



**MAKARNALIK BUĞDAYDA *LPX-B1* GENİ BAKIMINDAN
MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TARANMASI**

Ramazan ÖZBEY

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Eylül – 2016

T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MAKARNALIK BUĞDAYDA *LPX-B1* GENİ BAKIMINDAN
MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TARANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ramazan ÖZBEY

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

KARAMAN- 2016

TEZ ONAYI

Ramazan ÖZBEY tarafından hazırlanan “Makarnalık Buğdayda *Lpx-B1* Geni Bakımından Melez Hatların Elde Edilmesi ve Taranması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR



İmza:

Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM



Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU



Tez Savunma Tarihi: 20.09.2016

Yukarıdaki Sonucu Onaylarım

Doç. Dr. Ahmet İPEK
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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.

Ramazan ÖZBEY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MAKARNALIK BUĞDAYDA *LPX-B1* GENİ BAKIMINDAN MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TARANMASI

Ramazan ÖZBEY

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Eylül, 2016, 65 Sayfa

Makarnalık buğdayının kalitesini belirleyen temel kriter makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Kaliteli bir makarnanın renginin parlak sarı olması istenmektedir. Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünlerin kalitesi tanenin protein miktarı ve kuvveti, sarı pigment içeriği ve lipoksijenaz (LOX) gibi sarı rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri ile doğrudan ilişkilidir. Renk kalitesi yüksek makarna üretebilmek için kullanılan durum buğdayının pigment içeriğinin yüksek, LOX enzim aktivitesinin düşük olması gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, daha önce protein kalitesi iyileştirilmiş makarnalık buğday geri melez ıslah hatlarının (TMB2 ve TMB3) lipoksijenaz enzim aktivitelerinin düşürülmesidir. LOX enzim aktivitesi oldukça düşük olan Gediz-75 makarnalık buğday çeşidi melezlemelerde gen kaynağı olarak kullanılmıştır. F1 generasyonunda hedeflenen gen bölgesini (*Lpx-B1.1*) taşıyan bitkiler markör destekli seleksiyon yöntemi ile SSR markörleri kullanılarak seçilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Lipoksijenaz, LOX, *Lpx-B1.1*, Makarnalık Buğday, MAS, *Triticum durum*.

ABSTRACT

Ms Thesis

OBTAINING AND IDENTIFYING OF HYBRID LINES FOR *LPX-B1* GENE IN DURUM WHEAT

Ramazan ÖZBEY

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

September, 2016, 65 pages

The basic criteria which determines durum wheat quality is its suitability for pasta processing, that is pasta making quality. Bright yellow color is a desired property in pasta products. Durum wheat pasta making quality is influenced by protein content and quality, yellow pigment content, and oxidative enzymes such as lipoxygenase (LOX) which affect adversely bright yellow color. Thus, wheat cultivars that are high in yellow pigments but low in LOX enzyme activity should be preferred for the production of pasta with high color quality.

The aim of this study was to reduce lipoxygenase activities of the backcross durum wheat lines (TMB2 and TMB3) that were previously improved for their protein quality. Gediz-75 wheat with low LOX enzyme activity was used as the gene source. In F1 generation, plants carrying the targeted gene region (*Lpx-B1.1*) were selected using SSR markers by marker assisted selection method.

Keywords: Durum wheat, LOX, *Lpx-B1.1*, Lipoxygenase, MAS, *Triticum durum*.

ÖN SÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında her türlü desteği esirgemeyen, büyük katkı sağlayan, tez çalışmamda büyük bir özveriyle bilgi ve tecrübesiyle bana yardımcı olan ve beni sabırla destekleyen çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM ve Doç. Dr. Muhammad AASIM'a, yüksek lisansa başlamama sebep olan, karşılaştığım her zor durumda bana yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet KOYUNCU'ya, beni can-ı gönülden destekleyen değerli arkadaşlarım Leyla Nurefşan GÜNDÜZ, Begüm TERZİ, Tuğba GÜLEÇ, Bedrettin DEMİR, Kerime ÖZKAY, Emrah ÜSTÜNDAĞ'a, maddi ve manevi hep yanımda olan "Allah zihin açıklığı versin oğlum" diyerek dua eden çok sevdiğim kıymetli babaannem Melek ÖZBEY ile uzakta olsalar da yanımda hissettiğim değerli kardeşlerim Fatih ÖZBEY ve Muharrem ÖZBEY'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu tez çalışması canımdan çok sevdiğim, ahirete intikal etmiş olan canım annem Emine ÖZBEY'e ithaf olunur.

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 112T910 numaralı proje kapsamında yürütülmüş ve 26-M-15 numaralı proje kapsamında Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından da desteklenmiştir. Yüksek Lisans eğitimim süresince Proje Bursiyeri olarak beni destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Ramazan ÖZBEY

Eylül - 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
3. MATERYAL ve METOD	24
3.1. Bitki Materyali	24
3.2. DNA İzolasyonu	26
3.3. Markör Destekli Seleksiyon	29
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	32
5. SONUÇ	39
6. KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	50

ÇİZELGE DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : Çalışmada kullanılan makarnalık buğday ıslah hatları.....	24
Çizelge 3.2 : Çalışmada elde edilen F1 ıslah hatları ve kısaltmaları.....	26
Çizelge 3.3 : Farklı haritalardan alınan ve <i>Lpx-B1.1</i> ile bağlantılı olan SSR markörleri.....	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 : Saksıya ekilen bitkilerin serada yetiştirilmesi.....	25
Şekil 3.2 : Melezlenen bitkilerden bir görünüm.....	25
Şekil 3.3 : İzole edilen DNA örneklerinin agaroz jeldeki görünümü.....	27
Şekil 3.4 : Jellerin yürütüldüğü elektroforez ünitesi.....	28
Şekil 3.5 : Jel görüntülemeye kullanılan UV transilatör.....	28
Şekil 3.6 : 4BS kromozomunda bulunan <i>Lpx-B1.1</i> gen bölgesiyle bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları.....	29
Şekil 3.7 : PZR' de kullanılan thermal cyclers.....	31
Şekil 3.8 : Agaroz jelde yürütülen PZR ürünleri.....	31
Şekil 4.1 : Lpx B12 primeri ile TMB2//GE melez ailesine ait taramalar.....	32
Şekil 4.2 : F1 bitkilerinde Xwmc 617 primeri ile yapılan taramalara ait jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.3 : Lpx B11a, Lpx B11c ve Lpx B13 primerlerine ait agaroz jel görüntüleri.....	33
Şekil 4.4 : Xgwm 113 primeri ile TMB2//GE melez bitkilerinde yapılan taramalara ait agaroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.5 : Xcnl 10 primerine ile yapılan taramalara ait agaroz jel görüntüsü.....	34
Şekil 4.6 : Xgwm 408 primeri kullanılarak TMB2//GE F1 bitkilerinin saptanması.....	34
Şekil 4.7 : TMB2//GE F1 bitkileri için Xgwm 408 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.8 : TMB2//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinde Xwmc 48 primeri ile yapılan moleküler taramalar.....	35
Şekil 4.9 : TMB2//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xwmc 48 primeri ile seleksiyonu.....	35
Şekil 4.10 : TMB3//GE F1 bitkilerinin Xwmc 48 primeri ile seleksiyonu.....	36

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.11 : TMB3//GE melezi için Xwmc 48 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü.....	36
Şekil 4.12 : TMB3//GE F1 bitkilerinde Xwmc 89 primeri ile yapılan moleküler seleksiyon.....	36
Şekil 4.13 : TMB3//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xwmc 89 primeri ile moleküler taramaları.....	37
Şekil 4.14 : TMB2//GE F1 bitkileri için Xbarc 193 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü.....	37
Şekil 4.15 : TMB3//GE F1 bitkileri için Xbarc 193 primeri ile yapılan moleküler taramalar.....	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

bç

cM

EU

g

M

MA

mg

ml

mM

nM

ng

µl

µM

V

Açıklama

Baz çifti

Santi Morgan

Enzim Ünitesi

Gram

Molar

Moleküler Ağırlık

Miligram

Mililitre

Milimolar

Nanomolar

Nanogram

Mikrolitre

Mikromolar

Volt

Kısaltmalar

BME

CTAB

DAPI

ddH₂O

DMSO

dNTP

dk

DNA

dsDNA

EtBr

EDTA

Açıklama

B-Mercaptoethanol

Cetyltrimethylammonium Bromide

4,6-Diamidino-2-Pheylindole

Double Distile Su

Dimetil Sülfoksit

Deoksinükleozin Trifosfat

Dakika

Deoksiribonükleik Asit

Double Stranded DNA

Çift Zincirli DNA

Ethidium Bromür

Etilendiamin Tetra Asetik Asit

Kısaltmalar**GM****H****L****LMW****LOX****MAS****MgCl₂****NaCl****PZR****POD****PPO****RIL****RNA****rpm****SDS****sn****ssDNA****SSR****Taq****TBE****TE****TMB****QTL****Açıklama**

Geri Melez

Heterozigot

Ladder

Low Molecular Mass

Düşük Moleküler Ağırlık

Lipoksijenaz

Marker Assisted Selection

Markör Destekli Seleksiyon

Magnezyum Klorür

Sodyum Klorür

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Peroksidaz

Polifenoloksidaz

Recombinant Inbred Line

Rekombinant Saf Hat

Ribonükleik Asit

Revolutions Per Minute

Dakikadaki Döngü Sayısı

Sodyum Dodesil Sülfat

Saniye

Single Stranded DNA

Tek İplikçikli DNA

Simple Sequence Repeats

Basit Dizi Tekrarları

Thermus aquaticus

Tris/ Borik Asit/ EDTA

Tris/ EDTA

Türk Makarnalık Buğdayı

Quantitative Trait Locus

Kantitatif Karakter Lokusu

1. GİRİŞ

Buğdayın insan gıdası olarak kullanımında makarna, ekmekten sonra ikinci sırada yer almaktadır. 2015-2016 yılı verilerine göre, yaklaşık 723 milyon ton civarında olan dünya buğday üretiminin 37,3 milyon tonunu durum buğdayı oluşturmaktadır (Anonim, 2016a). Makarnalık buğdaylar, dünyada belli bölgelerde yetiştirilen ve ekmeklik buğdaya göre daha yüksek fiyatla alıcı bulabilen değerli buğdaylardır. Dünya durum buğdayı üretiminin 2,04 milyon tonu Türkiye tarafından gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2016b).

Türkiye birçok bitkinin olduğu gibi makarnalık buğdayın da anavatanlarından biridir. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Ülkemiz 2014 yılı verilerine göre yaklaşık 2,6 milyon ton makarnalık buğday üretimi ile dünyada üçüncü sırada yer almasına rağmen (Anonim, 2014), makarnalık buğday ithal edilmektedir. Bunun en önemli nedeni üretilen makarnalık buğdayın önemli bir kısmının makarna sanayisinin istediği kalitede olmamasıdır. 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 özellikle ıslah çalışmalarına ağırlık verilmesi gerekmektedir (Gökmen ve Ateş, 2005). Makarnalık buğday yetiştiriciliğinde ülkemizin en büyük eksikliği yeterli kalitede tescilli makarnalık buğday çeşitlerine sahip olunmamasıdır. Durum buğdayının kalitesini belirleyen ana kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için mevcut çeşitlerimizin kalite genleri bakımından iyileştirilmesi gerekmektedir.

Ülkemizde makarnalık buğdayın kalitesiyle ilgili yapılan ıslah çalışmaları oldukça sınırlı sayıdadır. Bu sebeple öncelikli olarak yapılması gereken, kalite geni kaynağı olabilecek çeşitlerin mevcut durumlarının belirlenmesi ve daha sonra da potansiyeli yüksek olanların seçilerek ıslah çalışmalarında kullanılması gerekmektedir.

Buğdayda kalite son ürüne uygunluk derecesidir. Durum buğdayının kalitesini belirleyen en temel kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünlerin kalitesi tanenin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi ile doğrudan ilişkilidir. Durum buğdayının makarnalık kalitesi; tanenin sertlik ve camsılık oranı, hektolitreye ağırlığı, protein miktarı ve kalitesi (uygun gluten kuvveti), öğütme yeteneği (irmik verimi ve kül içeriği), sarı pigment konsantrasyonu ile lipoksijenaz (LOX), peroksidaz (POD) ve polifenoloksidaz (PPO) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri ile besin değeri açısından etkilenmektedir. Bunlardan özellikle tanenin protein miktarı ve kuvveti, sarı pigment içeriği ve sarı parlak rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri oldukça önem arz etmektedir. Çünkü bu kriterler besin değeri yüksek ve kaliteli bir makarnada istenen sarı parlak renk oluşumunu ve pişme kalitesini tayin eden başlıca özelliklerdir.

Makarnalık buğdaylarda tanenin rengi önemli bir kalite kriteridir. Makarna renginin parlak sarı olması istenmektedir. Son ürünün rengi tane pigment konsantrasyonu, oksidatif enzimlerin aktiviteleri ve makarna üretim koşulları tarafından etkilenmektedir. Makarna üretimi sırasında sarı renkli pigmentlerin oksidatif olarak parçalanmalarına ve ağarmalarına neden olan LOX enzimleri, ekmeklik buğday unlarının ağarmasına ve gluten proteinlerini dolaylı yoldan okside ederek hamurun kuvvetlenmesine sebep olmaktadır. Bu nedenle LOX enzim aktivitesinin ekmeklik buğdaylarda yüksek, makarnalık buğdaylarda ise düşük olması istenmektedir. Renk kalitesi yüksek makarna üretebilmek için kullanılan durum buğdayının yüksek pigment içerikli olmasının yanında oksidatif enzim aktivitelerinin de buna bağlı olarak düşük olması gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, daha önce protein kalitesi iyileştirilen bazı ileri makarnalık buğday geri melez ıslah hatlarının lipoksijenaz enzim aktivitelerinin düşürülmesidir. Bu amaçla farklı anaçlardan elde edilmiş olan iki adet ileri ıslah hattı (TMB2 ve TMB3) kullanılmıştır. Ayrıca LOX enzim aktivitesi oldukça düşük olan Gediz-75 makarnalık buğday çeşidi melezlemelerde gen kaynağı olarak kullanılmıştır. F1 generasyonunda hedeflenen gen bölgesini (*Lpx-B1.1*) taşıyan bitkiler markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi ile seçilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

Temel besin kaynağı olan buğday dünyada ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen kültür bitkisidir. Buğday birçok ülkenin temel kalori, protein ve mineral kaynağı durumundadır. Geniş adaptasyon yeteneğine sahip olan buğday temel gıdaların başında gelmektedir ve bu nedenle stratejik bir öneme sahiptir. Buğdaylar genom yapısına göre kaplıca (diploid), makarnalık (tetraploid) ve ekmeklik (hekzaploid) buğday olarak üç gruba ayrılırlar. Makarnalık buğdaylar (*Triticum durum*), kalite özellikleri ve kullanım alanları açısından ekmeklik (*T. aestivum*) ve topbaş (*T. compactum*) buğdaylardan çok farklı ve özel bir yere sahiptir (Balkan, 2011). *Triticum turgidum* L. ssp. *durum* tür adı ile bilinen makarnalık buğday allotetraploid ($2n=4x=28$, AABB) bir türdür.

Makarnalık buğday, kırmızı ve amber renkli olmak üzere iki grupta değerlendirilmektedir. Kırmızı renkli olan makarnalık buğdaylar makarna sanayisi için öneme sahip değillerdir, daha çok hayvan yemi olarak kullanılırlardır. Bu çeşit buğdayların çoğu Arjantin’de yetiştirilmektedir. Amber renginde olanlar ise makarna sanayinde kullanılmaktadır. En sert makarnalık buğdaylar amber renkli olanlardır. Protein miktarı çevreye bağlı olarak değişse de genellikle yüksektir (Finney ve ark., 1987; Morris, 2004; Sissons, 2004; Eserkaya ve ark., 2010). Makarna yapımında protein miktarının yüksek olması istenmektedir. Makarnalık buğdaylarda endospermdeki protein taneleri ve nişasta taneleri şeffaf özelliktedir. Bu sebeple tane camsı yapıda gözükmektedir. Tanenin şeker oranı da diğer tür buğdaylara göre daha yüksektir. Fazla miktarda karetonoid pigmenti içermektedir. Özellikle de ksantofil ve trakshantin miktarı daha yüksektir. Makarnalık buğdaylar diğer buğdaylara nazaran yaklaşık olarak iki kat daha büyük danelidir. Bin dane ağırlığı ve hektolitreye ağırlığı daha fazladır ve endospermdeki kül miktarı daha yüksektir (Finney ve ark., 1987; Morris, 2004; Sissons, 2004).

Makarnalık buğday yetiştiren ülkelerin başında; AB ülkeleri (27), Kanada, Türkiye, USA, Ukrayna ve Avustralya gelmektedir (Anonim, 2015a). Makarnalık buğdayın ihracatını yapan ülkelere en önemlileri Çin, Hindistan, USA, Rusya, Kanada, Avustralya, Pakistan, Ukrayna ve Türkiye’dir (Anonim, 2015b).

Durum buğdayının en temel kullanım şekli makarna olup, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde bu amaca yönelik üretilmektedir. Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerini içine alan diğer bölgelerdeyse makarna üretiminin yanı sıra bulgur, kuskus ve değişik tip ekmeklerin üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Troccoli ve ark., 2000; Yıldırım ve ark., 2010). Geniş tüketim yelpazesi ve ürün çeşitliliği ile vazgeçilmez besinlerden biri olan makarnalık buğday, beslenme alışkanlıkları ve çevre şartları değişse bile temel besin kaynağı olma özelliğini korumaktadır. Artan dünya nüfusuna bağlı olarak iç ve dış pazarların talebi de her geçen gün gittikçe artmaktadır. Ülkemizin dış pazarlarda söz sahibi olabilmesi için istenen kalite ve standartlara uygun, istikrarlı ve düzenli bir üretim seviyesini gerçekleştirerek rekabet gücünü artırmak gerekmektedir. Bu çerçeveden bakıldığında makarnalık buğday üzerinde titizlikle durulması gereken bir ürün durumundadır. Makarnalık buğday ve mamullerinin ticaret kapasitesinin geniş olması ve sahip olduğu ekolojik özellikler Türkiye'ye önemli avantajlar sağlamaktadır (Gökmen ve Ateş, 2005).

Türkiye birçok bitkinin yanı sıra makarnalık buğdayın da gen merkezlerinden biridir. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Ülkemizde Güneydoğu Anadolu, Orta Anadolu ve Ege Bölgelerinde (Denizli-Manisa) makarnalık buğday yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonim, 2010). Ülkemizde makarna sanayinin en önemli sorunu kaliteli hammadde teminidir. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için öncelikle ülkemizin hangi bölgelerinde kalite ve verim bakımından en 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 ve seviyede tescilli makarnalık buğday çeşitlerinin olmamasıdır. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için yapılacak öncelikli iş, mevcut çeşitlerimizin kalite genleri bakımından iyileştirilmesidir (Yıldırım ve ark., 2010).

Kaliteli durum buğdayı tanımı son ürüne, alışkanlıklara ve ülkelere göre farklılık arz etmektedir. Bu nedenle durum buğdayının kalitesini değerlendirmek ekmeklik buğdaya göre daha zordur. Durum buğdayı kalite kriterleri ticaret borsaları, ıslah kuruluşları ve buğdayı işleyen sektör gereksinimleri dikkate alınarak incelenmelidir. Durum buğdayı

standartındaki derecelendirme faktörleri, protein kalitesi, renk ve son ürün (makarna, bulgur, kuskus, ekmek) kalitesi olarak ayrı ayrı incelenmelidir. Durum buğdayı standartlarındaki önemli derecelendirme faktörleri; hektolitre ağırlığı, camsı tane oranı, zarar görmüş taneler, haşere zararı (süne ve kımlı), düşme sayısı ve protein miktarıdır (Atlı ve ark., 2010). Derecelendirme faktörlerinin yanında buğdayın fonksiyonel kalitesi ile ilgili kalite kriterleri ise; tane rengi, LOX aktivitesi, gluten kuvvetini tahminde kullanılan kriterler, pişme kalitesi, depo proteinleri gamma gliadin 42 - 45 ve LMW glutenin'lerdir (Atlı ve ark., 2010).

Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel kriter makarna yapımına uygunluk derecesi yani makarnalık kalitesidir. Durum buğdayının kalitesi ve bu buğdaydan elde edilen irmiğin kalitesi makarnalık kalitesini belirleyen önemli parametrelerdir. Kaliteli makarna üretimi ancak uygun bir durum buğdayı ve işleme teknolojisi ile mümkün olabilmektedir. Makarnalık buğdayın 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 ya da renk kararmasına neden olan lipoksijenaz (LOX) ve polifenol oksidaz (PPO) 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 de tanenin sarı pigment içeriği, parlak sarı rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri ile tanenin protein miktarı ve kuvveti oldukça önemlidir. Bu parametreler kaliteli bir makarnada istenen parlak sarı renk oluşumu ve pişme kalitesini (pişirilirken dağılmayan ve yapışmayan, tüketilirken ağızda hissedilebilir sertlikte bir tekstür “al dente”) tayin eden başlıca özelliklerdir (Clarke ve ark., 1998). Söz konusu makarnalık buğday kalite unsurları, çevre faktörleri ve yetiştirme koşullarından etkilenmekle beraber, büyük oranda çeşidin genotipik özelliği tarafından kontrol edilmektedir (Aalami ve ark., 2007).

Makarnalık buğdaylarda tanenin rengi önemli bir kalite belirleyicisidir. Makarna renginin parlak sarı olması istenir. Son ürünün rengi tane pigment konsantrasyonu, oksidatif enzimlerin aktiviteleri ve makarna üretim şartları tarafından etkilenmektedir. Makarna renginde en belirleyici olan temel faktör, kullanılan irmiğin sarı renkli pigment içeriğidir. Makarnalık buğdayların pigment içerikleri genotip ve yetiştirilme şartlarına

bağlı olarak çoğunlukla 4-8 mg/kg arasında değişmektedir (Hoseney, 1994; Troccoli ve ark., 2000). Makarna renginde en belirleyici olan pigmentler ise karotenoid ve flavonoidlerdir (Fortmann ve Joiner, 1978; Feng ve McDonald, 1989). Yüksek antioksidan kapasiteleri sebebiyle sağlıklı beslenme açısından oldukça önem arz eden karotenoidler, bitkilere sarı-kırmızı rengi veren önemli pigmentlerdir. Ancak bu gruptaki pigmentler kolay okside olmakta ve renklerini kaybederek buldukları ürünlerin ağarmasına neden olmaktadır (Laignelet, 1983; Borrelli ve ark., 1999; Yıldırım ve ark., 2010). Bitkilere sarımsı renk veren flavonoidler ise kuvvetli antioksidan özelliklere sahip polifenolik maddelerdir. Durum buğdaylarının toplam karotenoid ve flavonoid düzeyleri genellikle diğer buğdaylardan daha yüksektir (Fortmann ve Joiner, 1978; Borrelli ve ark., 1999).

Makarnada sarı renk kaybına neden olan veya makarnada koyu renk oluşumuna neden olan oksidatif enzimlerin aktiviteleri de makarna renginde oldukça etkilidir. Buğdaylarda bulunan oksidatif enzimlerden makarna rengi üzerine en etkili olanlar lipoksijenaz (LOX), polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) enzimleridir (Taha ve Sagi, 1987; Hoseney, 1994; Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Yıldırım ve ark., 2010). Makarna üretimi sırasında sarı renkli pigmentlerin oksidatif olarak parçalanmalarına ve ağarmalarına 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; Troccoli ve ark., 2000; Aalami ve ark., 2007). Bu nedenle LOX enzim aktivitesinin ekmeklik buğdaylarda yüksek, makarnalık buğdaylarda ise düşük olması istenmektedir. PPO enzimleri ise dolaylı olarak kahverengi-siyah 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 henüz tam olarak bilinmemektedir. Renk kalitesi yüksek makarna üretebilmek için kullanılan durum buğdayının yüksek pigment içerikli olmasının yanında başta LOX olmak üzere oksidatif enzim aktivitelerinin de düşük olması gerekmektedir.

Makarnadaki parlak sarı renk; tohumlarda bulunan doğal karotenoid pigmentler, tane ya da irmiğin öğütülmesi ve depolanmasından sonraki artık içerikleri, bunların makarna yapımı sürecinde lipoksijenaz tarafından oksidatif indirgenmesi, bu reaksiyonda belirtilen farklı bileşenler arasındaki oksidatif denge ve işleme koşulları gibi bir çok parametreden etkilenmektedir (Borrelli ve ark., 2000).

Makarnalık buğdayı diğer buğday türlerinden ayıran en karakteristik özelliği içerdiği yüksek sarı pigment miktarıdır. Durum buğdaylarının toplam karotenoid içeriği diğer buğdaylara nazaran daha yüksektir. Ekmeklik buğday ile kıyaslandığında makarnalık buğday endospermi bu pigmentlerin iki katına kadar ulaşan miktarlarına sahiptir (Balkan, 2011).

Yüksel ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, durum buğdaylarında uygun öğütme teknolojisinin seçimi ve irmik özelliklerinin belirlenmesinde etkili olan tane fiziksel özellikleri (boyut, homojenlik, sertlik ve camsılık), makarna renginde ise belirleyici olan sarı renkli pigmentler (karotenoidler ve flavonoidler) ve oksidatif enzimler (LOX, PPO ve POD) ile makarna pişme kalitesinde önemli olan protein miktar ve özellikleri (γ -gliadin 42 / γ -gliadin 45 ve LMW-1 / LMW-2 glutenin tipleri) gibi önemli kalite kriterlerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda makarnalık buğdayın; boyut ve homojenlik, sertlik ve camsılık gibi fiziksel özelliklerin kalite belirleme kriteri olduğu, makarnalık buğdayın irmiğin pigment ve oksidatif enzim içeriği ile işleme teknolojisinden etkilendiği ve yüksek protein içeren çeşitlerin ıslah edilip yetiştirilmesi ve makarna sanayisinde kullanılması gerektiği ifade edilmiştir.

Elouafi ve ark. (2001), durum buğdayı sarı pigment içeriğine bağlantılı kantitatif karakter lokusları (QTLs) tanımlamışlardır. Sarı pigment içeriği üç ayrı yetiştirme döneminde üç farklı lokasyonda ölçülmüştür. QTL'nin etkisi tüm ortamlarda tutarlı ve büyük bir etki göstermiştir. Sarı pigment içeriğinin çevreden ziyade genotipten etkilendiği ve bu QTL'nin sarı pigment oranını arttırmak için markör destekli seleksiyonda kullanılabileceği saptanmıştır.

Borrelli ve ark. (1999), makarnalık buğdayda LOX aktivitesi ve diğer kalite parametrelerinin renk oluşumunu etkilemesi ile ilgili araştırmalarında sarı pigment

kaybının ve nihai makarna renginin belirlenmesiyle ilgili parametreleri incelemişlerdir. Pigment kaybında en önemli miktar makarna işleme sırasında gözlemlenmiştir. Öğütme sırasında % 7,9' luk bir kayıp saptanırken makarna işleme sırasında irmikteki β -karoten içeriğinde % 16,3' lük bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Hamur pH değerindeki etkin izoenzimatik formlarının LOX-2 ve LOX-3 olduğu ve LOX' ların makarna ürünlerinin renk kaybından sorumlu oldukları da bildirilmiştir.

Lipoksijenazlar normal substratları olan doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğrattırırken aynı anda lütein ve ksantofil başta olmak üzere karotenoidlerin de dolaylı oksidasyonuna neden olarak tane renginin açılmasına yol açmaktadırlar. Coşkun ve Ercan (2003), makarnalık buğdaylarda lipoksijenaz enzim aktivitesinin saptanması için ülkemizde üretilen başlıca makarnalık buğday ürünlerinin ve bunlardan elde edilen irmiklerin lipoksijenaz aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda irmik örneklerindeki pigment miktarında 5,54–8,81 ppm, makarna örneklerinde ise 4,27-8,06 ppm arasında değişim gözlemlenmiştir. Buğday ve irmikte enzim aktivitesinin sırasıyla 0,009-0,381 ve 0,080-0,250 mg O₂ L⁻¹ dak⁻¹ g⁻¹ arasında olduğu belirlenmiştir. Makarnada pigment kayıp oranının ise % 7,60-22,90 arasında olduğu saptanmıştır. Durum buğdayında lipoksijenaz enzim aktivitesi arttıkça buna bağlı olarak makarnanın pigment miktarındaki kayıp oranı da artmıştır.

Makarnalık buğdayda sarı karotenoid pigmentlerin konsantrasyonu önemli bir kalite kriteridir ve bu pigmentlerin birikimi ve degradasyonu Lipoksijenaz (Lpx) enzimi (Lpx lokusu) tarafından belirlenir. Carrera ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada *Lpx-B1.1*' in delesyonunun lipoksijenaz aktivitesinin 4,5 kat azalmasına neden olduğunu ve irmik renginin istenen düzeyde olmamasının bu delesyonla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca makarna işleme boyunca indirgenmiş pigment bozulması da gözlemlenmiştir. Moleküler markörler, 4B kromozomundaki delesyon haritalanması için UC1113 makarnalık buğday hattı ve Kofa çeşidi arasındaki melezleme popülasyonundan elde edilmiştir. Bu markörlerin makarna rengini geliştirmek için ve Lpx lokuslarını manipüle etmek için yararlı bir araç olabilecekleri ileri sürülmüştür.

Lpx-B1.1 delesyonunun görüldüğü pek çok genotipte LOX aktivitesi 0,5 EU/ g dw' den düşük iken, *Lpx-B1.1* duplikasyonunun görüldüğü hatlarda LOX aktivitesinin

0,5 EU/ g dw' den yüksek olduğu saptanmıştır (Menzo ve ark., 2011). Birkaç istisnai germplazm gözlenmiştir. Farklı bir çalışmada birçok genotipte benzer sonuçlar tespit edilmesine rağmen, bazı genotiplerde istisnai bir durum grldėđ bildirilmiştir (Carrera ve ark., 2007).

Durum buėđayının oksidatif enzim miktarı ve pigment içeriği, makarnanın kalitesinde önemli rol oynamaktadır. Bu zellikleri incelemek için spektrofotometrik ölüm teknikleri ve genetik markörler geliştirilmiştir. Ateş Sönmezoğlu ve Balkan (2013) yaptıkları araştırmada makarnalık buėđayların LOX enzim aktivitesi ve pigment konsantrasyonunu biyokimyasal ve moleküler taramalar yaparak belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; Gediz-75, Gdem12, Hat - 19 ve Zenit, makarnalık buėđay çeşit ve hatlarının LOX enzim aktivitelerinin oldukça düşük olduğu ve kaliteli bir makarna yapımı için tercih edilebilecekleri ifade edilmiştir. Pigment konsantrasyonu bakımından ise Kyle, Zenit, Gdem12, Gdem2, TMB1 ve TMB3 hat ve çeşitlerinin sarı renkli makarna üretimi için yüksek potansiyel gösterdiği bildirilmiştir.

Feng ve ark. (2010), çalışmalarında ekmeklik buėđaydaki (*Triticum aestivum* L.) LOX genlerinin moleküler analizlerine ve daha yüksek yapılı bitkilerdeki LOX proteinlerin daha geniş kapsamlı filogenetik araştırmalarını yapmışlardır. Ekmeklik buėđaydan iki LOX geninin (*TaLOX1* ve *TaLOX2*) tam uzunlukları nükleotit dizisini izole etmişlerdir. Daha kapsamlı filogenetik analizlerine göre 143 zgn LOX tahıl bitkilerine model alınmış, buna göre kloroplast hedef peptidi var (altsınıf 1) veya yok (altsınıf 2) karşılaştırılması yapılarak yüksek bitkilerin LOX proteinleri tahmin edilmiştir. Bu alışma buėđaydaki LOX genleri hakkında ve daha yüksek bitkilerin LOX aktivitesinin filogenetik ilişkisi hakkında yeni bilgiler sunmuştur.

Barone ve ark. (1999), makarnalık buėđaydan spesifik lipoksijenaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu adlı çalışmalarında yeni bir prosedür bularak, test edilen alt-tabakalar arasında linoleik asit, en yüksek k_{cat} / K_m değeri göstererek; bir β -karoten ağartma aktivitesi tespit etmişlerdir.

Parlak sarı renk makarna yapımı için önemli bir kalite kriteridir. Sarı renk oluşumu lipoksijenazlarla pigment sentezi ve degradasyonu arasında dengelenmesi sonucu olan

tahıl karotenoid pigment miktarına bağlıdır. Lipoksijenazları kodlayan genlerin düzenlenmesi tetraploid buğday genomunda tam olarak anlaşılammıştır. Garbus ve ark. (2009), yaptıkları araştırmada, BAC kütüphanesi ile Arpa problemleri kullanılarak Lpx genlerinin fiziksel dağılımını karakterize etmişlerdir. PZR karakterizasyonu ve BAC bankasındaki pozitif kopyalara göre *Lpx-B1.1* ve *Lpx-B3* için 108 kb'dan daha az uzaklık bulunurken *Lpx-B1.2'* nin diğerlerinden daha uzakta olduğu belirlenmiştir. A genomunda *Lpx-1'* in (*Lpx-A1* gibi) kısmi silinmiş kopyası bulunmuş 42 kb'lık bölgesi ile *Lpx-A3* arasındaki kolokalizasyona göre iki genomunda bu iki geninde birbirlerine oldukça yakın oldukları doğrulanmıştır. Fiziksel olarak bu iki genin bulunduğu lokasyon ailenin evrimini anlamının önemli olduğu ve diğer taraftan birbirine yakından bağlantılı genlerin rekombinasyonla ayrılmasının zor olduğunu ima etmektedir. Bu durumun makarna kalitesinin geliştirilmesi için optimal allel kombinasyonu seçiminde kullanılacak *Lpx* allel kombinasyonlarını belirlemede yararlı olabileceği bildirilmiştir. Geng ve ark. (2011) buğday yetiştiriciliğinde moleküler markör yardımıyla lipoksijenaz aktivitesi değişimi adlı çalışmalarında, ekmeçlik buğdayda LOX aktivitesi için kantitatif karakter lokusları belirlenerek SSR markörleri geliştirilmiştir. Geliştirilen SSR markörleri (Xgwm 251 ve Xwmc 312) 198 adet Çin buğday çeşitleri ve ileri ıslah hatları üzerinden doğrulanmış ve LOX aktivitesi ile çok önemli ($p<0,01$) bir ilişki gösterdiği kanıtlanmıştır. Sonuçlar Xwmc 312 / Xgwm 251 markör kombinasyonunun LOX aktivitesini değerlendirmek için etkili ve güvenilir olduğunu, buğday esaslı ürünler için markör destekli seleksiyonda (MAS) kullanılabileceğini göstermiştir.

Roncallo ve ark. (2009), tarafından yürütülen çalışmada pigment bozulmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genler klonlanmış ve özel markörler (STS) geliştirilmiştir. Çalışma sonuçları moleküler çalışmalara bağlı, makarnalık buğdayda tahıl rengini kontrol eden genetik mekanizma ile ilgili son gelişmeleri göstermiştir. Benzer biçimde bu projede de daha önce genlerden geliştirilen primerler sayesinde lokusların hareketleri takip edilerek gösterilmiş ve geliştirilen SSR markörlerinin başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Lipoksijenazların istenmeyen etkileri olabilir ve elde edilen ürünlerin lipidleri parçalanmasını katalize eden bir enzim ailesini oluşturabilmektedir. Bu enzimler,

makarnanın rengini etkileyebilir ve farklı tatlara neden olabilirler. Makarnalık buğday tohumlarındaki Lipoksijenaz aktivite değişiminin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmada, durum buğdayı lipoksijenaz etkinliğinin unun rengi ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için tahıl tohumlarında lipoksijenaz etkinliği ile ilişkili harita geliştirilmiştir (Hessler ve ark., 2002). Bu verilerin analizi ile lipoksijenaz etkinliğinin çoğunun 4BS kromozomu üzerindeki buğday lipoksijenaz geni (*Lpx-B1*) ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Un rengi bu populasyonda lipoksijenaz aktivitesi ile ilişkili değildir. Bu bilgi ile markör destekli seleksiyonun sert buğday populasyonunda düşük lipoksijenaz etkinliği olan genotipleri seçmek için kullanılabilirliği ispatlanmıştır.

Buğday ununun değirmen akış diyagramındaki enzimlerin dağılımı ile ilgili bir araştırmada buğdayın silindir un değirmeni akışlarındaki alfa amilaz, proteaz, lipoksijenaz, polifenol oksidaz ve peroksidaz dağılımı incelenmiştir (Rani ve ark., 2001). Un kırılması akışlarındaki en yüksek lipoksijenaz aktivitesi ve polifenol oksidaz aktivitesi çoğunlukla son öğütme ve azaltma akışları arasında gözlenmiştir. Lipoksijenaz, polifenol oksidaz ve peroksidazın kepek fraksiyonları arasında oldukça farklı olduğu anlaşılmıştır. Proteaz hariç olmak üzere, diğer enzimler rafine un, kepek ve kısa ürünleri içeren bir öğütme ile yan ürün olarak elde edilmiş ve en aktif irmikte oldukları belirlenmiştir (Rani ve ark., 2001).

Soya *LOX-1* 60 yıl önce keşfedilmesine rağmen bu enzimlerin yapısal biyolojisi 1990 yılına dek çalışılmamıştır. 1993 yılında bir bitkide LOX' un ilk kristal yapısı çalışılmış ve bu proteinin biyokimyası ve moleküler enzimolojisi LOX araştırmaları için önemli alanlar olmuştur. Reaksiyon için belirtilen çeşitli hipotezler farklı enzim izoformlarının spesifiteleri ve herbiri için artı ve eksileri değerlendirilmiştir. Ivanov ve ark. (2010) üç farklı alemde LOX'un genomik varlığını ve LOX evrim güncel bilgilerini özetlemiştir. Bu tür sekanslar, ökaryotlar ve bakteride bulunmakta ama arkelerde bulunmamaktadır. Alt organizmaların LOX biyolojik rolü açıklanamamış, sekans bilgileriyle bu enzim ailesinin atmosfer oksijenin ortaya çıkmasıyla kısa bir süre sonra değişime uğramış olabileceğini öne sürülmüştür.

Buğday unu içerisindeki peroksidaz ve katalazın karıştırma koşullarının lipoksijenaz üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada (Delcros ve ark., 1998), hamur 2, 5 ve 20

dakika karıştırılıp sonra 30 dakika dinlendirilerek hamurdaki lipoksijenaz, peroksidaz ve katalaz ekstrakte aktiviteleri test edilmiştir. Lipoksijenaz ve katalaz aktiviteleri kayıplarının büyük ölçüde karıştırma koşullarına göre değiştiği, ancak hamur peroksidaz aktivitesinin, başlangıçtaki un aktivitesine eşdeğer olmaya devam ettiği saptanmıştır. Katalaz kayıpları son derece asidik koşullarda (fizikokimyasal denatürasyon) artmış; lipoksijenaz kayıplarının ise çoğunlukla eski mekanizma ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, üç oksido indirgeyici enzimin göreceli etkisinin büyük ölçüde karıştırma koşulları ile kontrol edilebileceği ifade edilmiştir.

Sarı pigment içeriğini (YPC), lipoksijenaz (LPX) aktivitesi ve *Lpx-B1.1* lokusundaki polimorfizminin İtalyan makarnalık buğdayında gamet koleksiyonunu belirlemesi adlı çalışmada ve YPC bakımından farklı biyokimyasal özellikleri ve makarna işlem sırasındaki performansı LPX gen ekspresyonu yönünden karakterize edilmiştir. YPC ve LPX aktivitesi 71 genotipin taraması sonucunda büyük genetik değişkenlik göstermiştir. *Lpx-B1.1* polimorfizmi LPX aktivitesindeki farklılıklar ile önemli derecede ilişkilidir. Bunun yanında *Lpx-B1.1* delesyonunun *Lpx* mRNA' larındaki farklı ifade seviyeleriyle alakalı olarak *Lpx*' deki farklılıklarla da ilişkili olduğu bulunmuştur. İncelenen çeşitler arasındaki profil farklılıklarının üç *Lpx* geninin geçici ekspresyonlarından kaynaklandığı belirlenmiştir. Düşük LPX aktivitesine sahip bir genotipe göre LPX aktivitesi yüksek genotipli *Lpx-1* geni için beklenen geçici ekspresyonu göstermiştir. Tane dolum sonrasındaki aşamada analiz edilmiş genotiplerdeki LPX aktivitesinin büyük olasılıkla farklı *Lpx* izoform katkısından dolayı olduğu belirlenmiştir (De Simone ve ark., 2010).

Yerel durum buğday çeşitlerinin makarnalık kalitelerini etkileyen önemli parametreler bakımından taranması amacıyla yapılan çalışmada, buğdayların sarı renkli pigment içeriklerinin 3,64-6,63 mg/kg (ort. 5,41 mg/kg), lipoksijenaz (LOX) aktivitelerinin 18,1-41,0 EU/g (ort. 27,2 EU/g), polifenol oksidaz (PPO) aktivitelerinin 7,5-16,2 EU/g (ort. 9,7 EU/g) ve peroksidaz (POD) aktivitelerinin 64,6-145,6 EU/g (ort. 109,5 EU/g) arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmada Tokat şartlarında yetiştirilen durum buğday çeşitlerinin makarnalık kaliteleri hakkında bilgi veren gliadin ve glutenin elektroforezleri, pigment içerikleri, protein miktar ve özellikleri, oksidatif enzim aktiviteleri ve tane fiziksel özellikleri belirlenmiştir. (Koyuncu, 2009).

Buğdaydaki lipoksijenaz etkinliği ile ekmek yapımı sırasındaki E vitamininin karotenoid kaybının belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada, buğday karotenoid değişiklikleri tahıl içeriğindeki E vitamini ve buğday ekmeğinin kendi düzeyini etkileyen işlem adımları incelenmiştir (Leenhardt ve ark., 2006). Başlıca karotenoid kayıpları yoğurma sırasında meydana gelmiştir. Her iki parametrede buğday genotipine bağlı olarak karotenoid pigment kayıpları ile LOX aktivitesi arasında ilişki saptanamamıştır, yüksek karotenoid içerikli buğday türlerinin kullanımı ve düşük LOX aktivitesi ekmekte karotenoid seviyesinin önemli derecede korunduğunu göstermiştir. LOX aktivitesi ile E vitamini arasında hiçbir ilişki görülmemiştir. Buna ek olarak orta yoğurma derecesi karotenoidlerle karşılaştırıldığında daha yüksek E vitamini değeriyle karşılaşmıştır. Bu durum ekmek yapımı sırasında E vitamininin daha endojen olan LOX tarafından oksidasyona daha duyarlı olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışma ile potansiyel öğütme ve pişirme süreçleri korunursa ekmekteki besin kalitesinin antioksidant içeriği açısından uygun tahıl genotipleri seçilerek geliştirilebileceği ileri sürülmüştür (Leenhardt ve ark., 2006).

İrmik, lipoksijenaz ve lutein ağartma faaliyetlerini içermekte ancak linoleik asit ve hidroperoksit izomeraz aktivitesini içermemektedir. Lipoksijenaz aktivitesini belirlemek için 234 nm'de linoleik asit absorpsiyonu ölçülmüş ve luteinin 452 nm dalga boyunda ışık Emilimi sonucunda ağartma aktivitesi etkisi belirlenmiştir (McDonald, 1979). Lipoksijenaz için etkinlik seviyesi için optimum pH 4,8 olarak gözlenmiş ancak alt noktalarında bu durum pH 6,0 ve pH 7,0 olarak belirlenmiştir. Ağartma için optimum pH 9,0 olarak bulunurken pH 6,0' da ise düşük bir pik gözlemlenmiştir. Bir dakika boyunca 69 °C 'deki ısıtma her iki faaliyeti inaktive etmiştir. Aynı zamanda bazı aktivatörler ve inhibitörler de test edilmiştir. Bir sülfhidril bloke edici etkin madde ve sistein ile elde edilen sonuçlar, ağartma ya da lipoksijenaz enzimleri önemli bir sülfhidril grubunu işaretlememiştir. Askorbik asit ise, lipoksijenaz aktivitesinin ağartma aktivitesinin bir inhibitörü olarak daha etkili olmuştur. Her iki ağartmada da lipoksijenaz aktivitelerinin inhibasyonunun kalsiyum klorür tayininde en yüksek pH seviyeleri haricinde çok az etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Hem ağartma hem de lipoksijenaz aktiviteleri, makarnalık buğdayın farklı çeşitleri arasında çok farklılık göstermiş ve ağartma etkinliğinin lipoksijenaz aktivitesi ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu saptanmıştır. Linoleik asit potansiyeli karşılaştırıldığında Lutein oksitleyici

potansiyelinin düşük olduğu, ancak makarnalık çeşitlerinden yapılan spagettide renk kaybı için yüksek potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir (McDonald, 1979).

Sakin ve ark. (2011), üç farklı lokasyonda (Tokat - Kazova, Diyarbakır, Sivas - Ulaş) iki yıl süreyle 25 makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.) genotipinin temel kalite kriterleriyle ilgili stabilite özelliklerini incelemişlerdir. Makarnalık buğday genotipleri 12 adet tescilli ve 13 adet ileri ıslah hattından oluşmuştur. Tarla denemeleri tesadüf blokları deneme deseninde üç tekerrürlü yürütülmüştür. Temel kalite özellikleri olarak makarnalık buğdayların protein içeriği, gluten indeksi, sedimentasyon ve spesifik sedimentasyon hacimleri, sarı renkli pigment içeriği ve lipoksijenaz aktivitesi belirlenmiştir. İncelenen tüm özellikler bakımından genotip, çevre ve genotip x çevre interaksiyonları önemli ($P < 0,01$) bulunmuştur. Tüm kalite özellikleri bakımından stabil bir genotip bulunamamış, bazı kalite özellikleri bakımından birkaç genotip ön plana çıkmıştır. Benzer kökenli bazı genotipler kluster analizine göre belirlenen aynı kümeler içerisinde yer almışlardır. İslah hatları arasında, Hat - 1, Hat - 7, Hat - 20 ve Gdem - 12 hatlarının genel ortalamasının üstünde iyi kalite özellikleri göstermeleri nedeniyle ümitvar ıslah materyalleri olarak kullanılabilceği tespit edilmiştir (Sakin ve ark., 2011).

Makarna ürünlerinde sarı renk makarnalık kalitesini değerlendirmek için tüketiciler tarafından kullanılan ana kriterlerden biridir. Bu karakter irmikteki karotenoid pigmentinin varlığında ortaya çıkmaktadır. Makarna işlemleri sırasında, esas olarak karotenoid pigmentinin oksidatif parçalanması lipoksijenaz (LOX)' dan kaynaklanmaktadır. Makarnalık buğdayda (*Triticum durum* Desf.) 4B kromozomu üzerinde iki tane *Lpx-1* geni tanımlanmıştır (*Lpx-B1.1* ve *Lpx-B1.2*) ve irmikte bulunan LOX aktivitesindeki güçlü bir azalmanın nedeninin *Lpx-B1.1* delesyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Verlotta ve ark., 2010). Çalışma sonucunda makarnalık buğday genetik kaynakları koleksiyonunda tanımlanan *Lpx-B1* gen ailesi karakterize edilerek *Lpx-B1* genlerinin ve alellerinin ifadesi ve dağılımı olgun tanelerde LOX aktivitesindeki değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir.

Hint makarnalık buğday çeşitlerinde sarı pigment ve enzim içeriğinin potansiyellerinin araştırılması amacıyla spagettide protein, sarı pigment içeriği, peroksidaz, polifenol oksidaz, lipoksijenaz ve proteaz faaliyetlerine ilişkin 12 adet hint makarnalık buğday

çeşitlerinin potansiyelleri incelenmiştir (Aalami ve ark., 2007). Makamalık buğday çeşitlerinin protein içeriğinin % 12,1 - 15,9 arasında, sarı pigment içeriğinin de 3,8 - 7,2 ppm arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu buğday çeşitlerinde peroksidaz aktivitesinin 269 U/g ile 1010 U/g arasında, lipoksijenaz aktivitesinin 1,44 U/g ile 6,88 U/g arasında, proteaz aktivitesinin de 1,1 - 5,1 U/g aralığında olduğu belirlenmiştir.

Gökmen ve ark. (2007), durum buğdayında lipoksijenaz etkinliğinin belirlenmesinde spektrofotometrik ölçümlerde kullanılan pratik bir yaklaşımı durum buğdayında lipoksijenaz (LOX) hidroperoksidasyon aktivitesini belirlemek için kullanmışlardır. Reaksiyon ortamı olarak kullanılan tamponlu linoleik asit solüsyonunun nötr ve daha düşük pH değerlerinde yeterli seviyede optik açıdan berrak olmadığı gözlemlenmiştir. Optik berraklık, sadece absorbans ölçümünden önce, reaksiyona girmemiş linoleik asit sodyum tuzunun oluşumu ile elde edilmiştir. Durum buğdayındaki LOX, pH ve sıcaklık optimal açıdan ve bunun yanı sıra kinetik parametreleri bakımından da karakterize edilmiştir. Maksimum linoleik asit hidroperoksidasyon faaliyetler pH 5,0 ve PH 6,5 ile 40 °C olarak belirlenmiştir. Linoleik asit için durum buğday LOX aktivitesi, Michaelis sabiti (Km) ve maksimum hidroperoksidasyon aktivitesi hızı (Vmaks) sırasıyla $0,131 \pm 0,019$ mM ve $42,37 \pm 3,32$ birim / protein / dakika mg olarak hesaplanmıştır. Bu yöntemin durum buğdayının ve öğütme fraksiyonlarının LOX aktivitesinin belirlenmesi için yararlı olabileceği ortaya konulmuştur (Gökmen ve ark., 2007).

Buğday kalitesinin belirlenmesinde lipoksijenazın rolünün araştırıldığı bir diğer çalışmada endojen lipoksijenaz aktivitesi arasındaki korelasyon analizi ve üç ekmeklik buğday popülasyonlarında enzim aktivitelerinin, hamur deformasyon enerjisi, hamur mukavemet ve karıştırma özellikleri ağırlığını etkilediği gösterilmiştir (Permyakova ve ark., 2010). Enzim aktivitesi arasındaki korelasyon ve temel kalite parametrelerinin yüksek aktiviteli seviyelerinde negatif olduğu saptanmıştır. İncelenen tüm kalite parametreleri maksimum değerlere sahip olduğu spesifik lipoksijenaz aktivitesinin optimum değerlerinin $108,5 \pm 1,2$ ile $126,4 \pm 1,9$ aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun gluteni güçlendirmek için lipoksijenaz aktivitesi uzayabilirliğinin azaltılması ile ilgili olduğu tespit edilmiştir (Permyakova ve ark., 2010).

Pshenichnikova ve ark. (2008), durum buğday tanelerinin disülfid redüktaz ve lipoksijenaz aktivitesi ile ilişkili kantitatif karakter lokuslarının (QTL) haritalanması konulu çalışmada lipoksijenaz enziminin, bir alt biriminin yapısal olarak genin yakınındaki 4BS kromozomunda bulunan QTL ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bu enzimin ve gluten kalitesinin herhangi bir özelliğiyle ilgili ortak hiç bir QTL bulunamamıştır. Disülfid redüktaz aktivitesinden sorumlu olan dört lokusun kromozom 4A, 5D, 6A ve 7D' de olduğu tespit edilmiştir. Daha önce elastiklik, un canlılığı ve tane sertliği gibi tahıl ve un özellikleri gibi göstergeler aynı lokusta haritalanmıştır. Bu bir enzimin buğday olgunlaşması sırasında protein kompleksinin oluşumuna katıldığını göstermektedir. Tespit edilen QTL'nin gluten oluşumunun devamlılıklarını belirtmek için tasarlanan daha başka genetik çalışmalarda yer alabileceği ortaya konulmuştur.

Tam buğday unları içindeki lipoksijenaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla farklı *Triticum* türlerine (*Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* ve *Triticum aestivum*) ait elli yedi çeşidin LOX aktiviteleri incelenmiştir (Hidalgo ve Brandolini, 2012). En yüksek enzim aktivitesinin *T. aestivum* ($8,02 \pm 0,492 \mu\text{mol/dak/g DM}$)' ın ardından *T. turgidum* ($3,48 \pm 0,701$) ve *T. monococcum* ($0,45 \pm 0,072$)' da olduğu tespit edilmiştir. Lipoksijenaz aktivitesi *T. aestivum* çeşitlerinde sürekli olarak yüksek iken, *T. monococcum* örnekleri arasında sürekli düşük olduğu ve *T. turgidum* örneklerinde ise düşük, orta ve yüksek olarak üç farklı grupta görüldüğü tespit edilmiştir. Enzimatik aktivite pH 5-6 aralığında maksimum olmuştur. Sonuçlar düşük LOX aktiviteli genotip seçiminin, oksidatif degradasyonunu sınırlayan bir faktör olduğunu göstermiştir (Hidalgo ve Brandolini, 2012).

Ekmek ve makarnalık buğdayların antioksidant içerikleri ile, lipoksijenaz ve peroksidaz aktivitelerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada potansiyel yararlı bileşenler, on adet ekmeklik (*T. aestivum* L.) ve on adet makarnalık (*T. durum* Desf.) buğday genotiplerinde incelenmiştir (Zilic ve ark., 2010). Buna ek olarak lipoksijenaz (LOX) oranı etkinliği ve peroksidaz (POD) antioksidan metabolizmasından sorumlu enzimler tespit edilmiştir. Buğday genotipleri değişken antioksidant özellikleri göstermiştir. Sonuçta ekmeklik ve makarnalık buğday arasındaki proteinlerdeki önemli farklılıkların antioksidant bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Yüksek total proteinlerin, yaş glutenin ve antioksidant içeriğinin düşük LOX ve POD faaliyetleri ile

birlikte makarnalık buğdayın, ekmeçlik buğdaya göre daha yüksek bir besin değeriine sahip olmasını belirlediğı ifade edilmiştir.

Makarna ürünlerinde düşük kaliteye yol açan, ham protein özütündeki irmiğın LOX etkinliğı üzerine yapılan bir çalışmada (Pastore ve ark., 2000), lipoksijenaz aktivitesi için yeni bilgiler elde etmek, özellikle de antioksidantların α tokoferol olup olmadığını öğrenmek ve L askorbatın irmik ağartmasındaki rolünün LOX'a bağılı olarak engellenebilmesi gibi kriterler spektrofotometrik teknikler vasıtasıyla incelenmiştir. Yapılan ölçümlerde birden fazla LOX aktivitesi varlığı göstermiştir. Linoleat hidroperoksidasyon ve β -karoten ağartılması güçlü bir şekilde α tokoferol ile inhibe edilmiştir. Özellikle de β -karoten ağartılması inhibe edilmiştir. Bu nedenle makarna yapımı sırasında irmik ağartılmasını azaltmak için α tokoferol ve L-askorbatın kullanımı önerilmiştir. Çalışmada irmikteki LOX saflaştırma işlemiyle bu iki izoformların varlıkları da saptanmıştır.

Makarnalık buğday çeşitleri arasında lipoksijenaz genlerinin diferansiyel ifadesi konulu çalışmada makarnalık buğday (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.) çeşidinde DNA primerleri ile Lipoksijenaz-1 (LOX-1) bölgesini kapsayan iki oligonükleotid gen bölgesi PZR reaksiyonunda 1200 bp 'lik fragmanı amplifiye edilmiştir. Bu DNA parçası, klonlanmış ve problar hazırlamak için kullanılmıştır. Burada amaç makarnalık buğdayın farklı çeşitlerindeki, RNA seviyesinde LOX genlerini tespit etmek olmuştur. Ön sonuçlar, LOX genlerinin ekspresyonu üzerinde önemli varyasyonların olduğunu göstermiş ve kullanılan makarnalık buğday çeşitlerinin LOX-1 mRNA seviyelerinin irmik β -karoten içeriğı ve irmik sarı indeksinde negatif bir etkisi olduğu saptanmıştır (Manna ve ark., 1998).

Buğday tohumlarında lipoksijenaz izozimlerinin saflaştırılması ve karakterizasyonu adlı çalışmada (Shiiba ve ark., 1991), lipoksijenaz buğday unu hamurunun reolojik özelliklerini geliştiren mekanizmayı araştırmak için, buğday tohumu ile ilgili asetat tamponu ekstrakte edilmiş ve amonyum sülfat ile parçalanmıştır. Lipoksijenaz fraksiyonları kromatografi ile saflaştırılmış ve üç ana izozimleri (L-1 ve L-2, L-3) karboksimetil-Sefaroz kromatografi ile ayrılmıştır. Her bir izozim jel filtrelemesi ve DEAE-sefaroç kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Bu saflaştırılmış izozimler sodyum

dodesil sülfat-poliakrilamid jel kromatografisi ile hemen hemen aynı gerilikte tek bir bant göstermiştir. Bu saflaştırmada lipoksijenaz izozimleri enzimatik özelliklerinin (pH etkinlik profili, termal duyarlılık, alt-tabaka özgülüğü, metal iyonlarının etkisi), amino asit kompozisyonu ve buğday unu üzerindeki etkileri ile karakterize edilmiştir. L-3 izozim ile muamele edilen unun en yüksek köpükendirme aktivitesiyle ekmek yapma kalitesi sergilemiştir.

Randhawa ve ark. (2013), Kanada'da buğday ıslahında moleküler markörlerin kullanılması başlıklı araştırmada markör destekli ıslahın, buğday yetiştiriciliğinde ıslah hatlarıyla ilgili piramit genleri ve ebeveynleri olmak üzere germplazmındaki genlerin ve kantitatif özelliklerin lokuslarını tanımlamak için bir fırsat sağladığını ve moleküler belirteçlerin Kanada'da ticari ekim için geliştirilen çeşitli buğday çeşitlerinde hastalık direnci, tarımsal ve kalite özelliklerinin seçiminde yardımcı olmak için kullanılabileceğini göstermişlerdir. Markör destekli ıslah rutin olarak pas hastalığına dayanıklılığı ve yüksek tane protein içeriğine yönelik kullanılmaktadır. Markörler bölgesel adaptasyon ile ilgili özellikleri hedef ıslah programları içinde seçici olarak kullanılan belirteçlerdir. Örneğin, düşük lipoksijenaz aktivitesi ve düşük kadmiyum için markör destekli ıslah makarnalık buğday ıslahı programları yürütülmektedir. Markörler ayrıca makarnalık buğdayda çavdar mahmuzu direnci için de kullanılmaktadır. Artan gluten gücü alt birimi glutenin yüksek molekül ağırlıklı aşırı ekspresyonu da bir markör ile seçilebilmektedir. Moleküler markörler ayrıca küresel buğday üretiminin ciddi bir şekilde tehdit eden UG99 (TTKS) olarak bilinen kök pas hastalığıyla ilgili kök pas ırklarının bir grubuna karşı direnç genleri (UG99) piramiti oluşturulmak için de kullanılmaktadır. Çalışma sonucunda moleküler belirteçlerin SNP markörleri ile birlikte yüksek verimli genotiplemede geliştirilerek yakın gelecekte genomik araştırmaların kapısını açacağı ve moleküler buğday ıslahında etkin bir şekilde kullanılacağı ifade edilmiştir (Randhawa ve ark., 2013).

Farklı bir araştırmada (Aykut, 2007), markör destekli seleksiyonda kullanabilmek için, kahverengi pas dayanıklılık geni *Lr13*' e ait moleküler markörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. CIMMYT 'den alınmış olan ve her biri farklı kahverengi pas dayanıklılık genini taşıyan 41 adet Thatcher yakın izogenik hattı materyal olarak kullanılmış ve duyarlı yerli çeşit İzmir 85 ile *Lr13* genini taşıyan 12 No' lu dayanıklı hat

(Tc*6/Frontana) arasında melezlemeler yapılmış ve bunların da F1 generasyonu ile bu anaçlar çalışmanın farklı materyalini oluşturmuştur. Thatcher yakın izogenik hatlarından oluşan DNA bulkların ve belirtilen tüm bu materyal SSR ve AFLP markörleri ile incelenmiş, *Lr13* genine ait spesifik markör belirlenmeye çalışılmıştır. DNA ve DNA bulklarında toplam 246 AFLP primer kombinasyonu kullanılmış ve bunlardan 28 adedi 12 No' lu hatta toplam 33 farklı polimorfik bant deseni göstermiştir. Araştırmanın SSR analizleri kısmında yedi primer kullanılmış bunlardan sadece iki tanesinin DNA ve DNA bulklarında polimorfizm gösterdiği tespit edilmiştir. Polimorfik bant deseni gösteren bu primerler ile yakın izogenik hatlarda ve ebeveynlerle birlikte F1 generasyonunda tekrar tarama yapılmıştır. Sonuçlara bakıldığında 6 adet AFLP primer kombinasyonu (E34M70, E45 M67, E43 M75, E49 M67, E47 M64 ve E57 M69) ile mikrosatelit primeri wms 630' un sadece 12 No'lu hatta spesifik bantlar verdiği gözlemlenmiş, bu primerlerin incelenen materyalde *Lr13* genine aday markörler verebileceği tespit edilmiştir. Sonuçta SSR ve AFLP tekniklerinin ekmeklik buğdayda kahverengi pasa dayanıklılık genlerini araştırmada faydalı olduğu belirlenmiştir (Aykut, 2007).

Farklı domates çeşitlerinde domates lekeli solgunluk virüsüne (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV) dayanıklılık geninin markör destekli seleksiyon yöntemi ile belirlenmesi adlı araştırmada (Koca, 2012), daha önce yapılan araştırmalarda yabancı bir domates türü olan *Solanum peruvianum*'da bulunan dominant *Sw-5* geniyle bağlantılı olan genetik markörler geliştirilerek klasik ıslah yöntemlerinin en büyük dezavantajı olan uzun seleksiyon sürelerini kısaltmak için markör destekli seleksiyon yöntemi başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Ancak moleküler markör yardımıyla seleksiyonun (MAS) TSWV'ye dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi ve ıslah çalışmalarında dayanıklı bireylerin tespit edilmesi amacıyla ülkemizde pek yaygın olarak kullanılmadığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda ülkemizde faaliyet gösteren 8 farklı tohumculuk firmasından temin edilen 71 farklı domates çeşidinin *Sw-5* TSWV dayanıklılık genini taşıyıp taşımadıkları gözlemlenmiştir. Yetiştirilen domates fidelerinden genomik DNA izolasyonu yapıldıktan sonra bu çeşitlerin TSWV'ye dayanıklılık durumları daha önce geliştirilmiş olan ve *Sw5* lokusuyla alakalı olduğu gösterilen *Sw-5-2*, CT220 markörleri ve aynı zamanda bu çalışmada geliştirilen *Sw-5a-e* markörüne uygun primerler kullanılarak PZR metoduyla tespit edilmiştir. *Sw-5-2* markörüne spesifik primerlerle yapılan PZR

sonucu 71 örnekten 15 tanesinin TSWV' ye dayanıklı olduğu belirlenmiş ve bunların 14 tanesinin de *Sw-5* geni için heterozigot olduğu tespit edilmiştir. Fakat CT220 markörüne spesifik primerler ile yapılan PZR sonucundaysa 25 tane domates çeşidinin *Sw-5* lokusunu içermediği görülmüş ve TSWV'ye karşı dayanıksız olduğu bildirilmiştir. Çalışmada sonuçları domateste MAS yöntemi kullanılarak *Sw-5* geninin varlığının etkin bir şekilde belirlenebileceğini göstermiştir (Koca, 2012).

Bağcılıkta külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklı çeşit ıslahında, marköre dayalı seleksiyon kullanılması başlıklı çalışmada (Shidfar, 2014), Regent (dayanıklı) × Boğazkere (dayanıksız) ve Regent (dayanıklı) × Kalecik Karası (dayanıksız) üzüm çeşitlerinin melezlenmesi yoluyla elde edilen F1 bitkilerinde, moleküler markörleri kullanarak mildiyö ve külleme hastalığına dayanıklılıkların incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada, kodominant markörlerden SSR (VMC8g9, UDV-15, VMC7F2, VMCNG2F12 ve UDV-305, VMC1g3.2), SCAR markörlerinden (ScoRA7, ScoRN3-32 ve ScoR A14) ve CAPS marköründen (GLP1-12) yararlanılmıştır. F1 melezlerinden seçilen 168 adet (BR) ve 25 adet (KR) bitkilerinin analizleri yapılmıştır. Marköre dayalı seleksiyon yöntemi kullanılan bu çalışmada, toplam 168 F1 (BR) genotiplerinde, SSR markörleri sayesinde (UDV-305, UDV-15) toplam 27 adet bitkide ortak dayanıklılık alleli saptanmıştır. 168 F1 bitkisi üzerinde ScoRA7 ve ScoRA14 primeri ile yapılan taramalar sonunda, toplam 17 adet bitkide ortak dayanıklılık alleli tespit edilmiştir. Yapılan SCAR ve SSR analizleriyle beraber toplam 2 tane ortak F1 dayanıklılık alleli bulunduğu görülmüştür. KR F1 popülasyonunda seçilen 25 adet F1 bitkilerinin toplam genotiplerinde, SSR markörleri kullanılması sonucunda toplam 2 adet bitkide ortak dayanıklılık alleli bulunduğu bildirilmiştir (Shidfar, 2014).

Yapılan bir diğer çalışmada (Ateş Sönmezoğlu ve ark., 2012), Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınmış 20 adet yerel ekmeklik buğday çeşidinin moleküler taramalarının yapılması hedeflenmiştir. Bu amaçla önceden geliştirilmiş farklı mikrosatelit primerleri denenmiş en polimorfik olan 7 tanesi çalışmada kullanılmıştır. 20 adet yerel ekmeklik buğday çeşidinin 10' ar adet aksesyonunun DNA'ları izole edildikten sonra mikrosatelit belirleyicileri kullanılarak PZR ile spesifik DNA bölgelerinin çoğaltılması gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda hem yerel çeşitler arasında hem de yerel çeşitlerin aksesyonları arasında genetik farklılık tespit edilmiştir. Sonuçlara göre

araştırmacılar, yerel ekmeklik buğday çeşitlerinin genetik tanımlamalarının yapılmasında ve uygulanmasında mikrosatelit moleküler markörlerinin başarılı bir şekilde kullanılabilceğini bildirmişlerdir (Ateş Sönmezoglu ve ark., 2012).

Moleküler markör teknolojisi kalite özellikleri bakımından buğday hatlarının seçiminde giderek daha önemli bir rol oynamaktadır. Buğdaydaki hamur özellikleri gibi kalite kriterlerinin kontrolünde yer alan kromozom bölgeleriyle bağlantılı moleküler markörler tahıl kullanımını etkileyen sertlik, irmik kalitesi, un rengi, tane protein içeriğı, nişasta bileşimi ve piyasa kalitesinin belirlenmesi nedeniyle önem arz etmektedir. Markör destekli seleksiyon (MAS), hedef lokusları taşıyan bireylerin seçimi ve farklı kaynaklardan ve farklı özellikler için uygun QTL allellerin gen piramitlenmesine izin vermektedir. MAS'a dayalı kalite ıslahı uygulanmalarında şimdiye kadar elde edilen sonuçların başarılı olmadığı ve diğer özelliklere kıyasla ilerlemenin daha yavaş olduğu gözlenmektedir (Lafiandra ve ark., 2007).

Bitki ıslahında DNA belirteçlerinin potansiyelinin bilinmesiyle birçok tarımsal araştırma merkezi ve bitki ıslahı enstitüleri markör geliştirme ve markör-destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarına ağırlık vermiştir. DNA belirteçleri markör destekli seleksiyon yoluyla verimlilik ve klasik bitki ıslahının hassasiyetini artırmak için büyük bir potansiyele sahiptir. Moleküler belirteçler bitki yetiştiricileri için daha önce mevcut olan klasik fenotipik belirteçler üzerinde çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Bunun yanı sıra bu belirteçler bitkiler yetişirken ve bitki büyümesi ile ilgili tüm aşamalarında saptanabilir çevre koşulları tarafından etkilenmez. İtalya'da makarnalık buğday ve makarnalık buğday nihai kullanım kalitesinin iyileştirilmesi yapılarak dünya çapında son ürünün çok önemli olduğunu gösterilmiş tahıl ile son ürün kalitesi yüksek yeni İtalyan çeşitlerinin geliştirilmesi üzerinde durulmuştur (Menzo, 2011).

Makarnalık buğdayda sarı pigment içeriğı, pigmentasyona katılan karotenoidin renk oluşumu ve antioksidant özellikleri insan sağığı için önemli bir kalite kriteridir. Bu çalışmada makarnalık buğdayda sarı pigment içeriğı ile ilgili bir QTL, (PDW 233) adlı rekombinat inbred hat (RIL) ile yerel çeşit Bhalegaon 4 arasında melezlemeler yapılarak haritalanmıştır. Bu özellik dört yıl boyunca farklı lokasyonlarda değerlendirilmiştir. Kromozom 1A, 3B, 5B, 7A ve 7B'de sarı pigment içeriğı ile bağlantılı olan beş farklı

QTL tespit edilmiştir. Markör analizi ile ISSR ve AFLP markörleri saptanmıştır. Bu belirteçlerin QTL QYp.macs-7A ile bağlantılı olduğu tespit edilerek SCAR belirteçlerine dönüştürülmüştür. Markör destekli seleksiyondaki potansiyeli kanıtlamak amacıyla bu SCAR belirteçleri 38 farklı genotip üzerinde de doğrulanmıştır. Geliştirilen SCAR markörlerinin yüksek sarı pigment içeriği için makarnalık buğdayın markör destekli ıslah için çok yararlı olacağı tespit edilmiştir (Patil ve ark., 2008).

Parlak sarı renk, sertliği ve düşük pişirme kaybı iyi kalitede makarna ürünlerinin üretimi için önemli faktörlerdir. Ancak bu özelliklerin altında yatan genetik faktörler hala tam olarak anlaşılamamıştır. Kompozit mikrosatelit ve SNP (tek nükleotid farklılığı) haritası kullanılarak makarnalık buğdayda QTL analizi adlı çalışmada Bu açığı doldurmak için KOFA çeşidinden (mükemmel makarna kalitesi) ile deneysel hat UC1113 (ara makarna kalitesi) arasındaki melezlemelerden 93 adet rekombinant kendilenmiş hat (RIL) geliştirilmişlerdir. 23 SNP markörler de dahil olmak üzere 269 belirteçleri, toplam 2140 cM toplam uzunluğu kapsayan 14 bağlantı grupları üzerinde düzenlenmiştir. Beş farklı ortamlarda her RIL örneklerinden tam makarna kalite testleri için kullanılmış ve QTL analizleri için her yıl elde edilen sonuçlar kullanılmıştır. Farklı lokus, çevre ve bunların etkileşimlerinin kombine etkisi, her özellik için faktöriyel istatistik programı (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu kromozomlarda 1B, 4B, 6A, 7A ve 7B makarna rengi için büyük bir QTL tespit edilmiştir. 4B’deki QTL makarna işleme sırasındaki pigment bozulmasıyla ilişkili olduğunu düşündürürken, *Lpx-B1.1* lipoksijenaz lokusundaki silinmeye bağlı olduğu anlaşılmıştır. Makarna sertliği ve pişirme kaybını etkileyen QTL kromozomlar 5A ve 7B ‘de tespit edilmiş ve her iki durumda da onların tane protein içeriği ve yaş gluten içeriği QTL ile örtüştüğü saptanmıştır. Bu son iki parametre, yüksek makarna sertliği ($R>0,71$) ve ters pişirme kaybı ($R<-0,37$) ile korelasyonu bulunmuştur. Lokasyon ve tane büyüklüğü ve ağırlığı, gluten gücünü etkileyen diğer QTL, karıştırma özellikleri ve kül içeriğinin etkisi de tartışılmıştır (Zhang ve ark., 2008).

Lipoksijenaz aktivitesi buğdayda depolama stabilitesi ile yakından bağlantılıdır ve *Lpx-1* lokusundadır. Lipoksijenaz kodlayan genlerin lipoksijenaz etkinliği açısından çok önemlidir (Li ve ark., 2009). Bu çalışmada *Lpx-1* genine spesifik moleküler markörler, 39 makarnalık buğday materyalinde *Lpx-B1*’in delesyonunun tespitinde

denenmiştir. Sonuçlar gösterdiği 39 makarnalık buğday materyali içinde % 20,5 'lık kısmı olan sekiz tanesinde delesyon tespit edilmiştir. Kofa, Kronos, P1583723, P1470761 vb. içeren *Lpx-B1.1*' deki delesyonla alakalı bu materyaller çalışmada seçilmiş, mevcut makarnalık ve ekmeklik buğday ıslah programlarında öncü olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Renk makarnalık buğday için önemli bir kalite özelliğidir. Özellikle kuru (şehriye, spagetti ve macaroni) ve taze makarna ürünlerinin imalatında önemlidirler. İrmik ve makarna istenen parlak sarı renk oluşumu, karotenoid pigmentlerin varlığı ve lipoksijenaz (LOX), peroksidaz (POD) ve polifenol oksidaz (PPO) enzimleri tarafından etkilenmektedir. Karotenoidler peroksit radikallerinden çıkarılarak biyolojik membranların oksidatif hasarını azaltarak, antioksidanlar gibi davranır. B-karoten gibi bazı karotenoid pigmentler, insanlarda A vitamini en önemli beslenme öncüleri olan ve dejeneratif Karotenoid içeriği çoğunlukla, genotip-çevre interaksyonundan etkilenen kantitatif bir özelliktir. Bu özellikler birden fazla gen tarafından kontrol edilir. Bu QTL'ler ile bağlantılı moleküler belirteçler MAS için yararlı araçlardır. Pigment içerikleri ve bozulmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genler klonlanmış ve özel markörler (STS) geliştirilmiştir (Roncallo ve ark., 2009).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada daha önce yürütülen bir TÜBİTAK projesinde (COST 1070004) birbiriyle bağlantılı olan ve γ -45 gliadini içeren *Gli-B1* ile *LMW-2* glutenini içeren *Glu-B3* lokuslarının aynı geri melezleme programında beraberce aktarılmasıyla elde edilen iki adet ileri ıslah hattı (TMB2 ve TMB3) kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Makarnalık buğday ileri ıslah hatları lipoksijenaz aktivitesi düşük olduğu bilinen Gediz-75 makarnalık buğday çeşidi ile melezlenerek F1 generasyonu elde edilmiştir. Her bir anaçtan yaklaşık 50'şer adet melez tohum elde edilmesi amaçlanmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makarnalık buğday ıslah hatları

Kodu	Melez Ailesi	Geri Melez Kodu
TMB2	Salihli-92 // Kyle	TMB2 GM4F4
TMB3	Kızıltan-91 // Kyle	TMB3 GM4F4

(*TMB: Türk Makarnalık Buğdayı)

Öncelikle melezleme çalışmaları için genotiplere ait tohumlar 15 gün arayla üç farklı tarihte (15 Eylül – 15 Ekim 2014) 5'er adet saksıya (3 lt hacimli) ekilerek serada yetiştirilmiştir (Şekil 3.1). Böylece iki farklı melezleme kombinasyonu gerçekleştirilmiştir. Melezleme çalışmaları ve bitkilerin yetiştirilmesinde Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi yarı otomatik kontrollü araştırma serası kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Saksıya ekilen bitkilerin serada yetiştirilmesi

Bağışlayan anaç (Gediz-75) ile tekrarlanan anaçların (TMB2 ve TMB3) her biri melezlenerek (Şekil 3.2) iki farklı kombinasyona ait 50'şer adet F1 tohumu elde edilmiş, bu tohumlar çimlendirilerek DNA'ları ekstrakte edilmiş ve aktarılan gen bölgesi ile ilgili moleküler taramalar yapılmıştır. Çalışmada elde edilen F1 bitkileri ve kısaltmaları Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Melezlenen bitkilerden bir görünüm

Çizelge 3.2. Çalışmada elde edilen F1 ıslah hatları ve kısaltmaları

Kodu	Melez Ailesi	F1 Bitki Kodu
TMB2 GE	TMB2 // Gediz-75	TMB2//GE F1
TMB3 GE	TMB3 // Gediz-75	TMB3//GE F1

3.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için melezlemelerden elde edilen buğday tohumları ve anaç bitkiler petrilere ekilerek iki yapraklı döneme kadar büyütülmüş, yaprak örnekleri alınmış ve genç yapraklarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bazı değişikliklerle standardize edilerek F1 bitkilerinin ve anaç genotiplerin DNA ekstraksiyonunda kullanılan izolasyon metodu aşağıda verilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990).

1) 1,5 cm boyunda bir yaprak önce ependorf tüpte sıvı azot içinde öğütülür ve daha sonra üzerine 500 µl buffer ilave edilir.

* 100 ml buffer hazırlamak için;

- 65 ml ddH₂O
- 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 buna
- 1 gr CTAB ile
- 1 ml 14 M Beta Merkaptol Etanol (BME) eklenir.

2) Bir ünite Proteinase K eklendikten sonra vortekste karıştırılır.

3) 80 µl % 10 SDS eklenerek 65 °C’deki su banyosunda 3 saat tutulur ve ara sıra alt üst edilerek karıştırılır.

4) Su banyosundan çıkarılan tüplere 2 / 3 hacim (400 µl) kloroform:isoamil alkol (24:1) eklenir. 10-15 dakika alt üst edilerek karıştırılır.

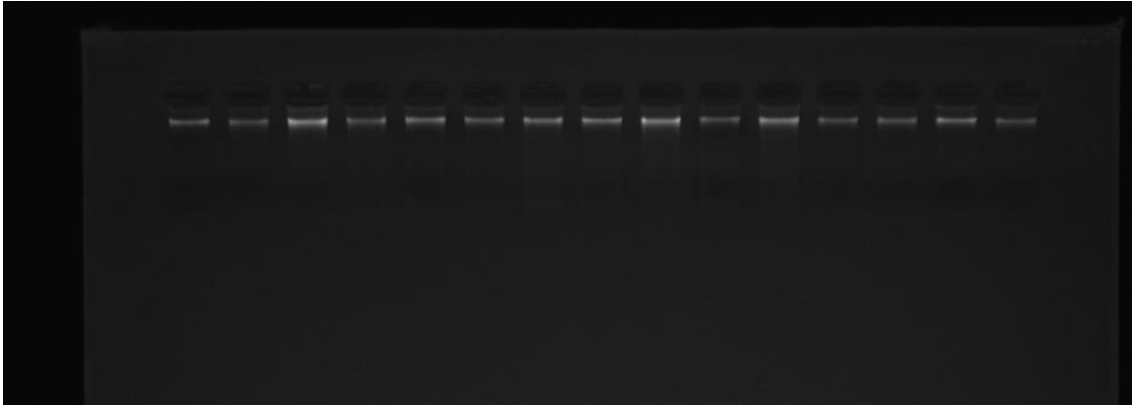
5) 10.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilir.

6) Süpernatant 2 / 3 hacim (400 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.

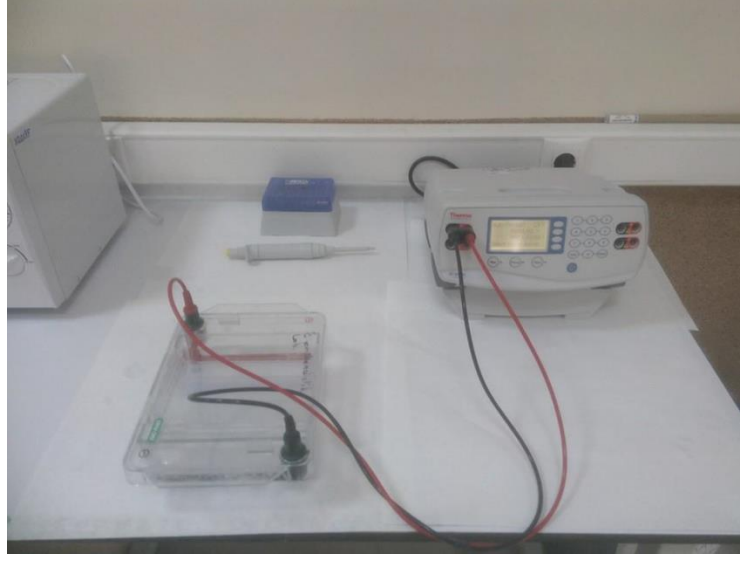
- 8) Sıvı dökülür. Pelet kuruduktan sonra 400 µl 1 x TE eklenir. Peleti eritmek için tüpler 65 ° C 'deki su banyosunda 2 saat tutulur ve ara sıra alt üst edilerek karıştırılır.
- 9) 1 µl RNase (10 mg / ml) eklenir. DNA 60 ° C'deki su banyosunda 1 saat eritilir.
- 10) 400 µl kloroform:isoamil alkol (24:1) eklenir. Tüpler 10-15 dakika alt üst edilerek karıştırılır.
- 11) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.
- 12) Süpernatant 26 µl 5 M NaCl içeren yeni bir ependorf tüpe alınır. 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 1200 µl % 70 soğuk etil alkol ile dikkatlice yıkanır. Ters çevrilmiş halde 2 saat kurutulur.
- 16) Kuruyan pelet 100 µl 1 x TE' de çözülür.

F1 ve anaç bitkilerin her birinden alınan yaprak örneklerinde DNA izolasyonu yapılmıştır. Yaprak örnekleri en genç yapraklardan alınmıştır. Elde edilen DNA' lar % 1'lik agaroz jelde koşulmuş ve görüntülenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. İzole edilen DNA örneklerinin agaroz jeldeki görünümü

DNA örneklerinin yüklendiği 120 ml % 1'lik agaroz jeller; 1,2 gr Agaroz (LONZA SeaKem® LE Agarose, 50004), 24 ml 5× TBE, 96 ml ddH₂O ve 8 µl Ethidium Bromür (10 mg/ml) içermektedir. Bu çalışmada DNA örneklerinin yürütülmesinde kullanılan agaroz jel elektroforez sistemi (Thermo Scientific EC 1000 XL Power Supply) Şekil 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.4. Jellerin yürütüldüğü elektroforez ünitesi

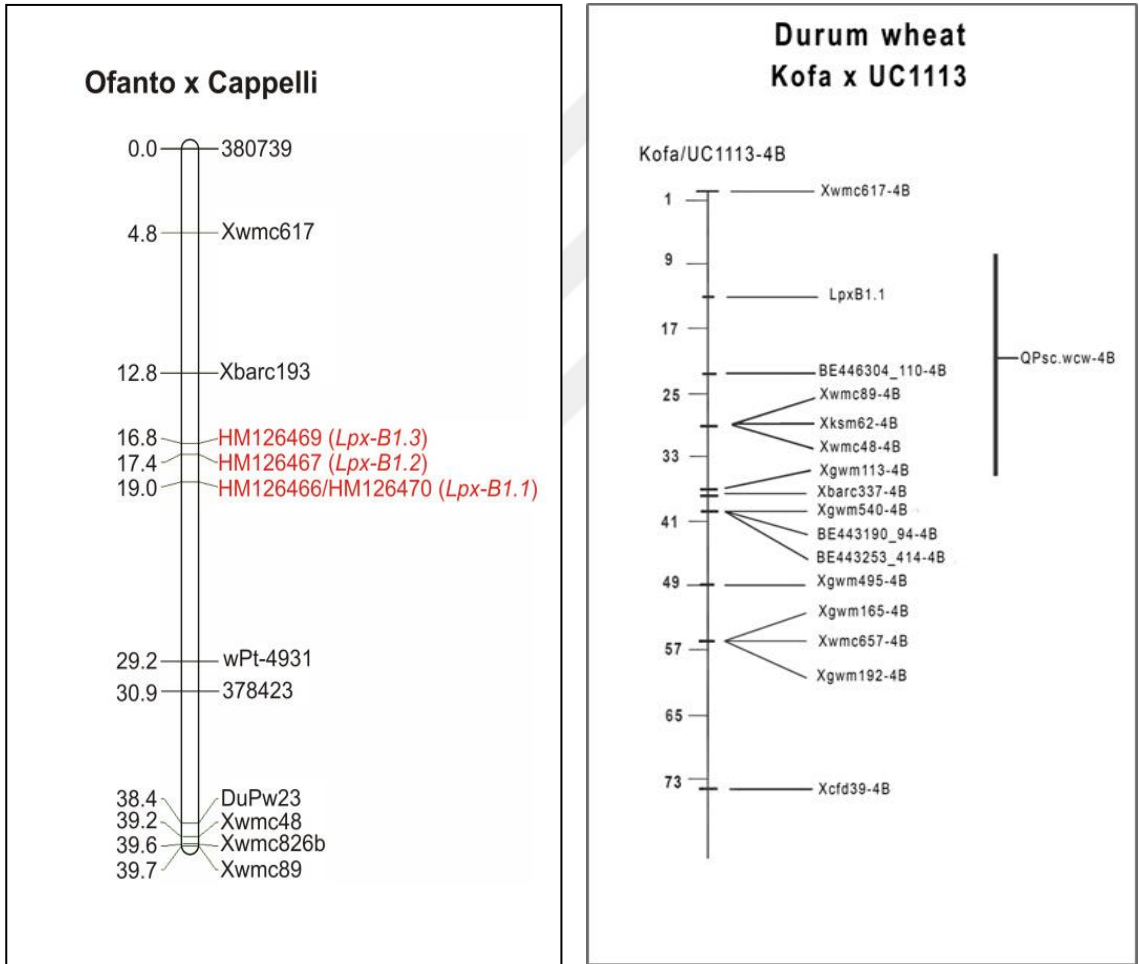
Yürütülen DNA ve PZR ürünlerinin görüntülenmesinde kullanılan UV transilatör (BIO-RAD Chemi DOC MP Imaging System) Şekil 3.5' de verilmiştir.



Şekil 3.5. Jel görüntüleme için kullanılan UV transilatör

3.3. Markör Destekli Seleksiyon

Elde edilen F1 bitkilerinin ilgili gen bölgelerini taşıyıp taşımadıkları, genlere özel markörlerle taranarak saptanmıştır. İzole edilen tüm DNA'lar, *Lpx-B1.1* (4B kromozomu kısa kolunda bulunan) lokusunun varlığı açısından taranmışlardır (Şekil 3.6). Bu amaçla Geng ve ark. (2011) ile Somers ve ark. (2004) tarafından geliştirilen ve bu gen bölgesiyle bağlantılı olan mikrosatellit (SSR) markörleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3).



Şekil 3.6. 4BS Kromozomunda bulunan *Lpx-B1.1* gen bölgesiyle bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları (Verlotta ve ark., 2010). (Rakamlarla gösterilen değerler cM cinsinden uzaklıkları ifade etmektedir)

Polimer Zincir Reaksiyonu (PZR) işlemleri farklı primerler için, kaynak makalelerinde belirtilen şartlara göre gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2). Aktarımda kullanılacak markörler melezlemede kullanılacak anaçlar arasında polimorfik özellik göstermek zorunda olduğundan, farklı haritalardaki markörler denenmiş en polimorfik markörler belirlenerek çalışmada kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Farklı haritalardan alınan ve *Lpx-B1.1* ile bağlantılı olan SSR markörleri

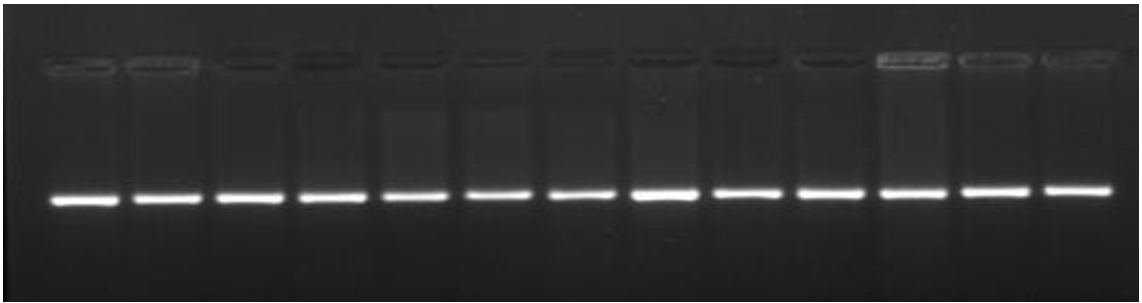
SSR Markörleri	Primer Dizisi (5'--- 3')	Genetik Harita Kaynağı
Xwmc 48	F- GAGGGTTCTGAAATGTTTTGCC R- ACGTGCTAGGGAGGTATCTTGC	Somers ve ark., 2004
Xwmc 89	F- ATGTCCACGTGCTAGGGAGGTA R- TTGCCTCCAAGACGAAATAAC	Somers ve ark., 2004
Xgwm 408	F- TCGATTTATTTGGGCCACTG R- GTATAATTCGTTACAGCACGC	Röder ve ark., 1998
Xbarc 193	F-GCGCATCCATATTTTTCCAGCAAGCACTT R- GCGTTCTTGTGGTTTCTATTTTCT	Jsong ve ark., 2005

Yapılan ön taramalarda çok sayıda primer denenmiş (Xbarc 193, Xgwm 113, Xwmc 48, Xwmc 89, Xwmc 617, Xgwm 408, Lpx B1s1, LOX A, Lpx B11a, Lpx B11c, Lpx B12, Lpx B13) ve her anaç için en polimorfik olan primerler tespit edilmiştir (Çizelge 3.2). Bu primerler kullanılarak yapılan PZR işleminin gerçekleştirildiği thermal cycler (BIO-RAD C1000 Touch Thermal Cycler) Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. PZR’de kullanılan thermal cycler

PZR işlemi her bir primer için kaynak makalelerinde gösterilen şartlarda yapılmıştır. Her bir reaksiyonda; 250 nM primer, deoksिनükleotidlerin her birinden 0,2 mM dNTP, 2,0 mM MgCl₂, bir ünite *Taq* Polimeraz enzimi ve 50-100 ng kalıp DNA kullanılmıştır. Bir PZR işlemi; 94 °C’ de 5 dakika ön denatürasyondan sonra; 37 sirkülasyondan (cycle) oluşan 94 °C’ de bir dakika denatürasyon, primere bağlı olarak 50 - 60 °C ’de bir dakika primerlerin bağlanması (annealing), 72 °C’ de bir dakika uzatma ve 72 °C’ de beş dakika son uzatma aşamalarından oluşmaktadır. Elde edilen PZR ürünleri de % 2’ lik agaroz jelde (220 ml jel; 4,4 gr agaroz, 44 ml 5×TBE, 176 ml ddH₂O, 20 µL 10 mg/ml ethidium bromide) veya % 3’ lük metaphore (Lonza MetaPhor® Agorose, 50180) agaroz jelde (220 ml jel; 6,75 gr metaphore agaroz, 44 ml 5× TBE, 176 ml dH₂O, 14 µl 10 mg/ml ethidium bromide) koşulmuştur (Şekil 3.8).

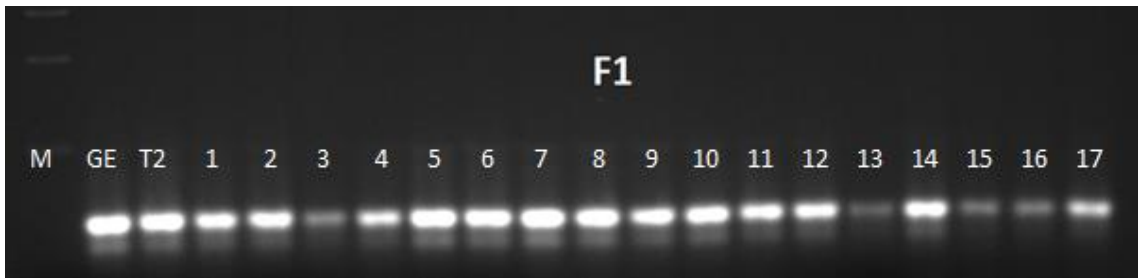


Şekil 3.8. Agaroz jelde yürütülen PZR ürünleri

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

İlk aşamada bağışlayan anaç (Gediz-75) ile tekrarlanan anaçlar (TMB2, TMB3) melezlenerek iki farklı kombinasyona ait (TMB2//Gediz-75 ve TMB3//Gediz-75) F1 bitkileri elde edilmiştir. Herbir melez kombinasyonundan 50' şer adet F1 bitkisi elde edilmiştir. F1 tohumları petrilere ekilerek çimlendirilmiş ve viyollere şaşırtılmıştır. İki yapraklı döneme gelen F1 bitkilerinin ve anaç genotiplerinin DNA izolasyonları yapılmış, aktarılan gen bölgesiyle (*Lpx-B1.1*) ilgili moleküler taramalar yapılmıştır. Böylece *Lpx-B1.1* genini taşıyan heterozigot bitkiler markör destekli seleksiyon (MAS) yardımıyla seçilmiştir. Bu amaçla 4BS kromozomunda bulunan *Lpx-B1.1* gen bölgesiyle bağlantılı olan farklı DNA markörleri ile (Xbarc 193, Xgwm 113, Xwmc 48, Xwmc 89, Xwmc 617, Xgwm 408, Lpx B1s1, LOX A, Lpx B11a, Lpx B11c, Lpx B12, Lpx B13) elde edilen PZR ürünleri % 3' lük metaphore agaroz jel ve % 2' lik agaroz jellerde koşulmuş ve anaçlar arasında polimorfizm özellikleri incelenmiştir.

Kullanılan primerlerden Lpx B1s1, Lox A, Lpx B11a, Lpx B11c, Lpx B12, Lpx B13, Xgwm 113, Xwmc 617, Xcln 10 primerleri ile yapılan PZR taramaları sonucunda jel görüntülerinde anaçlar ve Gediz-75 arasında polimorfizme rastlanmamıştır. Heterozigot bitkiler bu primerler ile tespit edilemediğinden çalışmada bu primerler markör destekli seleksiyonda kullanılmamıştır. Bu bağlamda Lpx B12 primeri hibrit seçiminde değerlendirmeye alınmamıştır (Şekil 4.1).



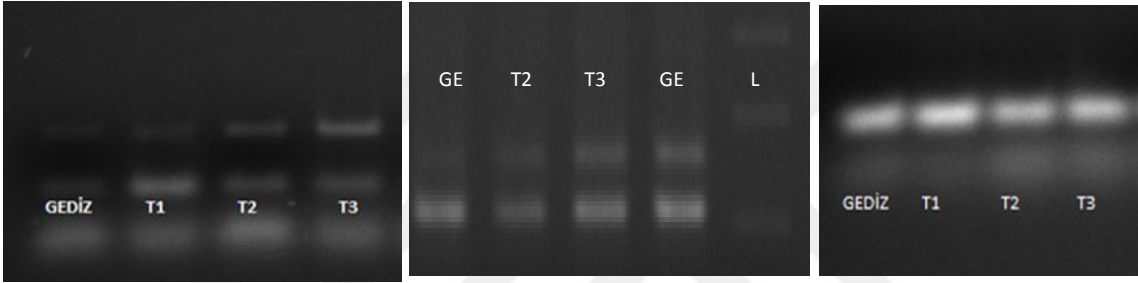
Şekil 4.1. Lpx B12 primeri ile TMB2//GE melez ailesine ait taramalar

Xwmc 617 primeri kullanılarak elde edilen PZR görüntüleri incelenmiş herhangi bir bant ayrımı bulunamadığından melez seçiminde dikkate alınmamıştır (Şekil 4.2).



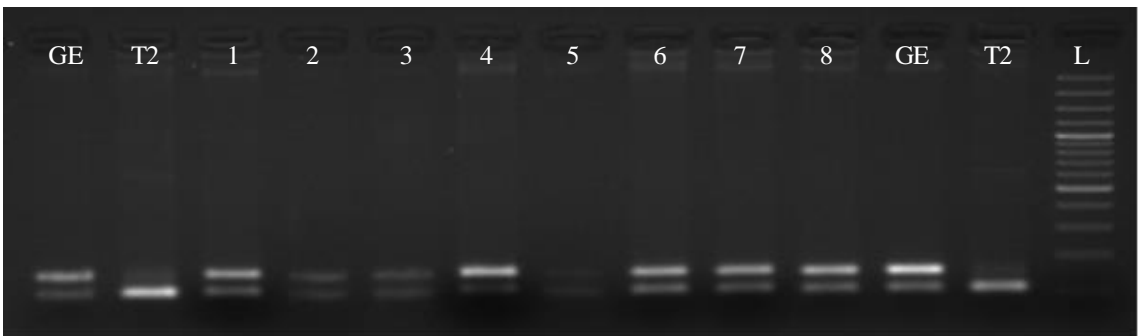
Şekil 4.2. F1 bitkilerinde Xwmc 617 primeri ile yapılan taramalara ait jel görüntüsü

Çalışmada denenen diğer primerlerden Lpx B11a primeri, Lpx B11c primeri, Lpx B13 primerlere ait PZR taramalarında anaçlar arasında polimorfizm gözlenmediğinden F1 bitkilerinin seçiminde değerlendirmeye alınmamıştır (Şekil 4.3) .



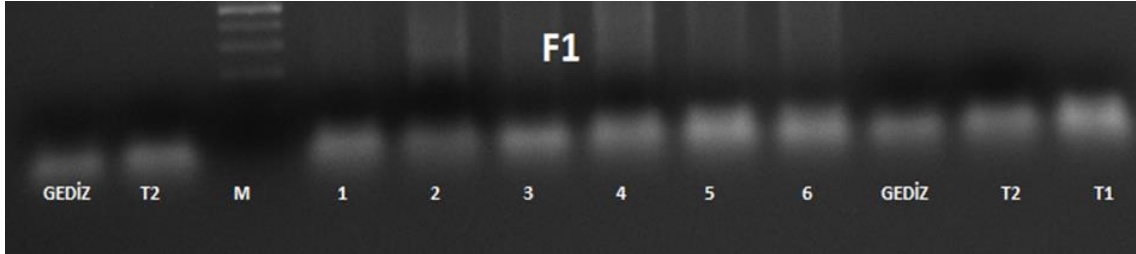
Şekil 4.3. Lpx B11a, Lpx B11c ve Lpx B13 primerlerine ait agaroz jel görüntüleri

Anaç genotiplere ait DNA' lar da Xgwm 113 primeri kullanılarak elde edilen PZR ürünlerinde anaçlara ait bantların aynı büyüklükte olması nedeniyle polimorfik olmadığı tespit edilmiş ve bu tez çalışmasında moleküler taramalarda kullanılamamıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Xgwm 113 primeri ile TMB2//GE melez bitkilerinde yapılan taramalara ait agaroz jel görüntüsü

İlgili lokusla bağlantılı STS primeri (Xcni 10) kullanılarak elde edilen PZR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi sonucunda polimorfizm saptanamadığından F1 seçiminde değerlendirilmemiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Xcni 10 primeri ile yapılan taramalara ait agaroz jel görüntüsü

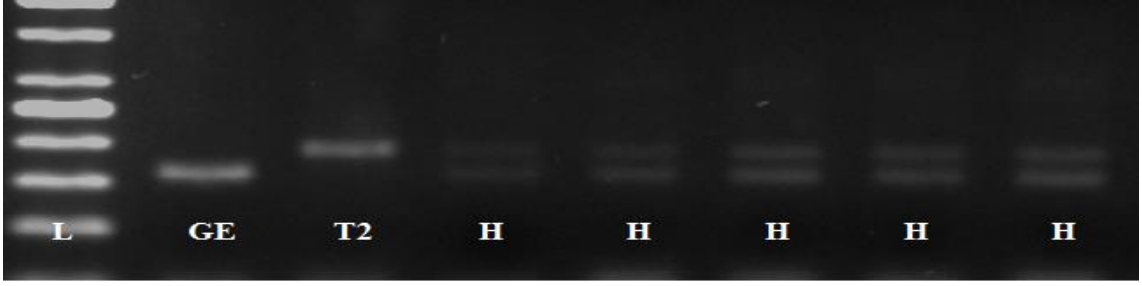
Çalışmada farklı primerlerle anaçlar arasındaki moleküler farklılıklar jel taramalarında tespit edilmiştir. Xgwm 408 primerinin Gediz-75 ve TMB2 arasında, Xwmc 48 primeri Gediz-75 ve TMB2 ile Gediz-75 ve TMB3 arasında, Xwmc 89 primerinin TMB3//Gediz-75 melez ailesinde, Xbarc 193 primerinin ise TMB2//Gediz-75 ve TMB3//Gediz-75 hatlarına ait anaçlar arasında polimorfik olduğu belirlenmiştir. Bu nedenlerle moleküler taramalarda TMB2//GE F1 bitkileri için Xwmc 48, Xbarc 193 ve Xgwm 408 primeri kullanılmış, TMB3//GE melez ailesi için ise Xwmc 48, Xwmc 89 ve Xbarc 193 primeri kullanılmıştır.

Kullanılan Xgwm 408 primeri ile yapılan PZR taraması ile elde edilen örneklerin % 2' lik agaroz jelde görüntülenmesi sonucunda Gediz-75 ve TMB2 hattı arasında yüksek oranda polimorfizm görülmüş ve TMB2//GE hatlarına ait heterozigot bitkiler belirlenmiştir (Şekil 4.6 - 4.7). Ancak anaçlar arasında polimorfizm saptanamadığı için Xgwm 408 primeri TMB3//GE F1 bitkileri taramasında kullanılamamıştır.



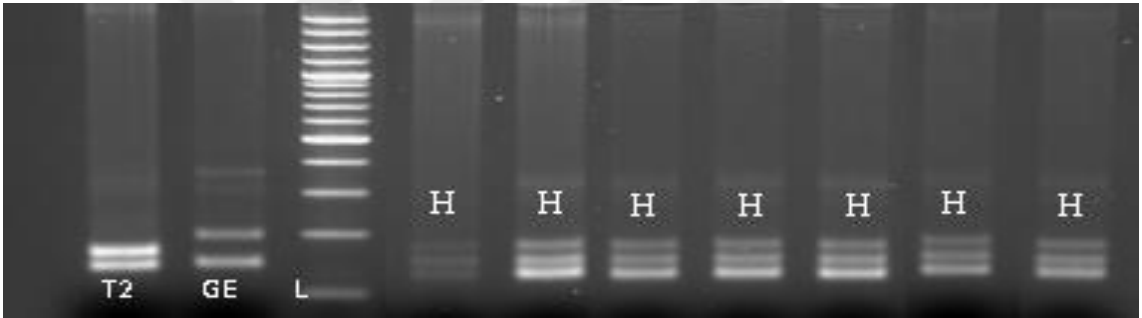
Şekil 4.6. Xgwm 408 primeri kullanılarak TMB2//GE F1 bitkilerinin saptanması

(H: Heterozigot, L: 100 bç Ladder)

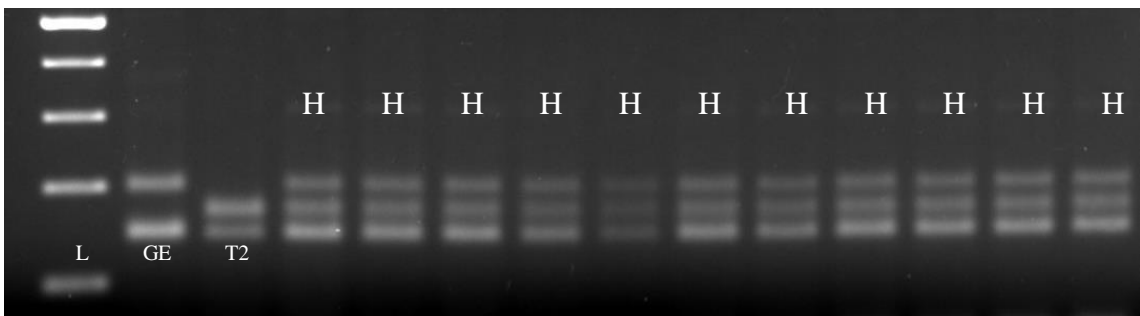


Şekil 4.7. TMB2//GE F1 bitkileri için Xgwm 408 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü

Xwmc 48 primeri kullanılarak yapılan PZR taraması sonucunda örneklerin % 2'lik agaroz jelde görüntülenmesiyle Gediz-75 ve TMB2 anaçları arasında polimorfizm olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8 ve 4.9). Xwmc 48 primeri TMB2//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinin moleküler taramasında kullanılmıştır.

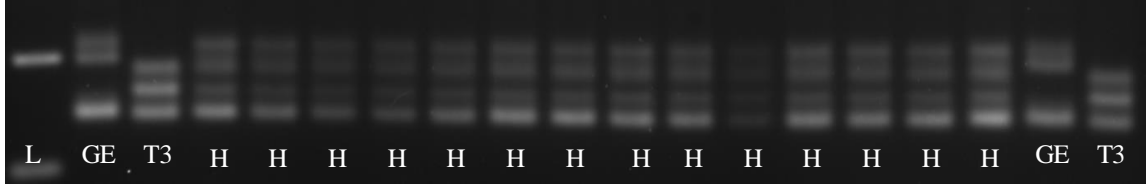


Şekil 4.8. TMB2//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinde Xwmc 48 primeri ile yapılan moleküler taramalar (H: Heterozigot, L: 100 bç Ladder)

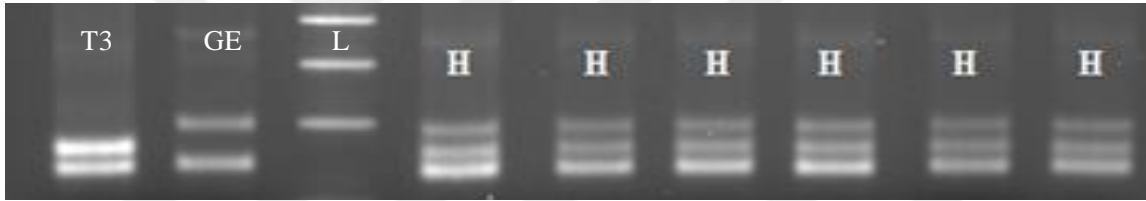


Şekil 4.9. TMB2//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xwmc 48 primeri ile seleksiyonu

Lpx-B1.1 geninin markör destekli seleksiyonu amacıyla kullanılan Xwmc 48 primeri 4BS kromozomu üzerindeki *Lpx-B1.1* lokusundan muhtemel uzaklığı 12 cM olan bu primer ile yapılan taramalar ile elde edilen PZR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi sonunda TMB3//GE melez ailesine ait F1 bitkileri arasından heterozigot olanlar belirlenmiştir (Şekil 4.10 - 4.11).

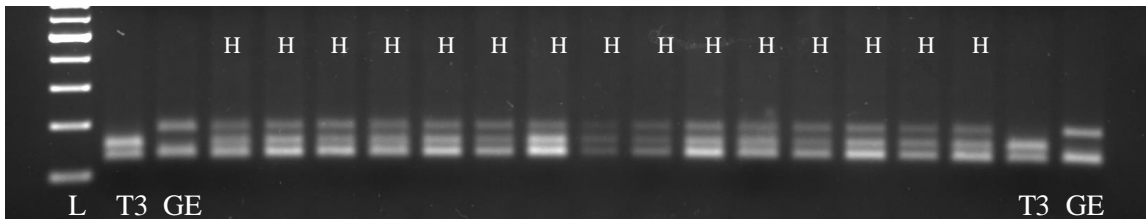


Şekil 4.10. TMB3//GE F1 bitkilerinin Xwmc 48 primeri ile seleksiyonu
(H: Heterozigot, L: 100 bç Ladder)



Şekil 4.11. TMB3//GE melezi için Xwmc 48 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü

Xwmc 89 primeri kullanılarak yapılan PZR taramaları sonucunda bu primerin Gediz-75 ve TMB3 anaçları arasında polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Xwmc 89 primeri ile TMB3//GE melez ailesinde yapılan markör destekli seleksiyona ait jel görüntüsü Şekil 4.12 ve 4.13’ de verilmiştir. Xwmc 89 primeri kullanılarak TMB3//GE melez ailesinin moleküler taramaları yapılmış ve heterozigot bitkiler seçilmiştir.

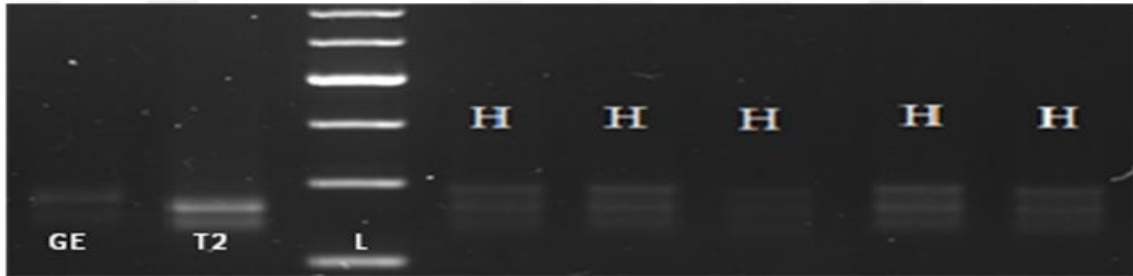


Şekil 4.12. TMB3//GE F1 bitkilerinde Xwmc 89 primeri ile yapılan moleküler seleksiyon

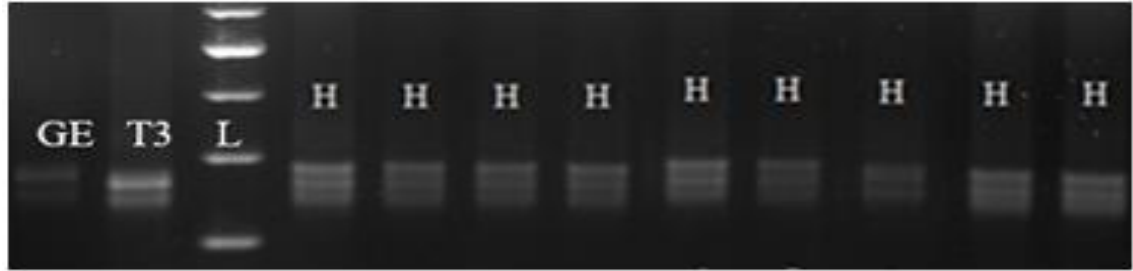


Şekil 4.13. TMB3//GE melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xwmc 89 primeri ile moleküler taramaları

Xbarc 193 primeri kullanılarak yapılan moleküler taramalar sonucunda, Xbarc 193' ün Gediz-75 ile TMB2 ve Gediz-75 ile TMB3 arasında polimorfik olduğu tespit edilmiş ve F1 bitkileri taramalarında kullanılmıştır (Şekil 4.14 ve 4.15).



Şekil 4.14. TMB2//GE F1 bitkileri için Xbarc 193 primeri ile yapılan moleküler taramalara ait agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.15. TMB3//GE F1 bitkileri için Xbarc 193 primeri ile yapılan taramalar

Bu tez çalışmasında hedef genin seleksiyonu için *Lpx-B1.1* gen bölgesini çevreleyen (flanking) Xbarc 193, Xwmc 48 ve Xwmc 89 primerleri birlikte kullanılmıştır.

Araştırmacılar tarafından başka çalışmalarda da moleküler markörler kullanılarak *Lpx-B1* lokusunundaki genler tespit edilmiştir (Li ve ark., 2009). *Lpx-B1* genine spesifik bir çift markör kullanılarak 39 makarnalık buğday genotipinde *Lpx-B1.1*' in takibi

yapılmıştır. Seçilen genotiplerin daha sonra yapılacak ıslah çalışmalarında iyi birer ebeveyn olabileceği ifade edilmiştir.

Benzer bir çalışmada da Geng ve ark. (2011) buğdayda lipoksijenaz aktivitesi değişiminin incelendiği çalışmalarında MAS'da kullanılmak üzere, ekmeçlik buğdayda LOX aktivitesi için kantitatif karakter lokusları belirlenerek SSR markörleri ile eşleştirilmiştir. Geliştirilen SSR markörleri (Xgwm 251 ve Xwmc 312) 198 adet Çin buğday çeşitleri ve ileri ıslah hatları üzerinden doğrulanmış ve LOX aktivitesi ile önemli derecede ($p < 0,01$) bir ilişki gösterdiği kanıtlanmıştır. Sonuçlar Xwmc 312 / Xgwm 251 SSR markör kombinasyonunun LOX aktivitesini değerlendirmek için etkili ve güvenilir olduğunu, buğday esaslı ürünler için markör destekli seleksiyonda (MAS) kullanılabilirliğini göstermiştir. Çalışmamızda kullanılan SSR markörleri de zaman ve uygulama açısından hedeflediğimiz gen aktarımını kolaylaştırmıştır. Ancak Xwmc 312 ve Xgwm 251 primerleri kullandığımız anaç genotipler arasında polimorfik olmadığı için bu tez çalışmasında kullanılamamıştır.

Ateş Sönmezoğlu ve Balkan (2014) yaptıkları araştırmada makarnalık buğdayların LOX enzim aktivitesi ve pigment konsantrasyonunu biyokimyasal ve moleküler taramalar yaparak belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; Gediz-75, Gdem12, Hat -19 ve Zenit makarnalık buğday çeşit ve hatlarının LOX enzim aktivitelerinin oldukça düşük olduğu ve kaliteli bir makarna yapımı için tercih edilebilecekleri ifade edilmiştir. Bu doğrultuda bu tez çalışmasında da LOX enzim aktivitesi düşük olduğu bilinen Gediz-75 donör anaç olarak kullanılmış ve TMB1, TMB2 ve TMB3 hatlarıyla melezlenerek F1 buğday hatları elde edilmiştir.

5. SONUÇ

Bu proje ile daha önce protein kalitesi iyileştirilmiş farklı anaçlardan elde edilen ıslah hatları (TMB2 ve TMB3) LOX enzim aktivitelerinin düşürülmesi amacıyla Gediz-75 makarnalık buğday çeşidi ile melezlenmiş elde edilen F1 bitkilerinden hedeflenen geni taşıyan (*Lpx-B1.1*) bitkiler markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi ile seçilmiş ve böylece daha sonra yapılacak ıslah çalışmalarına temel hazırlamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre buğday hatlarının ıslahında moleküler markörlerin markör destekli seleksiyona dayalı ıslah programlarında yararlı belirteçler olduğu bir kez daha gözlenmiştir. Markör destekli ıslahın, buğday genomunda genleri ve kantitatif karakter lokuslarını tanımlamak için bir fırsat sağladığı, genlerin tespit edilmesinde kullanışlı olduğu benzer çalışmalarda da görülmüş (Randhawa ve ark., 2013) ve kalite özellikleri ile ilgili genlere dayalı ıslah çalışmalarında seleksiyonda kullanılabilirliği saptanmıştır. Moleküler belirteçlerden moleküler buğday ıslahında etkin bir şekilde faydalanabileceği de ifade edilmiştir (Randhawa ve ark., 2013).

Bu tez çalışmasında F1 bireylerini seçerken *Lpx-B1.1* lokusunu tespit etmek için geni çevreleyen markörler sayesinde heterozigot genotipler belirlenmiştir. Makarnalık buğday tohumlarındaki lipoksijenaz aktivite değişiminin incelenmesi konulu farklı bir çalışmada da markör destekli seleksiyonun makarnalık buğday popülasyonunda düşük lipoksijenaz etkinliği olan genotipleri seçmek için yararlı ve kullanışlı olduğu bildirilmiştir (Hessler ve ark., 2002).

Buğday ıslah hatlarının seçiminde markör destekli seleksiyonun önemli bir rol oynadığı benzer bir çalışmada da ifade edilmiş ve kalite özelliklerinin kontrolünde yer alan kromozom bölgeleriyle bağlantılı moleküler markörlerin kullanımının özellikle ıslah işleminin verimliliğini artırdığı tespit edilmiştir (Lafiandra ve ark., 2007). Ayrıca sertlik, irmik kalitesi, un rengi, tane protein içeriği, nişasta bileşimi gibi önemli kalite özelliklerini kontrol eden kromozom bölgelerine yakın moleküler markörlerin tespitinin buğdayın besin kalitesi ve piyasa değeri açısından geliştirilmesini sağladığı bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında da kalite düzeyi üzerinde belirleyici etkiye sahip olan

sarı rengi etkileyen gen bölgesi geri melezleme yoluyla aktarılmıştır. Bu çalışmanın yapılacak yeni ıslah çalışmalarına öncülük edeceği düşünülmektedir.

Elouafi ve ark. (2001), durum buğdayı sarı pigment içeriğine bağlantılı kantitatif karakter lokusları (QTLs) tanımlamış, sarı pigment içeriğinin çevreden ziyade genotipten etkilendiğini ve bu QTL'nin sarı pigment oranını arttırmak için markör destekli seleksiyonda kullanılabileceğini saptamıştır. Benzer bir araştırmada (Menzo ve ark., 2011), kalite özellikleri geliştirilmiş yeni İtalyan buğday çeşitleri geliştirilmesi üzerinde çalışılmıştır. Moleküler markörlerin bitki yetiştiriciliğinde daha önce mevcut olan klasik fenotipik belirteçler üzerinde çok çeşitli avantajlar sağladığı tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışma ile ülkemizde üretilen durum buğday çeşitlerinden daha önce geliştirilen ıslah hatlarının markör destekli seleksiyonla geri melezleme metodu kullanılarak kalite geni bakımından iyileştirilmesi hedeflenmiştir.

Daha önce yapılan bir çalışmada kalite kriteri olan sarı karotenoid pigmentlerin konsantrasyonu *Lpx* lokusu bakımından belirlendiği *Lpx-B1.1* genine bağlı olarak lipoksijenaz aktivitesinin 4,5 kat azalmasına neden olduğu ve irmik renginin istenen düzeyde olmamasının da *Lpx-B1.1* geni ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Carrera ve ark., 2007). Buğdayın 4B kromozomu üzerindeki delesyonları haritalamak için makarnalık UC1113 hattı ile Kofa türü çaprazlanarak moleküler markörler elde edilmiştir. Elde edilen markörlerin bir kısmı çalışmamızda da kullanılmıştır. Gene uzaklığı bilinen bu markörlerin kombine şekilde kullanımı F1 genotiplerinin seçiminde çok yararlı olmuştur.

Yapılan çalışmalarda *Lpx-B1.1* geninin LOX aktivitesinde önemli farklılıklara neden olduğu bildirilmiş, SSR markörlerini kullanarak markör destekli seleksiyon yöntemiyle lipoksijenaz aktivitesi tayininin mümkün olduğu birçok genotipte doğrulanmıştır (Carrera ve ark., 2007; De Simone ve ark., 2010; Geng ve ark., 2011).

Yürütülen bu tez çalışmasında daha önce geliştirilen iki adet ileri ıslah hattı (TMB2 ve TMB3) kullanılmıştır. Ayrıca LOX enzim aktivitesi oldukça düşük olan Gediz-75 makarnalık buğday çeşidi melezlemelerde gen kaynağı olarak kullanılmıştır. Elde edilen F1 generasyonunda hedeflenen gen bölgesi (*Lpx-B1.1*) bakımından heterozigot bitkiler

markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi ile seçilmiştir. Böylece daha sonra yapılacak ıslah çalışmalarına materyal hazırlanmıştır. Çalışmanın devamında yürütülecek proje kapsamında (112T910 numaralı TUBİTAK Projesi) geri melezlemeler yapılarak GM4F1 generasyonuna kadar gidilecek ve kendilemenin ardından GM4F3 tohumlarında detaylı kalite analizleri yapılacaktır. Çalışma sonucunda makarna sanayisine uygun kalite özelliklerine sahip üstün çeşit adaylarının elde edilmesi hedeflenmektedir.

Ülkemizde makarnalık buğday kalitesine yönelik yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması ve makarna üreticilerimizin de makarnalık buğday ithal ettiği göz önünde bulundurulduğunda, makarnalık kalitesini etkileyen gen bölgelerinin mevcut çeşitlerimize aktarılıp kalite özelliklerini geliştirmeye yönelik ıslah çalışmalarının yapılması oldukça önemlidir. Bu bağlamda bu tez çalışmasının ülkemizde *Lpx* genlerinde yapılan moleküler kalite ıslahına yönelik çok az sayıda çalışmadan biri olarak da faydalı olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda yeni ıslah projelerine de katkı sağlaması beklenmektedir.

6. 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.
- Anonim, 2010. Makarna sektörü. www.makarna.org.tr (Erişim Tarihi: 06.01.16).
- Anonim, 2014. World and US durum wheat production in 2014. [http:// www.igc.int](http://www.igc.int) (Erişim Tarihi: 15.10.16).
- Anonim, 2015a. Projected leading 10 wheat producers world wide in 2015/2016. <http://www.statista.com/statistics> (Erişim Tarihi: 15.03.2016).
- Anonim, 2015b. Top Wheat Producing Countries. [http:// www.worldatlas.com](http://www.worldatlas.com) (Erişim Tarihi: 17.07.2016).
- Anonim, 2016a. 2016 Yılı Küresel Buğday Üretimi. <http://www.gidahatti.com/fao-2016-yilinda-kuresel-bugday-uretimi-dusecek> (Erişim Tarihi: 14.04.2016).
- Anonim, 2016b. Türkiye Buğday Üretimi. <http://www.bloomberght.com> (Erişim Tarihi: 14.04.2016).
- Atlı, A., Aktan, B., Şanal, T., Kaplan Evlice, A., Ünsal, S., Dönmez, E., Köten, M., Pehlivan, A. ve Özderen T., 2010. Makarnalık buğdayın kalite özellikleri ve kalite değerlendirme. Makarnalık Buğday ve Mamülleri Konferansı, 17-18 Mayıs 2010, S. 23-33, Şanlıurfa.
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Bozmaz, B., Yıldırım, A., Kandemir, N. ve Aydın N., 2012. Genetic characterization of Turkish bread wheat landraces based on microsatellite markers and morphological characters. *Turkish Journal of Biology*, 36, 589-597.
- Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Balkan, A.S., 2014. Molecular and biochemical analysis of durum wheat genotypes to examine carotenoid pigment content and lipooxygenase enzyme activity. *Cereal Research Communications*, 42(2), 218-228.
- Aykut, F., 2007. Buğdayda kahverengi pasa dayanıklılık genleri ile ilgili moleküler markörler üzerinde araştırmalar. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, İzmir.

- Balkan S.A., 2011. Bazı makarnalık buğday genotiplerinin pigment içeriği ve lipoksijenaz aktivitesi bakımından moleküler ve biyokimyasal analizleri. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Fakültesi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Karaman.
- Barone, R., Briante, R., D'Auria, S., Febbraio, F., Vaccaro, C., DelGiudice, L., Borrelli, G.M., DiFonzo, N. ve Nucci, R., 1999. Purification and characterization of lipoxygenase enzyme from durum wheat semolina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1924-1931.
- 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., Troccoli, A., Fares, C., Trono, D., De Leonardis, A.M., Padalino, L., Pastore, D., Del Giudice, L. ve Di Fonzo, N., 2000. Lipoxygenase in durum wheat: What is the role in pasta colour. *CHIEM - Options Mediterraneennes*, p. 497-499.
- Borrelli, G.M., DeLeonardis, A.M., Fares, C., Platani, C., and DiFonzo, N., 2003. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. *Cereal Chemistry*, 80, 225-231.
- Carrera, A., Echenique, V., Zhang, W., Helguera, M., Manthey, F., Schragar, A. ve Dubcovsky, J., 2007. A deletion at the *Lpx-B1* locus is associated with low lipoxygenase activity and improved pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *Journal of Cereal Science*, 45(1), 67-77.
- 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*, p. 229-236, New York.
- Coşkun, E. ve Ercan, R., 2003 Makarnalık buğdaylarda lipoksijenaz enzim aktivitesinin belirlenmesi. *Gıda*, 28(3), 221-226.
- De Simone, V., Menzo, V., De Leonardis, A. M., Maria Ficco, D. B., Trono, D., Cattivelli, L. ve De Vita, P., 2010. Different mechanisms control lipoxygenase activity in durum wheat kernels. *Journal of Cereal Science*, 52(2), 121-128.

- Delcros, J. F., Rakotozafy, L., Boussard, A., Davidou, S., Porte, C., Potus, J. ve Nicolas, J. 1998. Effect of mixing conditions on the behavior of lipoxygenase, peroxidase, and catalase in wheat flour doughs. *Cereal Chemistry*, 75(1), 85-93.
- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Elgün, A. ve Ertugay, Z., 1995. Tahıl işleme teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 297, Erzurum.
- Elouafi, I., Nachit, M.M. ve Martin, L.M., 2001. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Hereditas*, 135(2-3), 255-261.
- Eserkaya T., Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Yıldırım, A., 2010. Makarnalık buğdaylarda kalite ve kaliteyi etkileyen faktörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 113-120.
- Feng, Y. ve McDonald, C.E., 1989. Comparison of flavonoids in bran of four classes of wheat. *Cereal Chemistry*, 66, 516-518.
- Feng, B., Dong, Z., Xu, Z., An, X., Qin, H., Wu, N. ve Wang, T., 2010. Molecular analysis of lipoxygenase (LOX) genes in common wheat and phylogenetic investigation of LOX proteins from model and crop plants. *Journal of Cereal Science*, 52 (3), 387-394.
- Finney, K.F., Yamazaki, W.T., Youngs, V.L. ve Rubenthaler, G.L., 1987. Quality of hard, soft and durum wheats. *Wheat and Wheat Improvement*, 10, 727-741.
- Fortmann, K.L. ve Joiner, R.R., 1978. Wheat pigments and flour color. Wheat Chemistry and Technology (2nd ed.), Ed: Pomeranz, Y. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN, p. 493-523.
- Garbus, I., Carrera, A.D., Dubcovsky, J. ve Echenique, V., 2009. Physical mapping of durum wheat lipoxygenase genes. *Journal of Cereal Science*, 50(1), 67-73.
- Geng, H., Zhang, Y., He, Z., Zhang, L., Appels, R., Qu, Y. ve Xia, X., 2011. Molecular markers for tracking variation in lipoxygenase activity in wheat breeding. *Molecular Breeding*, 28(1), 117-126.

- Gökmen, S. ve Ateş, Ö., 2005. AB Sürecinde Türkiye’de tahıl üretimi ve politikaları. *Demokrasi Platformu*, 3, 175-197.
- Gökmen, V., Serpen, A., Atli, A. ve Köksel, H., 2007. A practical spectrophotometric approach for the determination of lipoxygenase activity of durum wheat. *Cereal Chemistry*, 84(3), 290-293.
- Hessler, T.G., Thomson, M.J., Benschler, D., Nachit, M.M. ve Sorrells, M.E., 2002. Association of a lipoxygenase locus, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds. *Crop Science*, 42(5), 1695-1700.
- Hidalgo, A. ve Brandolini, A., 2012. Lipoxygenase activity in wholemeal flours from *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and, *Triticum aestivum*. *Food Chemistry*, 131(4), 1499-1503.
- Hoseney, R.C., 1994. Principles of cereal science and technology (2nd ed.). *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN.
- Ivanov, I., Heydeck, D., Hofheinz, K., Roffeis, J., O’Donnell, V. B., Kuhn, H. ve Walther, M., 2010. Molecular enzymology of lipoxygenases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 503(2), 161-174.
- JSong, Q.J., Shi, J.R., Singh, S., Fickus, E.W., Costa, J.W., Lewis, J. ve Cregan P.B., 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 110, 550-560.
- Koca, G., 2012. Farklı domates çeşitlerinde domates lekeli solgunluk virüsüne (Tomato spotted wilt virus, TSWV) dayanıklılık geninin markör destekli seleksiyon yöntemi ile belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Isparta.
- Koyuncu, M., 2009. Yerel durum buğday çeşitlerinin makarnalık kalitelerini etkileyen önemli parametreler bakımından taranması. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Tokat.
- Lafiandra, D., Sanguineti, M. C., Maccaferri, M. ve Deambrogio, E., 2007. Molecular markers and qtl analysis for grain quality improvement in wheat. *In Genomics-Assisted Crop Improvement*, p. 25-50, Springer Netherlands.

- Laignelet, B., 1983. Lipids in pasta and pasta processing. *Lipids in Cereal Technology*, Ed: Barnes, Y., *Academic Press*, p. 269-286, London.
- Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Boussard, A., Potus, J., Chanliaud, E. ve Remesy, C., 2006. Wheat lipoxygenase activity induces greater loss of carotenoids than vitamin E during breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1710-1715.
- Li, B., Xu, Z. B. ve Wang, T., 2009. Selection of durum wheat materials with deletion at *Lpx-B1* locus by molecular markers. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 22(3), 560-562
- Liu, C.Y., Shepherd, K.W. ve Rathjen, A.J., 1996. Improvement of durum wheat pastamaking and bread making qualities. *Cereal Chemistry*, 73, 155-166.
- Manna, F., Borrelli, G. M., Massardo, D. R., Wolf, K., Alifano, P., Del Giudice, L. ve Di Fonzo, N., 1998. Differential expression of lipoxygenase genes among durum wheat cultivars. *Cereal Research Communications*, 26(1),23-30.
- McDonald, C.E., 1979. Lipoxygenase and lutein bleaching activity of durum wheat semolina. *Cereal Chemistry*, 58, 84 - 89.
- Menzo, V.M., 2011. Molecular markers validation to develop a marker assisted selection programme in durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf) Husn.). *Tuscia University, Agrobiology and agro chemistry Department, PhD Thesis*, Viterbo, Italya.
- Morris, S.R., 2004. Grain: Quality attributes. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, C. et al., Elsevier Ltd., p. 238-254, Amsterdam.
- Pastore, D., Trono, D., Padalino, L., Simone, S., Valenti, D., Di Fonzo, N. ve Passarella, S., 2000. Inhibition by α -tocopherol and L-ascorbate of linoleate hydroperoxidation and β -carotene bleaching activities in durum wheat semolina. *Journal of Cereal Science*, 31(1), 41-54.
- Patil, R.M., Oak, M.D., Tamhankar, S.A., Sourdille, P. ve Rao, V.S., 2008. Mapping and validation of a major QTL for yellow pigment content on 7AL in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*). *Molecular Breeding*, 21(4), 485-496.

- Permyakova, M.D., Trufanov, V.A., Pshenichnikova, T.A. ve Ermakova, M. F., 2010. Role of lipoxygenase in the determination of wheat grain quality. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(1), 87-92.
- Pshenichnikova, T.A., Osipova, S.V., Permiakova, M.D., Mitrofanova, T.N., Trufanov, V. A., Lohwasser, U. ve Börner, A., 2008. Mapping of quantitative trait loci (QTL) associated with activity of disulfide reductase and lipoxygenase in grains of durum wheat *Triticum aestivum* L. seeds. *Genetika*, 44(5), 654-662.
- Randhawa, H.S., Asif, M., Pozniak, C., Clarke, J.M., Graf, R.J., Fox, S.L. ve Spaner, D., 2013. Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breeding*, 132(5), 458-471.
- 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(3), 233-242.
- Roncallo, P., Garbus, I., Picca, A., Echenique, V., Carrera, D. A., Cervigni, G. L. ve Miranda, R., 2009. Analysis of the genetic bases of color in durum wheat. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)*, 108(1), 9-23.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. ve Ganal, M. W., 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149(4), 2007-2023.
- Sakin, M., Düzdemir, O., Sayaslan, A. ve Yüksel, F., 2011. Stability properties of certain durum wheat genotypes for major quality characteristics. *Turkish Journal Agricultural and Forestry*, 35(4), 343-355.
- Shidfar, M., 2014. Moleküler markörlerin bağcılıkta külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklı çeşit ıslahında, marköre dayalı seleksiyon (marker assisted selection-mas) amaçlı kullanılması. *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, Ankara.
- Shiiba, K., Negishi, Y., Okada, K. ve Nagao, S., 1991. Purification and characterization of lipoxygenase isozymes from wheat germ. *Cereal Chemistry*, 68(2), 115-122.
- Sissons, M., 2004. Pasta. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, C. Elsevier Ltd., p. 410-418, Amsterdam.

- Somers, D.J. ve Isaac, P., 2004. SSRs from the wheat microsatellite consortium. [http: wheat.pw.usda.gov/qqpexges/DEM/SSR/WMC](http://wheat.pw.usda.gov/qqpexges/DEM/SSR/WMC).
- 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.
- 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.
- Trocchi, A., Borrelli, G.M., De Vita, P., Fares, C. ve DiFonzo, N., 2000. Durum wheat quality. A multi disciplinary concept. *Journal of Cereal Science*, 32, 99-113.
- Verlotta, A., De Simone, V., Mastrangelo, A. M., Cattivelli, L., Papa, R. ve Trono, D., 2010. Insight into durum wheat *Lpx-B1*: a small gene family coding for the lipoxygenase responsible for carotenoid bleaching in mature grains. *BMC Plant Biology*, 10(1), 263.
- 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. ve Whitaker, J.R. *American Chemical Society*, p. 2-7, Washington.
- Yıldırım A., Kandemir N., Sayaslan A. ve Ateş Sönmezoğlu, Ö., 2010. Türkiye’de yetiştirilen tescilli ve yerel makarnalık buğday çeşitlerinin makarna kalitesini etkileyen genler bakımından taranması ve kalite ıslahı. TÜBİTAK COST Projesi (Proje No: 107O004).
- Yüksel, F., Koyuncu, M. ve Sayaslan A., 2011. Makarnalık buğday (*Triticum durum*) kalitesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4, 25-31.
- Zhang, W., Chao, S., Manthey, F., Chicaiza, O., Brevis, J. C., Echenique, V. ve Dubcovsky, J., 2008. QTL analysis of pasta quality using a composite microsatellite and SNP map of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 117(8), 1361-1377.
- Zilic, S., Dodig, D., Sukalovic, V.H.T., Maksimovic, M., Saratlic, G. ve Skrbic, B., 2010. Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and

lipoxygenase and peroxidase activities. *International Journal of Food Science Technology*, 45(7), 1360-1367.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ramazan ÖZBEY
Doğum Tarihi ve Yer : 04.05.1990 / İstanbul
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0553 2818235
E-mail : ramazanozbey37@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Tarih
Lise	İstanbul Pendik Lisesi	2003 – 2007
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2008 – 2012
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2013 – 2016

Yüksek Lisans Tezi: Makarnalık Buğdayda *Lpx-B1* Geni Bakımından Melez Hatların Elde Edilmesi ve Taranması

Lisans Tezi: Likenler

Uzmanlık Alanları:

- Bitki Islahı ve Biyoteknolojisi
- Markör Destekli Seleksiyon
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Optimizasyonu

Bilimsel Çalışmalar

a. Projeler

- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Sayaslan, A., Özbey, R. ve Gündüz, L.N., 2014. Bazı makarnalık buğday ileri ıslah hatlarının markör destekli kalite ıslahı. *TÜBİTAK 1001 Projesi, Proje No: 112T910*, 2013-2014, Proje Bursiyeri.
- Ateş Sönmezoğlu Ö. ve Özbey R., 2016. Makarnalık buğdayda *Lpx-B1* geni bakımından melez hatların elde edilmesi ve taranması. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi BAP Projesi, Proje No: 26-M-15*, Araştırmacı.

b. Katıldığı Kongreler

- Balkan Agriculture Congress, 8-10 September 2014, Edirne, Türkiye (Poster).
- 11. Tarla Bitkileri Kongresi, 7-10 Eylül 2015, Çanakkale, Türkiye (Sunulu Bildiri).

c. Yayınlar

- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Özbey, R., Gündüz, L.N. ve Güleç, T., 2014. Quality breeding of durum wheat lines by employing molecular marker systems. *Balkan Agriculture Congress*, 8-10 September, p. 511, Edirne, Turkey (Poster).
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Gündüz, L.N., Özbey, R. ve Terzi, B., 2014. Marker assisted quality breeding of some advanced durum wheat lines. *International Mesopotamia Agriculture Congress - IMAC*, 22-25 September, p. 52-53, Diyarbakır, Turkey (Sunulu Bildiri).

- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Özbey, R., Güleç, T., Terzi, B. ve Gündüz, L.N., 2015. Makarnalık buğdayda *Lpx-B1* geni bakımından melez hatların elde edilmesi. *11. Tarla Bitkileri Kongresi, 7-10 Eylül 2015, s. 141, Çanakkale (Sunulu Bildiri).*
- Ateş Sönmezoğlu Ö., Yıldırım A., Gündüz L.N., Güleç T., Terzi B., Özbey R., 2015. Makarnalık buğdayda *Gpc-B1* geni bakımından markör destekli geri melezleme ıslahı. *11. Tarla Bitkileri Kongresi, 7-10 Eylül 2015, s. 146, Çanakkale (Sunulu Bildiri).*

