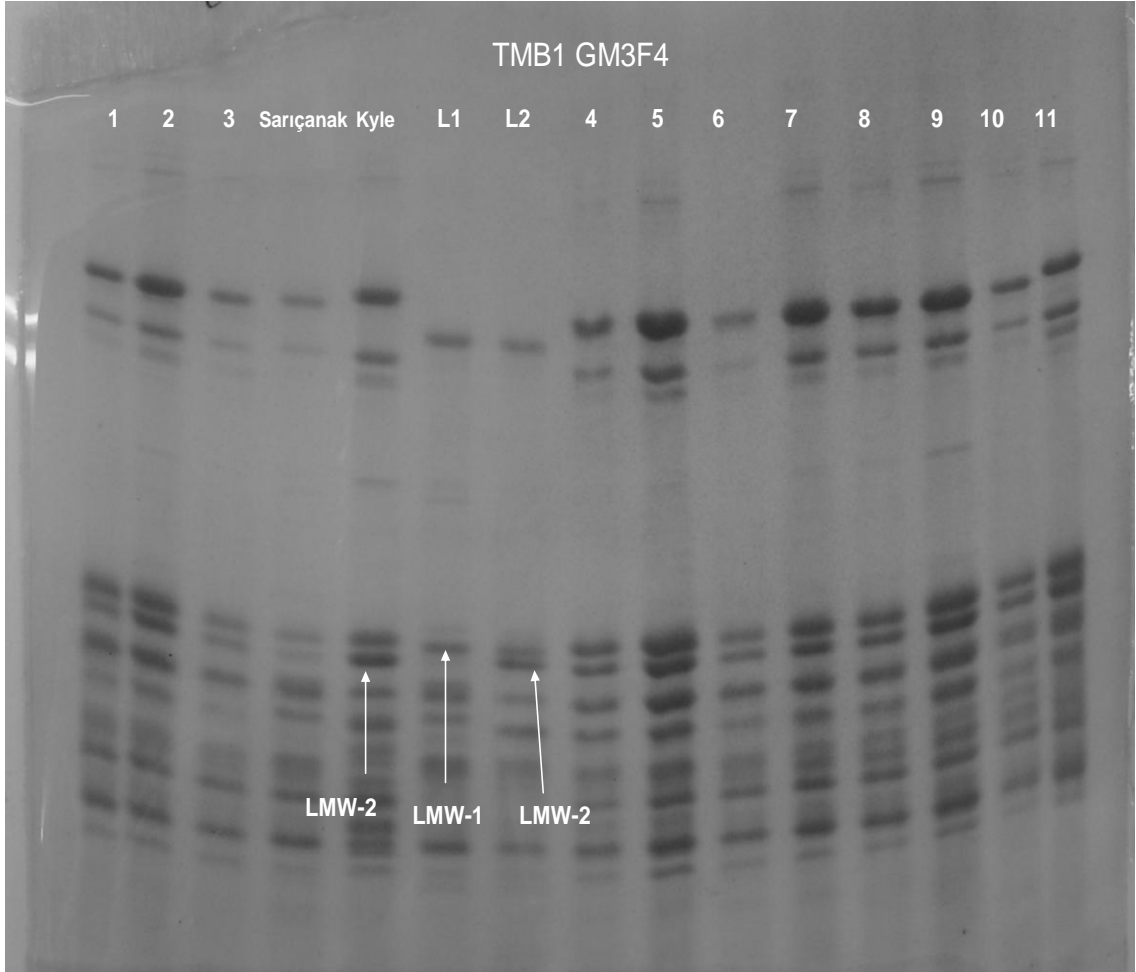


Şekil 4.30: Geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi  
(Kontrol çeşitler: L1: Lira-1-LMW-1; L2: Lira-2-LMW-2)



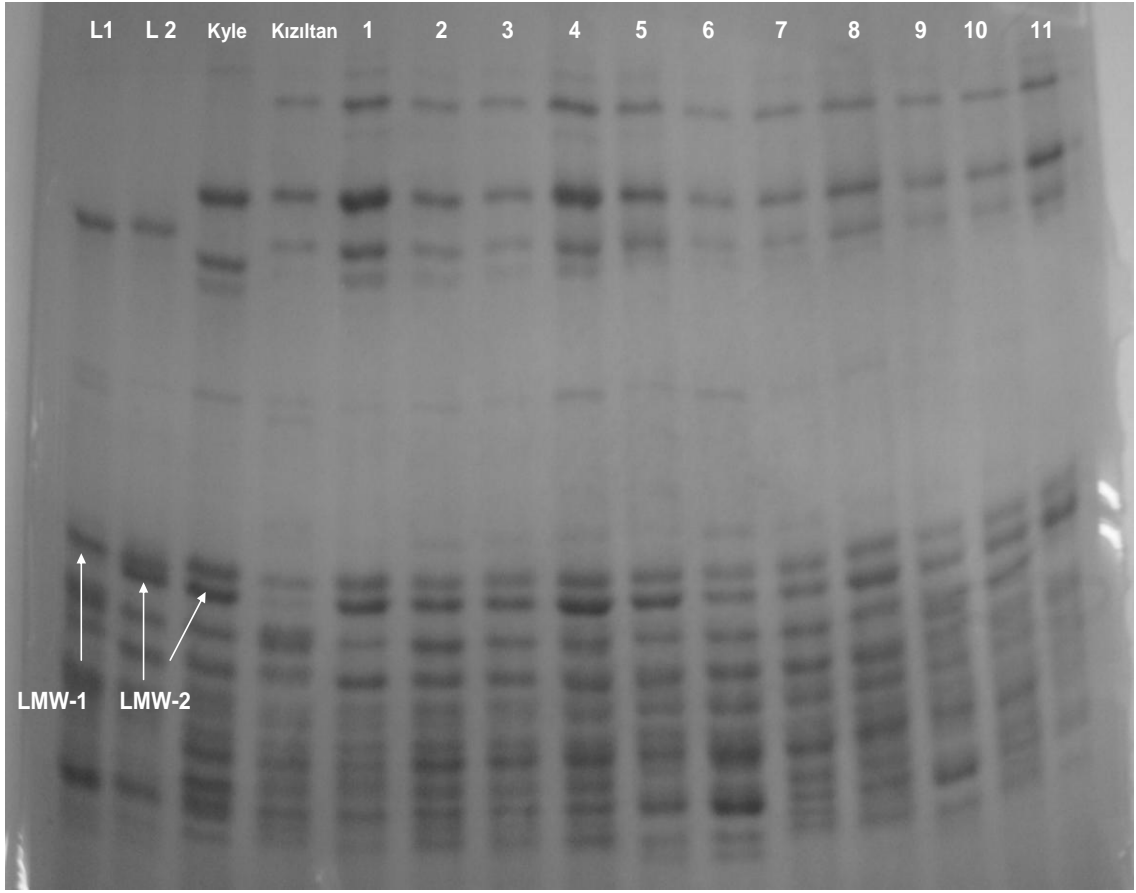
Şekil 4.31: Geri melez hatlarına ait tohumlarda yapılan SDS-PAGE taramaları

Kalite analizinde kullanılmak üzere tarlada yetiştirilen  $\gamma$ -gliadin 45'e sahip homozigot GM3F4 bitkilerinden rastgele alınan örneklerde SDS-PAGE (Şekil 4.32, 4.33) taramaları gerçekleştirilmiş ve geliştirilen ıslah hatlarının tamamının  $\gamma$ -gliadin 45'in yanı sıra LMW-2 glutenin alt ünitesini de taşıdıkları belirlenmiştir.



Şekil 4.32: TMB1 melez ailesine ait durulmuş geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi  
(Kontrol çeşitler: L1: Lira-1-LMW-1; L2: Lira-2-LMW-2)





Şekil 4.33: TMB3 melez ailesine ait durulmuş geri melez hatlarının SDS-PAGE yöntemiyle LMW glutenin desenlerinin belirlenmesi (Kontrol çeşitler: L1: Lira-1-LMW-1; L2: Lira-2-LMW-2)

Tescilli ve yerel durum buğday çeşitlerinin makarna yapma kalitesi farklı çalışmalarda LMW-2 gluteninlerinin varlığı göz önünde bulundurularak araştırılmıştır (Doust ve ark., 1996; Troccoli ve ark., 2000; Raciti ve ark., 2003; Lerner ve ark., 2004; Sissons ve ark., 2005; Muccilli ve ark., 2010). Kalite ile bağlantılı düşük ve yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt üniteleri kullanılarak durum buğdayının karakterizasyonunun yapıldığı bir diğer araştırma (Raciti ve ark., 2003) sonucunda, makarna yapma kalitesini geliştirmek için ıslah programlarında glutenin alt ünitelerinin gerek seleksiyonda gerekse gen kaynaklarının karakterizasyonunda oldukça faydalı olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Kovacs ve ark. (1994), Sissons ve ark. (2005) ile Mohd ve ark. (2007) da düşük moleküler ağırlıklı glutenin alt ünitelerinin makarna yapma kalitesinin belirlenmesinde kullanılabileceğini ve ayrıca bu özellikleri incelemek için küçük örnek miktarları yeterli olduğundan ıslah programlarında da kullanımının uygun olduğunu belirtmişlerdir.

### 4.3. Kalite Analizi Sonuçları

#### 4.3.1. Fiziksel Özellikler

Buğdayın uygun olduğu son ürünü ve kalitesini tayin eden fiziksel özelliklerin başında bin tane ağırlığı, hektolite ağırlığı ve camsılığı gelmektedir.

##### 4.3.1.1. Bin Tane Ağırlığı

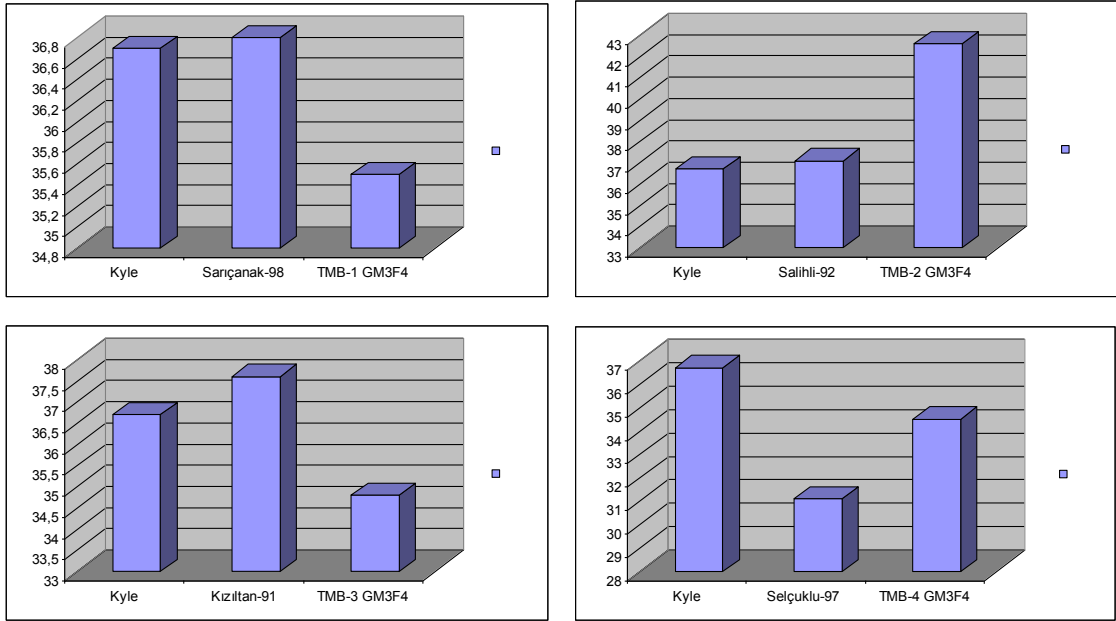
Melez ailelerine ilişkin bin tane ağırlıkları Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Geri melez ıslah hatlarının bin tane ağırlıkları 34,5-42,6 gr (ortalama 36,9 gr) arasında değişim gösterirken, anaçların bin tane ağırlıkları 31,1-37,6 gr (ortalama 35,9 gr) olarak belirlenmiştir. Bu veriler geliştirilen makarnalık buğday hatlarının tane boyutları bakımından irmik/makarna üretimi için yeterli düzeyde (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995; Bushuk, 1998) olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.1: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının önemli fiziksel özellikleri

Anaçlar/ Melez Ailesi	Bin Tane Ağırlığı (gr)	Hektolite ağırlığı (kg)	Camsılık Oranı (%)	Nem Oranı (%)
<b>Kyle</b>	36,7 b	79,2 c	99,75 ab	10,43 ab
<b>Sarıçanak-98</b>	36,8 b	82,3 a	99,10 d	9,80 bcd
<b>TMB-1 GM3F4</b>	35,5 cd	80,6 b	99,45 c	10,33 abc
<b>Kyle</b>	36,7 b	79,2 c	99,75 ab	10,43 ab
<b>Salihli-92</b>	37,1 b	82,3 a	98,99 d	9,40 de
<b>TMB-2 GM3F4</b>	42,6 a	79,0 c	99,88 a	10,97 a
<b>Kyle</b>	36,7 b	79,2 c	99,75 ab	10,43 ab
<b>Kızıltan-91</b>	37,6 b	78,2 d	99,80 ab	10,27 bc
<b>TMB-3 GM3F4</b>	34,8 d	75,8 f	99,80 a	9,97 bcd
<b>Kyle</b>	36,7 b	79,2 c	99,75 ab	10,43 ab
<b>Selçuklu-97</b>	31,1 e	76,8 e	99,80 a	9,67 cd
<b>TMB-4 GM3F4</b>	34,5 d	74,5 g	99,77 ab	8,97 e
<b>Değişim Aralığı</b>	31,1-42,6	74,5-82,3	98,99-99,88	8,97-10,97
<b>Genel Ortalama</b>	36,3	78,8	99,59	9,98
<b>Hatların Ortalaması</b>	36,9	77,5	99,73	10,06
<b>Anaçların Ortalaması</b>	35,9	79,8	99,48	9,91

Değerler %14 nem esasına göre olup, aynı sütunda değişik harflere sahip ortalamaların farkı istatistiksel olarak önemlidir (P<0,01).

TMB2 melez ailesine ilişkin hattın (42,6 gr) yüksek makarnalık kalitesine sahip Kyle (36,7 gr) çeşidinden daha yüksek, TMB2 (42,6 gr) ve TMB4 (34,5 gr) melez ailelerine ilişkin ıslah hatlarının da anaçları Salihli-92 (37,1 gr) ve Selçuklu-97 (31,1 gr) çeşitlerinden daha yüksek bin tane ağırlıklarına sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının bin tane ağırlıkları

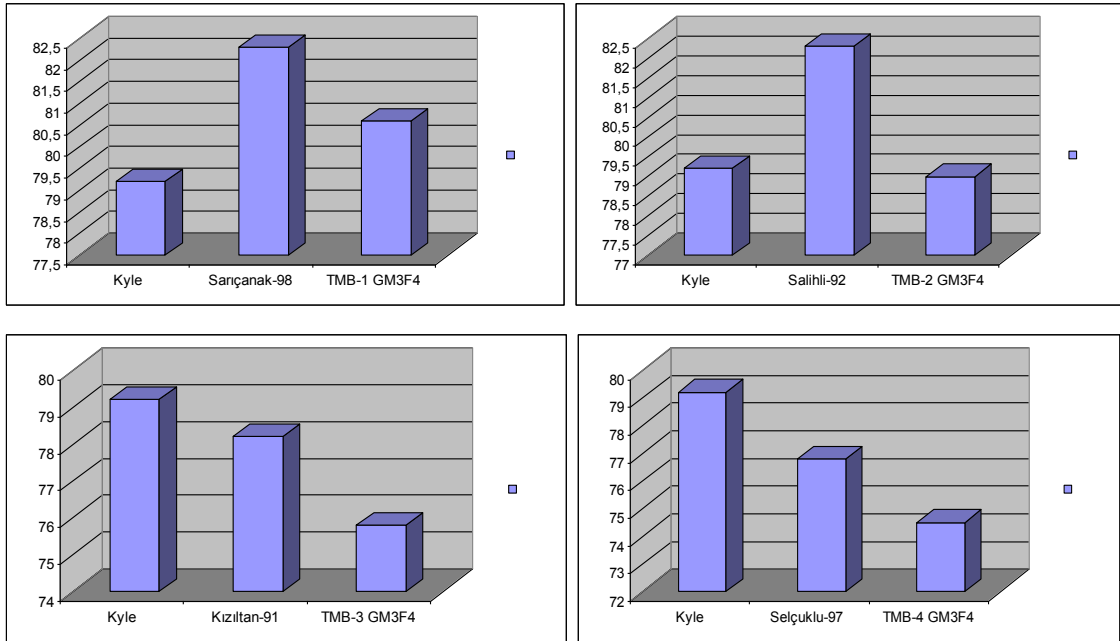
Ev (2006), makarnalık buğdayda bin tane ağırlığı ile bitki boyu, başaktaki tane sayısı ve tane verimi arasında olumlu ve önemli, gluten indeksi, azot dozu, protein ve zeleni sedimentasyon arasında ise olumsuz ve önemsiz ilişkiler saptamıştır. Yürür ve ark. (1987) ile Güzel ve ark. (1988) da benzer ilişkiler tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da bin tane ağırlığı fazla olan ıslah hatlarının protein oranlarının daha düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Bununla birlikte, bin tane ağırlığı arttıkça endosperm/kabuk oranı artmakta ve böylece irmik verimi de yükselmektedir. Bu nedenle bin tane ağırlığı öğütme kalitesinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Bin tane ağırlığı ile irmik verimi arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla farklı çevrelerden toplanan 174 adet makarnalık buğday

hattının kullanıldığı bir çalışmada her iki özellik arasında önemli bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Matsuo ve Dexter, 1980).

#### 4.3.1.2. Hektolitre (Test) Ağırlığı

Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının hektolitre ağırlıklarına ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Geri melez ıslah hatlarının hektolitre ağırlıkları 74,5-80,6 kg (ortalama 77,5 kg) arasında değişim göstermiştir. TMB1 melez ailesine ait hattın (80,6 kg) yüksek makarnalık kalitesine sahip Kyle çeşidinden (79,2 kg) daha yüksek, TMB2 melez ailesine ait hattın (79 kg) ise Kyle çeşidine (79,2 kg) benzer hektolitre ağırlığına sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının hektolitre ağırlıkları

Hektolitre ağırlığı makarnalık buğday standartlarında tanenin sağlamlığının, öğütme kalitesinin ve irmik veriminin bir göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılan temel fiziksel kalite unsurlarından biridir (Çölkesen, 1990; Soylu, 1998; Ünal, 2009). Makarnalık buğdaylarda hektolitre ağırlığı ile irmik verimi arasında pozitif bir ilişki

vardır (Dalçam, 1993). Bu nedenle durum buğdaylarında hektolitreye ağırlığının yüksek olması istenir. Hektolitreye ağırlığı 1. sınıf makarnalık buğdaylar için 80 kg ve üzeri, 2. sınıf makarnalık buğdaylarda 78 kg ve üzeri, 3. sınıflar için ise 76 kg ve üzeri olarak belirlenmiştir (Yürür, 1994). Bu çalışmada geliştirilen TMB1 ve TMB2 melez ailelerine ait hatların 1. sınıf makarnalık buğdaylar için belirlenen hektolitreye ağırlığını gösterdiği tespit edilmiştir.

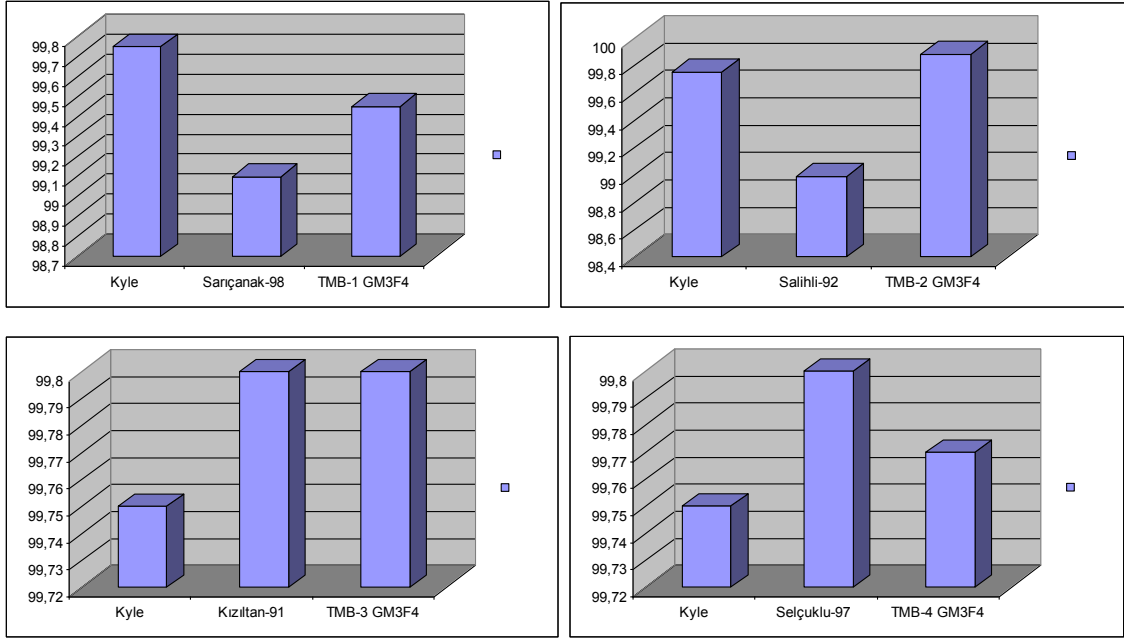
Konya koşullarında bazı ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde azotlu gübrelemenin verim ve kalite üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, hektolitreye ağırlığı ile yaş gluten, azot dozu, gluten indeksi, zeleny sedimentasyon, sertlik ve protein arasında olumsuz ve önemsiz ilişkiler olduğu belirlenmiştir (Ev, 2006). Demir ve ark. (1987) ile Kanbertay (1994) ve Özseven (1995) de benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Koçak ve ark. (1992), çoğunlukla sert tane yapılı çeşitlerin hektolitreye ağırlıklarının daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

#### **4.3.1.3. Camsı, Unsu ve Dönmeli Tane Oranı**

Melez ailelerine ilişkin camsılık oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu çalışmada geliştirilen makarnalık buğday ıslah hatlarının camsılık oranlarının % 99,45-99,88 arasında değiştiği (ortalama % 99,73) tespit edilmiştir. TMB2 (% 99,88), TMB3 (% 99,80) ve TMB4 (% 99,77) melez ailelerine ait hatların yüksek makarnalık kalitesine sahip Kyle (% 99,75) çeşidine benzer ya da daha yüksek camsılık oranlarına sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.36). Geliştirilen hatlarda unsu taneye rastlanmamıştır. Bu veriler makarnalık buğday hatlarının camsılık oranları bakımından irmik/makarna üretimi için yeterli düzeyde (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995; Bushuk, 1998) olduklarını göstermektedir.

Tanenin camsılığı başka bir ifadeyle sertliği ve yumuşaklığı tanenin öğütülmesi, irmik verimi ve parlaklığı açısından önem taşımaktadır. Camsı olmayan tanelerin irmik verimi üzerine olumsuz etkisi vardır (Troccoli ve ark., 2000). Genellikle sert tanelerin gluten miktarı fazla, makarnalık kalitesi daha iyidir. Bu nedenlerle kaliteli makarnalık buğday

tanenin oldukça sert yapılı ve camsı görümlü olması istenmektedir (Coşkun, 2001; Morris, 2004; Dziki ve Laskowski, 2005).



Şekil 4.36: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının camsılık oranları

Camsı tanelerin oranı arttıkça irmik verimi ve dolayısıyla makarna kalitesi de artmaktadır (Aktan ve Atlı, 1993). Makarnalık buğdaylarda dönmeli tane oranındaki % 10'luk artış protein oranında % 1'lik bir düşüşe neden olurken (Dhaliwal ve ark., 1981), unlu tane oranındaki % 10'luk artış ise irmik veriminde % 1-1,6 arasında değişen bir kayba neden olmaktadır (Eser, 1996).

Makarnalık buğdaylarda camsı tane oranının çeşitlere göre değiştiği bilinmektedir (Atlı ve ark. 1993; Yazar ve Karadoğan, 2008). Tanenin sert veya yumuşak olması, çeşide bağlı bir özellik olduğu halde iklim şartlarının etkisi ile de büyük değişimler gösterir. Camsılık, makarnalık buğdaylarda çevreden en fazla etkilenen kalite kriterlerinden biridir.

Yapılan çalışmalarda makarnalık buğdaylarda sertlik ile hektolitre ağırlığı, gluten indeksi, bitki boyu, saplı ağırlık, başaktaki tane ağırlığı ve tane verimi arasında olumsuz ve önemsiz, başak uzunluğu, başaktaki tane sayısı, hasat indeksi, zeleny sedimentasyon,

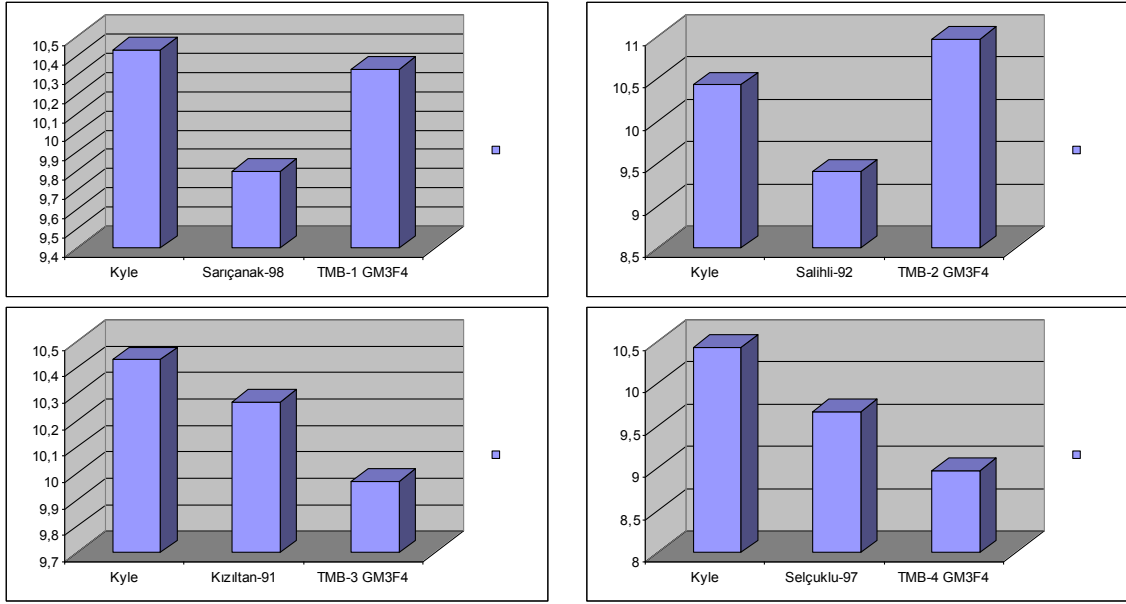
bin tane ağırlığı, yaş gluten ve protein oranı arasında ise olumlu ve önemsiz ilişkiler saptanmıştır (Durutan ve Karaca, 1987; Mızrak ve Atlı, 1987; Ev, 2006). Yüksek camısı tane oranına sahip olan genotipler daha yüksek ham protein oranına sahip olmaktadır (Porceddu ve ark., 1973; Aydın ve ark., 1999). Bu çalışma da da camsılık oranı yüksek hatların protein oranlarının da yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Makarnalık buğdaylarda dönmeye hassas ve dayanıklı oldukları belirlenen hatlarla yapılan melezleme çalışmaları sonucunda, F4 ve daha sonraki generasyonlarda dönmeye dayanıklılık bakımından seleksiyon yapılabileceği ve dönme ile protein, bin tane ve hektolitre ağırlıkları arasında olumsuz bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Gricnac, 1970). İtalya'da yapılan bir araştırmada da benzer şekilde dönmeli tane oranı ile protein oranı arasında negatif bir ilişkinin bulunduğu saptanmıştır (Porceddu ve ark., 1973).

#### **4.3.1.4. Nem İçeriği**

Bu çalışmada elde edilen ıslah hatlarının % 8,97-10,97 arasında değişim gösteren nem oranlarının ortalamasının % 10,06 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Buğdayın nem oranı ticareti ve depolanabilmesi açısından çok önemlidir. Türkiye buğdaylarında nem miktarı ideal değerlere yakın olmakla birlikte % 8-14 arasında değişir, ortalama % 9-11'dir (Ünal, 2009). Bu çalışmada elde edilen hatlara ait nem değerlerinin de ideal sınırlar içerisinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.37).

Avrupa buğdaylarında su miktarı % 14'den fazla olduğundan (Hollanda, Almanya, İngiltere) depolamadan önce buğday taneleri kurutulur. Çünkü buğdaylarda nem oranı için üst sınır % 14.6'dır. Çok kuru buğdaylar taşımada kolaylıkla kırıldığından ve kırık tanelerin de yabancı maddeden sayılmasından dolayı buğdaylarda nem miktarının çok düşük olması da istenmez (Ünal, 2009).



Şekil 4.37: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının nem oranları

#### 4.3.2. Protein Miktar ve Özellikleri

Makarnalık buğdayın protein içeriği ve özellikleri makarna kalitesini belirleyen özelliklerin başında gelmektedir (Bushuk, 1998; Troccoli ve ark., 2000).

##### 4.3.2.1. Protein Miktarı

Melez ailelerine ilişkin buğdayların % 14 nem esasına göre protein içeriği % 14,8-16,3 (ortalama % 15,4) arasında değişim gösterirken anaçların protein miktarı % 13,8-15,4 (ortalama % 14,4) arasında değişmiştir (Çizelge 4.2). Geliştirilen geri melez ıslah hatlarının tamamının kendi anaçlarından daha yüksek protein oranına sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.38). Bununla birlikte TMB3 (% 15,8) ve TMB4 (% 16,3) melez ailelerine ait geri melez ıslah hatlarının protein miktarlarının Kyle (% 14,8) çeşidinden yüksek, TMB1 (% 14,8) ve TMB2 (% 14,9) melez ailelerine ait geri melez ıslah hatlarının protein miktarlarının ise Kyle (% 14,8) çeşidiyle benzer değerlerde olduğu saptanmıştır.



Çizelge 4.2: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının protein içerikleri, sedimentasyon hacimleri ve kül miktarları

Anaçlar/ Melez Ailesi	Protein İçeriği (%)	Sedimentasyon Hacmi (mL)	Spesifik Sedimentasyon Hacmi (mL)	Kül Miktarı (%)
<b>Kyle</b>	14,8 d	22,1 d	1,49 c	1,54 de
<b>Sarıçanak-98</b>	13,8 g	17,9 e	1,30 d	1,48 ef
<b>TMB-1 GM3F4</b>	14,8 d	22,5 d	1,52 c	1,65 c
<b>Kyle</b>	14,8 d	22,1 d	1,49 c	1,54 de
<b>Salihli-92</b>	14,0 f	18,2 e	1,31 d	1,62 cd
<b>TMB-2 GM3F4</b>	14,9 d	32,7 a	2,19 a	1,65 c
<b>Kyle</b>	14,8 d	22,1 d	1,49 c	1,54 de
<b>Kızıltan-91</b>	14,2 e	25,9 c	1,82 b	1,45 f
<b>TMB-3 GM3F4</b>	15,8 b	28,2 b	1,78 b	1,73 b
<b>Kyle</b>	14,8 d	22,1 d	1,49 c	1,54 de
<b>Selçuklu-97</b>	15,4 c	26,5 bc	1,73 b	1,59 cd
<b>TMB-4 GM3F4</b>	16,3 a	27,5 bc	1,60 c	1,87 a
<b>Değişim Aralığı</b>	13,8-16,3	17,9-32,7	1,30-2,19	1,45-1,87
<b>Genel Ortalama</b>	14,9	24,6	1,64	1,62
<b>Hatların Ortalaması</b>	15,4	27,7	1,77	1,73
<b>Anaçların Ortalaması</b>	14,4	22,1	1,53	1,54

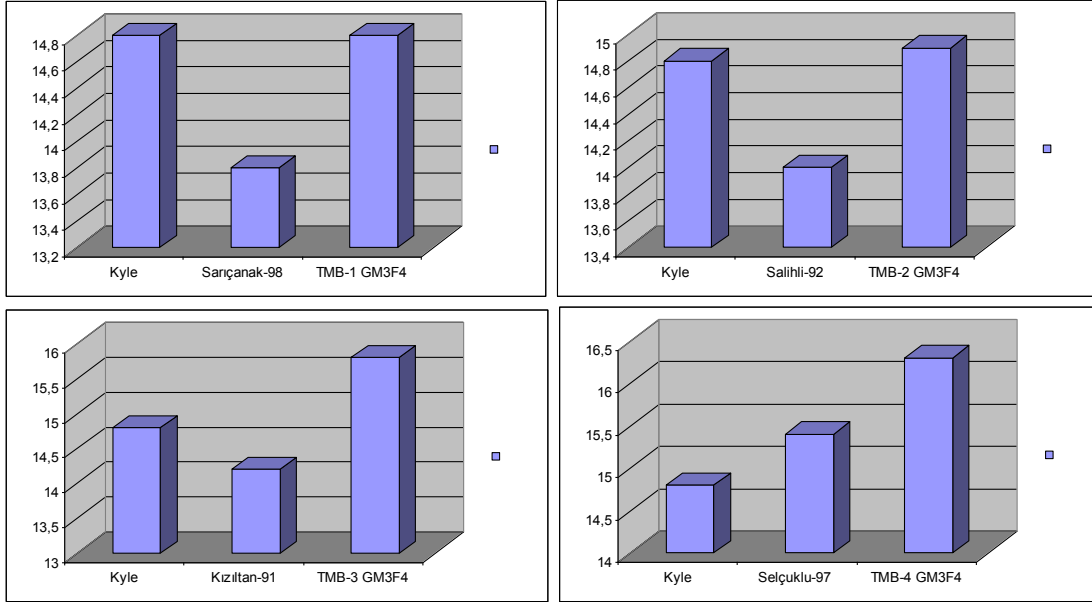
Değerler %14 nem esasına göre olup, aynı sütunda değişik harflere sahip ortalamaların farkı istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Protein oranı makarnalık buğdaylarda ürün kalitesini doğrudan etkilediği için kullanılacak buğdayların protein oranının % 13'den fazla olması istenmektedir (Ünal, 2009). Bu çalışmada geliştirilen ıslah hatlarının protein içeriklerinin makarna üretimi için yeterli düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Makarnalık buğdayda istenen kalite kriterlerinin başında protein oranı gelmektedir (Çölkesen, 1990; Soylu, 1998). Buğdayın kullanım amacının saptanmasında kullanılabilir en etkili kimyasal veri protein miktarıdır. Protein oranı hızlı ve kolay bir şekilde belirlenebilmektedir (Eser ve ark., 1993).

Makarna üretiminde kullanılacak buğdayın protein oranının % 13 veya daha fazla, serbest ekmek üretiminde % 13-14, tava ekmeği üretiminde % 12-13, bisküvi üretiminde % 8,5-10,5 ve pasta üretiminde % 9-9,5 olması gerekmektedir (Ünal, 2009). Protein oranı en az % 13 olan makarnalık buğdayların mükemmel bir ürün verdikleri, protein oranı % 11'in altında olan buğdaylardan ise daha düşük kalitede ürün elde

edilebildiği bildirilmiştir (Porceddu, 1995). Bu çalışmada elde edilen ıslah hatlarının protein içeriklerinin (ortalama % 15,4) kaliteli makarna üretimi için istenen değerlerde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.38: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının protein miktarları

Makarnalık buğdayda önemli bir kalite kriteri olan protein miktarının camsılık üzerinde olumlu bir etkisi bulunmaktadır (Porceddu ve ark., 1973). Bu çalışmada da dönmeli tane oranının (ortalama % 0,41) oldukça düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1).

Çalışmadaki melez ailelerine ait hatlar ve anaçlar aynı çevrede ve aynı kültürel uygulamalarla yetiştirildiği için protein içeriğindeki farklılıkların daha çok genetik kaynaklı olduğu söylenebilir. Tanede protein miktarının çeşide bağlı olarak % 9,2-16,8 arasında değiştiği (Atlı ve ark., 1993; Akman ve ark., 1999) ve protein oranının çevre şartları ve uygulanan kültürel işlemlere göre farklılık gösterdiği farklı araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Atlı ve ark., 1993; Yazar ve Karadoğan, 2008). El-Haramein ve ark. (1998) da protein oranının çeşitlere bağlı olmakla birlikte çevreye göre değiştiğini, protein oranının özellikle tane dolum dönemindeki yağış ve sıcaklık ile gübreleme, yetiştirme teknikleri, biotik stresler, sulama zamanı ve miktarına bağlı

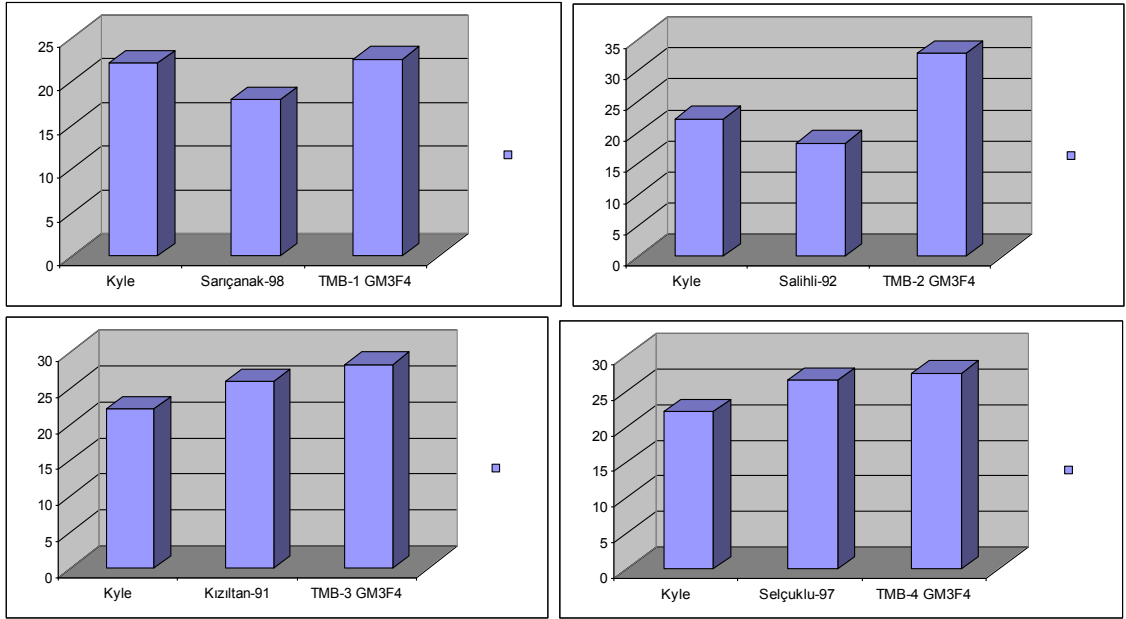
olarak değiştiğini belirtmişlerdir. Genel olarak kurak yerlerde ve azotu bol topraklarda yazlık olarak ekilen sert buğdayların protein miktarı daha fazla olmaktadır.

Kanbertay (1984), ışlah çalışmalarında protein oranı ve dönme açısından seleksiyonların durulmuş hatlarda yapılmasının uygun olacağını bildirmiştir. Bu çalışmada da kalite analizleri durulmuş ışlah hatlarında (BC3F4) yapılmıştır.

#### **4.3.2.2. Sedimentasyon Değeri**

Melez ailelerine ait sedimentasyon ve spesifik sedimentasyon hacimleri izelge 4.2’de verilmiştir. Makarnalık buğday ışlah hatlarının sedimentasyon hacimleri 22,5-32,7 mL, anaçların sedimentasyon hacimleri ise 17,9-26,5 mL arasında değişmiştir. Sedimentasyon hacmi bakımından hatların ortalamasının 27,7 mL anaçların ortalamasının ise 22,1 mL olduğu belirlenmiştir. Anaç olarak seçilen çeşitlerden Sarıçanak-98 ve Salihli-92’nin sedimentasyon değerlerinin (17,9 ve 18,2 mL) yüksek makarnalık kalitesiyle bilinen Kyle çeşidinden (22,1 mL) düşük olduğu görülmektedir (şekil 4.39). Ayrıca geliştirilen geri melez ışlah hatlarının tamamının kendi anaçlarından daha yüksek sedimentasyon hacmine sahip oldukları da tespit edilmiştir.

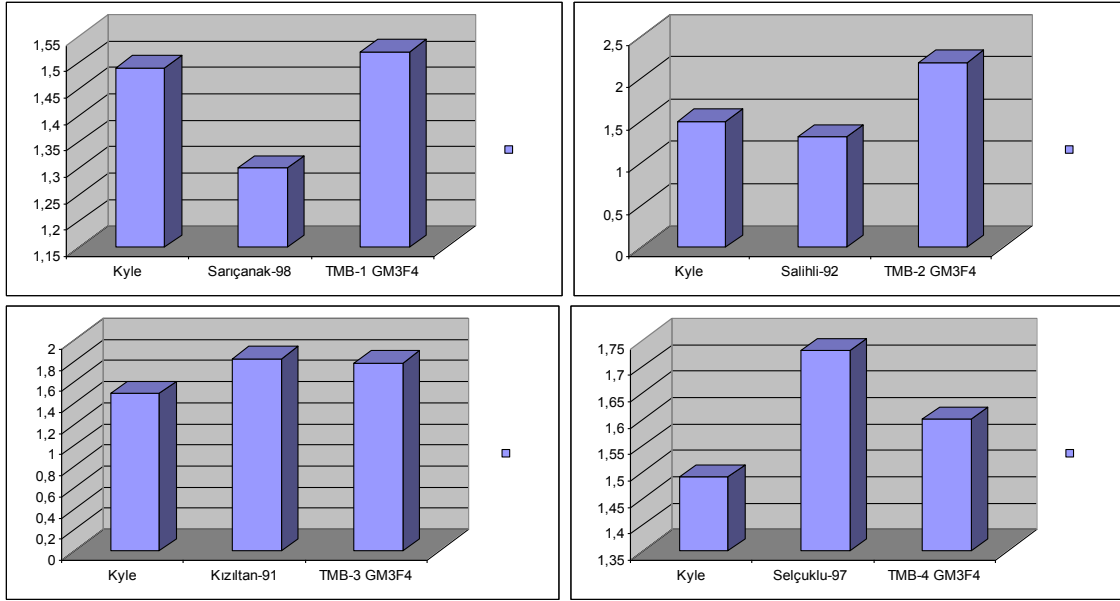
TMB2 (32,7 mL), TMB3 (28,2 mL) ve TMB4 (27,5 mL) melez ailelerine ilişkin hatların yüksek makarnalık kalitesine sahip Kyle çeşidinden daha yüksek, TMB1 melez ailesine ilişkin ışlah hattının (22,5 mL) ise Kyle (22,1 mL) ile benzer sedimentasyon değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (izelge 4.2).



Şekil 4.39: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının sedimentasyon hacimleri

Bu çalışmada, saptanan sedimentasyon hacimleri protein içeriklerine bölünerek protein kalitesini daha iyi yansıtan spesifik sedimentasyon hacimleri de hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). ıslah hatlarının spesifik sedimentasyon hacimleri 1,52-2,19 mL (ortalama 1,77 mL) arasında, anaçlarınsı ise 1,30-1,82 mL (ortalama 1,53 mL) arasında değişmiştir. Geliştirilen geri melez ıslah hatlarının tamamının kendi anaçlarından daha yüksek sedimentasyon hacmine sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

TMB2 (2,19 mL) ve TMB3 (1,78 mL) melez ailelerine ilişkin hatların yüksek makarnalık kalitesine sahip Kyle çeşidinden (1,49 mL) daha yüksek, TMB1 (1,52 mL) ve TMB4 (1,60 mL) melez ailelerine ilişkin ıslah hatlarının ise Kyle (1,49 mL) ile benzer spesifik sedimentasyon değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.40).



Şekil 4.40: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının spesifik sedimentasyon hacimleri

Yüksel (2009), bazı makarnalık buğday ıslah hatlarının kalite özelliklerini incelediği çalışmada  $\gamma$ -gliadin 45 ve  $\gamma$ -gliadin 42 proteinlerine sahip olan genotiplerin protein içeriklerinin birbirine yakın olduğunu, ancak  $\gamma$ -gliadin 45 proteinine sahip olanların protein kalite göstergeleri (sedimentasyon hacmi ve spesifik sedimentasyon hacmi) yönünden daha yüksek değerlere sahip olduklarını tespit etmiştir.  $\gamma$ -gliadin 45'e sahip olan hatların protein kalitelerinin, dolayısıyla makarna pişme kalitelerinin daha iyi olduğu farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Nachit ve ark., 1995; Pena, 2000; Edwards ve ark., 2007). Bu çalışmada da geliştirilen ıslah hatlarının hepsine  $\gamma$ -gliadin 45 geni aktarılmış ve böylece hatların protein kaliteleri yükseltilmiştir (Çizelge 4.2).

Çalışmada  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2'ye sahip ıslah hatlarının SDS sedimentasyon hacminin ortalama 27,7 mL olduğu,  $\gamma$ -gliadin 42 ve LMW-1'e sahip anaç çeşitlerin ise ortalama SDS sedimentasyon hacminin 22,1 mL olduğu tespit edilmiştir. Böylece çalışmada *Gli-B1* lokusundaki gliadin ile üstün SDS sedimentasyon hacmi arasında pozitif bir ilişki olduğu bir kez daha ortaya konulmuştur (Damidaux ve ark., 1978; Kaan ve ark., 1995).

Kaan ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada yerel çeşit, ıslah hattı ve tescilli makarnalık buğday çeşitlerinde makarna yapma kalitesinin belirlenmesi amacıyla gliadin ve glutenin proteinlerinin varlığının yanısıra sedimentasyon hacmini ve protein içeriğini de incelemişlerdir. Yapılan araştırmalarda Kuzey Afrika, İtalya ve Türkiye'deki yerel çeşitlerin ve diğer genetik kaynakların SDS hacminin çoğunlukla yüksek olduğu tespit edilmiştir (Chihab, 1990; Kaan ve ark., 1995). Ayrıca Türkiye'deki yerel makarnalık buğday çeşitlerinin protein içeriğinin yüksek, Suriye ve Ürdün'dekilerin ise protein içeriğinin dünya ortalamasından düşük olduğu belirlenmiştir (Kaan ve ark., 1995).

Sedimentasyon değeri protein kalitesini belirleyen ve daha çok kalıtımın etkisi altında olan bir kriterdir (Zeleny, 1971; Atlı, 1987). Sedimentasyon, glutenin kalitesi hakkında bilgi veren, çeşitlere ait genetik bir özellik olup diğer kalite kriterlerine göre çevreden daha az etkilenmektedir. Koçak ve ark. (1992) da sedimentasyon değerinin çevreye nazaran genotiplerin genetik yapılarından daha fazla etkilendiğini ifade etmişlerdir. Marchylo ve Schlichting (2008), gluten sağlamlığının SDS sedimentasyon aracılığıyla ölçülebileceğini bildirmişlerdir.

Koçak ve ark. (1992), yaptıkları çalışmada inceledikleri 24 buğday çeşidinin sedimentasyon değerlerinin 18,8 mL ile 43,8 mL arasında değiştiğini ve sedimentasyon değerinin çevreye göre genotipten daha fazla etkilendiğini bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda makarnalık buğdayda sedimentasyon hacmi ile başaktaki tane sayısı arasında olumsuz ve önemli, saplı ağırlık, hasat indeksi, başaktaki tane ağırlığı, bin tane ağırlığı, başak uzunluğu, hektolitre ağırlığı, bitki boyu ve tane verimi arasında ise olumsuz ve önemsiz ilişkiler saptanmıştır (Carter ve ark., 1999; Ev, 2006). Bu çalışmada da ıslah hatları arasında en düşük sedimentasyon hacmine sahip TMB1 melez ailesine ait hattın hektolitre ağırlığının diğer hatlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

İtalya'da yapılan bir melezleme çalışmasında elde edilen F2'lerin tanelerine ilişkin gliadin ve glutenin alt ünitelerinin bant yapıları ve kalımları incelenmiştir (Pogna ve ark., 1990). Araştırmada, *Glu-B3* lokusunda bulunan LMW alt ünitelerini kodlayan

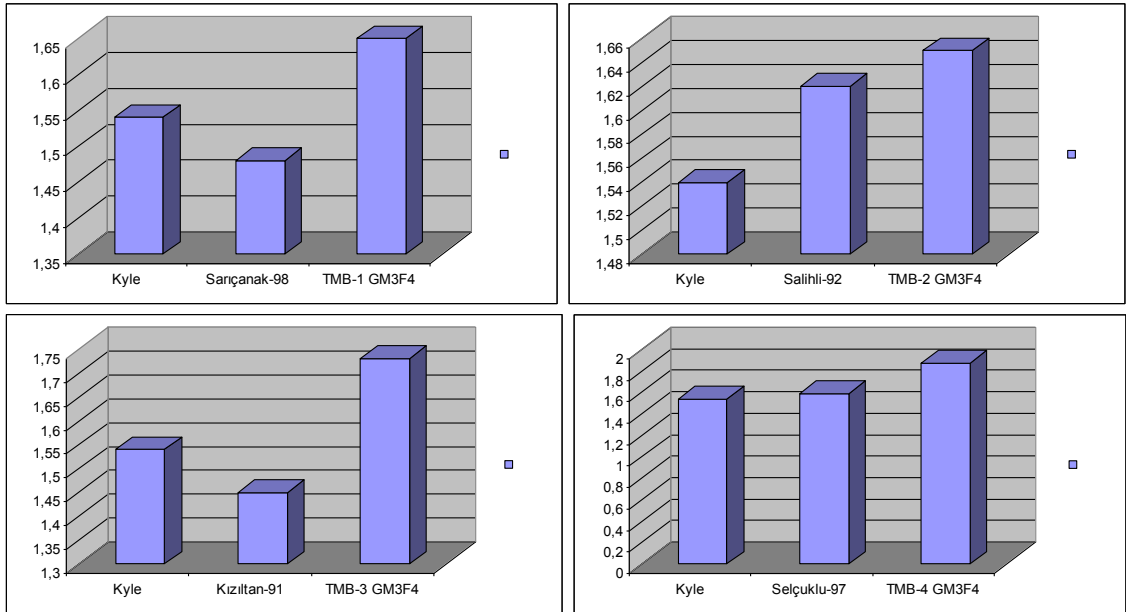
genlerin SDS sedimentasyon değerindeki ve gluten sağlamlığındaki farklılığı ortaya çıkarttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada gliadin bantlarının ise bu iki özellik açısından bir markör olarak kullanılabileceği de bildirilmiştir. Bu çalışmada da geliştirilen ışlah hatlarının tümüne LMW-2 glutenin alt nitesi aktarılmış ve böylece anaçlarından daha yüksek sedimentasyon değerlerine sahip oldukları saptanmıştır.

Impiglia ve ark. (1995), gliadin ve glutenin komponentlerinin makarnalık buğdayın kalitesine etkisini araştırdıkları çalışmada tohum depo proteinlerinin elektroforez teknikleriyle analizlerine ilave olarak protein içeriği, bin dane ağırlığı, camsılık, pigment miktarı ve SDS sedimentasyon testi gibi kalite özellikleri de araştırılmıştır. LMW-2 ve LMW-1 glutenin alt ünitelerine sahip çeşitler arasında bin dane ağırlığı, protein miktarı, camsılık ve pigment miktarı bakımından istatistiki açıdan önemli düzeyde farklılıklar saptanmazken, SDS sedimentasyon hacmi bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır. Ortalama SDS hacminin LMW-2'ye sahip olan çeşitlerde 34,2 mL, LMW-1'e sahip olanlarda ise 22,3 mL olduğu saptanmıştır. Akdeniz çevresinde yetiştirilen 171 adet yerel makarnalık buğday çeşidinin kalite özelliklerinin belirlendiği bir diğer araştırmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Nachit ve ark., 1995). İncelenen makarnalık buğday çeşitlerinden  $\gamma$ -gliadin 45 ve 42'ye sahip olanlar arasında protein miktarı (%), camsılık (%), pigment miktarları ve bin dane ağırlıkları arasında istatistiki açıdan önemli farklılıklar saptanmazken, SDS sedimentasyon hacmi ve indeksi açısından önemli farklılıklar saptanmıştır. Gliadin 45'e sahip çeşitlerin SDS sedimentasyon hacminin ortalama 25,7 mL olduğu, gliadin 42'ye sahip çeşitlerin ise ortalama SDS sedimentasyon hacminin 18,5 mL olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, yüksek sedimentasyon hacmi değerlerinin  $\gamma$ -gliadin 45'in varlığı ile, düşük sedimentasyon hacminin ise  $\gamma$ -gliadin 42'nin varlığı ile bağlantılı olduğu sonucuna varmışlardır. Yapılan farklı bir çalışmada da SDS sedimentasyon hacmi kullanılarak, LMW-1 glutenin kompozisyonunun kötü gluten kalitesi gösterirken, LMW-2 glutenin kompozisyonunun ise en iyi gluten kalitesini verdiği ortaya çıkarılmıştır (Raciti ve ark., 2003). Ayrıca alışmada LMW-2 glutenin alt ünitesinin varlığının yüksek sedimentasyon hacmi ile bağlantılı olduğu da ifade edilmiştir.

Bu çalışmada belirlenen protein içerikleri ve sedimentasyon hacimleri birlikte değerlendirildiğinde (Çizelge 4.2) geliştirilen ıslah hatlarının makarna üretim potansiyellerinin anaçlarından çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.3.2.3. Kül İçeriği

Çalışmada elde edilen geri melez ıslah hatlarının % 1,65-1,87 (ortalama % 1,73) arasında değişim gösteren kül içeriklerinin kaliteli makarna üretimi için ideal sınırlar arasında olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2, Şekil 4.41). Bitkisel bir maddenin yakılması sonucu, anorganik madde oksitlerinin oluşturduğu kalıntı külü oluşturmaktadır. Kül oranı ortalama % 1,3-2,5 arasında değişmektedir. Sert buğdayların kül miktarları çoğunlukla yüksektir. İstenilen kalitede makarna üretimi için kısmen düşük miktarda kül içeriği istenir (Boyacıoğlu ve Tülbek, 2002; Yeyinli ve Köse, 2006).



Şekil 4.41: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının kül içerikleri



### **4.3.3. Pigment İçerikleri ve Oksidatif Enzim Aktiviteleri**

Makarnalık buğdayın sarı renkli pigment içeriği ve oksidatif enzimlerin (LOX, PPO ve POD) aktiviteleri makarna kalitesinde önemli bir kalite kriteri olan parlak sarı renk oluşumunda etkilidir (Coşkun, 2001; Aalami ve ark., 2007).

#### **4.3.3.1. Pigment İçeriği**

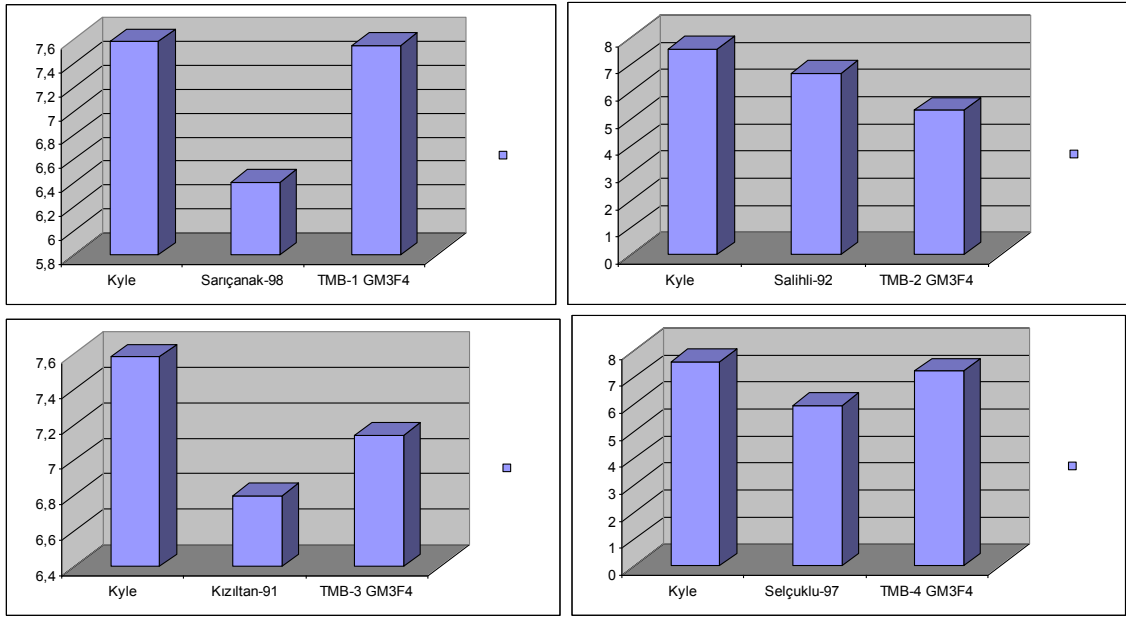
Melez ailelerine ait pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri Çizelge 4.3'de verilmiştir. Geri melez ıslah hatlarına ait buğday tanelerinin sarı renkli pigment içerikleri 5,31-7,55 mg/kg arasında değişmiş ve ortalama 6,80 mg/kg olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan Kyle (7,58 mg/kg) haricindeki anaç çeşitlerin pigment içerikleri 5,94-6,80 mg/kg arasında değişmiştir (Çizelge 4.3). Makarnalık buğdayların sarı renkli pigment konsantrasyonlarının yüksek olması istenmekte ve pigment içeriklerinin genellikle 4-8 mg/kg arasında değiştii farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmektedir (Kaan ve ark., 1995; Köksel ve ark., 2000; Troccoli ve ark., 2000). Bu çalışmada elde edilen ıslah hatlarının pigment içeriklerinin kaliteli makarna yapımı için istenen sınırlar içerisinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.3: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri

Anaçlar/ Melez Ailesi	Pigment İçeriği (mg/kg)	LOX Aktivitesi (EU/g)	POD Aktivitesi (EU/g)	PPO Aktivitesi (EU/g)
<b>Kyle</b>	7,58 a	44,9 f	29,3 b	6,8 de
<b>Sarıçanak-98</b>	6,41 d	48,1 cde	62,7 ab	6,9 de
<b>TMB-1 GM3F4</b>	7,55 a	48,5 cd	78,9 a	11,7 bc
<b>Kyle</b>	7,58 a	44,9 f	29,3 b	6,8 de
<b>Salihli-92</b>	6,67 cd	46,9 e	100,6 a	4,0 e
<b>TMB-2 GM3F4</b>	5,31 f	49,0 c	76,9 a	15,9 a
<b>Kyle</b>	7,58 a	44,9 f	29,3 b	6,8 de
<b>Kızıltan-91</b>	6,80 c	48,8 cd	65,6 ab	13,9 ab
<b>TMB-3 GM3F4</b>	7,14 b	50,6 b	60,1 ab	4,3 e
<b>Kyle</b>	7,58 a	44,9 f	29,3 b	6,8 de
<b>Selçuklu-97</b>	5,94 e	46,8 e	78,0 a	9,1 cd
<b>TMB-4 GM3F4</b>	7,22 b	53,6 a	69,3 ab	6,6 de
<b>Değişim Aralığı</b>	5,31-7,58	44,9-53,6	29,3-100,6	4,0-15,9
<b>Genel Ortalama</b>	6,73	48,6	69,0	8,7
<b>Hatların Ortalaması</b>	6,80	50,4	71,3	9,5
<b>Anaçların Ortalaması</b>	6,68	47,1	67,2	8,1

Değerler %14 nem esasına göre olup, aynı sütunda değişik harflere sahip ortalamaların farkı istatistiksel olarak önemlidir ( $P < 0,05$ ).

Tane rengi ile protein miktarı arasında bir ilişki vardır. Çoğunlukla tanenin koyu renkli ve sert olması protein miktarının yüksek olduğunu gösterir. Bu nedenle tanesi sert ve koyu renkli olan makarnalık buğdaylar yumuşak ve açık renkli olanlardan üstün kabul edilir (Ünal, 1991; 2009). Ayrıca sarı renkli ve sert şeffaf bir endosperme sahip olan makarnalık buğday tanesinin iri taneli irmik üretimine çok uygun olduğu da bildirilmiştir (Banasik, 1981). Bu çalışmada da anaçlarından daha yüksek pigment miktarına sahip hatların (TMB1, TMB3 ve TMB4) protein oranlarının da anaçlarından çok daha yüksek olduğu (Çizelge 4.2) tespit edilmiştir (Şekil 4.42).



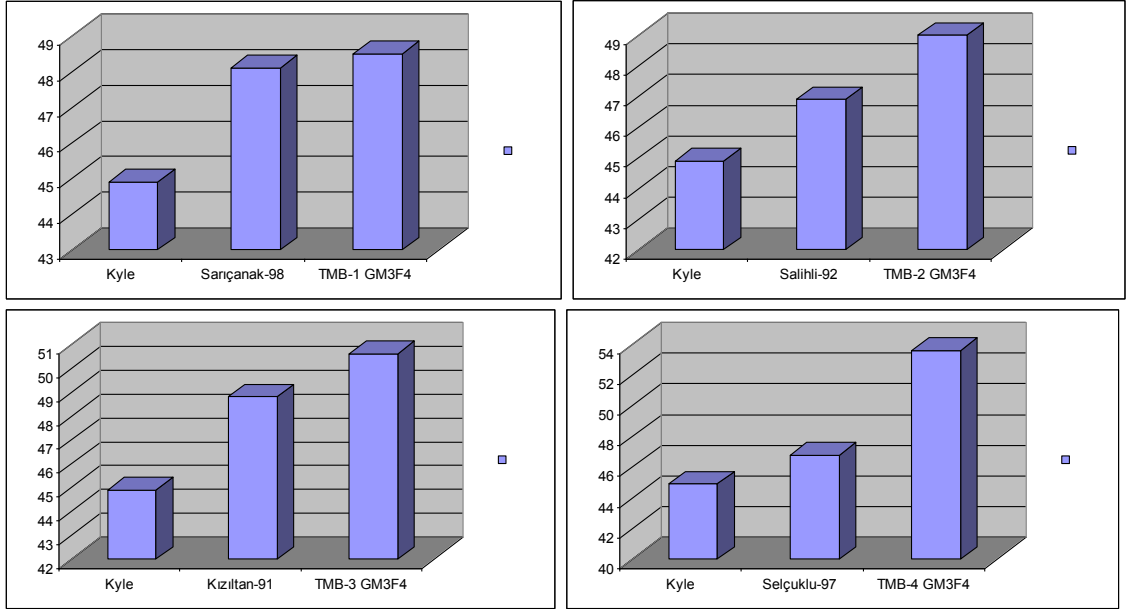
Şekil 4.42: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının pigment içerikleri

Makarnalık buğday ıslahında sanayicinin istekleri doğrultusunda renk kriterlerinin kullanılmasına devam edilmektedir. Renk spektrofotometreleri ile ölçülebilen renk değerleri ıslah çalışmalarında genotipleri değerlendirmede kolaylık sağlamaktadır (Şahin ve ark., 2006). Clarke (2008), günümüzde Amerika'da yürütülen durum buğdayı ıslah çalışmalarının daha çok sarı renk ve gluten yapısı gibi kalite özellikleri ile bazı hastalıklara dayanıklılık konularında yürütüldüğünü bildirmiştir. Kaan ve ark. (1995) araştırmalarında inceledikleri ıslah hatlarında sarı makarna rengi ile bağlantılı endospermin karotenoid miktarı için yararlı bir varyasyon saptamışlardır. Araştırmacılar, geliştirdikleri modern ıslah hatlarının çeşit geliştirmede oldukça yararlı olacağını bildirmişlerdir.

#### 4.3.3.2. Oksidatif Enzimlerin (LOX, POD, PPO) Aktiviteleri

Makarnada istenen sarı renk üzerine en etkili olan oksidatif enzimler Lipoksijenaz (LOX), Peroksidaz (POD) ve Polifenol Oksidaz (PPO) enzimleridir. Makarna üretimi sırasında sarı renkli pigmentlerin ağarmalarına ve oksidatif olarak parçalanmalarına neden olan LOX enzimlerinin (Troccoli ve ark., 2000; Aalami ve ark., 2007) aktiviteleri

durulmuş geri melez ıslah hatlarında 48,5-53,6 EU/g arasında değişmiş ve ortalama 50,4 EU/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.43).

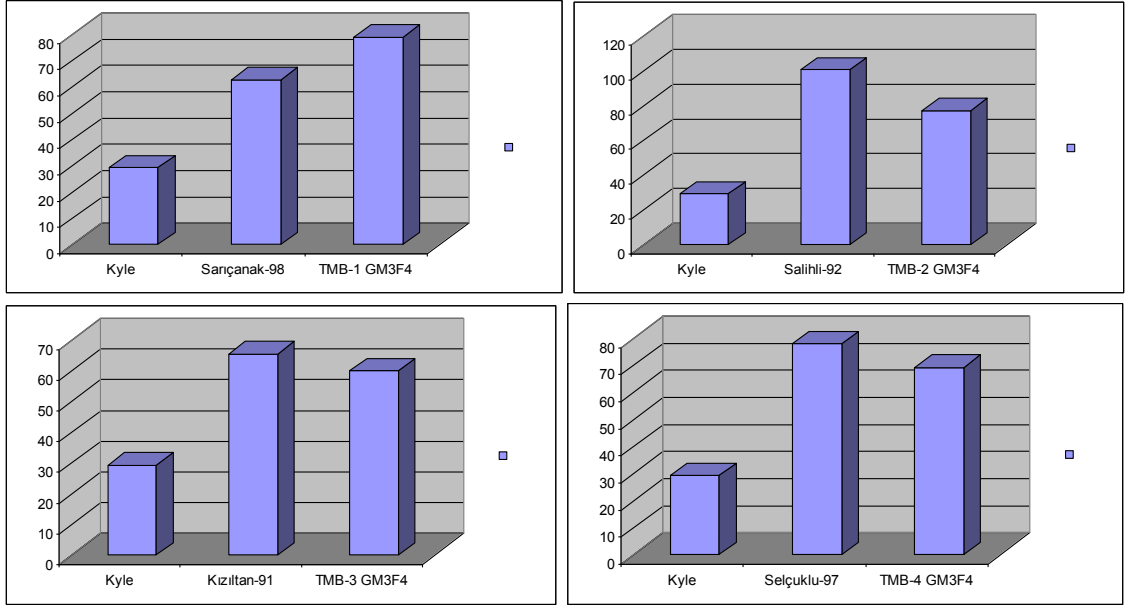


Şekil 4.43: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının LOX enzimi aktiviteleri

Makarna üretimi sırasında fenolik maddelerin oksidasyonu yoluyla ürünün kararmasına ve dolaylı olarak kahverengi-siyah renkli komplekslerin oluşumuna neden olan POD ve PPO enzimlerinin (Iori ve ark., 1995; Fraignier ve ark., 2000; Rani ve ark., 2001; Aalami ve ark., 2007) geri melez ıslah hatlarındaki aktiviteleri ise sırasıyla 60,1-78,9 EU/g (ort. 71,3 EU/g) ve 4,3-15,9 EU/g (ort. 9,5 EU/g) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.3).

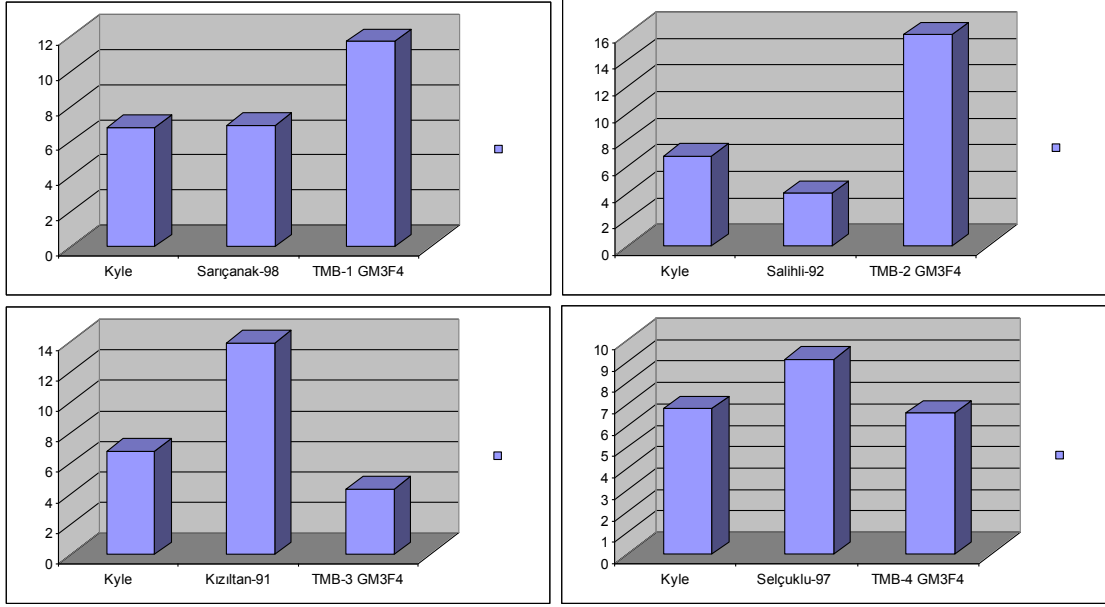
Makarnalık buğdayların LOX aktivitelerinin düşük olması istenmektedir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi hatların LOX aktiviteleri ortalaması (50,4 EU/g) Kyle çeşidinininkine (44,9 EU/g) yakın bulunmuştur. LOX enzim aktivitesi bakımından istatistikî açıdan farklılıklar bulunsa da, bu değerler gıda teknolojisi bakımından önemli bir farklılık teşkil etmemektedir.

İslah hatları POD aktiviteleri bakımından farklılık göstermiş (ort. 71,3 EU/g) ve anaçların 62,7-100,6 EU/g arasında değişim gösteren POD aktiviteleri Kyle çeşidinin POD aktivitesinden (29,3 EU/g) yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.44). Mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, POD enzimlerinin makarna ve erişte gibi ürünlerde kararmaya neden olarak kalitelerini düşürdüğü bilinmektedir.



Şekil 4.44: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının POD enzimi aktiviteleri

Makarna ve erişte üretiminde düşük PPO aktivitelerine sahip buğdaylar tercih edilmektedir. İslah hatlarının PPO aktiviteleri 4,3-15,9 EU/g arasında değişmiş; TMB3 ve TMB4 melez ailesine ait hatların PPO aktiviteleri (4,3 ve 6,6 EU/g) Kyle çeşidinden düşük bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.45).



Şekil 4.45: Melez ailelerine ait durulmuş geri melez ıslah hatlarının (GM3F4) ve anaçlarının PPO enzimi aktiviteleri

Makarna rengi sarı ve kahverengi renk veren bileşenlerin kombinasyonu ile belirlenmektedir. Sarı rengi veren bileşenler karotenoid içeriği ve lipoksijenaz aktivitesidir. Ancak hamura saflaştırılmış buğday lipoksijenazının eklenmesinin makarna rengini etkilemediği saptanmıştır. Bunun substratların varlığının makarna renginin oluşumunda lipoksijenaz aktivitesinden daha önemli olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Matsuo ve ark., 1970). Bu nedenle hamura dışarıdan enzim eklemek yerine lipoksijenaz aktivitesi yüksek çeşitlerin seçilmesi ve geliştirilmesi gerekmektedir.

İşlenmiş üründe istenmeyen kahverengi renk oluşumuna ise tanede bulunan peroksidaz ve polifenol oksidaz (Laignelet ve ark., 1972) enzimleri neden olmaktadır. Makarnalık buğdaylar diğer buğdaylara nazaran daha az polifenol oksidaz aktivitesine sahiptirler. Porceddu (1995), makarnanın kahverengileşmesinin önlenmesi için düşük peroksidaz aktivitesine yönelik seleksiyon yapılmasının yararlı olacağını ifade etmiştir.

Bu çalışmada belirlenen pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde (Çizelge 4.3) geliştirilen ıslah hatlarının sarı renkli makarna üretim potansiyelinin anaçlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada markör destekli geri melezleme ıslahı ile Türkiye’de farklı yörelerde yaygın olarak yetiştirilen tescilli makarnalık buğday çeşitlerine yüksek kaliteli Kanada durum buğdayı Kyle’den önemli kalite genlerinin aktarımı sağlanmış ve durulmuş geri melez ıslah hatlarında kalite analizleri yapılarak elde edilen yeni çeşit adaylarının makarnalık potansiyelleri tespit edilmiştir. Makarna pişme kalitesinin en önemli göstergelerinden olan  $\gamma$ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin proteinlerini taşıyan yeni çeşit adaylarının tane fiziksel özellikleri, protein miktar ve özellikleri, pigment içerikleri ile oksidatif enzim aktiviteleri incelenmiştir.

Fiziksel kalite kriterlerinin başında gelen bin tane ağırlığı geri melez ıslah hatlarında 34,5-42,6 gr arasında değişim göstermiştir. Bu veriler geliştirilen makarnalık buğday hatlarının bin tane ağırlıkları bakımından irmik/makarna üretimi için yeterli düzeyde olduklarını göstermektedir.

Islah hatlarının hektolitre ağırlıkları 74,5-80,6 kg (ortalama 77,5 kg) arasında değişim göstermiştir. TMB1 ve TMB2 melez hatlarının 1. sınıf makarnalık buğdaylar için belirlenen hektolitre ağırlığını gösterdiği tespit edilmiştir.

Geliştirilen hatların ortalama camsılık oranı % 99,73 olduğu saptanmıştır. Dönmeli tane oranı oldukça düşük olan hatlarda unsu taneye rastlanmamıştır. Bu veriler makarnalık buğday hatlarının camsılık oranları bakımından irmik/makarna üretimi için yeterli düzeyde olduklarını göstermektedir.

Geliştirilen geri melez ıslah hatlarının protein içerikleri % 14,8-16,3 (ortalama % 15,4) arasında değişim gösterirken anaçların protein miktarları % 13,8-15,4 (ortalama % 14,4) arasında değişmiştir. Islah hatlarının kendi anaçlarından daha yüksek protein oranına sahip oldukları tespit edilmiştir.

Islah hatlarının protein miktar ve kalitelerini yansıtan sedimentasyon ve spesifik sedimentasyon hacimleri 22,5-32,7 mL ve 1,52-2,19 mL arasında değişim göstermiştir.

Geliştirilen ıslah hatlarının sedimentasyon değerlerinin, iyi derecede makarna pişme kalitesine sahip olan Kanada orijinli Kyle çeşidinin sedimentasyon değerinden daha yüksek veya benzer oldukları belirlenmiştir.

Bu çalışmada belirlenen protein içerikleri ve sedimentasyon hacimleri birlikte değerlendirildiğinde, ıslah hatlarının makarna üretim potansiyellerinin anaçlarından çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Islah hatlarının, makarna renginde etkili olan pigment içerikleri 5,31-7,55 ppm arasında değişim göstermiş ve ortalama 6,80 ppm bulunmuştur. Bu veriler geliştirilen ıslah hatlarının pigment içeriklerinin kaliteli makarna yapımı için istenen sınırlar içerisinde olduğunu göstermektedir.

Buğdayların sarı renkli pigmentlerini oksidatif yolla parçalayarak makarnada renk ağarmasına neden olan LOX enzim aktiviteleri ıslah hatlarında 48,5-53,6 EU/g arasında değişmiş ve ortalama 50,4 EU/g olarak bulunmuştur. Fenolik maddelerin oksidasyonu yoluyla makarnanın kararmasına ve dolaylı olarak kahverengi-siyah renkli komplekslerin oluşumuna neden olan POD ve PPO enzimlerinin geri melez ıslah hatlarındaki aktiviteleri ise sırasıyla 60,1-78,9 EU/g ve 4,3-15,9 EU/g arasında değişim göstermiştir.

Bu çalışmada belirlenen pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde geliştirilen ıslah hatlarının sarı renkli makarna üretim potansiyellerinin anaçlarından çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu araştırmadan elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde; geliştirilen geri melez ıslah hatlarının makarna üretim potansiyellerinin oldukça iyi ve kaliteli irmik/makarna üretimi için yeterli düzeyde oldukları görülmektedir. Geliştirilen ıslah hatları makarna sanayisinin kalite taleplerinin başında gelen yüksek protein içeriği ve SDS sedimentasyon hacmine sahiptirler. Ayrıca bazı fabrikaların ön planda tuttukları irmik rengi bakımından istenen pigment içeriğine de sahiptirler.



Buğday başta olmak üzere tahıllar günümüzde olduğu gibi gelecekte de insan beslenmesinde temel gıda maddesi olarak kullanılacağı ve buğdayın dünyanın en stratejik ürünü olmayı sürdüreceği aşıkardır. Ülkemizin dünya tahıl pazarında var olabilmesi ve diğer ülkelerle rekabet edebilmesi için özellikle kalite açısından dış pazarlara dönük hedeflerin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Ancak özellikle AB ülkeleri ile çoğu tahıl ürünlerinde rekabet etme şansımız oldukça düşüktür. Bu rekabette en avantajlı olduğumuz ürün, belli iklim ve toprak özellikleri gerektiren makarnalık buğdaydır. Makarnalık buğday üretiminde kalite standartlarından ayrılmadan, sürekli artan kalite arayışı ile verimliliğin artırılması ve maliyetin düşürülmesi hedeflenmelidir.

Son yıllarda buğday ticaretinde kaliteli ve kalitesiz kavramları yerine son tüketim şekline uygunluğuna göre değerlendirme yapılmaktadır. Son ürün kalitesi esas alınarak yapılan seleksiyonlarda sanayicilerin ve uluslararası ticaret sektörlerinin kalite ölçütleri ve istekleri dikkate alınmalıdır. Son yıllarda en çok tüketilen gıda maddelerinden biri olan makarna konusunda ürün çeşitlendirilmesine gidilerek iç tüketim artırılmalı ve yeni pazarlar bulunarak ihracat oranı yükseltilmelidir. Kaliteli ve standart ürünün ancak kaliteli bir ham maddeden üretilebileceği gerçeğinden hareketle öncelikle ülkemizin protein ve camsılık oranı yüksek, sarı renkli ve istenen özelliklere sahip kaliteli ham madde üretimine odaklanması gerekmektedir. Kaliteli makarnalık buğday üretimimizin artırılması için öncelikle bölgeler için uygun çeşitlerin geliştirilmesi veya mevcut çeşitlerin kalite ve verim açısından geliştirilmesi konusunda ıslah çalışmalarına ağırlık verilmelidir.

Son yıllarda yürütülen ıslah çalışmalarında verimin yanında kalitenin artırılmasının da gerekliliğinin farkına varılmıştır. Çeşit adaylarının tescile sunulmadan önce makarna sanayisinin istediği kalite kriterleri göz önünde bulundurularak belli bir kalite düzeyinde olması artık bir zorunluluk haline gelmiştir.

Mevcut makarnalık buğday çeşitlerimizin makarna kalitesini doğrudan etkileyen gen bölgeleri bakımından ıslah edildiği bu çalışma ülkemizde ilk defa yapılmıştır. Bu çalışmanın ve sonuçlarının bundan sonraki ıslah çalışmalarına öncülük etmesi ve ileriki yıllarda da kalitenin artırılması konusunda araştırmalara devam edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada dünya makarna ihracatının büyük çoğunluğunu elinde bulunduran ülkelerin makarnalık buğday ışlahı çalışmalarında kalite açısından seleksiyon kriteri olarak kullandıkları gen bölgeleri geri melezleme ışlahı aracılığı ve markör destekli seleksiyon yardımıyla mevcut Türk makarnalık buğday çeşitlerine aktarılmıştır. Böylece bu çeşitlerin kalite özellikleri iyileştirilmiş ve bu çeşitlerden makarna yapımına daha uygun ham maddeler temin edilebilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen çeşit adayları ve bulgular kaliteli makarnalık buğday üretimi açısından ışlahılara ve çiftçilerimize, kaliteli hammadde temini konusunda ise makarna sanayisine yardımcı olacaktır.

Bu ışlah çalışması sonucu elde edilen çeşit adaylarının sanayinin istediği kriterlere uygunluğu, ışlah kademesinin her aşamasında güvenilir sonuç veren ve son ürün kalitesinin doğru ve kesin olarak belirlenmesine imkan veren teknikler kullanılarak saptanmıştır. Böylece yürütülen ışlah çalışmasının güvenirliliği de artmıştır.

## KAYNAKLAR

- Aalami, M., Leelavathi, K. ve Rao, U.J.S.P., 2007. Spaghetti making potential of Indian durum wheat varieties in relation to their protein, yellow pigment and enzyme contents. *Food Chemistry*, 100, 1243-1248.
- Abdel-Hady, M.S. ve Naggar, M.H., 2007. Wheat genotypic variation and protein markers in relation with *in vitro* selection for drought tolerance. *Journal of Applied Sciences Research*, 3 (10), 926-934.
- Aguiriano, E., Ruiz, M., Fité, R. ve Carrillo, J.M., 2008. Genetic variation for glutenin and gliadins associated with quality in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum*) landraces from Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6 (4), 599-609.
- Ahmed, M.F., Iqbal, M., Masood, M.S., Rabbani, M.A. ve Munir, M., 2010. Assessment of genetic diversity among Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) advanced breeding lines using RAPD and SDS-PAGE. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13 (3), 1-5.
- Akkaya, M.S. ve Akın, S., 1996. Mikrosatelit DNA Moleküler Belirleyicileri Kullanarak Bitki Genotiplerinin Tanımlanması. Proje No: TBAG-1480, Ankara.
- Akman, Z., Yılmaz, F., Karadoğan, T. ve Çarkçı, K., 1999. Isparta ekolojik koşullarına uygun yüksek verimli buğday çeşit ve hatlarının belirlenmesi. *Türkiye III. Tarla Bitkileri Kongresi*, Cilt: 1, Genel ve Tahıllar, s. 366-371, Adana.
- Aktan, B. ve Atlı, A., 1993. Çakmak 79 ve Kunduru 1149 makarnalık buğday çeşitlerinin makarna pişme kalitesine azotlu gübre uygulamasının etkisi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2 (1), 37-49.
- Angra, D.C., Barbosa, M.M., Prestes, A.M. ve Fernandes, M.I., 1999. Embryo culture of backcrosses between hybrids of *Triticum aestivum* Thell. and *Agropyron elongatum* host. & beauv. *Pesq. agropec. bras.*, 34 (2), 209-215.
- Anonim, 1990. *Cereals*. PBI Cambridge, Plant Breeding International. Cambridge.
- Anonim, 2000. *AACC Approved Methods* (10<sup>th</sup> ed.). American Association of Cereal Chemists International, St. Paul, MN.
- Anonim, 2003. *International Grains Council. Grain Market Report*.
- Anonim, 2007. *Global Durum Wheat Production*. [www.fas.usda.gov](http://www.fas.usda.gov).
- Anonim, 2008a. <http://faostat.fao.org>.
- Anonim, 2008b. *Türkiye İstatistik Kurumu*. [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr).
- Anonim, 2009. *International grains council (Nisan 2009 tahmini)*.
- Anonim, 2010. [www.makarna.org.tr](http://www.makarna.org.tr).
- Arzani, A. ve Mirodjagh, S., 1999. Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and *in vitro* salt stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58, 67-72.
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., 2006. Mikrosatelit DNA belirleyicileri kullanılarak yerel makarnalık buğday çeşitlerinin tanımlanması (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Atlı, A., 1987. Kışlık Tahıl Üretim Bölgelerimizde Yetiştirilen Bazı Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Kaliteleri ile Kalite Karakterlerinin Stabilitesi Üzerine Araştırmalar. *Türkiye Tahıl Sempozyumu*, s. 443-454, Bursa.

- Atlı, A., Koçak, N. ve Aktan, M. 1993. Ülkemiz çevre koşullarının kaliteli makarnalık buğday yetiştirmeye uygunluk yönünden değerlendirilmesi. Hububat Sempozyumu, s. 345-351, Konya.
- Autran, J.C., Bushuk, W., Wrigley, C.W. ve Zillman, R.R., 1979. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. IV. Comparison of International Methods. Cereal Foods World, 24 (9), 471-475.
- Aydın, N., Tugay, E., Sakin, M.A. ve Gökmen, S. 1999. Tokat Kazova koşullarında makarnalık buğday çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Hububat Sempozyumu, s. 621-625, Konya.
- Babu, E.R., Mani, V.P. ve Gupta, H.S., 2004. Combining high protein quality and hard endosperm traits through phenotypic and marker assisted selection in maize. 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia.
- Banasik, O.J., 1981. Pasta Processing. In "Cereal Foods World", 166-169.
- Bertrand, C., Collard, Y. ve Mackill, D.J., 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Philos Trans R. Soc. Lond B. Biol Sci., 363 (1491), 557-572.
- Bhojwani, S.S. ve Razdan, M.K., 1996. Plant Tissue Culture: Theory and Practice. Revised Edition, Elsevier Science, 297-335 p., Amsterdam.
- Bolstein, D., White, R.L., Skolnick, M.M. ve Davis, R.W., 1980. Construction of A Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. American Journal Human Genetics, 32, 314-331.
- Bommineni, V.R. ve Jauhar, P.P., 1997. An evaluation of target cells and tissues used in genetic transformation of cereals. Mydica, 42, 107-120.
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., DiFonzo, N. ve Fares, C., 1999. Durum wheat lipoxygenase activity and other parameters that affect pasta color. Cereal Chemistry, 76, 335-340.
- Borrelli, G.M., DeLeonardis, A.M., Fares, C., Platani, C. ve DiFonzo, N., 2003. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. Cereal Chemistry, 80, 225-231.
- Bothmer, R.V. ve Laursen, L., 2008. Backcrosses to cultivated barley (*Hordeum vulgare*.) and partial elimination of alien chromosomes. Hereditas, 111 (2), 145-147.
- Boyacıoğlu, M.H. ve Tülbek, M.Ç., 2002. Makarnalık buğday kalitesine bir bakış. Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, s. 17-24, Gaziantep.
- Budak, H., Pedraza, F. ve Cregan, P.B., 2003. Development and Utilization of SSRs to Estimate The Degree of Genetic Relationships in a Collection of Pearl Millet Germplasm. Crop Science, 43, 2284-2290.
- Bushuk, W. ve Zillman, R.R., 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. Canadian Journal of Plant Science, 58, 505-515.
- Bushuk, W., 1998. Wheat breeding for end-product use. Euphytica, 100, 137-145.
- Bürün, B. ve Gürel, A., 2001. Embriyo Kültürü. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku kültürü ve Uygulamaları, Bölüm 10, 324-337, Konya.
- Cao, W., Somers, D.J. ve Fedak, G., 2009. A molecular marker closely linked to the region of Rht-D1c and Ms2 genes in common wheat (*Triticum aestivum*). Genome, 52 (1), 95-99.
- Carrillo, J.M., Martínez, M.C., Moita Brites, C., Nieto-Taladriz M.T. ve Vázquez, J.F. , 2000. Relationship between endosperm proteins and quality in durum wheat

- (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). CIHEAM - Options Mediterraneennes, 40, 436-467.
- Carrillo, J.M., Vasquez, J.F. ve Orelana, J., 2006. Relationship between gluten strength and gluten proteins in durum wheat cultivars. *Plant Breeding*, 104 (4), 325-333.
- Carter, B.P., Morris, C.F. ve Anderson, J.A., 1999. Optimizing the SDS sedimentation test for end-use quality selection in a soft white and club wheat breeding program. *Cereal Chem.* 76 (6), 907-911.
- Chihab, B., 1990. Ressources génétiques et critères simples de la qualité bdlué dur (*Triticum durum* Desf.). Diplôme d'Etudes Supérieures d'université. Université de Montpellier II, 41 p.
- Clarke, J.M., Marchylo, B.A., Kovacs, M.I.P., Noll, J.S., McCaig, T.N. ve Howes, N.K., 1998. Breeding durum wheat for pasta quality in Canada. *Wheat: Prospects for Global Improvement*, Eds: Braun, H.J. Kluwer Academic Publishers, 229-236, New York.
- Clarke, J.M., 2008. Durum Breeding In North America. *International Durum Wheat Symposium. From Seed to Pasta: The Durum Wheat Chain*. 53 p., Bologna, Italy.
- Cole, M.E., 1991. Review: Prediction and measurement of pasta quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 26, 133-151.
- Cook, R.J., 1984. The characterisation and identification of crop cultivars by electrophoresis. *Electrophoresis*, 5, 59-72.
- Cooper, S.R., 1987. Report of the rules committee. *Seed Science and Technology*, 15, 555-575.
- Coşkun, E., 2001. Makarnalık Buğdaylarda Lipoksijenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Cubadda, R., 1985. Methods and topical problems in the evaluation of the technological quality of durum wheat. *Proc. ICC Symp. Analyses as practical tools in the cereal field*, ed. K.H. Fjell, Norwegian Grain Corporation, Oslo.
- Çölkesen, M., 1990. Buğdayda ve arpada kalitenin belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, Şanlıurfa*.
- D'Egidio, M.G., Mariani, B.M., Nardi, S., Novaro, P. ve Cubadda, R., 1990. Chemical and technological variables and their relationships: A predictive equation for pasta cooking quality. *Cereal Chemistry*, 67, 275-281.
- D'Egidio, M.G. ve Nardi, S., 1996. Textural Measurement of Cooked Spaghetti. *Pasta and Noodle Technology: Edited by James E. Kruger, Robert B. Matsuo and Joel W. Dick*. AACC. St. Paul Minnesota, U.S.A: AACC Inc., 133-157.
- D'Ovidio, R., Tanzarella, O.A. ve Porceddu, E., 1990. Rapid and efficient detection of genetic polymorphism in wheat through amplification by polymerase chain reaction. *Plant Mol Biol*, 15, 169-171.
- D'Ovidio, R., Margiotta, B., Porceddu, E. ve Lafiandra, D., 1992. Lack of expression of the gamma-45 gliadin gene in a durum wheat genotype. *Journal of Cereal Science*, 16, 173-181.
- D'Ovidio, R., 1993. Single-seed PCR of LMW glutenin genes to distinguish between durum wheat cultivars with good and poor technological properties. *Plant Mol. Biol.*, 22, 1173-1176.

- D'Ovidio, R. ve Porceddu, E., 1996. PCR-based assay for detecting 1B-genes for low molecular weight glutenin subunits related to gluten quality properties in durum wheat. *Plant Breeding*, 115 (5), 413-415.
- D'Ovidio, R. ve Macsi, S., 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 39, 321-339.
- Dalçam, E., 1993. Makarnalık buğdaylarda aranan kalite kriterleri. Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu, Ankara.
- Damidaux, R., Autran, J.C., Crignac, P. ve Feillet, P., 1978. Relationship between the gliadin electrophoretic patterns and the viscoelastic properties of *T. Durum* Desf. gluten as an aid in breeding. *C.R. Hebd Acad. Sci. Ser. D.*, 287, 701-704.
- Damidaux, R., Autran, J.C. ve Feillet, P., 1980. Gliadin electrophoregrams and measurements of gluten viscoelasticity in durum wheats. *Cereal Foods World*, 25, 754-756.
- Davies, J., Berzonsky, W.A. ve Leach, G.D., 2006. A comparison of marker-assisted and phenotypic selection for high grain protein content in spring wheat. *Euphytica*, 152 (1), 117-134.
- De Angelis, M., Minervini, F., Caputo, L., Cassone, A., Coda, R., Calasso, M.P., Divella, F. ve Gobetti, M., 2008. Proteomic analysis by two-dimensional gel electrophoresis and starch characterization of *Triticum turgidum* L. var. *durum* cultivars for pasta making. *Journal Agric Food Chem.*, 56 (18), 8619-8628.
- Dede, B., 2007. Mikrosatelit DNA belirleyicileri kullanılarak yerel ekmeklik buğday çeşitlerinin tanımlanması (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Dejan, D., Miroslav, Z., Nevena, M., Radomirka, N. ve and Gordana, S., 2008. Tissue culture and agronomic traits relationship in wheat. *Springer Netherlands*, 95 (1), 107-114.
- Dekkers, J.C.M., 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *J. Anim. Sci.*, 82 p.
- Delporte, F., Mostade, O. ve Jacquemin, J.M., 2001. Plant regeneration through callus initiation from thin mature embryo fragments of wheat. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 67, 73-80.
- Demir, İ., Bilgen, G., Altınbaş, M., Çelik, N. ve Abdel-Al, S.M., 1987. İleri buğday varyetelerinin agronomik ve kalite karakterleri. Türkiye Tahıl Sempozyumu, s. 49-58, Bursa.
- Demir, İ., 1990. Genel Bitki Islahı. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 496, Bornova-İzmir.
- Devos, K.M. ve Gale, M.D., 1992. The Use of Random Amplified DNA Markers in Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 84, 567-572.
- Dexter, J.E. ve Matsuo, R.R., 1977. The influence of protein content on some durum wheat quality parameters. *Can. J. Plant Sci.*, 57, 717-727.
- Dexter, J.E. ve Marchylo, B.A., 2001. Recent trends in durum wheat milling and pasta processing: Impact on durum wheat quality requirements. Canadian Grain Commission, Grain Research Laboratory, 1404-303 Main, St., Winnipeg MB R3C 3G8, Canada.
- Dhaliwal, H.S., Sing, D. ve Sekhon, K.S., 1981. Relationship between yellow berry in durum and bread wheats and nitrogen fertilization of crop and protein content of grains. *J. Res. Punjab Agriculture Uni.*, 18, 351-358.

- Dong, Y., Zhao, X., Wang, J., Yuan, G. ve Zhang, X., 2007. Improvement for Agronomic Traits of Partial Waxy Wheat by Combination of Backcrossing with a PCR-based DNA Marker. *Journal of Genetics and Genomics*, 34 (9), 836-841.
- Doust, M.A., Pecetti, L., Lombardo, G.M. ve Boggini, G., 1996. Caratterizzazione di genotipi di *Triticum durum* Desf. di elevata capacità produttiva in ambienti semi-aridi. *Sem. El.*, 42 (1), 7-10.
- Doyle, J.J ve Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Du Cros, D.L., Wringley, W.C. ve Hare, A.R., 1982. Prediction of Durum Wheat Quality from Gliadin Protein Composition. *Aust. J. Agric. Res.*, 33, 429-442.
- Du Cros, D.L. ve Hare, R.A., 1983. Genetics of protein associated with quality in durum wheat. *Proc. 6th Wheat Genet. Symp. Japan.*, 857-861 p.
- Dubcovsky, J., 2004. Marker-Assisted Selection in Public Breeding Programs. The Wheat Experience. *Crop Science*, 44, 1895-1898.
- Durutan, N. ve Karaca, M., 1987. Orta Anadolu'da tahıl yetiştirme tekniği uygulamaları. *Hububat Tohumculuğu Sempozyumu*, Ankara.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., 1987. Araştırma ve Deneme Metotları. *Ders Kitabı*. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara.
- Dziki, D. ve Laskowski, J., 2005. Wheat kernel physical properties and milling process. *Acta Agrophysica*, 6, 59-71.
- Edwards, N.M., Gianibelli, M.C., McCaig, T.N., Clarke, J.M., Ames, N.P., Larroque, O.R. ve Dexter, J.E., 2007. Relationships between dough strength, polymeric protein quantity and composition for diverse durum wheat genotypes. *Journal of Cereal Science*, 45, 140-149.
- Ekingen, H.R., 1992. Bitki Islahı. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notları. No: 31, s. 75, Bursa.
- El-Haramein, F.J., Impiglia, A. ve Nachit, M.M., 1998. Recent Application of Near-Infrared Spectroscopy to Evaluate Durum Wheat Grain Quality. *Sewen Durum Reseach Network*, 329-333 p., Paris.
- Elgün, A. ve Ertugay, Z., 1995. Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M. ve Kotancılar, H.G., 2002. Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu (3. baskı). Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 335, Erzurum.
- Eser, V., Atlı, A. ve Akçin, A., 1993. Makarnalık buğdayda bazı kalite kriterlerinin diallel analiz yöntemi ile incelenmesi. *Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu*, Ankara.
- Eser, V., 1996. Makarnalık buğdayda (*Triticum durum* Desf.) bazı kalite özelliklerinin ve gliadin bant yapılarının diallel analiz metodu ile araştırılması (Doktora Tezi). Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Konya.
- Eserkaya Güleç, T., 2010. Yerel makarnalık buğday çeşitlerinin makarna kalitesini etkileyen  $\gamma$ -gliadin genleri bakımından moleküler ve biyokimyasal analizleri (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Ev, O., 2006. Konya Koşullarında Bazı Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinde Azotlu Gübrelemenin Verim ve Kalite Üzerine Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.

- Fares, C., Novembre, G., Di Fonzo, N., Galterio, G. ve Pogna, N.E., 1997. Relationship between storage protein composition and gluten quality in breeding lines of durum wheat (*Triticum turgidum* spp. *durum*). *Agriculture Mediterranea*, 127, 137-144.
- Feillet, R., Ait-Mouh, O., Kobrehel, K. ve Autran, J.C., 1989. The role of low molecular weight glutenin proteins in the determination of cooking quality of pasta products: An overview. *Cereal Chemistry*, 66, 26-30.
- Feillet, P., Autran, J.C. ve Verniere, C.I., 2000. Pasta brownness: An assessment. *J. Cereal Science*, 32, 215-233.
- Felfodi, K. ve Purnhauser, L., 1992. Induction of regenerating callus cultures from immature embryos of 44 wheat and 3 Triticale cultivar. *Cereal Res. Commun.*, 20, 272-277.
- Feng, Y. ve McDonald, C.E., 1989. Comparison of flavonoids in bran of four classes of wheat. *Cereal Chemistry*, 66, 516-518.
- Fernandez, S., Michaux-Ferriere, N. ve Coumans, M., 1999. The embryogenic response of immature embryo cultures of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): Histology and improvement by AgNO<sub>3</sub>. *Plant Growth Regulation*, 28, 147-155.
- Fortmann, K.L. ve Joiner, R.R., 1978. Wheat pigments and flour color. *Wheat Chemistry and Technology* (2<sup>nd</sup> ed.), Ed: Pomeranz, Y. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 493-523.
- Fraignier, M.P., Michaux-Ferriere, N. ve Kobrehel, K., 2000. Distribution of peroxidases in durum wheat (*Triticum durum*). *Cereal Chemistry*, 77, 11-17.
- Francia, E., Tacconi, G., Crosatti, C., Barabaschi, D., Bulgarelli, D., Dall'Aglio, E. ve Valè, G., 2005. Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82, 317-342.
- Frisch, M. ve Melchinger, A.E., 2005. Selection theory for marker-assisted backcrossing. *Genetics*, 170 (2), 909-917.
- Gale, M.D., Atkinson, M.D., Chinoy, C.N., Harcourt, R.L., Jia, J., Li, Q.Y. ve Devos, K.M., 1995. Genetic Maps of Hexaploid Wheat Proceedings of the 8th International Wheat Genetics Symposium, 1, 29-40, Beijing, China.
- Galova, Z., Michalik, I., Knoblochova, H. ve Gregova, E., 2002. Variation in HMW glutenin subunits of different species of wheat. *Rostl. Vyr.*, 48, 15-19.
- Garg, M., Sukhwinder, S., Baldev, S., Kuldeep, S., Dhaliwal, H.S., Singh, S., Singh, B. ve Singh, K., 2001. Estimates of genetic similarities and DNA fingerprinting of wheat (*Triticum species*) and triticale cultivars using molecular markers. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 71, 438-443.
- Gianibelli, M.C., Lagudah, E.S., Wrigley, C.W. ve MacRitchie, F., 2002. Biochemical and genetic characterization of a monomeric storage protein (*T1*) with an unusually high molecular weight in *Triticum tauschii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 497-504.
- Gökmen, S., Ateş, Ö., 2005. AB Sürecinde Türkiye'de Tahıl Üretimi ve Politikaları. *Demokrasi Platformu*, 3, 175-197.
- Gregova, E., Kraic, J. ve Zak, I., 1995. Biochemicke a mor-fologicke technikyv identifikacii odrod rastlin. 11-14, UKSUP, Bratislava.
- Gricnac, P., 1970. Amelioration de la qualite des varieties de ble dur. *Ann. Amelior. Plantes*, 20, 159-188.
- Guinea, G.V., Rojo, F.J. ve Elices, M., 2004. Brittle failure of dry spaghetti. *Engineering Failure Analysis*, 11, 705-714.



- Gupta, R.B., Paul, J.G., Cornish, G.B., Palmer, G.A., Bekes, F. ve Rathjen, A.J., 1994. Allelic variation at glutenin subunits and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1* of common wheats. Its additive and interaction effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 19, 9-17.
- Gupta, P.K. ve Varshney, R.K., 2000. The Development and Use of Microsatellite Markers for Genetic Analysis and Plant Breeding with Special Emphasis on Bread Wheat. *Euphytica*, 113, 163-185.
- Güler, S., Köksel, H. ve Ng, P.K.W., 2002. Effects of industrial pasta drying temperatures on starch properties and pasta quality. *Food Research International*, 35, 421-427.
- Gündüz, R., 2008. Mikrosatelit Belirleyicileri Kullanılarak Tokak Yerel Arpa Çeşidindeki Genetik Varyasyon Düzeyinin Belirlenmesi ve Safhatların Seçimi (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Güzel, N., Ortaş, Y., Mavi, H. ve Yıldız, Y., 1988. Balcalı-85 ile Genç-88 buğday çeşitlerinin azot ve fosforlu gübre uygulamalarına karşı tepkimesi. Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu 1. Bilim Kongresi Bildirileri, 1, 161-171.
- Haliloğlu, K., Ozturk, A., Tosun, M. ve Bulut, S., 2005. Relationship between tissue culture and agronomic traits of winter wheat. *Cereal Res. Commun.*, 33, 469-476.
- Hamada, H., Petrino, M.G. ve Kakunaga, T., 1982. A Novel Repeated Element with Z-DNA-Forming Potential is Widely Found Evolutionary Diverse Eucaryotic Genomes. *Proceedings of National Academy of Science*, 79, 6465-6469, USA.
- Hayden, M.J., Stephenson, P., Logojan, A.M., Khatkar, D., Rogers, C., Elsdon, J., Koebner, R.M.D., Snape, J.W. ve Sharp, P.J., 2006. Development and genetic mapping of sequence-tagged microsatellites (STMs) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Apply Genet.*, 105, 413-422.
- Holton, T.A., 2001. Plant Genotyping by Analysis of Microsatellites. *Plant Genotyping The DNA Fingerprinting of Plants*. CAB International.
- Hou, B., Yu, H. ve Teng, S., 1997. Effects of low temperature on induction and differentiation of wheat calluses. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 49, 35-38.
- Hoseney, R.C., 1994. *Principles of Cereal Science and Technology* (2<sup>nd</sup> ed.). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Hospital F., 2005. Selection in backcross programmes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 29 (360), 1503-1511.
- Hua, W., Liu, Z., Zhu, J., Xie, C., Yang, T., Zhou, Y., Duan, X., Sun, Q. ve Liu, Z., 2009. Identification and genetic mapping of *pm42*, a new recessive wheat powdery mildew resistance gene derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*). *Theor Appl Genet.*, 119 (2), 223-230.
- Huang, X.Q., Wang, L.X., Xu, M.X. ve Röder, M.S., 2003. Microsatellite mapping of the powdery mildew resistance gene *Pm5e* in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl. Genet.*, 106, 858-865.
- Impiglia, A., Nachit, M.M., Lafiandra, D. ve Porceddu, E., 1995. Effect of gliadin and glutenin components on gluten strength in durum wheat. In: Di Fonzo N., Kaan, F., Nachit, M. (eds.). *Proceedings of the seminar on "Durum wheat improvement in the Mediterranean region"*. CIHEAM/ICARDA/CIMMYT, 22, 167-172. Zaragoza, Spain.

- Iori, R., Cavaliere, B. ve Palmieri, S., 1995. Cathodic peroxidases of durum wheat flour. *Cereal Chemistry*, 72, 176-181.
- Kaan, F., Chihab, B., Borries, C., Monneveux, P. ve Branlard, G., 1995. Prebreeding and breeding durum wheat germplasm (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) for quality products. In: Di Fonzo N., Kaan, F., Nachit, M. (eds.). Proceedings of the seminar on "Durum wheat improvement in the Mediterranean region". CIHEAM/ICARDA/CIMMYT, 22, 159-166. Zaragoza, Spain
- Kanbertay, M., 1984. Dört makarnalık buğday melezinde dönme ve diğer bazı tarımsal özelliklerin kalıtımı üzerinde araştırmalar. s. 86, İzmir.
- Kanbertay, M., 1994. Ege ve Akdeniz Salih Kesiminde Üretilen Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Verim ve Kalitesi Yönünden Test Edilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Bursa.
- Kandemir, N., Yıldırım, A., Gündüz, R., 2010. Determining the levels of genetic variation using SSR markers in three Turkish barley materials known as Tokak. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 34, 17-23.
- Kandemir, N., Yıldırım, A., Kudrna, D.A., Hayes, P.M. ve Kleinhofs, A., 2004. Marker assisted genetic analysis of non-brittle rachis trait in barley. *Hereditas* 141 (3), 272-277.
- Keskin, S., Asal, S. ve Kavuncu, O., 1999. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Ekmeklik Buğday Çeşit ve Melezlerinde Gliadin Bant Desenleri ve Genetik Analizi. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23, 291-298.
- Khan, K., Hamada, A.S. ve Patek, J., 1985. Polyacrylamide gel electrophoresis for wheat variety identification: Effect of variables on gel properties. *Cereal Chemistry*, 62, 310-313.
- Koçak, N., Atlı, A., Karababa, E. ve Tuncer, T., 1992. Macar-Yugoslav (MAYEP) Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Kalite Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1, Ankara.
- Kolmer, J.A., 1996. Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu. Rev. Phytopathol*, 34, 435-455.
- Korzun, V., Röder, M.S., Wendehake, K., Pasqualone, A., Lotti, C., Ganal, M.W. ve Blanco A., 1999. Integration of dinucleotide microsatellites from hexaploid bread wheat into a genetic linkage map of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 1202-1207.
- Kosmolak, F.G., Dexter, J.E., Matsuo, R.R., Leisle, D. ve Marychylo, B.A., 1980. A relationship between durum wheat quality and gliadin electrophoregrams. *Can. J. Plant Sci.*, 60, 427-432.
- Kovacs, M.I.P., Dahlke, G. ve Noll, J.S., 1994. Gluten viscoelasticity: Its usefulness in the Canadian durum wheat breeding program. *Journal of Cereal Science*, 19, 251-257.
- Kovacs M.I.P., Howes N.K., Leslie D. ve Zawistowski, J., 1995. Effect of two low molecular weight glutenin subunits on durum wheat pasta quality parameters. *Cereal Chemistry*, 72, 85-87.
- Kovacs, M.I.P., Poste, L.M., Butler, G., Woods, S.M., Leisle, D., Noll, J.S. ve Dahlke, G., 1997. Durum Wheat Quality: Comparison of Chemical and Rheological Screening Tests with Sensory Analysis. *Journal of Cereal Science*, 25, 65-75.
- Koyuncu, M., 2009. Yerel durum buğday çeşitlerinin makarnalık kalitelerini etkileyen önemli parametreler bakımından taranması (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat.

- Köksel, H., Sivri, D., Özboy, Ö., Başman, A. ve Karacan, H., 2000. Hububat Laboratuvarı El Kitabı. Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Ankara.
- Kuchel, H., Fox, R., Reinheimer, J., Mosionek, L., Willey, N., Bariana, H. ve Jefferies, S., 2007. The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. *Molecular Breeding*, 20 (4), 295-308.
- Kumar, K., 1995. *An Induction to Plant Tissue Culture*. New Central Book Agency Ltd, India.
- Kurt, O., 2004. Bitki Islahı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı, No: 43, s. 270, Samsun.
- Kün, E., 1983. Serin İklim Tahılları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı, No: 240, s. 73, Ankara.
- Lafiandra, D., Kasarda, D.D. ve Morris, R., 1984. Chromosomal assignment of gene coding for the wheat gliadin protein components of the cultivar Cheyenne and Chinese Spring by two dimensional electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics*, 68, 531-539.
- Laignelet, B., Kobrehel, K. ve Feillet, P., 1972. Le problème de la coloration des pâtes alimentaires. *Ind. Agric. Aliment.*, 89, 413-417.
- Laignelet, B., 1983. Lipids in pasta and pasta processing. *Lipids in Cereal Technology*, Ed: Barnes, Y., Academic Press, London, 269-286.
- Lammerts, W.E., 1942. Embryo Culture an Effective Technique for Shortening the Breeding Cycle of Deciduous Trees and Increasing Germination of Hybrid Seed. *American Journal of Botany*, 29 (2), 166-171.
- Lerner, S.E., Cogliatti, M., Ponzio, N.R., Seghezze, M.L., Molfese E.R. ve Rogers, W.J., 2004. Genetic variation for grain protein composition and industrial quality of durum wheat cultivars sown in Argentina, *Journal of Cereal Science*, 40, 161-166.
- Li, G., Fang, T., Zhang, H., Xie, C., Li, H., Yang, T., Nevo, E., Fahima, T., Sun, Q. ve Liu, Z., 2009. Molecular identification of a new powdery mildew resistance gene *Pm41* on chromosome 3BL derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*). *Theor Appl Genet.*, 119 (3), 531-539.
- Litt, M. ve Luty, J.A., 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in-vitro amplification of a dinucleotide & repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44, 397-401.
- Lowe, A.J., Hinotte, O. ve Guarino, L., 1996. Standardization of Molecular Genetic Techniques for The Characterization of Germplasm Collections: The Case of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107, 50-54.
- Luo, P.G., Luo, H.Y., Chang, Z.J., Zhang, H.Y., Zhang, M. ve Ren, Z.L., 2009. Characterization and chromosomal location of *Pm40* in common wheat: a new gene for resistance to powdery mildew derived from *Elytrigia intermedium*. *Theor Appl Genet.*, 118 (6), 1059-1064.
- Marchylo, B.A. ve Schlichting, L.M., 2008. Durum Wheat Quality Evaluation to Meet Customer Requirements. *International Durum Wheat Symposium. From Seed to Pasta: The Durum Wheat Chain*. 73 p., Bologna, Italy.
- Masci, S., D'Ovidio, R., Lafiandra, D. ve Kasarda, D.D., 2000. A 1B-coded low-molecular-weight glutenin subunit associated with quality in durum wheats shows strong similarity to a subunit present in some bread wheat cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 396-400.

- Matsuo, R.R., Bradley, J.W. ve Irvine, G.M., 1970. Studies on pigment destruction during spaghetti processing. *Cereal Chem.*, 47, 1-5.
- Matsuo, R.R. ve Dexter, J.E., 1980. Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Can. Journal Plant Science*, 60, 49-53.
- Menderis, M., 2006. Güneydoğu Anadolu bölgesi koşullarında geliştirilen bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) hatları ile yetiştirilen bazı buğday çeşitlerinin kalite özelliklerinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Harran Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- Metin, K., 2007. Protein Analiz Teknikleri. *Moleküler Biyoloji Kitabı*, 15. Bölüm, Nobel Yayın No: 1170, s. 577-582.
- Mızrak, G. ve Atlı, A., 1987. Un ve irmik sanayinde hammadde sorunları. *Türkiye 1. Un ve İrmik Sanayi Sempozyumu*, Ankara.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T.G., Yano, M., Bhatia, C.R. ve Sasaki, T., 1997. Genome mapping, moleküler markers and marker-assisted selection in crop plants. *Mol. Breed.*, 3, 87-103.
- Mohd, S., Alam, Z., Zahir, A., Waqar, A., Taufiq, A. ve Ikhtiar, K., 2007. Characterization of wheat varieties by seed storage protein electrophoresis. *African Journal of Biotechnology*, 6 (5), 497-500.
- Morris, S.R., 2004. Grain: Quality attributes. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, C. et al., Elsevier Ltd., 238-254, Amsterdam.
- Muccilli, V., Cunsolo, V., Saletti, R., Foti, S., Margiotta, B., Scossa, F., Masci, S. ve Lafiandra, D., 2010. Characterisation of a specific class of typical low molecular weight glutenin subunits of durum wheat by a proteomic approach. *Journal of Cereal Science*, 51 (1), 134-139.
- Nachit, M.M., Baum, M., Impiglia, A. ve Ketata, H., 1995. Studies on some grain quality traits in durum wheat grown in Mediterranean environments. *Durum Wheat Quality in the Mediterranean Region*, Eds: DiFonzo, N. ve ark., CIHEAM-IAMZ. 22, 181-187, Zaragoza, Spain.
- Nachit, M.M., Elouafi, I., Pagnotta, A., El Saleh, A., Lacono, E., Labhilili, M., Asbati, A., Azrak, M., Hazzam, H., Benscher, D., Khairallah, M., Ribaut, J-M., Tanzarella, O.A., Porceddu, E. ve Sorrells, M.E., 2001. Molecular linkage map for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 177-186.
- Naghavi, M.R., Rashidi Monfared, S., Ahkami, A.H. ve Ombidbakhsh, M.A., 2009. Genetic Variation of Durum Wheat Landraces and Cultivars Using Morphological and Protein Markers. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 49, 73-75.
- Nieto-Taladriz, M.T., Ruitz, M., Martinez, M.C., Vaz-quez, J.F. ve Carrillo, J.M., 1997. Variation and classification of B low-molecular-weight subunit alleles in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 1155-1160.
- Oak, M.D, Tamhankar, S.A., Rao, V.S. ve Bhosale, S.B., 2004. Relationship of HMW, LMW glutenin subunits and  $\gamma$ -gliadins with gluten strength in Indian durum wheats. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13 (1), 51-55.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001. *Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, Konya.

- Özgen, M., Türet, M., Özcan, S. ve Sancak, C., 1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. *Plant Breeding*, 115, 455-458.
- Özgen, M., Türet, M., Altınok, S. ve Sancak, C. 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Plant Cell Rep.*, 18, 331-335.
- Özseven, I., 1995. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde azotun verim ve verim öğelerine etkisi (Yüksek lisans tezi). Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Bursa.
- Parmaksız, İ., 2004. Papaver Cinsi *Oxytona* Seksiyonunun Türkiye’de Yetişen Türlerinde Genetik Çeşitliliğin RAPD Markörleri ile Analizi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Payne, P.I., Holt, L.M., Lawrence, G.J. ve Law, C.N., 1982. The genetic of gliadin and glutenin - The major storage proteins of the wheat endosperm. *Plant Foods for Human Nutrition*, 31, 229-241.
- Payne, P.I., Jackson, E.A. ve Holt, L.M., 1984. The association between gamma gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties: A direct causal effect or the result of genetic linkage. *Journal of Cereal Sci.*, 2, 73-81.
- Pena, R.J., 2000. Durum wheat for pasta and bread-making: Comparison of methods used in breeding to determine gluten quality-related parameters. *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges*, Eds: Royo, C. CIHEAM-IAMZ (No. 40), 423-430, Zaragoza, Spain.
- Pogna, N.E., Autran, J.C., Mellini, F., Lafiandra, D. ve Feillet, P., 1990. Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: Genetics and relationship to gluten strength. *Journal of Cereal Science*, 11, 15-34.
- Porceddu, E., Pacucci, G., Perrino, P., Gatta, C.D. ve Maellaro, I. 1973. Protein content and seed characteristics in populations of *Triticum durum* grown at three different locations. *Proc. of the Symp. on Genetics and Breeding Durum Wheat*, Univ, di Bari, 14-18 p., Maggio.
- Porceddu, E., 1995. Durum wheat quality in the Mediterranean countries. In: Di Fonzo N., Kaan, F., Nachit, M. (eds.). *Proceedings of the seminar on “Durum wheat improvement in the Mediterranean region”*. CIHEAM/ICARDA/CIMMYT, 22, 11-21. Zaragoza, Spain.
- Porceddu, E., Turchetta, T., Masci, S., D’Ovidio, R., Lafiandra, D., Kasarda, D.D., Impiglia, A. ve Nachit, M.M., 1998. Variation in endosperm protein composition and technological quality properties in durum wheat. *Euphytica*, 100, 197-205.
- Raciti, C.N., Doust, M.A., Lombardo, G.M., Boggini, G. ve Pecetti, L., 2003. Characterization of durum wheat mediterranean germplasm for high and low molecular weight glutenin subunits in relation with quality. *European Journal of Agronomy*, 19 (3), 373-382.
- Rafalski, A., Morgante, M., Powell, W., Vogel, J.M. ve Tingey, S.V., 1996. Generating and Using DNA Markers in Plants. In: Birren B., Lai E. (Eds.): *Analysis of Non-Mammalian Genomes - A Practical Guide*. Academic Pres., New York.

- Rani, K.U., Prasada-Rao, U.J.S., Leelavathi, K. ve Haridas-Rao, P., 2001. Distribution of enzymes in wheat flour mill streams. *Journal of Cereal Science*, 34, 233-242.
- Röder, M.S., Plaschke, P., König, S.U., Börner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D. ve Ganai, M.W., 1995. Abundance, Variability and Chromosomal Location of Microsatellites in Wheat. *Molecular Gen Genetics*, 246, 327-333.
- Ruitz, M. ve Carrillo, J.M., 1995. Separate effects on gluten strength of Gli-1 and Glu3. prolamine genes on chromosomes 1A and 1B in durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 21, 137-144.
- Sade, B., 1999. Tahıl Islahı (Buğday ve Mısır). Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 31, s. 35, Konya.
- Saghai, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. ve Allard, R.W., 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proceedings Naturel Academi Science USA*, 91, 5466-5470.
- Salvo-Garrido, H., Soto, C.B., Parra, G.L., Jobet, F.C., Espinoza, N.N., Ortiz, M.C., Rupayan, R.A. ve Andrade, P.P., 2008. Marker-Assisted Selection and Graphical Genotyping. A Strategy to Introgress Imidazolinone Resistance Genes into Elite Cultivars. *International Durum Wheat Symposium. From Seed to Pasta: The Durum Wheat Chain*. 45 p., Bologna, Italy.
- Sayaslan, A., 2005. Sağlıklı Beslenme Açısından Gıdaların Glisemik İndeksi. *Dünya Gıda*, 10, 84-91.
- Schmierer, D.A., Kandemir, N., Kudrna, D.A., Jones, B.L., Ullrich, S.E. ve Kleinhofs, A., 2004. Moleküler marker-assisted selection for enhanced yield in malting barley. *Mol. Breed.*, 14, 463-473.
- Sears, R.G. ve Deckard, E.L., 1982. Tissue culture variability in wheat: callus induction and plant regeneration. *Crop Science*, 22, 546-550.
- Sharma, D.R., Kaur, R. ve Kumar, K., 1996. Embryo rescue in plants - a review. *Euphytica*, 89, 325-337.
- Shu, S.G. ve Wang, T., 2006. Developing waxy wheat with backcrossing approach and molecular marker-assisted selection. *Hereditas (Beijing)*, 28, 563-570.
- Singh, N.K., Shepherd, K.W. ve Cornish, G.B., 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14, 203-208.
- Sipahi, H., 2004. Türkiye’de tescili yapılan arpa çeşitlerinin hordein elektroforegramlarının belirlenmesi ve bunların malt kalitesi ile ilişkisinin saptanması (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Sissons, M., 2004. Pasta. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, C. Elsevier Ltd., 410-418, Amsterdam.
- Sissons, M.J., Ames, N.P., Hare, R.A. ve Clarke, J.M., 2005. Relationship between glutenin subunit composition and gluten strength measurements in durum wheat. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 85, 2445-2452.
- Sofalian, O. ve Valizadeh, M., 2009. Investigation of Seed Storage Proteins in some Wild Wheat Progenitors Using SDS-Page and Acid-Page. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*, 37(1), 179-182.
- Somers, D.J., Isaac, P. ve Edwards, K., 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1105-1114.

- Sorrells, M.E., Barbosa, J., Nachit, M.M., Ketata, H. ve Autrique, E., 1995. Relationships among 81 durum genotypes based on RFLPs, gliadins, parantage and quality traits. *Options Mediterraneens*, 22, 249-262.
- Soylu, S., 1998. Orta Anadolu Şartlarında Makarnalık Buğday Islahında Kullanılabilecek Uygun Ebeveyn ve Melezlerin Çoklu Dizi (Line x Tester) Yöntemi ile Belirlenmesi (Doktora Tezi). Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Konya.
- Starovicova, M., Galova, Z. ve Knoblochovatarovicova, H., 2003. Identification of Glutenin Markers in Cultivars of three Wheat Species. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 39 (2), 1-57.
- Stuber, C.W., 1994. Success in the use of molecular markers for yield enhancement in corn. *Proc. 49th Annual Corn and Sorghum Industry Res.Conf. American Seed Trade Assoc.*, 49, 232-238.
- Şahin, M., Akçura, M., Göçmen Akçacık, A. ve Aydoğan, S., 2006. Makarnalık buğday ıslahında renk spektrofotometresi ile ölçülen parametrelerin değerlendirilmesi. *Bitkisel Araştırma Dergisi*, 2, 17-21.
- Taha, S.A. ve Sagi, F., 1987. Relationship between chemical composition of durum wheat semolina and macaroni quality. II. Ash, carotenoid pigments and oxidative enzymes. *Cereal Research Communications*, 15, 123-129.
- Talbert, T.E., Blake, N.K., Chee, P.W., Blake, T.K. ve Magyar, G.M., 1994. Evaluation of Sequence-Tagged-Site PCR Products As Molecular Markers in Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 87, 789-794.
- Tautz, D., Trice, M. ve Dover, G.A., 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature*, 322, 652-656.
- Temizkan, G. ve Arda, N., 2004. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Bölüm 7. Proteinlerin İzolasyonu, Analizi ve Saflaştırılması.s. 204.
- Troccoli, A., Borrelli, G.M., De Vita, P., Fares, C. ve Di Fonzo, N., 2000. Durum wheat quality: A multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science*, 32, 99-113.
- Turnbull, K.M. ve Rahman S., 2002. Endosperm texture in wheat. *Journal of Cereal Science*, 36, 327-337.
- Ünal, S.S., 1991. Hububat Teknolojisi. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi. Yayın No: 29, s. 216, Bornova, İzmir.
- Ünal, S.S., 2009. Buğdayda Kalite. Buğday Tarımı, Üretimi ve Yetiştiriciliği. <http://www.bahce.biz/bitki/tarla/tahil/buğday.htm>.
- Varshney, A. ve Altpeter, F., 2002. Stable transformation and tissue culture response in current European winter wheats (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*, 8, 295-309.
- Veraverbeke, W.S. ve Delcour, J.A., 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42, 179-208.
- Visscher, P.M., Haley, C.S. ve Thompson, R., 1996. Marker-assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics*, 144 (4), 1923-1932.
- Von Büren, M., Lüthy, J. ve Hübner, P., 2000. Aspelt-specific y-gliadin gene: discovery and detection. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 271-279.
- Vos, P., Hogers, M., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Pelemen, J., Kuiper, M. ve Zabeau, M., 1995. AFLP; A New Technique for DNA Fingerprinting . *Nucleic Acid Research*, 23, 4407-4414.

- Watson, B., 2008. Use of Marker Assisted Selection for the Introgression of Quality Traits from Australian into Chinese Wheats. University of Southern Queensland. Master of Science thesis (PhD).
- Weber, J.L., 1980. The informativeness of human (DC-DA) N(DG-DT)N polymorphism. *Genomics*, 7, 524-539.
- Welsh, J. ve McClelland, M., 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Research*, 18, 7313-7318.
- Whitaker, J.R. ve Lee, C.Y., 1995. An overview - Recent advances in chemistry of enzymatic browning. *Enzymatic Browning and Its Prevention*, Eds: Lee, C.Y. and Whitaker, J.R.. American Chemical Society, 2-7 p., Washington.
- Williams, P., 1998. Applications of the Perten SKCS 4100 in flour milling. Association of Operative Millers (AOM) 10. Annual Conference and Exposition, Nairobi, Kenya.
- Wu, B.H., Zheng, Y.L., Liu, D.C. ve Zhou, Y.H., 2003. Trait correlation of immature embryo culture in bread wheat. *Plant Breeding*, 122 (1), 47-51.
- Yazar, S. ve Karadoğan, T., 2008. Bazı Makarnalık Buğday Genotiplerinin Orta Anadolu Bölgesinin Taban ve Kıraç Arazi Kosullarında Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 3 (2), 32-41.
- Yeyinli, N., 2006. Makarna kalitesinin belirlenmesinde tekstürel yöntemlerin kullanılabilirliği (Yüksek Lisans Tezi). Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa.
- Yeyinli, N. ve Köse, E., 2006. Makarnada Kaliteyi Belirlemede Kullanılan Yöntemler. Türkiye 9. Gıda Kongresi, s. 747, Bolu.
- Yıldırım, A., 1999. Genetik Haritaların Tahıl Islahındaki Önemi ve Kullanımı. Hububat Sempozyumu, 8-11 Haziran 1999, 133-142, Konya.
- Yıldırım, A., 2005. Molecular marker facilitated pyramiding of resistance genes for fungal diseases of wheat. Workshop on Genomics and Marker Assisted Selection (MAS) in Plant Breeding. 3-7 Ekim 2005 (Sunulu Bildiri), İzmir.
- Yıldırım, A., 2008. Bitki Islahında Markörler Yardımıyla Seleksiyon. (googlepages.com/AY-Markörler Yardımıyla Seleksiyon.pdf.).
- Yıldırım, A., Ateş Sönmezoğlu, Ö., Eserkaya, T., Kandemir, N. ve Sayaslan, A., 2009. Makarnalık Buğdayda Modern Teknolojik Yöntemlerle Hızlandırılmış Kalite Islahı. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi (Sunulu Bildiri), Hatay.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metotları. Bitki Biyoteknolojisi II, Bölüm 23, 334-363, Konya.
- Yıldırım, A., Karadağ, Y., Sakin, M.A., Gökmen, S., Kandemir, N., Akkaya, M.S. ve Yıldırım, F., 2004. Transfer of stripe rust resistance gene *Yr26* to Turkish wheats using microsatellite markers. *Cereal Research Communications*, 32 (1), 25-30.
- Yüksel, F., 2009. Bazı Makarnalık Buğday İleri Islah Hatlarının Kalite Özellikleri ve Stabilitate Yetenekleri (Yüksek Lisans Tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat.
- Yürür, N., Turan, Z.M. ve Çakmakçı, S., 1987. Bazı Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Bursa Koşullarında Verim ve Adaptasyon Yeteneği Üzerine Araştırmalar. Türkiye Tahıl Sempozyumu, Bursa.
- Yürür, N., 1994. Serin İklim Tahılları. Tahıllar I. Uludağ Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 7-035-0295. s. 67-69, Bursa.



- Zamani, M.J., Bihamta, M.R., Naserian, B., Hallajian, M.T. ve Shu, Q.Y., 2009. Selection of Wheat Mutant Genotypes Carrying HMW Glutenin Alleles Related to Baking Quality by Using PCR (STS method). *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 436-438, Rome.
- Zeleny, L., 1971. Criteria of Wheat Quality. *Wheat Chemistry and Technology*, 2nd ed. by Y. Pomeranz. American Association of Cereal Chemistry, Inc. St. Paul, 26 p., Minnesota.
- Zillman, R.R. ve Bushuk, W., 1979. Wheat cultivar identification by gliadin electrophorograms. 2: Effect of environmental and experimental factors on the gliadin electrophoregram. *Can. Journal Plant Science*, 59, 281-286.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU  
Doğum Tarihi / Yeri : 30.07.1980 / Ordu  
Medeni Hali : Evli, bir çocuk annesi  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-mail : ozlemates@gop.edu.tr  
ozlemsonmezoglu1@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Yıl
Doktora	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı	2006-2010
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı	2003-2006
Lisans	Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı	1998-2002
Lise	Ankara Atatürk Anadolu Öğretmen Lisesi	1994-1998

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Yıl
Arş.Gör.	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı	2003-2010

## YAYINLAR

### Uluslararası SCI dergilerinde yayınlanan makaleler

Yıldırım, A., Kandemir, N., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.** and Güleç, T.E., **2009.** Transferability of Microsatellite Markers Among Cool Season Cereals. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 23 (3): 1299-1302.

S. Sönmezoğlu, **Ö. Ateş Sönmezoğlu,** G. Çankaya, A. Yıldırım, N. Serin, **2010.** Electrical characteristics of DNA-based Metal-Insulator-Semiconductors Structures. *Journal of Applied Physics*. 107 (12): 1-6.

### Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

**Özlem Ateş Sönmezoğlu,** Tuğba Eserkaya Güleç, Ahmet Yıldırım, **2010.** *Tek Nükleotid Farklılıkları (SNP) ve Buğdayda Kullanımı. Turkish Journal of Scientific Reviews, (Basımda).*

Tuğba Eserkaya Güleç, **Özlem Ateş Sönmezoğlu,** Ahmet Yıldırım, **2010.** Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. *Turkish Journal of Scientific Reviews, (Basımda).*

Mehmet Ali Sakin, Ahmet Yıldırım, Abdulvahit Sayaslan, **Özlem Ateş Sönmezoğlu & Tuğba Eserkaya Güleç,** **2010.** Determining of Some Agricultural and Biochemical Characteristics in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) mutant lines. (Basımda).

### Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Gökmen, S. **Ateş, Ö.** **2005.** AB Sürecinde Türkiye’de Tahıl Üretimi ve Politikaları. *Demokrasi Platformu*, 3: 175-197.

Ahmet Yıldırım, Nejdet Kandemir, **Özlem Ateş Sönmezoğlu,** Tuğba Güleç, **2010.** Buğdayda Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Olası Sorunların Optimizasyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, Samsun, (Basımda).*

**Özlem Ateş Sönmezoğlu,** Tuğba Eserkaya Güleç, Ahmet Yıldırım, Nejdet Kandemir, **2010.** Markör Destekli Seleksiyonun Buğday Islahında Kullanımı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, (Basımda).*

Tuğba Eserkaya Güleç, **Özlem Ateş Sönmezoğlu,** Ahmet Yıldırım, **2010.** Makarnalık Buğdaylarda Kalite ve Kaliteyi Etkileyen Özellikler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, (Basımda).*

**Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler**

Yıldırım, A., Kandemir, N., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Dede, B., Eserkaya, T., **2007.** Genetic Variations Are Still Continuing Among and Within the Land Races of Wheat in Turkey. COST FA0604 Workshop in the 6th Plant Genomics European Meeting, 3-6 October 2007, Tenerife, Canary Islands, Spain (Sunulu Bildiri).

Kandemir, N., Yıldırım, A., Gündüz, R., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, **2008.** Perfecting a Barley Cultivar through Introgression of QTL for Agronomical and Quality Traits via Marker Assisted Selection. 10th International Barley Genetics Symposium, 6 Nisan, Mısır (Poster Bildiri).

Yıldırım, A., Sayaslan, A., Kandemir, N., Eserkaya, T., Koyuncu, M., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, **2008.** Screening of Turkish Durum Wheat Landraces for Gliadins and LMW-Glutensins. International Durum Wheat Symposium, 30 Haziran- 3 Temmuz. Bologna, İtalya.

Yıldırım, A., Sayaslan, A., Kandemir, N., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Eserkaya, T., Koyuncu, M., Telaşeli Karaca, Ö., **2008.** Characterizing Registered Durum Wheat Varieties of Turkey for Some Quality Characteristics and Pasta Cooking Quality Related QTLs. International Triticeae Mapping Initiative (ITMI) - COST Action Tritigen, 31 Ağustos - 4 Eylül. France.

Yıldırım, A., Sayaslan, A., Kandemir, N., Koyuncu, M., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, and Eserkaya, T., **2008.** Variation in Gliadin Composition of Turkish Durum Wheat Land Races. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Workshop TritiGen COST Action FA0604 - Triticeae Genomics for the Advancement of Essential European Crops, September 22-24,2008, p.45. Albena, Bulgaria (Poster Bildiri).

**Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler**

Ahmet Yıldırım, Nejdet Kandemir, Sabri Gökmen, **Özlem Ateş Sönmezoğlu**, Betül Dede, Rahime Gündüz, Tuğba Eserkaya, **2007.** Mikrosatellit DNA Belirleyicilerinin Yerel Buğday ve Arpa Çeşitlerinin Genetik Çeşitliliğinin Saptanmasında Kullanımı. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi. Erzurum. Sunulu Bildiri.

Yıldırım, A., Sayaslan, A., Kandemir, N., Eserkaya, T., Koyuncu, M., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, **2008.** Makarnalık Kalitesini Etkileyen Genlerin Türk Makarnalık Buğday Çeşitlerindeki Durumu. Ülkesel Tahıl Sempozyumu, 2-5 Haziran 2008. Konya. Sunulu Bildiri.

Kandemir, N., Yıldırım, A., Gündüz, R., Eserkaya, T., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, **2008.** TOKAK 157/37 Arpa Çeşidine Moleküler Markör Destekleme Geri Melezleme İle Yatmaya Dayanıklılık Özelliğinin Kazandırılması. Ülkesel Tahıl Sempozyumu, 2-5 Haziran 2008. Konya (Poster Bildiri).

Yıldırım, A., Kandemir, N., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Eserkaya, T., **2008.** Mikrosatelit Markörleri ve Türler Arası Kullanım Olanakları. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2008. Trabzon. Sunulu Bildiri.

Yıldırım, A., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Eserkaya, T., Kandemir, N., Sayaslan, A., **2009.** Makarnalık Buğdayda Modern Teknolojik Yöntemlerle Hızlandırılmış Kalite Islahı. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim 2009. Hatay. Sunulu Bildiri.

Yıldırım, A., Sayaslan, A., Kandemir, N., Eserkaya, T., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Koyuncu, M., **2009.** Bazı Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesini Etkileyen Genler ve Özellikler Açısından Karakterizasyonları. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim 2009. Hatay. Sunulu Bildiri.

Sakin, M.A., Yıldırım, A., Sayaslan, A., **Ateş Sönmezoğlu, Ö.**, Güleç, T., **2009.** Makarnalık Buğday (*Triticum durum* desf.) Mutant Hatlarında Bazı Tarımsal ve Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim 2009. Hatay. Sunulu Bildiri.

#### **Yurtiçinde Yayınlanan Kitaplarda Bölüm / Ünite Yazarlığı**

Genel Ekoloji Kitabı, **2007.** Nobel Yayın Dağıtım. Editör Prof. Dr. Sabri Gökmen. Bölüm 3: KARASAL EKOLOJİ. Bölüm Yazarları: Sabri Gökmen, Nerdin Kubanç, Cüneyt Kubanç, **Özlem Ateş Sönmezoğlu.** Nobel Yayın No: 1160, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi: 37. s. 37-162, Ankara.

#### **Projeler**

Mikrosatelit DNA Belirleyicileri Kullanılarak Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Genotiplerinin Tanımlanması, BAP, Proje No: 2004/..., **Araştırmacı**, 2004-2006.

Mikrosatelit DNA Belirleyicileri Kullanılarak Yerel Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Tanımlanması, TÜBİTAK Projesi, TOVAG-1040122, **Yardımcı Araştırmacı**, 2005-2007.

Türkiye’de Yetiştirilen Tescilli ve Yerel Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesini Etkileyen Genler Bakımından Taranması ve Kalite Islahı, TÜBİTAK Projesi, COST Programı -FA0604 Aksiyonu, **Yardımcı Araştırmacı**, 2007-2010.

Bazı Tescilli Türk Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesini Etkileyen Genler Bakımından Islahı, BAP, Proje No: 2008/43, **Araştırmacı**, 2008-2010.

**Sunduğu Lisansüstü Seminerler**

Genetik Markörler ve Kullanım Alanları. Yüksek Lisans Semineri, 2005.

*Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Optimizasyonu. I. Doktora semineri, 2008.*

*Tek Nükleotid Farklılıkları (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) ve Kullanım Alanları. II. Doktora semineri, 2009.*

**Katıldığı Bilimsel Faaliyetler**

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Bitki Biyoteknolojisinde Genomik ve Fonksiyonel Uygulamalar Kursu (BT-10-07). 04-07 Aralık, 2008, Ankara.

Ülkesel Tahıl Sempozyumu. 2-5 Haziran 2008, Konya.

19. Ulusal Biyoloji Kongresi. 23-27 Haziran 2008, Trabzon.

Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi. 19-22 Ekim 2009, Hatay.

**Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler: Biyoteknoloji Derneği****Ödüller:**

Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölüm Birinciliği (2002)

TÜBİTAK, Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) 2211 - Yurt İçi Doktora Bursu (2006 - 2010)