

**MAKARNALIK BUĞDAYDA *GPC-B1* GENİ BAKIMINDAN
MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TANIMLANMASI**

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MAKARNALIK BUĞDAYDA *GPC-B1* GENİ BAKIMINDAN
MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TANIMLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

KARAMAN- 2016

TEZ ONAYI

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ tarafından hazırlanan “Makarnalık Buğdayda *Gpc-B1* Geni Bakımından Melez Hatların Elde Edilmesi ve Tanımlanması” 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. Ahmet YILDIRIM

Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR

Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

İmza:

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.

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MAKARNALIK BUĞDAYDA *Gpc-B1* GENİ BAKIMINDAN MELEZ HATLARIN ELDE EDİLMESİ VE TANIMLANMASI

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Eylül, 2016, 77 Sayfa

Son yıllarda başta demir ve çinko olmak üzere mikro besin elementi ve protein bakımından yetersiz beslenme oranı oldukça artmıştır. Bu nedenle buğday gibi temel besin maddelerinin mikro besin elementlerince zenginleştirilmesi gerekmektedir. Makarnalık buğdayda son yıllarda besin değerinin artırılmasına yönelik çalışmalarda kullanılan en önemli gen bölgelerinden biri protein ve mikro besin elementi miktarında artış sağlayan *Gpc-B1* lokusudur.

Bu çalışmada farklı anaçlardan elde edilmiş üç adet ileri geri melez ıslah hattına (TMB1, TMB2 ve TMB3), protein oranının artırılması ve mikro besin element (Fe, Mn ve Zn) içeriklerinin yükseltilmesi amacıyla *Gpc-B1* geninin aktarılması hedeflenmiştir. Bu amaçla *Gpc-B1* genine sahip olduğu bilinen UC1113-*Gpc-B1* hattı melezlemelerde gen kaynağı olarak kullanılmıştır. F1 generasyonunda hedeflenen gen bölgelerini taşıyan melez bitkileri markör destekli seleksiyon yöntemi ile moleküler markörlerle taranarak belirlenmiştir. Bununla birlikte; sarı pasa dayanıklılığı sağlayan *Yr-36* geni *Gpc-B1* alleliyle bağlantılı olduğu için; *Gpc-B1* geninin aktarıldığı hatlara *Yr-36* geni de aktarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Makarnalık buğday, *Gpc-B1*, MAS, Mikro besin, *Triticum durum*, *Yr-36*.

ABSTRACT

Ms Thesis

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

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

September, 2016, 77 pages

In recent days, insufficient nourishment ratio has been increased in terms of proteins and micro nutrient elements; primarily iron and zinc. For this reason, there is a need for basic food crops like wheat to be enriched with micro nutrient elements. *Gpc-B1* locus located in the short arm of chromosome 6B is one of the most important studied genes in recent research in durum wheat.

In this study, it is aimed to transfer *Gpc-B1* gene to three advanced breeding lines (TMB1, TMB2 and TMB3) from different parents in order to increase protein amount and micro nutrient elements (Fn, Mn and Zn). It was known that UC113-Gpc-B1 line had *Gpc-B1* gene and thus it was used as gene source. Hybrid plants that have the targeted gene in F1 generation were determined using molecular markers by marker assisted selection. Since *Yr-36* gene that provides resistance to yellow rust was associated with *Gpc-B1* allele, it was also transferred to the lines together with *Gpc-B1* gene.

Keywords: Durum wheat, *Gpc-B1*, MAS, Micro nutrient, *Triticum durum*, *Yr-36*.

ÖN SÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, lisans öğrenimimden bu yana maddi ve manevi desteğini asla esirgemeyen, bana her konuda yardımcı olup sabırla destekleyen ve her zaman yanımda olan danışman hocam Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU'na teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca bana destek olan ve yardımlarını eksik etmeyen, daima bana yol gösteren, akademik kimliğimi kazanmamdaki en büyük yardımcılarımdan biri olan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM'a, tez süresince sera ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Öğr. Gör. Tuğba GÜLEÇ'e, nam-ı diğer seramızın can damarı Ramazan ÖZBEY'e ve evinin sıcaklığını açan, zor zamanlarımda yanımda olup beni dinlemekten asla sıkılmayan, tez süresince laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan ve yüksek lisans öğrenimim boyunca destek olan değerli arkadaşım Begüm TERZİ'ye teşekkür ederim. Laboratuvar ve sera çalışmalarında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Zeki Mutlu AKAR ve Nimet GENÇ'e teşekkür ederim. Zor zamanlarımda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım; Kerime ÖZKAY, Bilgenur KANDEMİR, Şeyda ÖZDEMİR, Kübra KESKİN, Servet ÖRTÜLÜ'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bana sevgi ve sabırla her yolun kolayca aşılabacağını öğreten, kalbimde en büyük yeri kaplayan, sevgili anneme, doğduğundan beri hayatı paylaşmanın ne demek olduğunu onunla anladığım, yanımda olmasa bile her gün benimle konuşup sevinç ve üzüntülerimi paylaşan sevgili kardeşime, zaman zaman telefonlarıyla beni bunaltsa da her şeyi benim iyiliğim için yaptığını bildiğim ve hissettiğim sevgili babama sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 112T910 numaralı proje kapsamında yürütülmüş ve 07-YL-14 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.

Leyla Nurefşan GÜNDÜZ

Eylül – 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖN SÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	26
3.1. Bitkisel Materyal.....	26
3.2. Metot.....	29
3.2.1. DNA İzolasyonu	29
3.2.2. Moleküler Markör Taramaları.....	32
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	36
5. SONUÇ	47
6. KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : Çalışmada kullanılan makarnalık buğday ıslah hatları.....	26
Çizelge 3.2 : Çalışmada elde edilen F1 ıslah hatları ve kısaltmaları.....	27
Çizelge 3.3 : Farklı haritalardan alınan ve <i>Gpc-B1</i> lokusuyla bağlantılı olan SSR ve CAPS markörleri.....	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1: Serada yetiştirilen bitkiler.....	27
Şekil 3.2: Melezleme yapılan bitkiler	28
Şekil 3.3: Agaroz jelde yürütülen DNA örnekleri	30
Şekil 3.4: Jellerin yürütüldüğü elektroforez ünitesi	31
Şekil 3.5: Jel görüntülemeye kullanılan UV transilatör.....	31
Şekil 3.6: 6BS kromozomunda bulunan, <i>Gpc-B1</i> ve <i>Yr-36</i> lokuslarıyla bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları	32
Şekil 3.7: Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kullanılan thermal cycler.....	34
Şekil 3.8: Restriksiyon enzimi çalışmalarında kullanılan ısıtıcı blok.....	35
Şekil 4.1: Petride çimlenen tohumlar ve viyolde büyüyen F1 bitkileri	36
Şekil 4.2: TMB1//GPC melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile moleküler taramaları.....	37
Şekil 4.3: TMB2//GPC melez ailesine ait bitkilerin Xuhw 89 primeri ile moleküler seleksiyonu	37
Şekil 4.4: TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonu	37
Şekil 4.5: TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile moleküler taramalarına ait agaroz jel görüntüsü	38
Şekil 4.6: TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonu	38
Şekil 4.7: TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonuna ait agaroz jel görüntüsü	38
Şekil 4.8: TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile seleksiyonuna ait agaroz jel görüntüsü	40
Şekil 4.9: TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile seleksiyonu.....	40
Şekil 4.10: Xgwm 193 primeri ile seçilen TMB3//GPC F1 bitkilerinin jel görüntüsü ..	41
Şekil 4.11: TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile moleküler taramaları ..	41
Şekil 4.12: TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xucw 71 primeri ile moleküler taramalarına ait jel görüntüsü	42
Şekil 4.13: TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xucw 71 primeri ile seleksiyonu.....	42
Şekil 4.14: TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xucw 79 primeri ile seleksiyonuna ait jel görüntüsü.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

bç	Baz çifti
cm	Santimetre
cM	Santimorgan
Fe	Demir
g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
Mn	Mangan
Ng	Nanogram
Zn	Çinko
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

BME	β-mercaptoethanol
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
CTAB	Cetyltrimethylammonium Bromide
ddH₂O	Double Distile Su
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleozin Trifosfat
DIC	<i>Triticum dicoccoides</i>
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EtBr	Ethidium Bromür
FAO	Food and Agriculture Organization Gıda ve Tarım Örgütü

Kısaltmalar**GM****GPC****H****L****LMW****LOX****MAS****MgCl₂****NaCl****PZR****RIL****RNA****rpm****SDS****Sn****SSR****STS****Taq****TBE****TE****TMB****Yr****QTL****Açıklama**

Geri Melez

Grain Protein Content

Tane Protein İçeriği

Heterozigot

Ladder

Low Molecular Mass

Düşük Moleküler Ağırlık

Lipoksijenaz

Marker Assisted Selection

Markör Destekli Seleksiyon

Magnezyum Klorür

Sodyum Klorür

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Recombinant Inbred Line

Rekombinant Saf Hat

Ribonükleik Asit

Revolution per minute

Dakikadaki Devir Sayısı

Sodyum Dodesil Sülfat

Saniye

Simple Sequence Repeats

Basit Dizi Tekrarları

Sequence Tagged Site

Dizisi Etiketlenmiş Alan

Thermus aquaticus

Tris/ Borik Asit/ EDTA

Tris/EDTA

Türk Makarnalık Buğdayı

Yellow rust

Sarı Pas

Quantitative Trait Locus

Kantitatif Karakter Lokusu

1. GİRİŞ

Temel besin maddesi olan buğday, dünyada ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen kültür bitkisidir. Makarna buğdayın gıda olarak kullanımında ekmekten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye birçok bitkide olduğu gibi makarnalık buğdayda da önemli gen merkezlerinden biridir. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Ülkemiz makarnalık buğday (*Triticum durum*) üretimiyle dünyanın en önemli üretici ülkeleri arasında 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). Dünya durum buğdayı üretiminin 2,04 milyon tonu Türkiye tarafından gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2016b). Ülkemizde yıllık üretim oranı yüksek olmasına rağmen makarnalık buğday ithal edilmektedir. Bunun en önemli sebebi üretilen makarnalık buğdayın önemli bir kısmının makarna sanayisinin istediği kalitede olmamasıdır. Kaliteli makarnalık buğday ihtiyacının karşılanabilmesi için Türk makarnalık buğday çeşitlerinin modern ıslah yöntemleri kullanılarak verimlerini olumsuz yönde etkilemeden kalitelerinin artırılması gerekmektedir.

Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel faktörlerden biri buğdayın ve buğdaydan elde edilen son ürünün besin değeridir. Buğday dünyanın birçok ülkesinin temel kalori, protein ve mineral kaynağı durumundadır. Türkiye’de günlük enerji gereksiniminin ortalama % 40 ’ı sadece buğdaydan karşılanmaktadır (Anonim, 2008a). Bu oranın kırsal kesimlerde % 70’ e ulaştığı tahmin edilmektedir. Bu nedenle buğdayın besleyici özelliğinin artırılması büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda başta demir (Fe), çinko (Zn) ve mangan (Mn) olmak üzere mikro besin elementi bakımından yetersiz beslenme oranı oldukça artmıştır. Bu nedenle buğday gibi temel besin maddelerinin genetik açıdan mikro besin elementlerince zenginleştirilmesi gerekmektedir. Aynı zamanda protein miktarının da artırılması besin kalitesi açısından oldukça önemlidir. İyi bir makarnalık buğdayın protein oranının % 13’den fazla olması gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, protein kalitesi iyileştirilmiş bazı ileri makarnalık buğday geri melez ıslah hatlarının protein oranının artırılması ve mikro besin element (Fe, Mn, Zn)

içeriklerinin yükseltilmesidir. Ayrıca ıslah hatlarına sarı pasa dayanıklılık sağlayan *Yr-36* geninin aktarımı da hedeflenmiştir. Bu amaçla farklı anaçlardan elde edilmiş olan üç adet ileri ıslah hattı (TMB1, TMB2 ve TMB3) ve gen kaynağı olarak da *Gpc-B1* genine sahip olduğu bilinen UC1113-*Gpc-B1* hattı kullanılmıştır. Melezlemeler yapılarak elde edilen F1 bitkilerinden hedeflenen gen bölgesi olan *Gpc-B1* ve *Yr-36*' yı taşıyanlar moleküler taramalar yapılarak markör destekli seleksiyon yöntemiyle seçilmiştir.



2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

Temel besin maddesi olan buğday, birçok ülkenin temel kalori, protein ve mineral kaynağıdır. Geniş tüketim yelpazesi ve ürün çeşitliliği ile vazgeçilmez besinlerden olan buğday, dünya nüfusunun yaklaşık % 35' inin temel besin maddesidir (Anonim, 2008b; Ateş Sönmezoğlu, 2010).

Buğdaylar; genom yapısına göre üç gruba ayrılırlar. Bunlar; ekmeklik(hekzaploid), makarnalık (tetraploid) ve kaplıca (diploid) buğdaylarıdır. Günümüzde ticari anlamda ekmeklik ve makarnalık buğdaylar yetiştirilmektedir. Makarnalık buğdaylar, kalite özellikleri ve kullanım alanları bakımından ekmeklik(*T. aestivum*) ve topbaş (*T. compactum*) buğdaylardan çok farklı ve özel bir konuma sahiptir. Makarnalık buğdaylar tetraploid ($2n=4x=28$, AABB) bitkilerdir.

Dünyada toplam buğday üretimi son yıllarda 723 milyon ton, Türkiye'de ise 17,6 milyon ton olmuştur. Ülkemizdeki toplam buğday üretimi bir önceki yıla nazaran % 14 oranında artış göstermiştir (Anonim, 2016b). Ülkemiz makarnalık buğday üretiminin 2,04 milyon ton olduğu bildirilmiştir (Anonim 2016b). Dünyada buğday üretimine ayrılan alanın yaklaşık % 5,3' ünde, Türkiye'de ise % 7,8' inde makarnalık buğday, geri kalan kısmında ise ekmeklik buğday yetiştirilmektedir (Anonim, 2013a). Dünyada ve Türkiye'de üretilen toplam buğdayın % 1' den daha az bir kısmını ise compactum buğdayları oluşturmaktadır.

Makarnalık buğdayın kökeni Rusya'dan gelmekte olup genellikle yarı kurak ve soğuk iklimlerde yetiştirilmektedir. 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).

Makarnalık buğdayın değerlendirilmesi amber ve kırmızı renkli olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Amber renkli olanlar makarna sanayisinde; kırmızı renkli olanlar ise daha çok hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Güleç ve ark., 2010).

Durum buğdayı olarak da bilinen makarnalık buğday üretimi ile birçok üreticiyi ilgilendirmesi ve makarna endüstrisinin ham maddesini oluşturması bakımından dünya tarımında önemli bir kültür bitkisi haline gelmiştir. Buğdayın insan gıdası olarak kullanımında makarna, ekmekten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Makarnalık buğdaylar, dünyada belli bölgelerde yetiştirilen ve ekmeklik buğdaya göre daha yüksek fiyatla alıcı bulan değerli buğdaylardır. Türkiye birçok bitkide olduğu gibi makarnalık buğdayın da önemli gen merkezlerinden biridir. Bu nedenle dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Türkiye makarnalık buğday üretimiyle dünyanın en önemli üretici ülkeleri arasında yer almaktadır. Ancak son yıllarda makarnalık buğday ithal eder duruma gelmiştir. 2015-2016 yılı verilerine göre, yaklaşık 723 milyon ton civarında olması öngörülen dünya buğday üretiminin 37,3 milyon tonunu durum buğdayı oluşturmaktadır (Anonim, 2016a). Dünya durum buğdayı üretiminin 2,04 milyon tonu Türkiye tarafından gerçekleştirilmektedir (Anonim, 2016b).

Ülkemizde yıllık üretim oranı yüksek olmasına rağmen makarnalık buğday ithal edilmektedir. Bunun en önemli sebebi üretilen makarnalık buğdayın ancak % 30-40'ının makarna sanayisinin istediği kalitede olmasıdır. Kaliteli makarnalık buğday ihtiyacının karşılanabilmesi için Türk makarnalık buğday çeşitlerinin modern ıslah yöntemleri kullanılarak verimlerini olumsuz yönde etkilemeden kalitelerinin artırılması gerekmektedir (Gökmen ve Ateş, 2005).

Kalite, tüketicinin ve sanayicinin istediği özelliklerin tümüdür. Makarnalık buğdayda kalite; son ürüne, üreticiye, tohum firmalarına, öğütme sanayisine, makarna sanayisine ve tüketiciye göre farklılık göstermektedir (Dziki ve Laskowski, 2005). Makarnalık buğdayda kaliteyi belirleyen temel kriterler; tanenin sertlik ve camsılık oranı, test (hektolitreye) ağırlığı, protein miktarı ve kalitesi (gluten kuvveti), öğütme kalitesi, sarı pigment konsantrasyonu ile sarı renk kaybı veya renk kararmasına neden olan lipoksijenaz (LOX), polifenoloksidaz (PPO) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri tarafından belirlenmektedir (Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Sissons, 2004; Koyuncu, 2009).

Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel faktörlerden biri de buğdayın ve buğdaydan elde edilen son ürünün besin değeridir. Buğday; birçok ülkenin temel kalori, protein ve mineral kaynağı durumundadır. Türkiye’de günlük enerji gereksiniminin ortalama % 40’ ı sadece buğdaydan karşılanmaktadır. Bu oranın kırsal kesimlerde % 70’ e ulaştığı tahmin edilmektedir (Anonim, 2008a; Ateş Sönmezoğlu, 2010). Bu nedenle buğdayın besleyici özelliğinin yani besin değerinin artırılması büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda başta demir (Fe) ve çinko (Zn) olmak üzere mikro besin elementi bakımından yetersiz beslenme oranı oldukça artmıştır. Bu nedenle buğday gibi temel besin maddelerinin genetik açıdan mikro besin elementlerince zenginleştirilmesi gerekmektedir.

Buğdayın besin kalitesinin artırılması insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Mikro besin elementlerinin (demir, çinko, bor ve selenyum vb.) yetersizliği durumunda ciddi hastalıklar ortaya çıkmakta, yaşam kalitesi düşmekte, ölüm oranları artmakta ve insanlarda çalışma verimliliği olumsuz etkilenmektedir (Çakmak, 2002; Black, 2003; Holtz ve Brown, 2004). Son yıllarda mikro besin elementlerindeki eksikliklerle beraber yetersiz beslenme oranı da artmıştır (Graham ve ark., 2007). Bu gibi problemlerin önüne geçilebilmesi için tahıllar başta olmak üzere temel besin maddelerinin mikro besin elementleri açısından zenginleştirilmesi gerekmektedir (Distelfeld ve ark., 2006). Gıdalarla alınan mikro besin elementlerinin başında demir, çinko ve iyot gelmektedir. Buğdayın mikro besin elementlerince zenginleştirilmesinin bitki gelişimi için sağladığı faydalar da vardır. Bu elementlerin bitkide klorofil oluşumu, fotosentez oluşumu, suyun bitkiye alımı ve kontrolü üzerine önemli etkileri vardır. Bitki gelişimine yardımcı olmak için bakır, demir ve çinko ile kombinasyonlar oluşturulur (Anonim, 2013b).

Dünyada protein ve enerji ihtiyacı bakımından yetersiz beslenen insanların sayısı 800 milyona ulaşmış ve yaklaşık iki milyara yakın insan ‘gizli açlık’ olarak adlandırılan vitamin ve mikro besin element (demir, bor, çinko, selenyum vb.) eksikliği yaşamaktadır (Çakmak, 2002; Welch, 2002). Türkiye’de tahıl yetiştirilen bölgelerde mikro element düzeyinin (özellikle Zn ve Fe) yeterli olmaması (Eyüpoğlu ve ark., 1998), insanların ihtiyacı olan kalori miktarının önemli bölümünü (% 45’e kadar) yalnızca buğdaydan karşılaması (Çakmak ve ark., 2004) ve bölgelerde yaşayan insanlarda mikro element eksikliğinin görülmesi bu konunun araştırılıp

çözümlemlendirilmesini öncelikli kılmıştır. Bu sebeple bitki ıslahı ve gübreleme ile buğdayın özellikle Zn ve Fe gibi mikro element bakımından zenginleştirilmesi gerekmektedir (Çakmak, 2008).

Demir; hemoglobinin yapısında bulunur. Bakır ve kalsiyum gibi bazı minerallerin emilimi ve kanda oksijeni taşıyan kırmızı kan hücrelerinin ve çeşitli enzimlerin üretimi için gereklidir. Ayrıca, bağışıklık sistemini de güçlendiren bir mineraldir. Eksikliğinde ise anemi ve oksijen kullanımında yetersizlik meydana gelebilir. Demir eksikliği canlılarda yaygın olarak rastlanan önemli bir beslenme problemidir. Demir eksikliği insanlarda anemiye sebep olurken bitkide verim ve kalite de düşüşe yol açmaktadır. Çocuklarda Fe noksanlığı fiziksel büyümede gerilemeye, mental gelişim bozukluğuna ve kapasitenin azalmasına yol açmaktadır (Çakmak ve ark., 2010).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda demir noksanlığının tarım yapılan alanlardaki topraklarda % 25 düzeyine ulaştığı saptanmıştır (Eyüpoğlu ve Kurucu, 1997; Çakmak ve ark., 1999). Bunun yanında bitkilerin demir eksikliğine karşı farklı tepkileri olduğu bilinmektedir. Aslında, topraklardaki toplam demir miktarı oldukça yüksek olmasına karşın, bitkilerin demirden faydalanabilmeleri, mevcut Fe’nin formuna, bitki tür ve genotiplerine bağlıdır (Miller ve ark., 1984). Bitkilerin demir konsantrasyonları tür, çeşit ve beslenme koşullarına göre büyük farklılıklar göstermektedir. Bitki bünyesinde bulunan toplam Fe içeriğinin bitkinin demir ile beslenme durumunu yansıtmadığı bildirilmektedir (Mengel, 1995).

Çinko, tüm canlı organizmaların çok düşük miktarda ihtiyaç duyduğu fakat almak zorunda olduğu önemli mikro elementlerden biridir. Çinko eksikliği, dünyada ve Türkiye’de tarım alanlarının birçok kısmında sıkça rastlanan bir sorundur (Çakmak ve ark., 1998). Ayrıca organizmanın beslenmesinde önemli olup, eksikliğinde insanlarda farklı hastalıklara neden olurken, özellikle gelişmekte olan çocuklarda ciddi sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Çakmak ve ark., 1996a). Türkiye genelinde yapılan çalışmalar sonucu, tarım topraklarımızın % 50’ sinde (14 milyon ha) Zn eksikliğinin bulunduğunu saptanmıştır. Bu alanın büyük bir bölümünü ise Orta Anadolu Bölgesi kapsamaktadır (Anonim, 2007; Kendal, 2008). Topraklarımızda çinkonun çeşitli nedenlerle bitkiler tarafından yeterli miktarlarda alınamayışı veya yetersizliği, bu

bitkilerden elde edilen ürünlerde çinko eksikliğine, dolayısıyla bu ürünlerle beslenen insanlarda çok büyük sağlık problemlerinin meydana gelmesine sebep olmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda ise; bu sağlık problemleri daha çok yarı kurak bölgelerde yaşayan ve buğday ürünlerini fazla tüketen insanlarda görülmüştür (Kendal, 2008).

Bitkilerin Zn içerikleri diğer elementler gibi birçok faktörün etkisinde kalmakta ve buna göre değişiklik göstermektedir. Bu etkenlerden en önemlilerinden birisi de toprağın çinko içeriğidir. Toprakların Zn içeriği yüksek (10-300 mg kg⁻¹) olmasına rağmen, toprak ve iklim değişiklikleri nedeniyle bitki tarafından alınan miktar yetersiz olmakta ve bunun sonucunda verim ve kalitede azalmaya sebep olmaktadır. Bir bitkinin sağlıklı bir şekilde büyüebilmesi için topraktan alacağı Zn miktarının (DTPA-Zn) 0,5- 1,0 mg kg⁻¹'in üzerinde olması gereklidir (Çakmak ve ark., 1996b). Ayrıca çinkonun bitki üzerinde önemli faydaları vardır. Bitkilerde klorofil oluşumu ve gelişim için gerekli olan hormonların faaliyetlerini düzenlemede oldukça önemlidir. Suyun bitkiye alınımında görevli olup, aşırı miktarda yapılan gübreleme, potasyumu fazla ve kireçli topraklar da çinko eksikliğine neden olmaktadır. Bu eksikliğin bitki üzerindeki olumsuz etkileri yaprak boyunda azalma, bitki gelişiminde gerileme, bitki şeklinde bozulma, meyve boyu ve gelişiminde azalmalar şeklinde görülmektedir (Anonim, 2013d).

Yapılan bir çalışmada, buğday danesindeki demir ve çinko konsantrasyonlarındaki artış için yabani gernik buğdayının (*Triticum dicoccoides*; DIC) önemli bir genetik kaynak olduğu saptanmıştır. İşlenmiş buğdayın danesindeki Zn ve Fe içerikleri, yabani gernik buğdayına göre daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır (Çakmak ve ark., 2004).

Brohi ve ark. (2000), yaptıkları çinko uygulaması sonrasında çinkonun buğday bitkisinin sap verimi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını ancak dane verimini azalttığını saptamışlardır. Bununla birlikte çinkonun sap azot içeriğinin artmasında önemli derecede etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer araştırmada ise; makarnalık buğday üzerinde iki farklı bölgede uygulanan çinko konsantrasyonunun dane verimi ve hektolitre ağırlığının üzerindeki etkisini araştırılıp; çinko eksikliğinde dane veriminin olumsuz yönde etkilendiği saptanmıştır (Kendal, 2008).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2002 yılında yayımladığı bir raporda mikro besin elementlerinden çinko eksikliğinin ülkelerde önemli hastalıklara ve ölümlere neden olduğu ifade edilmiştir (WHO, 2002). Çinko; dünyada yıllık kullanım miktarı açısından demir, alüminyum ve bakırdan sonra gelir ve vücutta en çok bulunan ikinci elementtir. Vücudun sağlıklı kalabilmesi, gelişimin normal olabilmesi ve vücudun kendini yenilemesinde, hastalıklara karşı direncin artırılmasında ve yaraların çabuk iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda kalp, beyin ve üreme sistemi için de oldukça faydalıdır (Anonim, 2013b). Vücuttaki tüm dokularda bulunan mangan ise kırıkdağların yenilenmesini sağlayarak Artroz'u önlemektedir. Ayrıca sinir sisteminin gelişmesinde de oldukça önemlidir (Anonim, 2013c).

Mangan doğada demir elementi ve birçok elemente bağlı olarak bulunan, tüm canlılar için önem arz eden bir mikro elementtir. Kullanım alanları oldukça fazla olmakla birlikte genellikle metal endüstrisinde alaşımlarda kullanılır. Çelikteki aşınma ve paslanmanın engellenmesinde kullanılmaktadır. Yüksek miktarda alınan manganez iyonları memelilerde zehirlenme etkisi göstermektedir. Bununla birlikte manganez iyonları, çeşitli enzim ve fotosentetik bitkilerde yer almaktadır (Anonim, 2013d).

Topraktaki mangan bileşikleri ile toprak pH' sı arasında yakın bir ilişki olup, mangan bileşiklerinin çözünürlüğü nedeniyle asidik topraklarda mangan alınabilirliği oldukça fazladır. Yüksek pH' lı topraklarda ise mangan alınımı daha düşüktür. pH yükselmesiyle çözülen mangan iyonu azaldığı için buna bağlı olarak pH'sı yüksek olan topraklarda yetiştirilen bitkilerde mangan noksanlığı sık görülmektedir. Mangan noksanlığı yaşayan bitkiler genel olarak kireçli ve pH'sı yüksek topraklarda yetiştirilen bitkiler olduğu için bunun gibi durumlarda toprağa mangan sülfat gibi tuzlar vermek fayda sağlamamaktadır. Çünkü toprağa verilen Mn iyonları kısa sürede yükseltgenerek alınamaz hale geçmektedir. Bitkilerin Mn kapsamaları çoğunlukla 20-400 ppm arasında bulunmalıdır. Ancak birçok bitkide 20-25 ppm Mn bulunması o bitki için yeterli olabilmektedir (Anonim, 2013e).

Yapılan bir çalışmada, buğdayın hem mineral elementleri arasındaki ilişki hem de verim ve mineral içeriğinin protein içeriği ile birlikte korelasyonu incelenmiştir. Demir, çinko ve bakır arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. Çinko protein içeriği ile pozitif

korelasyon, verim ile ise negatif korelasyon göstermiştir. Demir ve bakırın protein içeriği ile pozitif, verim ile negatif ilişki içerisinde olduğu saptanmıştır. Mangan seviyesinin, protein içeriği ve verimden bağımsız olduğu tespit edilmiştir (Ghanbari ve Mameesh, 1971).

Makarnalık buğdayda temel kalite kriteri olan protein oranı; miktarı ve kalitesi yönünden hem genotip hem de çevre faktörlerinin etkisi altındadır ancak çevresel faktörlerin protein içeriğini etkilemediği bilinmektedir (Autran ve Bourdet, 1979). İyi bir makarna için kullanılan buğdayın protein oranının % 13'den fazla olması gerekmektedir (Özkaya ve Özkaya, 1993; Pekin, 1993). Kaliteye önem veren makarna sanayicileri; protein kalitesi iyi, protein miktarı yüksek, renk bakımından yeterli ve pişme kalitesine uygun çeşitler istemektedir. Protein oranının makarnalık buğdayda camsılık üzerinde de önemli bir etkisi vardır (Porceddu ve ark., 1973).

Aydoğan ve ark. (2012), buğday çeşitlerinin protein oranının farklı yıllarda ve çevrelerdeki değişimlerini inceledikleri çalışmada 2009-2010 yılı ortalama protein oranının % 15,47 ve 2010-2011 yılı ortalama protein oranının ise % 12,32 olduğunu tespit ederek, protein miktarının çevre koşullarından etkilendiğini ifade etmişlerdir.

Konya yöresinde 2010 yılında farklı makarnalık buğday genotiplerinde yapılan benzer bir çalışmada ise kullanılan buğday çeşitlerinden Kızıltan-91 çeşidinin % 16,17 ile en yüksek protein oranına sahip genotip olduğu belirlenmiştir (Aydoğan ve ark., 2010).

Makarnalık buğdayın protein miktar ve özellikleri ile makarnanın pişme kalitesi önemli derecede ilişkilidir. Makarna tüketimi; pratik hazırlanması, çeşit fazlalığı, uzun süre ve kolay muhafaza edilmesi, ekonomik olması, sindirim hızının ve oranının düşük olması (düşük glisemik indeks) ve düşük seviyede yağ içermesi gibi sebeplerle giderek artmaktadır. Makarna ve spagetti gibi ürünlerde pişme özellikleri önemli olup, makarna pişirilirken dağılmamalı, yapışmamalıdır. Makarnanın pişme kalitesinin yüksek olması için gluten proteinlerinin vizkoelastik ve kohezif özelliklerinin (gluten kuvveti) yeterli seviyede olması gerekmektedir (Hoseney, 2010). Durum buğdayında pişme kalitesi üzerinde önemli etkisi olan spesifik gliadin proteinleri; γ -gliadin 42 ve γ -gliadin 45' dir. γ -gliadin 45 proteini makarnada optimum gluten kuvveti ve yüksek pişmekalitesinin, γ -

gliadin 42 proteini ise zayıf gluten ve düşükpişme kalitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Pogna ve ark., 1990; Troccoli ve ark., 2000; Yüksel, 2009). Kaliteli makarna üretebilmek için pişme kalitesi ile bağlantılı olarak protein oranı yüksek ve özellikle γ -*gliadin 45* (*LMW-2 glutenin*) proteinlerini kapsayan durum buğday çeşitleri gerekmektedir. Bu tez çalışması ile γ -*gliadin 45*' in aktarımıyla daha önce protein kalitesi yönünden iyileştirilen buğday hatlarının *Gpc-B1* geni aktarımıyla protein oranları da arttırılmış ve böylece pişme kalitesi ve besleyicilik açısından tercih edilebilecek makarnalık buğday hatları elde edilmiştir.

Besin değeri; gıdaların taşıdıkları besin madde oranlarıdır. Yüksek, orta veya düşük biçimde ifade edilir. Aynı zamanda gıdaların besinsel değerleri; protein, karbonhidrat, yağ, vitamin, mineral madde ve su içerikleri ile ölçülür. (Anonim, 2010; White, 2010). Besin değeri yüksek gıdalar sayılan bu bileşenleri yoğun şekilde içeren gıdalardır. Tam tahıllı ekmek ve tahıllar, makarna, sebze ve meyve gibi gıdalar besin değeri yoğun gıdalar olarak kabul edilir.

Akçalı Can (2005), makarnalık buğday kalite ıslahında protein içeriğinin büyük öneme sahip olduğunu ifade etmiştir. Protein içeriğinin arttırılması konusunda uzun yıllardır çeşitli çalışmalar yapıldığı bilinmektedir. Fakat özellikle verim artışına yönelik ıslah çalışma programları sebebiyle kültür buğdaylarımızda genetik temel giderek daralmıştır. Hastalıklara dayanıklılık ve kalite özellikleri bakımından en önemli gen kaynakları yabani buğdaylarda bulunmaktadır. Bu sebeple, bu araştırmayla yabani tetraploid *Triticum dicoccoides*' in yüksek protein içeriği bakımından kaynak olarak kullanılma özelliği araştırılmıştır. Bu çalışmada, kullanılan sekiz adet makarnalık buğday ve yabani tetraploid *Triticum dicoccoides* buğdayı ile melezlemeler yapılmış, anaçlar ile bunların F1, F2 ve F3 hatları üzerinde yapılan moleküler markör araştırmaları ile yüksek protein içeriğinin anaçlar ve döllerdeki düzeyleri araştırılmıştır. Bu çalışmada moleküler markörlerin, makarna sanayinin istediği kalitede makarnalık buğday üretimi için, protein miktarının arttırılmasına yönelik ıslah programlarına kazandırılmasında yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Porceddu ve Blanco (2014), teknolojik ve tarımsal önemli özelliklerin genetik kontrolünü anlamak, kaliteli makarnalık buğday üretimini sağlamak için Akdeniz

bölgesi ve uzak coğrafi bölgelerden sağlanan genetik kaynaklardaki mevcut zengin genetik varyasyonları kullanmışlardır. Makarnalık buğdaydaki ıslah çalışmaları, Güney İtalya, Kuzey Afrika ve Batı Asya'dan yerel çeşitlerde mevcut genetik varyasyon kullanılarak 20. Yüzyılın başlarında başlamıştır. Garigliano (Strampelli, 1932), Capeiti, Patrizio (Casale, 1955), Grifoni, Appulo (Grifoni, 1964), Karel, Maristella (Barbieri ve Deidda, 1968) ve Trinakria (Ballatore, 1970) gibi farklı varyateler 1930-1970 dönemlerinde çıkmıştır. Bu varyeteler İtalyanın iklim koşullarına olan uygunluğu, iyi kalite ve verim özellikleri ile karakterize edilmiştir. 70' li yılların başlarında verim artışı, birçok ıslah programlarının ana hedefi haline gelmiştir. Makarnalık buğdaya ait dokuz popülasyon, SSR markörleri kullanılarak analiz edilmiştir. Yedi QTL'den altısı yüksek tane protein içeriği için pleiotropik etkiler ya da düşük verimlilik ile ilgili QTL'ler ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar, diğer tarımsal özellikler üzerinde olumsuz etkilere neden olmamakla birlikte istenilen karakterler için MAS programlarında moleküler markörlerin kullanımının oldukça önemli olduğunu göstermiştir (Porceddu ve Blanco, 2014).

Bitki ıslahında DNA markörlerinin büyük potansiyelinin farkedilmesiyle birlikte, çok sayıda tarımsal araştırma merkezi ve bitki ıslahı enstitüleri markör geliştirme ve MAS tekniklerini uygulamaya başlamıştır. DNA markörleri verimin iyileştirilmesine yönelik ticari bitki ıslahında büyük bir potansiyele sahiptir. Bu süreç tarımsal olarak önemli genlerin işaretlenmesi ve haritalanması ile tahıl bitkilerinde ıslahın MAS' a dayalı oluşturmasını kapsamaktadır. Moleküler markörler daha önceden var olan geleneksel fenotipik markörlere göre bitki yetiştiricileri için çok sayıda avantaja sahiptir. Bunlar geleneksel bitki ıslahında verim iyileştirilmesini yalnız doğrudan ilgilenilen özelliklerle değil ayrıca özelliğe bağlı moleküler markörlerle de seçerek yapmaktadır. Bu durum moleküler markörün ilgilenilen özelliğe yakından bağlantılı olmasını gerektirir. Bunun yanında moleküler markörler çevresel koşullardan etkilenmezler, böylece çevresel koşullardan etkilenmediği için bitkilerin gelişimlerinin her aşamasında gözlemlenebilirler. MAS'ın kullanımı buğday yetiştiricilerinin karşılaştıkları buğdayın kompleks özelliklerinden kaynaklanan etkileşimlerin giderilmesini ve analizleri kolaylaştırmaktadır. Menzo (2011), İtalyan makarnalık buğday çeşitlerini donör olarak kullanmış, kalite özellikleri (LOX aktivitesi, protein içeriği, sarı pigment içeriği) ile yaprak pası, külleme ve toprak kaynaklı mozaik virüsü gibi temel hastalıklara direnç

kazanımıyla ilgili genler için MAS aracılığıyla gen piramitlemeye dayalı ıslah çalışması yürütmüştür.

Gpc (Grain protein content; tane protein içeriği) geni, beslenme açısından oldukça önemlidir. Ekmek ve makarna kalitesi üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir ve bu olumlu etkiden dolayı buğday ıslah programlarının sık kullanılan hedefi haline gelmiştir (Uauy ve ark., 2006a). *Gpc* geni; ekmek ve makarna kalitesi için birbirinden farklı önemli parametreleri ve buğdayın besinsel değerlerini etkilemektedir (Brevis ve ark., 2010). Ekonomik önemine rağmen geleneksel ıslah yoluyla *Gpc*' nin aktarımı çevrenin yüksek etkisi ve verim ile negatif korelasyon nedeniyle yavaşlamıştır (Austin, 1980; Masclaux, 2001; Lawlor, 2002; Triboi, 2002; Groos, 2003; Gonzalez-Hernandez, 2004; Barneix, 2007; Tabbita ve ark., 2013).

Buğdayda tane protein içeriği (GPC; Grain Protein Content), son ürünün kalitesini olumlu etkileme potansiyeline sahip olduğundan dolayı yetiştiriciler için ilgi çeken önemli bir özellik haline gelmiştir (Vishwakarma ve ark., 2014). GPC, *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (DIC) aksesyonunun 6B kromozomu üzerinde haritalanmıştır. Buğdayın yüksek yoğunluklu haritası geliştirilmiş ve incelenen kantitatif karakter lokusu basit bir Mendel lokusu şeklinde *Gpc-B1* olarak haritalanmıştır. *Gpc-B1*' i çevreleyen markörler fiziksel haritaya dahil edilmiştir (Distelfeld ve ark., 2006). *Gpc-B1*' in işlevsel (fonksiyonel) alleli; bazı genetik çalışmalarda tane ağırlığı azalmasıyla sonuçlanan tane dolum süresini kısaltmıştır (Brevis ve ark., 2010).

GPC iyileştirme için diğer bir kısıtlama ise, modern buğday çeşitlerinde protein kalitesini kontrol eden genetik varyasyonun sınırlı aralığıdır. Kültür çeşitlerine yabancı akrabalarından gen aktarımı, GPC' yi artırmak için yeni alternatifler sunan bu özellik için genetik çeşitliliği genişletmiştir. Bazı aksesyonlarının ticari buğday çeşitlerinin çoğundan çok daha yüksek GPC içerdiğinin anlaşılmasından itibaren, *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (DIC) yabancı çeşidinin GPC'deki genetik varyasyon için değerli bir kaynak olduğu keşfedilmiştir. Ticari buğday çeşitlerindeki GPC iyileştirilmesine yönelik çalışmalarda DIC katkısının iyi bir örneği tetraploid ve hexaploid buğdaylarda GPC'yi artırmada önemli katkı sağlayan *Gpc-B1* genidir. Joppa

ve Cantrell (1990), "Langdon" (LDN) çeşidindeki DIC kromozomlarının substitüsyon hatlarını geliştirmişler ve 6BS kromozomu üzerinde yüksek GPC için bir bölgenin mevcut olduğunu göstermişlerdir. Olmos ve ark. (2003), izogenik rekombinant hatlar ve replikasyonlar kullanarak 2,7 cM bölge içinde tek bir lokus haritalamışlardır. Daha sonra daha kesin bir harita Distelfeld (2004) tarafından, *Gpc-B1* bölgesini 0,3 cM aralığına daraltan buğday-pirinç mikro eşdoğrusallık analizleri kullanılarak üretilmiştir.

Kaliforniya Davis, ABD Tarım Bakanlığı ve İsrail Hayfa Üniversitesi'nin ortak çalışmaları sonucu araştırmacılar protein, çinko ve demir miktarı artırılmış buğday üretmeyi başarmışlardır (Dubcovsky, 2006). Aktarılan genin, şu anki verilen ismiyle *Gpc-B1*, buğdayın gelişme hızını arttırmasının yanında protein ve besin içeriğinin de artmasını sağladığı tespit edilmiştir.

Dubcovsky (2006) yaptığı araştırmada, *Gpc-B1*' in tane protein oranını artırması yanında buğday çeşitlerinde mikro besin elementi içeriğinde % 10-15 arasında bir artış sağladığını da bildirmiştir. Ayrıca *Gpc-B1* geninin benzerine hiçbir buğday türünde rastlayamadıklarını ve bunun nedeninin ise bu genin buğday kültürüne alınırken kaybolması olabileceğini ifade etmiştir. Araştırmacı kendi içerisinde 20 farklı buğday türünün geliştirilmesini içeren Buğday Koordinasyonlu Tarım Projesi adlı programı yönetmektedir. Program *Gpc-B1* ve diğer bazı önemli genleri ABD buğday havuzuna ekleyip, çıkan sonuçları ticari gelire dönüştürmeyi amaçlamaktadır.

Distelfeld ve ark. (2007), *Gpc-B1* (tanenin protein konsantrasyonunu etkileyen 250 kb'lik bir lokus) lokusunun tanenin mikrobesein elementi konsantrasyonuna etkisinin tespit edilmesi amacıyla yürüttükleri çalışma sonucunda *Gpc-B1*' in aktarıldığı buğday hatlarının tanelerinde çinko konsantrasyonunda % 12' lik, demir içeriğinde % 18' lik, mangan konsantrasyonunda % 29' luk ve protein oranında % 38' lik bir artış saptamışlardır.

Diğer bir araştırmada, çiçek açma döneminde bayrak yaprakta çözünebilir protein ve amino asit oranının arttığı ve *Gpc-B1* alleli taşıyan hatlarda azot mobilizasyon veriminde artış olduğu tespit edilmiştir (Kade ve ark., 2005).

Distelfeld ve ark. (2006) yaptıkları bir diğer çalışmada, DIC allelinde bulunan 4 bç' lik delesyonun, 117 adet kültüre alınmış heksaploid ve tetraploid buğday genetik kaynağında bulunmadığını ve geliştirilen ko-dominant markör olan Xuhw 89 markörünün DIC aksesyonundan ticari buğday çeşitlerine yüksek GPC allelini entegre etmede faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

Uauy ve ark. (2005), *Gpc-B1* lokusunun, sarı pasa dayanıklı olan *Yr-36* geniyle bağlantısını tespit edip, *Yr-36* geninin aktarıldığı hatların sarı pasa dayanıklılık gösterdiğini ifade etmişlerdir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ile yapılan görüşmelerde *Yr-36'* nın ülkemizde henüz virulent olmadığı belirlenmiştir. Xbarc 101 primeri ve Xucw 71 primerleri bu geni çerçeve içine aldığından bu primerler kullanılarak markör destekli seleksiyon ile sarı pasa dayanıklılık ve *Gpc-B1* allellerinin seçilimi birlikte yapılmış ve bu primerlerle genin aktarımı da takip edilmiştir.

Farklı bir çalışmada, *Yr-36* ve *Gpc-B1'*e yakın oldukları ve *Gpc-B1* genini 0,3 cM aralığında çerçeve içerisine aldıkları için Xucw 71 ve Xucw 79 markörleri birlikte kullanılmıştır. Çeltikte doğrusal 64 kbç' lik bölge içerisinde yer alan beş aday geni tanımlamak için bu iki markör kullanılmıştır (Distelfeld ve ark., 2004).

Uauy ve ark. (2006a), tane protein miktarı ile çinko ve demir içeriğinin artırılmasıyla bağlantılı bir buğday kantitatif karakter lokusu olan *Gpc-B1'*i klonlamışlardır. Buğday tane protein, çinko ve demir içeriklerinin % 30' dan oranda etkilendiğini saptamışlardır. Farklı bir araştırmada yüksek tane protein içeriği geni *Gpc-B1'* in olgunlaşmayı hızlandırdığı ve bu genin buğdayın protein içeriğinde pleiotropik etkileri olduğu bildirilmiştir (Uauy ve ark., 2006b). *Gpc-B1* için ayrılan bir dizi tetraploid rekombinant hatlarda olgunlaşma ile ilişkili çeşitli özelliklerin haritalandığını ifade etmişlerdir.

Tabbita ve ark. (2013), iki adet Arjantin ekmeklik buğday çeşidine *Gpc-B1* allelinin aktarımını analiz edip, etkilerini saptamışlardır. Markör destekli seleksiyon kullanarak 'ProINTA Oasis' ve 'ProINTA Granar' yakın izogenik hatlarını geliştirmişlerdir.

Brevis ve ark. (2010), *Gpc-B1'*in ekmek yapımı ve makarna kalitesi üzerinde etkilerini değerlendirmek için altı heksaploid ve iki tetraploid buğday genotiplerine *Gpc-B1'* i

aktarmak için izogenik hatlar geliştirmişlerdir. Çalışma sonucunda fonksiyonel *Gpc-B1*' in aktarımının ekmeklik buğdayda yüksek tane protein içeriği ile su absorpsiyonu, karıştıırma zamanı ve hamurun kabarma hacmi ile bağlantılı olduğunu; makarnalık buğdayda ise tane protein içeriğinin yanı sıra, ıslak gluten, karıştıırma zamanı ve spagetti sertliğinde önemli artışlara neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Farklı *Gpc-B1* allelleri bulunduran yakın izogenik hatlarda (NILs), *Gpc-B1* allelinin hem protein miktarının hem de toplam protein veriminin artmasında fonksiyonel olduğu bilinmekte ve son zamanlarda tetraploid ve hekzaploid buğday hatlarında kullanılmaktadır. Tanede azot (N) birikiminin artması sap içinde kalan N'nin azalması ile orantılıdır ve daha etkili azot remobilizasyonuna işaret etmektedir (Waters ve ark., 2009; Brevis ve Dubcovsky, 2010). Aynı yakın izogenik hatları kullanan Brevis ve ark. (2010), ekmeklik ve makarnalık buğdayda öğütme, ekmek pişimi ve makarna yapımı gibi kalite özellikleri üzerinde *Gpc-B1* allelinin fonksiyonel etkilerini incelemişlerdir. Çalışılan yakın izogenik hatların farklı seviyelerde GPC ve yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt birim bileşenleri içerdiği, bu sebeple *Gpc-B1* allellerinin yapılan testlere göre kalite üzerinde kayda değer şekilde etkili olduğu belirlenmiştir. *Gpc-B1* aktarımının, aktarılan genotipler üzerinde ve çevre şartlarında devamlı bir GPC artışı sağladığı, aynı zamanda bazı ekmek pişirme ve makarna yapımı kalite parametreleri ile pozitif yönde ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Yapılan kalite analizleri, *Gpc-B1* aktarımının spagetti gevrekliği ve pişirme kayıpları gibi makarna kalitesi açısından önemli iki kritik özellik açısından da fayda sağladığını göstermiştir (Brevis ve ark., 2010).

Farklı bir çalışmada, markör destekli seleksiyon HUW468 buğday çeşidine GPC' yi eklemek için kullanılmıştır (Vishwakarma ve ark., 2014). Araştırmada Glu269 genotipi, yüksek GPC kazandıran *Gpc-B1* geninin hibritlenmesi için donör ebeveyn olarak kullanılmıştır. *Gpc-B1* ile sıkı bağlantılı Xucw 108 SSR markörü *Gpc-B1*'i taşıyan bitkileri seçmek amacıyla markör destekli seleksiyonda kullanılmıştır.

Bir diğer araştırma (Kumar ve ark., 2011), bazı hint ekmeklik buğday çeşitlerinde yüksek tane protein içeriğinin (GPC) arttırılması amacıyla *Gpc-B1* geninin geri melezleme ile aktarımı yapılmıştır. Markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi

kullanılarak 10 adet buğday genotipine genin aktarımı sağlanmıştır. Sonuç olarak; *Gpc-B1* geni aktarılan 124 GM3F5/F6 hattı çoklu lokasyon testleri içerisinde değerlendirilmiştir. Çevre ve genotipler ile *Gpc-B1*' in önemli etkileşimleri tespit edilmiştir (Kumar ve ark., 2011).

Menzo ve ark. (2011), dünyanın temel makarna üreticisi İtalya' da makarnalık buğdayda bir markör destekli seleksiyon programını yürütmüşlerdir. Araştırma Tahıl Araştırma Enstitüsünde (CRA-CER), düşük lipoksijenaz (LOX) aktivitesi (*Lpx-B1.1*), yüksek protein içeriği (GPC; *Gpc-B1*), yüksek sarı pigment içeriği (YPC; *Psy-A1*) ve hastalıklara dayanıklılık (pas, külleme ve tahıl mozaik virüsü) genlerinin piramitlemesi amacıyla yürütülmüştür. Hedef genleri taşıyan bazı makarnalık buğday çeşit ve hatları donör anaç olarak kullanılmıştır. Gen aktarımı yapılacak anaç gluten kalitesi oldukça yüksek ve verimi iyi olarak karakterize edilen bir İtalyan makarnalık buğday çeşidi (PR22D89)' dir. Gen piramitlemesi amacıyla her bir donör anaç ayrı ayrı PR22D89 çeşidi ile melezlenmiş ve F2 generasyonunda aktarılan genler bakımından homozigotlar MAS ile belirlenmiştir. Çalışmanın devamında elde edilen genotipler (F3-5 hatları) yüksek GPC, düşük LOX, pas ve külleme hastalıklarına dayanıklılık özelliklerinin tamamı açısından incelenmiştir. Geliştirilen hatların GPC' sinde yüksek derecede artış gözlenmekle birlikte, tane ağırlığı üzerinde çok sınırlı bir negatif etki olduğu tespit edilmiştir (Menzo ve ark., 2011). Bu tez çalışmasının devamında *Gpc-B1* ve *Lpx-B1.1* genlerinin birlikte aktarıldığı genotipler geliştirmek amacıyla markör destekli multi hat ıslahı yapılacaktır.

Amerika Tarım Bakanlığı (USDA), dünya buğday koleksiyonunun ilk taramalarında 12.600 hattın protein içeriğinin yaklaşık % 7-22 arasında değiştiğini belirlemişlerdir (Vogel ve ark., 1978).

Worland ve Snape (2001), İngiltere kışlık buğdaylarının bilinen genlerle protein içeriğindeki varyasyonun % 30' dan daha az oranda etkilendiğini bildirmişlerdir. Buna tek istisnai durumun ise; melezlemelerde % 70' e varan oranlarda varyasyonlara neden olan *Gpc-B1* QTL' si olduğunu ifade etmişlerdir.

Farklı bir çalışmada; Amerika' nın Pasifik Kuzeybatı bölgesinden; sert kırmızı yazlık buğdaylarda (*Triticum aestivum* L.) *Gpc-B1* allelinin mineral içeriği, yüksek protein konsantrasyonu ve olgunlaşma oranı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tane protein konsantrasyonu (GPC); buğdaydan çıkan undan yapılan ürünlerin son kullanım kalitesini etkilemektedir. Bu nedenle *GPC*, buğday çeşitlerinin iyileştirilme ve geliştirilme çabalarında yüksek bir önceliğe sahiptir. Son yıllarda araştırmacılar *Gpc-B1* geninin dolayısıyla *Gpc* genini buğdayda olgunlaşma hızını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Gpc-B1 genini haritalama amacıyla yürütülen tarla denemelerinde, *Gpc-B1* lokusu için tetraploid yakın izogenik hatların ayırımı arasında senesensde (olgunlaşmada) farklılıklar gözlemlenmiştir. Olgunlaşmadaki bu farklılıklar, hücre bileşenlerinin programlı bozulmasını ve tohumun gelişmesi için besinleri kullanılabilir hale getirmesini sağlamaktadır. Bu nedenle *GPC* üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Mae, 2004; Waters ve ark., 2009). Kade ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, *DIC Gpc-B1* alleli taşıyan hatlarda azot remobilizasyonunda verim oranı artmış ve başaklanma döneminde bayrak yaprakta aminoasit ve çözünebilir protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar *GPC* üzerindeki bu lokusun etkilerinin olgunlaşmada görülen pleiotropik etkilerden kaynaklanmış olabileceğini göstermiştir. Bitkide *Gpc-B1* allelinin olmasının bayrak yaprağın daha erken zamanda olgunlaşması gibi bitkinin olgunluk zamanındaki farklılıklarıyla da ilişkili olduğu bilinmektedir (Uauy ve ark., 2006a, b; Brevis ve Dubcovsky, 2010).

Gpc-B1 alleli aynı zamanda hızlı olgunlaşma sağlamakla ilişkilidir, fonksiyonel *Gpc-B1* alleli genotip-çevre interaksiyonunun sebep olduğu tane kalitesi kusurları üzerinde etkili olup, tane doldurma periyodunu kısaltabilmektedir. Bazı ön çalışmalar *Gpc-B1* allelinin fonksiyonel özelliklerinin verim içeriği üzerindeki etkilerini analiz etmiştir (Joppa ve ark., 1997; Chee ve ark., 2001; Blanco ve ark., 2002). Ancak, bu sonuçların anlamlandırılmasında sarı pasa (*Puccinia striiformis* Westend. F. Sp. Tritici Erikson) dayanıklılığı sağlayan *Yr 36* geninin fonksiyonel *Gpc-B1* alleli ile yakından bağlı olmasının da etkili olduğu ifade edilmiştir (Uauy ve ark., 2005; Fu ve ark., 2009; Brevis ve Dubcovsky, 2010).

Carter ve ark. (2012), sulanan ve yağmur suyuyla beslenen koşullar altında bu genin etkisini değerlendirmek için bölgesel sert, kırmızı yazlık buğday çeşitleri Tara 2002 ve Scarlet'e *Gpc-B1* genini aktarmışlardır. 2007 yılında *Gpc-B1* geni ile Tara 2002 izohatlarında artan olgunluk oranları (1,8 gün önce $P=0,03$) saptanmıştır. İzogenik hatların tane protein oranında önemli bir değişiklik göstermemişken; tüm izogenik hatlar için her iki yıl içerisinde de tane ağırlığının azaldığı saptanmıştır. Ayrıca tespit edilen izohatların mineral içeriklerinin de farklılık gösterdikleri gözlemlenmiştir. *Gpc-B1* geninin ekspresyonunun çevresel koşullardaki farklılıklardan etkilenebileceği ifade edilmiştir (Carter ve ark., 2012).

Yapılan başka bir çalışmada ise hekzaploid buğdayda *Gpc-B1* geninin tanımlanması araştırılmıştır. Son zamanlarda; yaşlanma ve remobilizasyon arasında yakın bir ilişki olduğunu, buğdayda *Gpc* geni haritaya dayalı klonlama yolu ile gösterilmiştir. *Gpc-B1* geni; bir NAC transkripsiyon faktörü ile ilgili erken yaşlılık ve demir, çinko içeriği artırılmış tane proteini kodlamaktadır. Mevcut çalışmada; iki *Gpc-B1*'e homolog iki gen (*Gpc-A1* ve *Gpc-D1*) için metan sülfonat mutantlarını saptamışlardır. Tek *Gpc-A1* ve *Gpc-D1* mutantları; çift *Gpc-B1* mutantları ve kontrol hatları dört bölgede tarla koşulları altında yetiştirilmiştir bununla birlikte yaşlanma, tane protein içeriği, mikrobese ve verim parametreleri belirlenmiştir. Araştırmanın sonucunda; *Gpc-A1* ve *Gpc-D1* tek mutantlarının her ikisinde yaşlanmada önemli bir gecikme gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlar *Gpc-A1* ve *Gpc-D1* genlerinin buğdayda besin remobilizasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Avni ve ark., 2014).

Finney (1978), yüksek protein için genlerin geniş kaynaklarını tanımlanmış ve *Aegilops*'dan bir gen içeren Plainsman V çeşidinde GPC' nin % 2-3 oranında arttığı ileri sürülmüştür.

Sert yazlık buğdaylar için; buğday tane protein içeriği (GPC, Grain Protein Content) elde edilen son ürünün kalitesini belirlemede birincil sıradadır. Markör destekli seleksiyon (MAS) tekniği ile yüksek GPC' ye sahip çeşitler üretilmektedir. Yapılan iki deneysel çalışmada düşük GPC' ye sahip çeşitler olan Ember ve McVey DIC' tan elde edilen yüksek GPC QTL' si içerikli Glupro ile çaprazlanmıştır. Birinci deneysel çalışmada; yüksek GPC' ye sahip genotiplerin seçilimi için MAS ve fenotipik seçim

(PC) teknikleri uygulanmıştır ve seçilen genotipler North Dakota’ da (ABD) altı bölgede yetiştirilmiştir. Yapılan ikinci deneysel çalışmada ise; her bir popülasyondan DIC alleli için her markör sınıfından GM2F2 bitkilerinin seçilimi için moleküler markörler kullanılmıştır. Bu bitkiler GM2F4 bitkilerini üretmek için iki kez kendilenmiş ve tek bir Minnesota ve North Dakota bölgesinde yetiştirilmiştir. İki bölgede elde edilen bitki hatlarında ortalama GPC içeriği en yüksek bulunmuştur. Ancak diğer dört bölgede MAS ve PS tekniklerinden elde edilen bitkilerin GPC içerikleri arasında bir fark görülemedi. DIC alleli için homozigot olan hatlar, düşük içerikli GPC içeriğine sahip anne-baba lara göre daha yüksek GPC içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Markörler tarafından tanımlanan fenotipik GPC varyasyonu Minnesota bölgesinde % 15 ve Dakota bölgesinde % 30 olarak gözlemlenmiştir. PS tekniğinin yüksek GPC genotiplerinin seçiminde MAS kadar verimli olduğu ve hatta bazı bölgelerde MAS’ dan daha etkili olduğu görülmüştür (Davies ve ark., 2006).

Bir diğer çalışmada (Mishra, 2015), Xucw 108 DNA markörü ile bağlantılı *Gpc-B1* geni içeren ‘PBW343+Gpc-B1+LR24’ isimli bir buğday genotipi, markör destekli melezleme ıslahı ile Hindistan’ın iki popüler çeşidine yüksek tane proteini için *Gpc-B1* geninin aktarılmasında donör olarak kullanılmıştır. Çeşitlerin her ikisinde de *Gpc-B1* geni markör destekli geri melezleme ıslah yöntemi ile ön seleksiyon, aktarılan gen bölgesi için tarama ve alıcı genotipin ıslahı ile geri melez bitkilerinin (GM2F2) bireysel seleksiyonu olarak üç adımda aktarılmıştır. Xucw 108 dominant markörü ön seleksiyon için kullanılmış ve heterozigot bitkiler belirlenmiştir. *Gpc-B1* geninin aktarımı 2009-2010 yıllarında F1’ den başlayarak, 2013-2014 yıllarında GM2F5 generasyonu ile son bularak toplam beş yılda tamamlanmıştır. GM2F3-F4’ den seçilen on tane tek bitkide HUW 234 tekrarlanan anaca kıyasla % 26 oranında daha yüksek GPC gözlemlenmiştir. HUW 468 anacına ait melez hatlardan (GM2F3-GM2F4) seçilen sekiz bitkide ise GPC’ de % 34’ lük bir artış saptanmıştır. Seçilen her bitkinin döller (GM2F4 ve GM2F5), 2012-2013 ve 2013-2014 yıllarında donör ve tekrarlanan anaçlar ile verim özellikleri açısından değerlendirilmiş, çalışma sonucunda verim düşüşü olmayan önemli derecede yüksek GPC içeren iki hat tanımlanmıştır. Çalışmada markör destekli seleksiyon ve fenotipik seleksiyonun birlikte kullanılmasıyla tane veriminden ödün vermeden yüksek GPC’ li buğday genotiplerinin geliştirilmesi için uygulanabilir bir strateji geliştirilmiştir (Mishra, 2015).

Yapılan başka bir çalışmada ise; buğdayda gövde (sap) pası direnci için markörler optimize edilerek geliştirilmiştir. Mikrosatellit markörleri kullanılmıştır ve bu markörler haploitleme, piramitleme ve gövde pası dayanıklılık genleri haritalamada bir arada kullanılmıştır. Çalışmanın ana hedefi; daha önceden karakterize edilmiş ve buğdayda yeni geliştirilen gövde pasına dayanıklılık genleri için markörleri optimize etmek ve tanımlamaktır. Ayrıca dayanıklılık genleri için yeni geliştirilen kaynakları piramitlemek ve bunları haritalamaktır. Daha öncesinde yapılan çalışmalarda 21 gövde pasına direnç sağlayan 58 markörü değerlendirmişlerdir. Tetraploidler için piramitlede, gövde pasına dayanıklılık geni olan *Yr-36* ve yüksek tane protein içeriğine sahip gen olan *Gpc-B1* aktarılmıştır. UC1113 hattı yapılan ıslah çalışmasında *Sr 25*, *Sr 13* ve *Sr 2* içermektedir. Bunun üzerine Avustralyalı bilim adamları kök pasına direnç genleri olan *Sr 33* ve *Sr 45* için markörler geliştirmişlerdir. UC1113 ıslah hattını gen piramitleme için tekrarlanan ebeveyn olarak seçmişlerdir. Bu hattı seçme sebeplerinin başında ise Kaliforniya’ da çok geniş adaptasyona sahip olması ve veriminin yüksek olmasıdır. İkinci bir sebep ise, *Gpc-B1* genini yabani buğdaya aktararak aynı zamanda gövde pasına dayanıklılık sağlayan *Yr-36* genini de içerdiği için bu hat kullanılmıştır. Sonuç olarak ise; *Gpc-B1* geninin aktarımıyla; tane protein, demir ve çinko oranında % 10’ luk bir artış gözlemlenmiştir (Yu ve ark., 2009). Bu tez çalışmasında ise UC1113 hattı donör anaç olarak kullanılmıştır.

Başka bir çalışmada, Güneydoğu Kazakistan koşulları altında SQ1 ve Çin bahar buğdaylarının ortak genotipleri arasındaki çaprazlamadan elde edilmiş popülasyonun haritalanmasıyla 95 adet dihaploit (DH) hatlarda tane protein içeriğini geliştirmek için kantitatif özellik lokusunun (QTL) allelleri tanımlanmıştır. DH hatlarında GPC, yağmur suyuyla beslenen ve sulanan bölgeler arasında önemli derecede farklılık gözlemlenmiştir. Toplamda, GPC için 10 QTL’ nin nem kontrolü için iki değerlendirme yapılmıştır. Yağmur suyuyla beslenen şartlar altında, GPC için iki QTL önceki sunulan rapor ile karşılaştırıldığında yeni geliştirilmiş olduğu tahmin edilmiştir. Yeni geliştirilen QTL’ ler yağmur suyuyla beslenen şartlar altındayken popülasyon büyümüş 5DL ve 2BS kromozomları üzerinde haritalanmıştır. Yakından bağlantılı DNA markörleri, haritalanan QTL’ lerin çoğu için belirlenmiştir. Sonuçlar; markör destekli seleksiyon tekniği kullanılarak buğday tane kalitesinin iyileştirilmesi için bölgesel ıslah programında uygulanabilirliğini göstermiştir (Abugalieva ve ark., 2010).

2010 yılı boyunca, *Pm 36* geni ve *Gpc-B1* alleli için UC1113 x 5BIL-42 melezine ait 200 homozigot bitki, Xuhw 89 ve Mgbe 684 markörleri kullanılarak belirlenmiştir. Bazı bitkiler Creso, Pedroso, Primadur ve Neodur makarnalık buğday çeşitleri ile melezlenmiş ve heterozigot bitkiler markör destekli seleksiyon yöntemi ile seçilmiştir (Menzo ve ark., 2011).

Farklı bir çalışmada (Conti ve ark., 2011), durum buğdayının rekombinant kendilenmiş hatlarından (RIL) oluşan popülasyon kullanılarak gluten kuvveti ve tane proteini ile ilgili ana ve epistatik QTL etkilerinin incelenmesi ve bunun haritalanması yapılmıştır. Kalite, özellikle gluten kuvveti ve protein içeriği buğday ıslah programlarının ana hedefleri arasında bulunmaktadır. Bu çalışmanın hedefi ise; Arjantin çevresinde ifade edilen ek QTL'leri bulmak için ve SDS sedimentasyon hacmi tarafıyla ölçülen gluten kuvveti ve GPC ile ilgili kantitatif karakter lokusunu (QTL) doğrulamıştır. Ayrıca, epistatik QTL ve QTL*çevresel etkileşimler analiz edilmiştir. Ekstrem değerleri gösteren UC1113*Kofa melezlemesinden elde edilen 93 RIL popülasyonu gluten kalitesinde kullanılmıştır. Fenotipik veri iki yıl süre içerisinde üç lokasyon boyunca toplanmıştır. 3BS ve 7BL kromozomları üzerinde ($R^2 = \% 21,6-21,0$) iki çevrede ve tek çevrede 1BS, 2AL, 2BS, 3BL, 4AL, 5AS, 5BL ve 7AS kromozomları üzerindeki GPC ile ilgili temel durumlar eşdeğer gözlemlenmiştir. Daha önemlisi, sabit QTL'yi etkileyen SV, sürekli olarak altı çevre üzerinde saptanan 1BL kromozom üzerine yerleştirilmiştir. Sonuç olarak, bu QTL'lerin bazısındaki pleiotropik etkilerin, bin dane ağırlığı, test ağırlığı ve tane verimine etkisi olduğu bulunmuştur (Conti ve ark., 2011).

Yüksek tane protein içeriğinin (GPC) bir kaynağı *Triticum turgidum* L. spp. *dicocoides* tetraploid buğdayda yabani bir popülasyonda tanımlanmıştır (Avivi, 1978). Yüksek GPC İsrail hattı *Fa15-3*' dan hekzaploid buğday çeşidi *Glupro* (*RL4352-1/Triticum turgidum* L. spp. *dicocoides* aksesyon *FA15-3//Len*)' ya başarıyla aktarılmıştır. Bu çeşitte yüksek GPC gösterilmiştir fakat düşük dane ağırlığı gözlenmiştir. Yüksek protein için sorumlu olan bölge *Glupro*' nun 6BS kromozomu üzerinde tanımlanmıştır (Joppa ve ark., 1997; Mesfin ve ark., 1999; Olmos ve ark., 2003).

Bir diğer çalışmada ise; yabani tetraploid buğdayın tane protein içeriğinden sorumlu genlerin kromozomal lokasyonu belirlenmiştir. Bu çalışma, yüksek tane protein

içeriğine sahip tohumları bulunduran yabancı tetraploid buğday aksesyonunda yüksek tane protein içeriği için genlerin kromozomal lokasyonunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, LDN D-genom dizomik hatların bir seti ile geri melezleme ve melezlemeler aracılığıyla makarnalık 'Langdon' (LDN) çeşidine *dicoccoides* (DIC) kromozomlarının her birinin yer değiştirmesi sağlanmıştır. Langdon-dicoccoides, LDN(DIC)' in tümü, canlılıkları düşük seviyede ve kısmen steril olan LDN (DIC-2B)' nin dışındaki substitüsyon hatların verimli ve dinamik olduğu saptanmıştır. LDN (DIC-6B) hatlarının yüksek tane protein içeriğini etkileyen QTL' nin bir veya birden fazla önemli genlere sahip olan bu DIC kromozomu olduğu öne sürülmüştür. Bu LDN (DIC-6B) yedekli hattın artan tane protein içeriği ile geliştirilen makarnalık buğday çeşitlerinin ıslahında faydalı olacağı ifade edilmiştir (Joppa ve ark., 1990).

Khan ve ark. (2000) tarafından geliştirilen PZR' ye dayalı markörler 6BS kromozomal bölgesinde *Gpc-B1* geninin 90B07-AU2B (Pasqua*2/Glupro) ıslah hattından BW621 (DePauw ve ark., 2005) hattına aktarılması için kullanılmıştır. Yüksek protein içeriği ile bağlantılı olan DNA markörü, melezlenen BW621*2/90B07-AU2B hattından GM2F1 bitkilerini seçmek için kullanılmıştır. Geri melezlemelerle elde edilen bu hat 2003' de Lillian (CWRS) olarak piyasaya sürülmüştür. *Gpc-B1*' e bağlı STS markörleri (Distelfeld ve ark., 2006) son yıllarda makarnalık buğday çeşitlerine *Gpc-B1* genini aktarmak için rutin olarak kullanılmaktadır.

Yapılan bir başka çalışmada, sert kırmızı yazlık buğday çeşidi ve Japon yumuşak buğday çeşitleri arasında F2 populasyonu üzerine *Gpc-B1* geninin etkisi araştırılmıştır. Japon buğday çeşidi, Japon eriştesinin hazırlanmasında kullanılan birincil buğdaylardır. Japon eriştelerinde ideal tane protein içeriği, % 10-11 arasında değişiklik göstermektedir. Japonya' nın Kyushu bölgesinde tane protein içeriğinin olması gerekenden daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, çiftçiler bu bölgeye diğer bölgelere göre daha fazla gübre uygulamak zorundadır (Cristobal ve ark., 2006). Çalışmada, Kyushu bölgesinde yeni bir yumuşak buğday çeşidi üretmek için *Gpc-B1* geninin yüksek tane protein içeriği üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Taramalarda, Xuhw 84 ve Xucw 108 markörleri kullanılmıştır. Bu markörler, iki japon yumuşak buğdayları ve Yecora Rojo-HGPC arasında polimorfizm göstermiştir. Bu polimorfizm, *Gpc-B1* ile bitkileri seçmek için kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, bin dane ağırlığı

ve tane protein içeriği arasındaki kolerasyon katsayısı, Yecora Rojo-HGPC185 için 0,017 ve Rojo-HGPC/ Chikugo izumi F2 populasyonu için 0,299 olmuştur. Her iki popülasyonda tane protein ağırlığı ve bin dane ağırlığı arasında ilişki gözlemlenmemiştir. Ayrıca *Gpc-B1* geni, düşük buğday unu parlaklığına ve yüksek kül içeriğine yol açmıştır. Un protein içeriğinin erištenin renk değişikliğini etkilediği saptanmış ve erişte parlaklığında azalma gözlemlenmiştir (Oda ve ark., 2008).

Tane protein içeriği (GPC), makarna kalitesi ve ekmek yapımını etkileyen temel faktörlerden en önemlilerinden biridir ve buğdayın besin değerini geliştirmek için önemlidir (Dick ve ark., 1988; Finney ve ark., 1987). Ancak, yüksek GPC amacıyla yürütölen klasik ıslah programlarında ilerlemek zor ve yavaş olmaktadır. Değişen çevre farklılıklarından dolayı oluşun küçük varyasyonlar protein içeriği için genetik varyasyondaki ilk sınırlamadır. İkinci sınırlama ise, tane verimi ve GPC arasındaki güçlü negatif kolerasyon olmasıdır. Tane verimi ve GPC arasında negatif kolerasyon olduğu pekçok çalışmada bildirilmiştir (Kibite ve Evans, 1984; Levy ve Feldman, 1987; Feil, 1992; Simmonds, 1995; Mesfin ve ark., 2000; Blanco ve ark., 2002; Groos ve ark., 2003; Gonzalez-Hernandez ve ark., 2004). Farklı yıllarda buğday çeşitlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, modern çeşitlerde eski çeşitlere kıyasla GPC artışı gözlemlenmiştir (Austin ve ark., 1980; Slafer ve ark., 1990; Fufa ve ark., 2005).

Diğer bir çalışmada (Blanco ve ark., 2011), seçilen iki makarnalık buğday çeşitlerinden türetilmiş kendilenen bir rekombinant hatta kantitatif özellik lokus analizleri boyunca, tane protein içeriği ve tane verim bileşenleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Makarnalık buğdayda tane protein içeriği (GPC) ile tane verimi arasında negatif ilişki görölmüştür. Başaktaki tane verimi ve GPC arasında karşılıklı genetik ilişki değerlendirilmiş, bin dane ağırlığı ve başaktaki tane sayısı, GPC için kantitatif karakter lokusu (QTL); verim bileşenleri üzerinde kovaryans analizlerinde ayarlanmış datalar kullanılarak haritalanmıştır. Fenotipik veriler, seçilen Svevo ve Ciccio çeşitlerinin çaprazlanmasıyla üretilen 120 rekombinant kendilenmiş hattın ayrılan popülasyonları değerlendirilmiştir. Materyaller, Güney İtalya' da beş ortamda test edilmiştir. QTL, Dart markörleri ile entegre olan ve Gadaleta ve ark. (2009) tarafından geliştirilen bağlantı haritası Stevo ve Ciccio çeşitlerinin çaprazlanması üzerinde yerleşmiş haritalama tarafından belirlenmiştir. GPC' nin ifadesinde ilişkili 10 bağımsız bölge tespit edilmiştir. Artan

GPC etkileri ile QTL allelleri, tersine ya da daha fazla verim içerik özelliklerinden birisi üzerindeki etkisinde azalma QTL allelleri ile ilişkilendirilmiştir. GPC için dört QTL her zaman önemli etkiler göstermiştir ve bu QTL tane içeriğinde varyasyondan bağımsız GPC' yi etkileyen genleri temsil etmektedir. Böylece; tane veriminde azalma olmadan GPC' de bir artış sağlandığından GPC' ye yönelik buğday ıslahına özel bir ilgi duyulacağı ifade edilmiştir (Blanco ve ark., 2011).

Farklı bir araştırmada ise, makarnalık gen kaynaklarında GPC ile verim arasındaki bulunan negatif kolerasyona rağmen GPC, bitki ağırlığı ve protein verimi üzerinde çok az miktarda etki göstermiş ve DIC alleli protein içeriğindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Chee ve ark., 2001). 6B kromozomu üzerinde bulunan substitüsyon hattı 'Langdon' - *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* [LDN(DIC-6B)] kantitatif karakter lokusu "*QGpc.ndsu.6Bb*" yüksek GPC içermektedir. Ayrıca çalışmada GPC' nin daha önce tanımlanan diğer lokuslarla ilişkisi belirlenmiş ve bu genin 6B kromozom üzerine yerleştiği saptanmıştır. İncelenen bu popülasyon GPC ile diğer agronomik özellikler ve tane verimi açısından 1996 yılında üç lokasyonda 1995 yılında ise iki lokasyonda arazide değerlendirilmiştir. Bu yüksek GPC lokusu çevre koşullarından etkilenmemiştir. Tane protein konsantrasyonunun bitki ağırlığı ile bağlantılı olmadığı, fakat tane verimi ve başaklanma tarihi ile düşük seviyede bağlantılı olduğu ifade edilmiştir. Kantitatif karakter lokusları analizleri ile basit bağlantılar kullanarak GPC üzerinde önemli bir etkiye sahip olan 6B kromozomu üzerinde olan Xmwg 79 ve Xcdo 365 markörleri tarafından çevrili bir lokus tanımlanmıştır. Seleksiyon için iki flanking markörün kullanılması güvenilirliği arttırmıştır.

Özkan ve ark. (2014) yaptığı çalışmada, buğday danesinde çinko ve demir konsantrasyonunu arttıran *Gpc-B1* geninin markör destekli geri melezleme yöntemi ile üç adet yazlık ekmeklik (Özkan, Balatilla, Genç-99) ve üç adet makarnalık (Balcalı-85, Balcalı-2000, Zenit) buğday çeşidine aktarmış ve bu gen bölgesinin buğday çeşitlerinde farklı etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada *Gpc-B1* gen bölgesi vericisi için makarnalık olarak UC1113-*Gpc-B1* ve ekmeklik olarak Yecore Roja-*Gpc-B1* buğday çeşitleri kullanılmıştır. *Gpc-B1* alleleline bağlı olarak danedeki protein içeriğinin ekmeklik buğday kombinasyonlarının birinde makarnalık buğday kombinasyonlarının ise tümünde artış sağladığı saptanmıştır. *Gpc-B1* geni ekmeklik ve makarnalık

buğdaylara aktararak dane protein içeriğini arttırmış ancak aktarılan bu genin kullanılan buğday çeşitlerinin genetik yapılarına göre etkinliğinin değiştiği gözlemlenmiştir (Özkan ve ark., 2014).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Araştırmada, markör destekli seleksiyon yöntemiyle aktarım yapılmak üzere tekrarlanan anaç olarak daha önce yürütülen bir projede (TÜBİTAK-COST 107O004) birbiriyle bağlantılı olan ve γ -45 gliadini içeren *Gli-B1* ile *LMW-2* glutenini içeren *Glu-B3* lokuslarının aynı geri melezleme programında beraberce aktarılmasıyla farklı anaçlardan elde edilen üç adet ileri ıslah hattı (TMB1, TMB2, TMB3) kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makarnalık buğday ıslah hatları

Kodu	Melez Ailesi	Geri Melez Kodu
TMB1	Sarıçanak-98 // Kyle	TMB 1 GM4F4
TMB2	Salihli-92 // Kyle	TMB 2 GM4F4
TMB3	Kızıltan-91 // Kyle	TMB 3 GM4F4

(*TMB: Türk Makarnalık Buğdayı)

Çalışmada genotiplerin kaliteli makarna üretiminde belirleyici olan protein oranlarının artırılması ve mikro besin element içeriklerinin yükseltilmesi amacıyla *Gpc-B1* geni aktarılmıştır. Melezlemelerde gen kaynağı olarak (donör anaç) Prof. Dr. Jorge Dubcovsky tarafından geliştirilen *Gpc-B1* gen bölgesini taşıyan makarnalık buğday çeşidi UC1113-*Gpc-B1* (jel resimlerinde UC olarak kısaltılmıştır) kullanılmıştır. Donör anaç ile tekrarlanan anaçların her biri melezlenerek F1 bitkileri elde edilmiş ve markör destekli seleksiyon yöntemi yardımıyla hedef gen bölgesi makarnalık buğday hatlarına aktarılmıştır. Çalışmada elde edilen F1 bitkileri ve kısaltmaları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada elde edilen F1 ıslah hatları ve kısaltmaları

Kodu	Melez Ailesi	F1 Bitkisi Kodu
TMB1 GPC	TMB1// UC1113- <i>Gpc-B1</i>	TMB1//GPC F1
TMB2 GPC	TMB2// UC1113- <i>Gpc-B1</i>	TMB2//GPC F1
TMB3 GPC	TMB3// UC1113- <i>Gpc-B1</i>	TMB3//GPC F1

(*TMB: Türk Makarnalık Buğdayı)

Öncelikle melezleme çalışmaları için genotiplere ait tohumlar 15 gün arayla üç farklı tarihte (15 Eylül - 15 Ekim 2014) saksılara (3 lt hacimli) ekilmiş ve Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi araştırma serasında yetiştirilmiştir (Şekil 3.1). Bitkilerin bakım ve sulama işlemleri düzenli olarak yapılmıştır.



Şekil 3.1. Serada yetiştirilen bitkiler

Bağışlayan anaç (UC1113-*Gpc-B1*) ile tekrarlanan anaçların (TMB1, TMB2, TMB3) her biri melezlenerek üç farklı kombinasyona ait 50'şer adet F1 bitkisi elde edilmiştir (Şekil 3.2). Böylece üç farklı melezleme kombinasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Melezleme yapılan bitkiler

Moleküler taramalarda ilk olarak F1 ve anaç genotiplerin DNA ekstraksiyonu yapılmış daha sonrasında ise tüm DNA'lar, 6B kromozomu kısa koluna bulunan *Gpc-B1* lokusunun varlığı açısından taranmıştır. Taramalarda bu gen bölgesiyle bağlantılı olan mikrosatellit (SSR) ve dizisi karakterize edilmiş çoğaltılan bölgeler (SCAR) markörleri kullanılmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) farklı primerler için, kaynak makalelerinde belirtilen şartlara göre gerçekleştirilmiştir. *Gpc-B1* geninin aktarımında Xuhw 89 markörü, *Yr-36* geninin seleksiyonu için ise Xgwm 193, Xucw 71 ve Xucw 79 markörleri kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için makarnalık buğday çeşit ve hatlarından yaklaşık 4-5 cm boyundaki yaprak örnekleri alınmış ve genç yapraklarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bazı değişikliklerle standardize edilerek çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyonu metodu aşağıda verilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990).

a) 1,5 cm boyundaki buğday yaprağı likit nitrojen içinde öğütülür ve 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
- 10 ml 0,5 M EDTA (pH: 8,0) karıştırılarak 65 °C'de ısıtılır
- 1 gr CTAB ile
- 1 ml 14 M Beta Merkpto Etanol (BME) eklenir.

b) Bir ünite Proteinase K eklendikten sonra vortekste karıştırılır.

c) 40 µl % 20 SDS (veya 80 µl % 10 SDS) eklenerek 65 °C' de su banyosunda 1 saat tutulur ve ara sıra alt üst ederek karıştırılır.

d) Su banyosundan çıkarılan tüplere 2 / 3 hacim (400 µl) kloroform:isoamil alkol (24:1) eklenir. 5-10 dakika alt üst edilerek karıştırılır.

e) 10,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.

f) Süpernatant 2 / 3 hacim yani 300 µl 2-propanol içeren yeni bir tüpe alınır. Alt üst edilerek DNA gözle görülür hale getirilir.

g) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.

h) Sıvı dökülür. Pelet kuruduktan sonra 500 µl 1 x TE eklenir. Su banyosunda 65 °C' de 2 saat tutulur.

1) Her bir tüpe 10 mg / ml RNase çözeltisinden 1 µl eklenir. DNA 65 °C' de su banyosunda 1 saat bekletilir.

j) 400 µl kloroform:isoamil alkol (24:1) eklenir. Tüpler 10-15 dakika alt üst edilerek karıştırılır.

k) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.

l) Süpernatant 80 µl 1,2 M NaCl (veya 26 µl 5 M NaCl) içeren yeni bir tüpe alınır ve hafifçe karıştırılır.

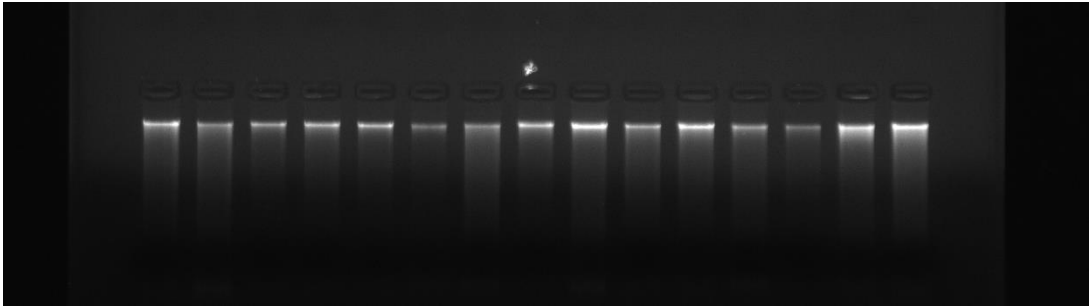
m) 800 µl % 96 soğuk etil alkol ilave edilir. Alt üst edilip karıştırılarak DNA çökeltilir.

n) 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilir ve sıvı dökülür.

o) Pelet 1.200 µl % 70 soğuk etil alkol ile dikkatlice yıkanır. Ters çevrilmiş halde 2 saat kurutulur.

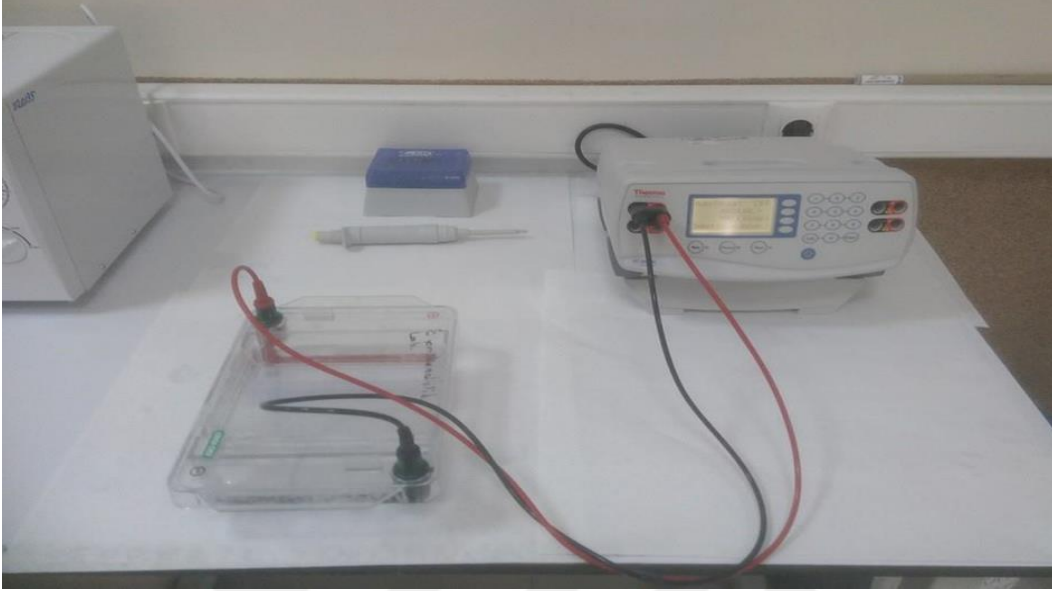
p) Kuruyan pelet 100 µl 1 x TE'de çözülür. Sonuçta toplam 20 µg civarında DNA elde edilebilir.

Anaç ve F1 bitkilerinden yaprak örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Yaprak örnekleri sapa kalkma döneminde bitkilerin en genç yapraklarından alınmıştır. Elde edilen DNA'lar agaroz jelde koşulmuş ve görüntülenmiştir (Şekil 3.3). DNA miktarı yetersiz olan çeşitlerde izolasyon işlemi tekrarlanmıştır. DNA örneklerinin koşulduğu 120 ml % 1' lik agaroz jeller; 24 ml 5 X TBE, 96 ml ddH₂O, 1,2 gr Agarose ve 8 µl Etidium Bromür (10 mg/ml) içermektedir.



Şekil 3.3. Agaroz jelde yürütülen DNA örnekleri

DNA örneklerinin yürütülmesinde kullanılan elektroforez sistemi (Thermo Scientific EC 1000 XL PowerSupply) Şekil 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.4. Jellerin yürütüldüğü elektroforez ünitesi

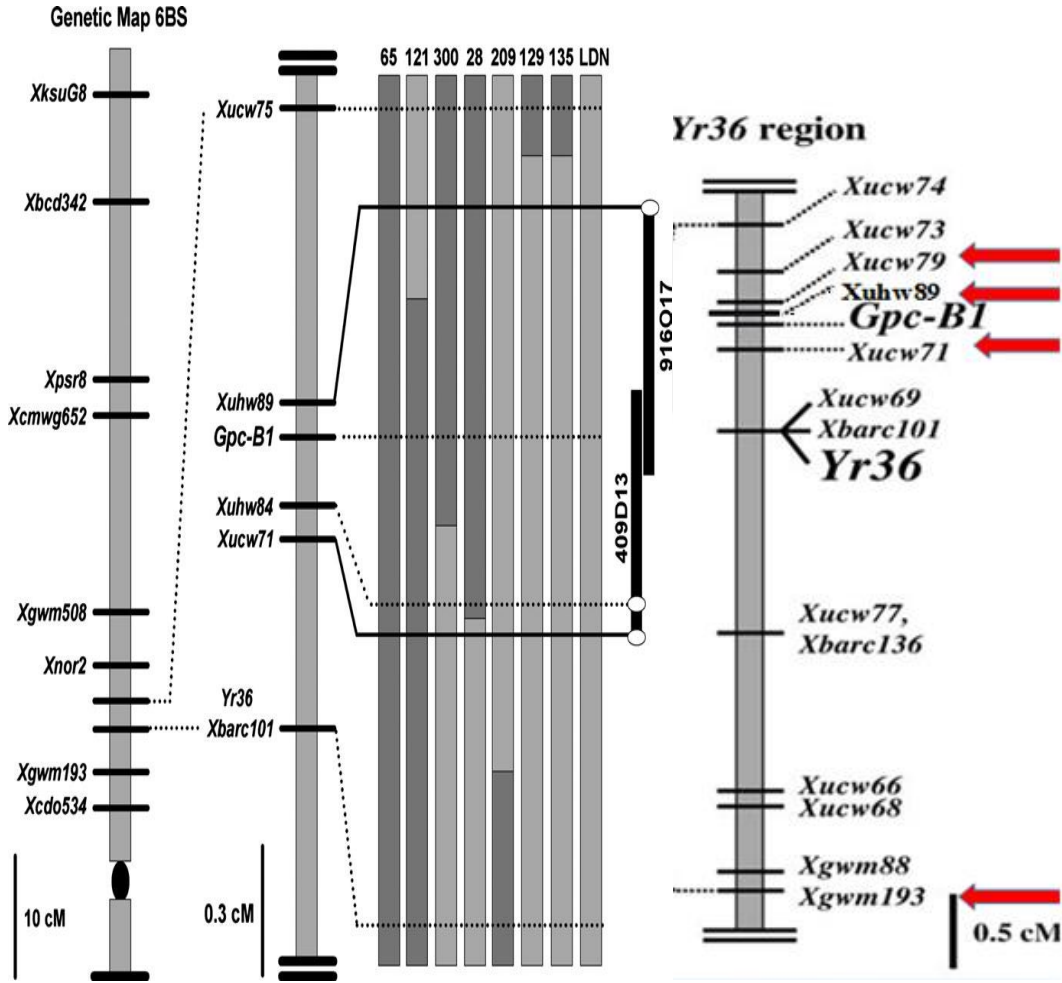
DNA ve PZR ürünlerinin yürütüldüğü jeller jel imaj sisteminde (BIO-RAD ChemiDOC MP Imaging System) görüntülenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Jel görüntülemeye kullanılan UV transilatör

3.2.2. Moleküler Markör Taramaları

Elde edilen tüm DNA'lar, 6B kromozomu kısa koluna haritalanmış birbiriyle bağlantılı olan *Gpc-B1* ve *Yr-36* genlerinin varlığı açısından taranmıştır. *Gpc-B1* lokusunu içeren 6BS kromozomuna ait farklı haritalardan alınan ve bu bölgelerle bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. 6BS kromozomunda bulunan, *Gpc-B1* ve *Yr-36* lokuslarıyla bağlantılı olan DNA markörlerinin harita üzerindeki muhtemel pozisyonları (Distelfeld ve ark., 2006) (Koyu renkli rakamlarla gösterilen değerler cM cinsinden uzaklıkları ifade etmektedir.)

Her bir bitkiden izole edilen DNA'lar, *Gpc-B1* ve *Yr-36* genleri bakımından moleküler markörlerle taranmıştır. Moleküler taramalarda farklı araştırmacılar tarafından haritalanan mikrosatelit (SSR) ve kesilip çoğaltılmış polimorfik diziler (CAPS) markörleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Farklı haritalardan alınan ve *Gpc-B1* lokusuyla bağlantılı olan SSR ve CAPS markörleri

Markörler	Primer Dizisi (5'--- 3')	Genetik Harita Kaynağı
Xuhw 89	F-TCTCCAAGAGGGGAGAGACA R- TTCCTCTACCCATGAATCTAGCA	Distelfeld ve ark. (2006)
Xucw 71	F-CTTGCACCCGTGGATCAG R-CGATGCAATAATTTATCACACGTA	Distelfeld ve ark. (2004)
Xucw 79	F-AGATAACGACCGATGCGATCTTAGTA R-TCCTTTTTCCGATTTTCTTTGTGT	Distelfeld ve ark. (2004)
Xgwm 193	F-CTTTGTGCACCTCTCTCTCC R-AATTGTGTTGATGATTTGGGG	Distelfeld ve ark. (2004)

Gpc-B1 lokusunun varlığı bakımından yapılacak olan taramalarda hedef gene 0,1 cM uzaklıkta olduğu bilinen gene spesifik Xuhw 89 primeri kullanılmıştır (Distelfeld ve ark., 2006). *Yr-36* geni için yapılan taramalarda kullanılan Xucw 71 ve Xucw 79 primerleri için kesim (restriksiyon) enzimleri de kullanılmıştır. Xucw 71 primerine ait amplifikasyon ürünleri *BsmI* (New England BioLabs, SR0134S), Xucw 79 primeri ile elde edilen PZR ürünleri ise *AccI* (New England BioLabs, SR0161S) enzimiyle kesilmiştir. *BsmI* enzimi ilave edilen PZR ürünleri 65 °C' de, *AccI* ile kesilen örnekler ise 37 °C' de 3 saat inkübe edilmiştir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) işlemleri farklı primerler için kaynak makalelerinde belirtilen şartlara göre gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyonda; 250 nM primer, deoksiniükleotidlerin her birinden 0,2 mM, 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 54-55 °C’de bir dakika primerlerin bağlanması (yapışma), 72 °C’ de bir dakika uzatma (sentez) basamağını takiben 72 °C’ de beş dakika son uzatma aşamalarından oluşmaktadır. Yapışma sıcaklığı Xuhw 89 primeri için 54°C, Xgwm 193 primeri için 55°C, Xucw 71 ve Xucw 79 primerleri için ise 54 °C olacak şekilde programlanmıştır.

Elde edilen PZR ürünleri % 2’ lik agaroz (Lonza SeaKem® LE Agarose, 50004) jellerde [220 ml % 2’lik agaroz jel; 2,2 g agaroz, 44 ml 5 x TBE, 176 ml ddH₂O ve 16µl Etidium Bromür (10 mg/ml)] veya % 4’lük ultra pure agarose (Invitrogen Ultra Pure™ Agarose, 16500-100) jellerde [120 ml % 4’lük ultra pure agaroz jel; 4,8 g agaroz, 24 ml 5 x TBE, 96 ml ddH₂O ve 10 µl Etidium Bromür (10 mg/ml)] koşulmuştur. PZR işleminin gerçekleştirildiği thermal cycler (BIO-RAD C1000 Touch Thermal Cycler) Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda kullanılan thermal cycler

Bu alışmada, *Yr-36* geninin seleksiyonu için *Xucw 71* ve *Xucw 79* primerleri kullanılmıştır. Bu primerlere ait PZR rnleri restriksiyon enzimleriyle kesilmiştir. *Xucw 71* primerine ait PZR rnlerine *BsmI* restriksiyon enzimi, *Xucw 79* primerine ait PZR ürünlerine ise *AccI* restriksiyon enzimi eklenmiştir. Isıtıcı blokta (Biosan TDB-120 DryBlock Thermostat) *BsmI* ile kesilen PZR rnleri 54  C' de, *AccI* enzimi ile kesilen PZR rnleri ise 37  C' de 3 saat inkübe edilmiştir (şekil 3.8). *Xucw 71* ve *79* primerleri ile yapılan PZR taraması ile elde edilen örneklerin % 2' lik agarose jelde görüntülenmesi sonunda TMB1//GPC, TMB2//GPC ve TMB3//GPCF1 bitkileri arasından heterozigot olanlar belirlenmiştir.



şekil 3.8. Restriksiyon enzimi çalışmalarında kullanılan ısıtıcı blok

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

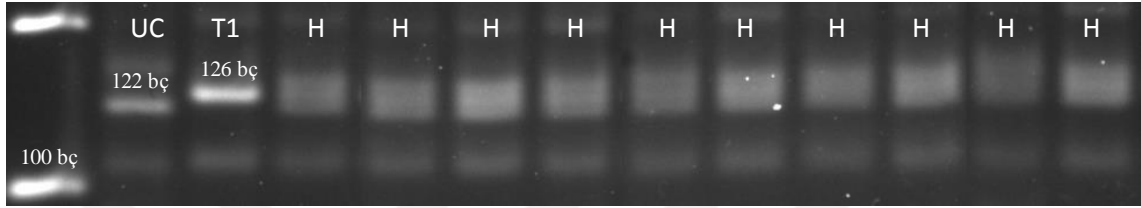
İlk aşamada bağışlayan anaç (UC1113-*Gpc-B1*) ile tekrarlanan anaçlar (TMB1, TMB2, TMB3) melezlenerek üç farklı kombinasyona ait (TMB1//GPC, TMB2//GPC ve TMB3//GPC) ait F1 bitkileri elde edilmiştir. Üç farklı melezleme kombinasyonuna ait melezlemelerden 50'şer adet F1 bitkisi elde edilmiştir. F1 tohumları petrilere ekilerek çimlendirilmiş ve viyollere şaşırtılmıştır (Şekil 4.1). İki yapraklı döneme gelen F1 bitkilerinin ve anaç genotiplerinin DNA izolasyonları yapılmış, aktarılan *Gpc-B1* gen bölgesiyle ilgili moleküler taramalar yapılmıştır. Böylece *Gpc-B1* genini taşıyan bitkiler DNA markörleri kullanılarak markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemiyle seçilmiştir.



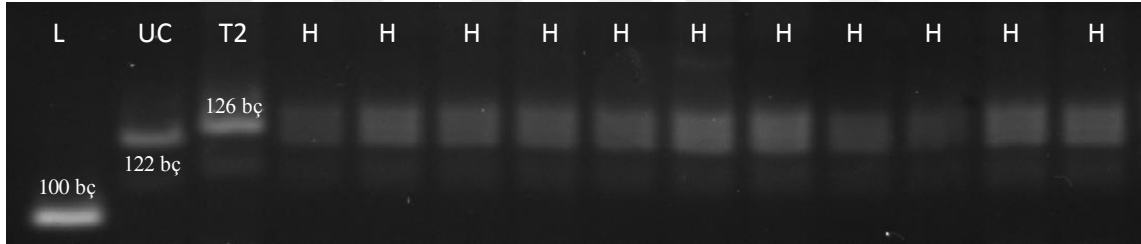
Şekil 4.1. Petride çimlenen tohumlar ve viyolde büyüyen F1 bitkileri

Çalışmada kullanılan tüm bitkilere ait DNA'lar, 6B kromozomunun kısa kolunda bulunan, *Gpc-B1* ve *Yr-36* lokuslarıyla bağlantılı olan, daha önceden farklı araştırmacılar tarafından haritalanmış DNA markörleri tarafından taranmıştır. Yapılan moleküler taramalarda, *Gpc-B1* (6B kromozomu kısa kolunda bulunan) lokusunun varlığı açısından bu gen bölgesiyle bağlantılı olan mikrosatellit (SSR) ve kesilip çoğaltılmış polimorfik diziler (CAPS) markörleri kullanılmıştır. *Gpc-B1* lokusunun varlığı bakımından yapılan taramalarda hedef gene 0,1 cM uzaklıkta olduğu bilinen gene spesifik Xuhw 89 primeri kullanılmıştır (Şekil 4.2 - 4.7). Sarı pas hastalığına karşı dayanıklılık sağlayan *Yr-36* geninin seleksiyonu için ise Xgwm 193, Xucw 71 ve

Xucw 79 markörleri kullanılmıştır. Böylece *Gpc-B1* ve *Yr-36* gen bölgelerini yakın bir şekilde çevreleyen (flanking) markörler ile seçilmiştir. Benzer şekilde Chee ve ark. (1991)' da 6B kromozomu üzerinde bulunan *Gpc* lokusunun taranmasında iki flanking markör (Xwmg 79 ve Xcdo 365) kullanarak başarılı bir markör destekli seleksiyon yapmışlardır. Flanking markörlerin kullanımı ile seleksiyondaki hata payı büyük oranda azaltılmaktadır.



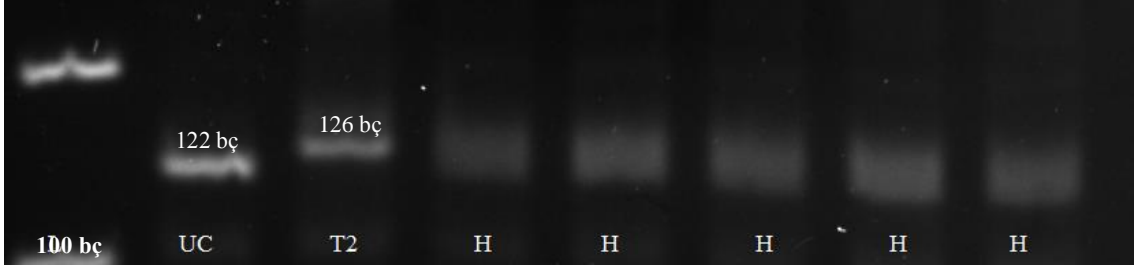
Şekil 4.2. TMB1//GPC melez ailesine ait F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile moleküler taramaları (H: Transfer edilen gen bölgesini taşıyan heterozigot bitkileri göstermektedir)



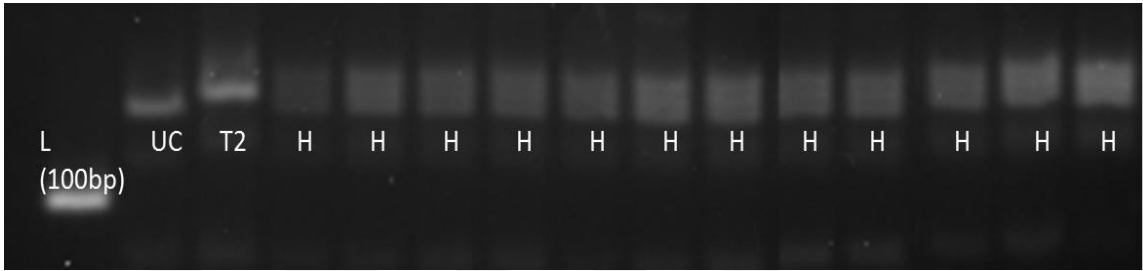
Şekil 4.3. TMB2//GPC melez ailesine ait bitkilerin Xuhw 89 primeri ile moleküler seleksiyonu



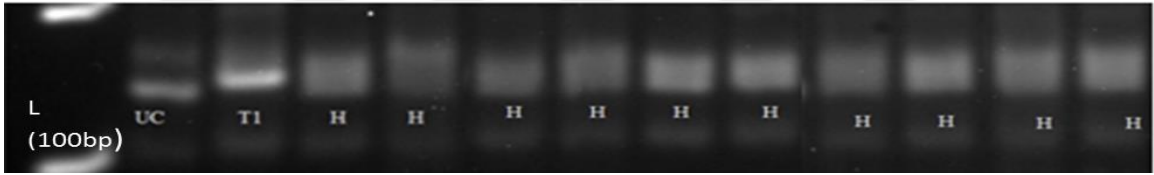
Şekil 4.4. TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonu



Şekil 4.5. TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile moleküler taramalarına ait agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.6. TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonu



Şekil 4.7. TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xuhw 89 primeri ile seleksiyonuna ait agaroz jel görüntüsü

Xuhw 89 primeri ile yapılan PZR reaksiyonları sonucu elde edilen PZR ürünlerinin % 4' lük ultra pure agarose jelde görüntülenmesi sonunda TMB1//GPC, TMB2//GPC ve TMB3//GPC F1 bitkileri arasından heterozigot olanlar belirlenmiştir (Şekil 4.2 - 4.7). Xuhw 89 primeri ile elde edilen PZR ürünlerindeki 122 bç' lik bant *Gpc-B1* geninin varlığını, 126 bç' lik bant ise *Gpc-B1* geninin olmadığını göstermektedir (Şekil 4.2). Arada sadece 4 baz çiftlik (bç) küçük bir fark olduğu için PZR ürünleri % 4' lük ultra pure agarose şeklinde özel bir jelde uzun süre yürütülmüştür. Xuhw 89 markörü için tespit edilen 4 baz çiftlik polimorfizmin, DIC sekansında bulunmayan LDN sekansındaki ACTT dublikasyonu nedeniyle olduğu bildirilmiştir (Distelfeld ve ark., 2005).

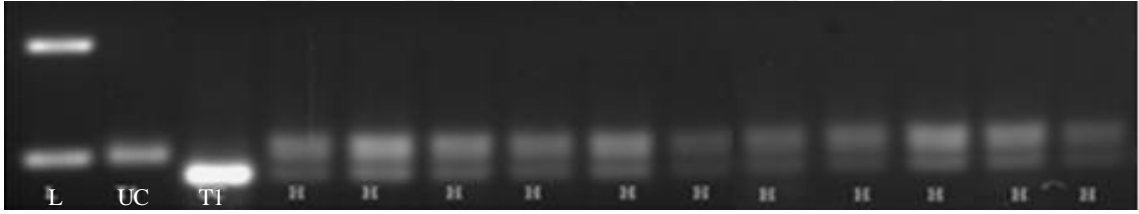
Xuhw 89 markörü, *Gpc-B1* geninden 0,1 cM uzaklıktadır ve gen ile bağlantılı dört bç delesyon sonucu ortaya çıkmıştır (Distelfeld ve ark., 2006). Prof. Dubcovsky, *Yr-36* ve *Gpc-B1* genlerinin aktarılmasında UC [Kifs// RSS// BD1419/ Mexis-CP/ 4/ Wahas/ 5/ Yav79]) çaprazlanmasından seçilen UC1113 (CIMMYT CD52600) makarnalık ıslah hattını geliştirmiştir. Bu tez çalışmasında da donör anaç olarak UC1113 hattı kullanılmıştır.

Menzo ve ark. (2011), *Yr-36* ve *Gpc-B1* genlerinin aktarımı amacıyla UC1113 donör hattı ile üç makarnalık buğday genotipinde (Creso, 5BIL-42, PR22D89) melezlemeler yaparak Xuhw 89 markörü ile markör destekli seleksiyon yapmışlardır. Anaç genotiplerde yapılan moleküler taramalarda Creso, 5BIL-42 ve PR22D89 genotiplerinde 124 bç' lik bir fragment çoğaltım yapılırken, UC1113 hattında 120' bç lik bir ürün gözlenmiştir. Kendileme generasyonları boyunca fonksiyonel allel için homozigot bitkilerin seçilimine izin veren Xuhw 89 markörü ko-dominant kalıtım göstermiştir. F1 bitkileri, 120 bç ve 124 bç olmak üzere her iki pik değeri ile karakterize edilmiştir. UC1113 X PR22D89 melezine (*Gpc-B1* alleli için 26 homozigot, 56 heterozigot, fonksiyonel olmayan alleler için 22 homozigot ve 15 hatalı veri) ve UC1113 x 5BIL-42 melez ailesine (*Gpc-B1* alleli için 24 homozigot, 50 heterozigot, fonksiyonel olmayan allel için 29 homozigot) ait F2 bitkilerindeki dağılım oranı, tek bir dominant gen tarafından kontrol edilen tane protein içeriğini doğrulayan 1:2:1 genotipik oranını göstermiştir. F2 hatları ve her iki anaç genotipleri, tane boyutundaki farklılıklar ile tane doldurma süresindeki farklılıklar GPC ile ilişkilendirilerek değerlendirilmiştir. Tek tane ağırlığı ve protein içeriği, UC1113 ve F2 populasyonlarında 50 bitki üzerinden değerlendirilmiştir. UC1113 hattı PR22D89' dan daha düşük tane ağırlığı göstermiştir. UC1113 bitkileri için ortalama GPC % 15,8 iken, ortalama dane ağırlığı 0,03 mg olmuştur. Ortalama ağırlık F2 (UC1113 X PR22D89) bitkilerinde 0,04 mg ve ortalama GPC % 16,5 olarak gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, külemeye dirençli olan *Pm 36* geni ve fonksiyonel *Gpc-B1* alleli içeren bitkileri elde etmek amacıyla yapılan iki farklı melezlemeden seçilmiş F2 bitkileri her iki ebeveyne göre daha yüksek GPC ve tek tane ağırlığı değerleri göstermiştir (Menzo ve ark., 2011).

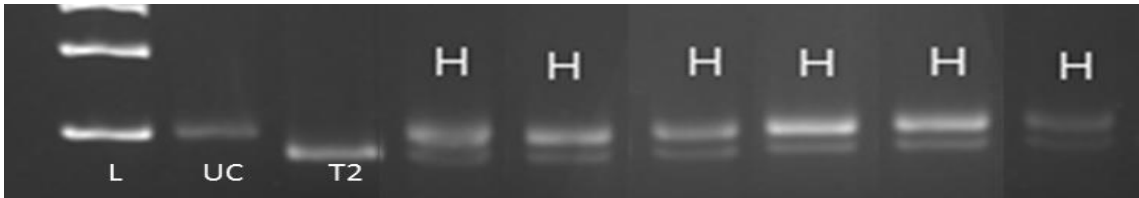
Farklı bir çalışmada, Xuhw 89 markörü *Gpc-B1* geni ile sıkı bir şekilde bağlantılı olduğu için (0,1 cM), *Gpc-B1* geni ve bu markör arasında sadece bin gamette bir

rekombinasyon olduğu saptanmıştır (Distelfeld ve ark., 2006). Gen ile markör arasındaki bu uzaklık baz alınarak, etkili bir sonuç elde edebilmek için, yapılan taramalarda sadece Xuhw 89 markörünün kullanımının başarılı bir seleksiyonu sağlayacağı belirlenmiştir. Xuhw 89 markörü DIC alleli ve tüm tetraploid ve hekzaploid hatlar arasında polimorfizm göstermiş ve test edilmiştir. Çalışma sonucunda Xuhw 89'un makarnalık ve ekmeklik buğday ıslah programlarının her ikisinde de yabancı çeşitlerle melezlemeler sonrası seleksiyonda faydalı olacağı bildirilmiştir. Xucw 71 ve Xucw 89' un dışında kalan diğer markörlerin ise *Gpc-B1* geninin aktarımında bağlantı sürüklenmesini azaltmak amacıyla kullanılabilmesi bildirilmiştir (Distelfeld ve ark., 2006).

Bu tez çalışmasında, Xgwm 193 primeri ile yapılan PZR taraması ile elde edilen örneklerin % 2' lik agarose jelde görüntülenmesi sonunda TMB1//GPC F1, TMB2//GPC F1 ve TMB3//GPC F1 bitkileri arasından heterozigot olanlar belirlenmiştir (Şekil 4.8- 4.11).



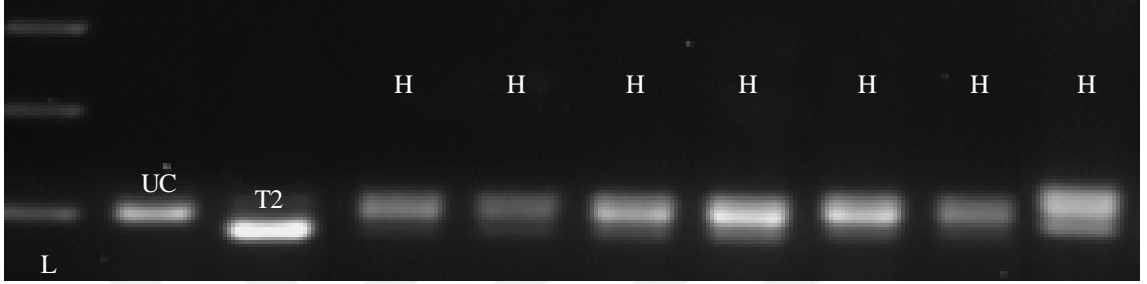
Şekil 4.8. TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile seleksiyonuna ait agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.9. TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile seleksiyonu



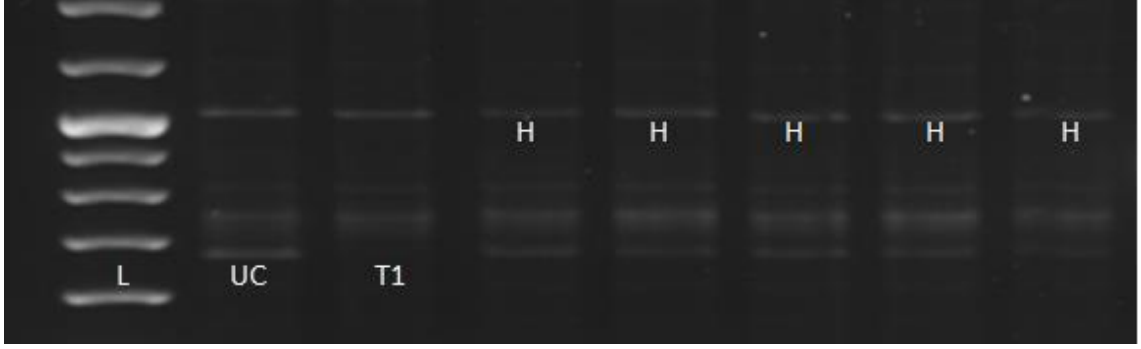
Şekil 4.10. Xgwm 193 primeri ile seçilen TMB3//GPC F1 bitkilerinin jel görüntüsü



Şekil 4.11. TMB2//GPC F1 bitkilerinin Xgwm 193 primeri ile moleküler taramaları

Bir diğer araştırmada, Xgwm 193 markörü yüksek GPC geni içeren *T. dicoccoides*'den gen aktarımını izlemek için kullanılmıştır. LDN ve RSL65 arasındaki melezlemelerden elde edilen rekombinant hatların taramalarında Xgwm 193 markörü başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Khan ve ark., 2000). Ayrıca *Gpc-B1* geni ile yakından bağlantılı olduğu için taramalarda kullanılan Xgwm 193 markörünün, daha önce yapılan çalışmalarda bağlantı sürüklenmesini azaltmak amacıyla kullanılabilmesi de öne sürülmüştür. Bu tez çalışmasında da Xgwm 193 primeri markör destekli seleksiyonda kullanılmıştır.

Yr-36 geninin seleksiyonu için Xucw 71 ve Xucw 79 primerleri kullanılmıştır. Xucw 71 primeri kullanılarak elde edilen PZR ürünleri *BsmI* restriksiyon enzimi ile kesilerek, agaroz jelde yürütülmüş ve markör destekli seleksiyon yapılmıştır (Şekil 4.12 - 4.13).



Şekil 4.12. TMB1//GPC F1 bitkilerinin Xucw 71 primeri ile moleküler taramalarına ait jel görüntüsü



Şekil 4.13. TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xucw 71 primeri ile seleksiyonu

Xucw 79 primere ait PCR ürünleri *AccI* restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve % 2' lik agaroz jelde yürütülmüş ve heterozigot bitkiler belirlenmiştir (Şekil 4.14). Bu tez çalışmasında geni çerçeve içine alan Xucw 71 ve Xucw 79 markörleri F1 bitkilerinin seleksiyonunda birlikte kullanılmıştır.



Şekil 4.14. TMB3//GPC F1 bitkilerinin Xucw 79 primeri ile seleksiyonuna ait jel görüntüsü

Farklı bir çalışmada da hedef gen *Gpc-B1*'e yakın olduğu ve bu geni çerçeve içerisine aldıkları için Xucw 71 ve Xucw 79 markörleri birlikte kullanılmıştır (Distelfeld ve ark., 2004). Kaynak makalelerde belirtilen haritaya göre Xucw 71 ve Xucw 79 markörleri *Gpc-B1* genini 0,3 cM aralığında çevreledikleri ve hedef gene yakın oldukları için bu tez çalışmasında da tercih edilmişlerdir. Yapılan bir çalışmada, *Gpc-B1* geni ile ve bu iki markör (Xucw 71 ve Xucw 79) arasındaki mesafenin çok az olması nedeniyle *Gpc-B1* geninin transferinin doğruluğunu teyit etmek için ikinci bir markörün kullanımına gerek olmadığı kanısına varılmış ve seleksiyonun tek bir markör kullanılarak yapılabileceği öne sürülmüştür. Xucw 71 markörü germplazmın geniş aralığında onaylanmıştır (Distelfeld ve ark., 2004).

Vishwakarma ve ark. (2014), markör destekli seleksiyon yöntemiyle Xucw 108 SSR markörünü kullanarak *Gpc-B1* genini HUW 468 makarnalık buğday çeşidine aktarmıştır. Geri melezlemede genom boyunca dağılan 86 polimorfik SSR markörü saptanmıştır. İlgili genin aktarılmasında geni 10 cM uzaklıkta olan çevreleyen markörler kullanılmıştır. Geliştirilen hatlarda, tekrarlanan anaç genotiplerinden % 88,4 - % 92,3 oranında daha yüksek GPC saptanmıştır.

Bir diğer araştırmada, *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*' deki yüksek tane protein içeriği ile ilişkili genomik bölgeleri tanımlamak için üç adet sert kırmızı yazlık buğday rekombinant hatları kullanılmıştır. Bir tek bölge, 6B kromozomu üzerinde sentromere yakın yerleştirilen beş RFLP markörü ile saptanarak yüksek GPC ile ilişkilendirilmiştir. Bu yüksek tane protein içeriği ile ilgili QTL, Joppa ve ark. (1997) tarafından tanımlanan lokuslar ile benzerlik göstermiştir. Aslında, araştırma gruplarının her ikisi de yüksek GPC' nin donörü olarak aynı *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*' i kullanmıştır (Mesfin ve ark., 1999). Bu tez çalışmasında da donör anaç olarak UC1113 hattı kullanılmıştır.

Blanco ve ark. (2006), makarnalık buğdaya yüksek GPC allelini aktarmak için geri melezleme yöntemini kullanmışlardır. Çalışmada 4BS, 5AL, 6BS ve 7BS kromozom kollarının herbiri üzerinde birer QTL tanımlanmış ve iki farklı QTL ise 6A kromozomu üzerinde haritalanmıştır. Bu altı QTL, GPC lokusu için % 49,2' den % 56,4' e kadar fenotipik varyasyonlar göstermiştir. Kullanılan markörlerden bazılarının tane verimi ya da tohum ağırlığı ile negatif ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, yüksek

GPC allelinin makarnalık buğdaya aktarımı için geri melezleme yönteminden faydalanılmıştır. GPC' nin seleksiyonunda etkili olduğu bilinen SSR, AFLP markörlerinden yararlanılmıştır (Blanco ve ark., 2006). Bu tez çalışmasında ise markör destekli seleksiyonda SSR ve CAPS markörleri kullanılmıştır.

Ateş Sönmezoğlu (2010), makarnalık buğdayın kalitesinde etkili olan γ -gliadin 45 ve LMW-2 glutenin genlerini dört adet makarnalık buğday çeşidine (Sarıçanak-98, Salihli-92, Kızıltan-91 ve Selçuklu-97) markör destekli geri melezleme yöntemi ile aktarmıştır. Bu iki gen bölgesinin makarnalık buğdaya aktarımında moleküler DNA markörleri (SSR, STS ve GAG) kullanılmıştır. Her iki bölgenin seleksiyonunda dört adet SSR primeri (Xgwm 550, Xgwm 608, Stm 553actc, Stm 542acag), bir adet STS primeri ve bir adet GAG 5-6 primeri alternatifli veya kombinasyon halinde birlikte kullanılmıştır. 1BS kromozomunun uç kısmında haritalanmış olan ve *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarına olan uzaklığı 5 cM olan Stm 553actc primerinin çalışmada kullanılan tüm makarnalık buğday çeşitleriyle donör olarak kullanılan Kyle makarnalık buğday çeşidi arasında polimorfizm gösterdiği saptanmıştır. *Gli-B1* ve *Glu-B3* lokuslarına 10 cM uzaklıkta olan Xgwm 608 primeri ise Salihli-92 çeşidi ve Kyle arasında polimorfizm göstermiştir. Ayrıca gene spesifik GAG 5-6 markörü de seleksiyonda başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Ateş Sönmezoğlu, 2010). Bu tez çalışmasında kullanılan Xuhw 89 primeri ile makarnalık buğday hatlarına aktarılmak istenen *Gpc-B1* lokusu arasında 0,1 cM uzaklık bulunmakta olup, taramalarda daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi açısından gene spesifik bu primer kullanılmıştır. Taramaların devamında *Gpc-B1* lokusu ile yakından bağlantılı olduğu bilinen *Yr-36* lokusunun makarnalık buğday hatlarına aktarılmasında ise Xgwm 193, Xucw 71 ve Xucw 79 primerleri Xuhw 89 primeri ile kombinasyon halinde birlikte kullanılmıştır.

Tabbita (2013) araştırmasında, iki Arjantin ekmeklik buğday çeşidine *Gpc-B1* allelini aktarmıştır. Kantitatif karakter lokusu (QTL) kromozomun 6BS kolu üzerinde haritalanmıştır. Ayrıca iki adet hekzaploid Arjantin buğday çeşidinde *Gpc-B1* geni için yakın izogenik hatlar geliştirilmiştir. Homozigot GM6F2 bitkilerinin seleksiyonu ve *Gpc-B1* için altı defa geri melezleme ve heterozigot GM6 bitkilerinin kendilenmesi ile bu bitkiler elde edilmiştir. *Gpc-B1* geninin aktarılması için geliştirilen mikrosatellit markörlerinden; Xuhw 89, Xgwm 508, Xgwm 644 ve Xgwm 193 markörleri

kullanılmıştır. GM6F4 generasyonundaki yakın izogenik hatları teyit etmek için ise sadece Xuhw 89 primeri kullanılmıştır (Tabbita, 2013). Bu tez çalışmasında ise öncelikle Xuhw 89 primeri kullanılmış ve *Gpc-B1* geninin aktarıldığı F1 bitkilerinin seleksiyonu yapılmıştır. Daha sonra ise Xuhw 89 primeri ile seçilen bu F1 bitkilerinde *Yr-36* geninin seleksiyonu için Xgwm 193, Xucw 71 ve Xucw 79 primerleri kullanılmış ve *Yr-36* lokusunun aktarıldığı F1 bitkileri seçilmiştir. Ayrıca çalışmanın devamında geri melezlemeler yapılarak GM4F3 generasyonu elde edilecektir.

Bir diğer çalışmada (Rabie, 2012), türler arası melezleme yöntemi kullanılarak *Triticum durum* ve *Triticum aestivum*' a ait Mısır yerel buğday çeşitlerine *Triticum turgidum ssp. diccocooides* yabancı aksesyonlarından *Gpc-B1* alleli aktararak, yerel buğday çeşitlerinde tane protein içeriğini geliştirmek hedeflenmiştir. Çalışılan genotipler arasındaki genetik değişkenlik için, yedi agronomik karakterin yanısıra demir (GFeC) ve çinko (GZnC) içerikleri, SDS-Page ve RAPD analizleri kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Yabancı aksesyonlarla karşılaştırılan yerel çeşitlerde verim özelliklerinin önemli ölçüde yüksek iken, tane protein oranı ve demir ile çinko içeriğinin önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Polimorfizm oranı ise RAPD primeri taramalarında SDS-Page' den daha yüksek çıkmıştır (% 53,71). F1 hibritleri ve yabancı *diccocooides* ebeveyn genotiplerinde *Gpc-B1* geninin varlığını doğrulamak için markör destekli seleksiyonda Xuhw 89 markörü kullanılmıştır. Hibritlerde tane protein değerinde önemli artış gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, tane protein içeriği ve tane verimi arasında negatif kolerasyon ortaya çıkmıştır. Bazı melezlemelerde tane verimi ile tane protein içeriğindeki artışın birlikte etkilendikleri ortaya konulmuştur (Rabie, 2012). Bu tez çalışmasında da, protein oranı ve mikro besin elementi içeriklerinin artırılması amacıyla ileri ıslah hatlarına *Gpc-B1* geni aktarılmıştır.

Bir başka çalışmada ise, markör destekli seleksiyon yöntemi ile SSR ve RAPD markörleri kullanılarak 23 çeşit arpanın genetik farklılıkları ortaya konulmuştur. Bu çalışma sonucunda ise, kullanılan SSR markörlerinin ayırt etme özelliğinin RAPD markörlerine göre yedi kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Kraic ve ark., 1998). Strelchenko ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada ise, yerel buğday çeşitleri arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesi için kullanılan SSR markörlerinin AFLP

markörlerinden daha güvenilir ve daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında da güvenilir ve ko-dominant olması nedeniyle SSR markörleri tercih edilmiştir.



5. SONUÇ

Son yıllarda yapılan çalışmalarda makarnalık buğday çeşitlerinin dansinde başta demir ve çinko ve mangan olmak üzere mikro besin element içerikleri bakımından eksiklik olduğu saptanmıştır. Uluslararası Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) yayınlamış olduğu bültende, yaklaşık iki milyara yakın insanın 'gizli açlık' olarak bilinen mikro besin element (demir, bor, çinko, selenyum vb.) eksikliği yaşadığı, 160 milyonun üzerindeki beş yaş altı çocuğun da protein yönünden yetersiz beslenmeyle karşı karşıya olduğu ve dünya nüfus artışına paralel bir şekilde bu rakamın giderek arttığı bildirilmiştir (Çakmak ve ark., 2002).

Bu durum insan yaşamında önemli sorunlara yol açmaktadır. Bu sorunların önüne geçmek için, temel besin maddelerinin en önemlilerinden biri olan buğdayın Fe, Zn, Mn gibi önemli mikro besin elementleri ve protein miktarı bakımından zenginleştirilmesine yönelik buğday ıslah programlarına ihtiyaç vardır. Buğdayın mikrobesein elementi içeriği ile ilgili çalışmalarda buğdayın kültür formlarının yabani formlarına göre daha düşük seviyede mikro besin elementi içeriğine sahip oldukları gözlemlenmiştir. Ayrıca modern işlenmiş buğdayın dansindeki Zn ve Fe konsantrasyonları, yabani gernik buğdayına göre daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır (Çakmak ve ark., 2004). Bu bağlamda yabani gernik buğdayının (*Triticum dicoccoides*, DIC) buğday dansinde demir ve çinko konsantrasyonlarındaki artış için önemli bir genetik kaynak olduğu tespit edilmiştir.

Uauy ve ark. (2006b), buğday dansinde protein oranı ile demir ve çinko içeriğinin artırılmasıyla ilişkili bir buğday kantitatif karakter lokusu (QTL) olan *Gpc-B1* genini yabani gernikten klonlamışlar ve bu gen ile bağlantılı DNA markörü geliştirmişlerdir. Ekmek ve makarna kalitesi üzerinde güçlü bir etkiye sahip olan bu gen (*Gpc-B1*) buğday üzerindeki olumlu etkisinden dolayı ıslah programlarının sık kullanılan hedefi haline gelmiş ve birçok ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerine aktarılmıştır.

Kumar ve ark. (2011), yüksek GPC' den sorumlu *Gpc-B1* genini içeren bir hekzaploid buğday genotipi olan Yecora Rojo ve donör anaç olarak kullanarak on adet ekmeklik buğday genotipi ile melezlemişlerdir. Çalışmada GM1F1 ve GM2F1 için Xgwm 193

(SSR) ve XNor-B2 (CAPS) flanking markörleri kullanılmıştır. GM3F1 bitkileri için ise *Gpc-B1* geninden 0,1 cM uzaklıkta olan Xuhw 89 markörü kullanılmıştır. Markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi kullanılarak 10 adet buğday genotipine *Gpc-B1*' in genin aktarımı sağlanmıştır. Sonuç olarak; *Gpc-B1* geni aktarılan 124 GM3F5/F6 hattı çoklu lokasyon testleri içerisinde değerlendirilmiş çevre ve genotipler ile *Gpc-B1*' in önemli etkileşimleri tespit edilmiştir (Kumar ve ark., 2011).

Ülkemizde yapılan bir proje kapsamında *Gpc-B1* gen bölgesi markör destekli seleksiyon yöntemi ile üç ekmeklik ve üç makarnalık buğday çeşitlerine aktarılmış ve çalışma sonucunda bu gen bölgesinin buğday çeşitlerinde farklı etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. *Gpc-B1* alleleline bağlı olarak danedeki protein içeriğinin ekmeklik buğday kombinasyonlarının birinde makarnalık buğday kombinasyonlarının ise tümünde artış sağladığı saptanmıştır. Yani *Gpc-B1* geni ekmeklik ve makarnalık buğdaylara aktararak dane protein içeriği arttırılmış ancak aktarılan bu genin kullanılan buğday çeşitlerinin genetik yapılarına göre etkinliğinin değiştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca bu genin aktarılmasına bağlı olarak iki ekmeklik ve makarnalık buğday kombinasyonlarında danedeki Fe içeriğinin de arttığı saptanmıştır. Bir ekmeklik ve iki makarnalık buğday kombinasyonunda *Gpc-B1* genine bağlı olarak Zn konsantrasyonunda da artış olmuştur. Bu sonuçlara göre de *Gpc-B1* geninin aktarıldığı ekmeklik ve makarnalık buğdaylarda bu genin mikro besin element içeriği üzerinde farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır (Özkan ve ark., 2014).

Bu çalışmada, *Gpc-B1* geni daha önce protein kalitesi iyileştirilmiş üç adet ileri geri melez ıslah hattına (TMB1, TMB2, TMB3) aktararak danedeki protein oranı ve mikro besin element içeriğinde artış sağlanması hedeflenmiştir. Bununla birlikte; *Gpc-B1* geni *Yr-36* geni ile sıkı bir şekilde bağlantılı olduğu için *Gpc-B1* geninin aktarıldığı bitkilerin sarı pas hastalığına karşı da dayanıklılık kazandığı bilinmektedir. Çalışma kapsamında melezlemeler sonucu elde edilen F1 generasyonunda hedeflenen gen bölgelerini (*Gpc-B1* ve *Yr-36*) taşıyan bitkiler markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemi ile seçilmiştir. Hedef genler makarnalık buğday ıslah hatlarına markör destekli melezleme yöntemi ile aktarılmıştır. Böylece daha sonra yapılacak ıslah çalışmalarına temel hazırlanmıştır. Çalışmanın devamında yürütülecek proje kapsamında (112T910 Numaralı TÜBİTAK Projesi) geri melezlemeler yapılarak GM4F1 generasyonu elde

edilecektir. Markör destekli seleksiyonla geni taşıdıkları belirlenen GM4F1 bitkileri kendilenerak GM4F3 tohumları elde edilecek ve detaylı kalite analizleri gerçekleştirilerek aktarılan genlerin protein miktarı ile Fe, Mn ve Zn içeriklerine etkisi belirlenecektir. Bu tez çalışması ülkemizde makarnalık buğday kalitesine yönelik yürütülen az sayıda araştırmadan biridir. Bu bağlamda çalışma sonucunda makarnalık kalitesini etkileyen önemli bir gen bölgesinin çeşit aday hatlara aktarılıp kalite özelliklerinin geliştirilmesine yönelik bir ıslah çalışmasına temel oluşturması bakımından önemli ve değerli sonuçlar üretildiği düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Abugalieva, S., Abugalieva, A., Quarrie, S. ve Turuspekov, Y. 2010. Mapping of quantitative traits loci for grain protein content in common wheat. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 35-41.
- Akçalı Can, R.R., 2005. *Triticum durum* ile *Triticum dicoccoides* melezlerinde genetik analizler ve moleküler markörler üzerinde bir araştırma. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, İzmir.
- Anonim, 2007. Bitkilerde Zn Eksikliği. www.ziraatci.com (Erişim Tarihi: 24.02.2016).
- Anonim, 2008a. Türkiye İstatistik Kurumu. www.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 18.01.2016).
- Anonim, 2008b. <http://faostat.fao.org> (Erişim Tarihi: 19.01.2016).
- Anonim, 2010. Statistics. <http://www.makarnaturkiye.com> (Erişim Tarihi: 08.01.2016).
- Anonim, 2011. Ülkeler itibariyle dünya makarna ihracatı. <http://www.trademap.org> (Erişim Tarihi: 20.01.2016).
- Anonim, 2013a. Bitki beslemede gerekli olan bitki besin elementleri. <http://www.birlesimtarim.com/bilgi> (Erişim Tarihi: 03.01.2016).
- Anonim, 2013b. Demir ve yararları. <http://www.bilimvesaglik.com/mineraller/demir-ve-yararlari.html> (Erişim Tarihi: 08.01.2016).
- Anonim, 2013c. Elementler ve Vitaminlerin Vücudumuza Yararları. <http://www.emu.edu.tr/saglikmerkezi/vitamin.htm> (Erişim Tarihi: 23.01.2016).
- Anonim, 2013d. Mangan. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mangan> (Erişim Tarihi: 22.01.2016).
- Anonim, 2013e. Türkiye topraklarındaki bitki besin maddesi noksanlıkları. <http://www.efsus.com> (Erişim Tarihi: 20.02.2016).
- Anonim, 2015a. Projected leading 10 wheat producers worldwide in 2015/2016. <http://www.statista.com/statistics> (Erişim Tarihi: 15.03.2016).
- Anonim, 2015b. Top Wheat Producing Countries. <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).
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., 2010. Bazı makarnalık buğday çeşitlerinin makarna kalitesi bakımından ıslahı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, Tokat.
- Austin, R.B., Blackwell, J.R.D., Evans, L.T., Ford, M.A., Morgan, C.L. ve Taylor, M., 1980. Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *Journal of Agriculture Science*, 94, 675-689.
- Autran J.C. ve Bourdet, A., 1979. L'identification des varietes de ble: etablisement dun tableau general de determination fonde sur le diagramme. *Annales Des Plantes*, 25(3), 277-301.
- Avivi, L., 1978. High protein content in wild tetraploid *Triticum dicoccoides* Korn. In: Ramanujam S (ed) International Wheat Genetic Symposium. *Indian Society of Genetics and Plant Breeding*, p. 372-380, New Delhi, India.
- Avni, R., Zhao, R., Pearce, S., Jun, Y., Uauy, C., Tabbita, F. ve Distelfeld, A., 2014. Functional characterization of GPC-1 genes in hexaploid wheat. *Planta*, 239(2), 313-324.
- Aydoğan S., Şahin, M., Göçmen Akçacık, A. ve Türköz, M., 2010. İleri makarnalık buğday hatlarının farklı çevrelerde verim ve kalite özellikleri yönünden değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(4), 23-31.
- Aydoğan, S., Akçacık, A.G., Şahin, M., Demir, B., Önmez, H., Türköz, M. ve Çeri, S., 2012. Bazı makarnalık buğday çeşitlerinin kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 21(1), 1-7.
- Ballatore, G.P., 1970. Due nuove cultivar di grano duro. *Agriculture and Agri-Food Canada*, 38, 2963-2966.
- Barbieri, A. ve Deidda, M., 1968. Contributo al miglioramento genetico del grano duro. *Sementi Elette*, 3, 1-3.

- Barneix, A.J., 2007. Physiology and biochemistry of source-regulated protein accumulation in the wheat grain. *Journal of Plant Physiology*, 164, 581-590.
- Black, M.M., 2003. Micronutrient deficiency and cognitive function. *Journal of Nutrition*, 133, 3927-3931.
- Blanco, A., Pasqualone, A., Troccoli, A., Di Fonzo, N. ve Simeone, R., 2002. Detection of grain protein content QTLs across environments in tetraploid wheats. *Plant Molecular Biology*, 48, 615-623.
- Blanco, A., Simeone, R. ve Gadaleta, A., 2006. Detection of QTL's for grain protein content in durum wheat. *Journal of Applied Genetics*, 112, 1195-1204.
- Blanco, A., Mangini, G., Giancaspro, A., Giove, S., Colasuonno, P., Simeone, R. ve Gadaleta, A., 2011. Relationships between grain protein content and grain yield components through quantitative trait locus analyses in a recombinant inbred line population derived from two elite durum wheat cultivars. *Molecular Breeding*, 30(1), 79-92.
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., DiFonzo, N. ve Fares, C., 1999. Durum wheat lipoxygenase activity and other parameters that affect pasta color. *Cereal Chemistry*, 76, 335-340.
- Borrelli, G.M., DeLeonardis, A.M., Fares, C., Platani, C. ve Di Fonzo, N., 2003. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. *Cereal Chemistry*, 80, 225-231.
- Brevis, J.C. ve Dubcovsky, J., 2010. Effects of the chromosome region including the grain protein content locus *Gpc-B1* on wheat grain and protein yield. *Crop Science*, 50, 93-104.
- Brevis, J.C., Morris, C.F., Manthey, F. ve Dubcovsky, J., 2010. Effect of the grain protein content locus *Gpc-B1* on bread and pasta quality. *Journal of Cereal Science*, 51(3), 357-365.
- Brohi, A.R., Karaata, H., Özcan, S. ve Demir, M., 2000. Topraktan ve yapraktan çinko uygulamasının ekmeklik buğday bitkisinin verimine ve bazı besin maddesi alınımına etkisi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(1), 13-128.

- Carter, H.A., Santra, K.D. ve Kidwell, K.K., 2012. Assessment of the effects of the *Gpc-B1* allele on senescence rate, grain protein concentration and mineral content in hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L.) from the Pacific Northwest Region of the USA. *Plant Breeding*, 131(1), 62-68.
- Casale, F., 1955. Tre novità agrarie. *Società Italiana Genetica Agraria*, 5, 339-350.
- Chee, P.W., Elias, E.M., Anderson, J.A. ve Kianian, S.F., 2001. Evaluation of a high grain protein QTL from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* in an adapted durum wheat background. *Crop Science*, 41, 295-301.
- 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. Eds: Braun, H.J. *Kluwer Academic Publishers*, 100, 163-170, Netherlands.
- Conti, V., Roncallo, P.F., Beaufort, V., Cervigni, G.L., Miranda, R., Jensen, C.A. ve Echenique, V.C., 2011. Mapping of main and epistatic effect QTLs associated to grain protein and gluten strength using a RIL population of durum wheat. *Journal of Applied Genetics*, 52(3), 287-298.
- Çakmak, İ., Torun, B., Erenoğlu, B., Kalaycı, M., Yılmaz, A., Ekiz, H. ve Braun, H., 1996a. Türkiye’de toprak ve bitkilerde çinko eksikliği ve bitkilerin çinko eksikliğine dayanıklılık mekanizmaları. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 20, 13-23.
- Çakmak, İ., Yılmaz, A., Ekiz, H., Torun, B., Erenoğlu, B. ve Braun, H.J., 1996b. Zinc deficiency as a critical nutritional problem in wheat production in central anatolia. *Plant and Soil*, 180, 165-172.
- Çakmak, İ., Torun, B., Erenoğlu, B., Öztürk, L., Marschner, H., Kalaycı, M., Ekiz, H. ve Yılmaz, A., 1998. Morphological and physiological differences in cereals in response to zinc deficiency. *Euphytica*, 100, 349-357.
- Çakmak, İ., Kalaycı, M., Ekiz, H., Braun, H.J. ve Yılmaz, A., 1999. Zinc deficiency as an actual problem in plant and human nutrition in Turkey. *Field Crops Research*, 60, 175-188.
- Çakmak, İ., 2002. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant and Soil*, 247, 3-24.

- Çakmak, İ., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A.B., Nevo, E., Braun, H. J. ve Özkan, H., 2004. *Triticum dicoccoides*: An important genetic Resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. *Soil Science & Plant Nutrition*, 50, 1047-1054.
- Çakmak, İ., 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant and Soil*, 302, 1-17.
- Çakmak, İ., Pfeiffer, W.H. ve McClafferty, B., 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry*, 87(1), 10-20.
- Çavdar, A.O., Arcasoy, A., Cin, S., Babaca, S. ve Gözdaşoğlu, S., 1991. Geophagia in Turkey: Iron and zinc deficiency and zinc absorption studies and response to treatments with Zinc in geophagia cases. *NCBI PubMed*, 129, 71-79.
- Davies, J., Berzonsky, W.A. ve Leach, G.D., 2006. A comparison of marker-assisted and phenotypic selection for high grain protein content in spring wheat. *Euphytica*, 152(1), 117-134.
- DePauw, R.M., Townley-Smith, T.F., Humphreys, G., Knox, R.E., Clarke, F.R. ve Clarke, J.M., 2005. Lillian hard red spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 85, 397-401.
- Dick J.W. ve Youngs V.L., 1988. Evaluation of durum wheat, semolina, and pasta in the United States. *Chemistry and Technology*, p. 237-248.
- Distelfeld, A., Uauy, C., Olmos, S., Schlatter, A.R., Dubcovsky, J. ve Fahima, T., 2004. Microcolinearity between a 2 cM region encompassing the grain protein content locus *Gpc-B1* on wheat chromosome 6B and a 350 kb region on rice chromosome. *Functional and Integrative Genomics*, 4, 59-66.
- Distelfeld, A., Uauy, C., Fahima, T. ve Dubcovsky, J., 2006. Physical map of the wheat high-grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high-through put molecular marker. *New Phytologist*, 169 (4), 753-763.
- Distelfeld, A., Çakmak, İ., Peleg, Z., Ozturk, L. ve Yazici, A.M., 2007. Multiple QTL-effects of wheat *Gpc-B1* locus on grain protein and micronutrient concentrations. *Plant Physiology*, 129, 635-643.

- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Dubcovsky, J., 2006. Registration of five wheat isogenic lines for leaf rust and stripe rust resistance genes. *Crop Science*, 46, 485-487.
- Dziki D. ve Laskowski J., 2005. Influence of selected factors on wheat grinding energy requirements. *Teka Commission of Motorization and Power Industry in Agriculture*, 5, 56-64.
- Eyüpoğlu, F. ve Kurucu, N., 1997. Plant available trace iron, zinc, manganese and copper in Turkish soils. Accomplishments and Future Challenges in Dryland Soil Fertility Research in the Mediterranean Area, *ICARDA Book*, p. 191-196.
- Eyüpoğlu, F., Kurucu, N. ve Talaz, S., 1998. Türkiye topraklarının yararışlı bazı mikro elementler (Fe, Cu, Zn, Mn) bakımından genel durumu. *Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları*, s. 72, Ankara.
- Feil, B., 1992. Breeding progress in small grain cereals - A comparison of old and modern cultivars. *Plant Breeding*, 108, 1-11.
- Finney, K.F., 1978. Genetically high protein hard winter wheat. *The Baker's Digest*, 42(6), 32-35.
- Finney, K.F., Yamazaki, W.T., Youngs, V.L. ve Rubenthaler, G.L., 1987. Quality of hard, soft and durum wheat. *Wheat and Wheat Improvement, Agronomy Monograph*, 13, 677-748.
- Fu, D., Uauy, C., Distelfeld, A., Blechl, A., Epstein, L., Chen, X., Sela, H., Fahima, T. ve Dubcovsky, J., 2009. A kinase-start gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust. *Science*, 323, 1357-1360.
- Fufa H., Baenziger P.S., Beecher B.S., Graybosch R.A., Eskridge K.M. ve Nelson L.A., 2005. Genetic improvement trends in agronomic performances and end-use quality characteristics among hard red winter wheat cultivars in Nebraska. *Euphytica*, 144, 187-198.
- Gadaleta, A., Giancaspro, A., Giove, S.L., Zacheo, S., Mangini, G., Simeone, R., Signorile, A. ve Blanco, A., 2009. Genetic and physical mapping of new EST-

- derived SSRs on the A and B genome chromosomes of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 1015-1025.
- Ghanbari, H.A. ve Mameesh, M.S., 1971. Iron, Zinc, Manganese and Copper Content of Semidwarf Wheat Varieties Under Different Agronomic Conditions. *Cereal Chemistry*, 48, 411-415.
- Graham, R.D., Welch, R.M., Saunders, D.A., Ortiz-Monasterio, I., Bouis, H.E., Bonierbale, M., de Haan, S., Burgos, G., Thiele, G., Liria, R., Meisner, C.A., Beebe, S.E., Potts, M.J., Kadian., M., Hobbs, P.R., Gupta, R.K. ve Twomlow, S., 2007. Nutritious subsistence food systems. *Advances in Agronomy*, 92, 1-74.
- Grifoni, R., 1964. Appulo: nuovo grano duro precoce. *Terra Pugliese*, p. 13.
- Groos, C., Robert, N., Bervas, E. ve Charmet, G., 2003. Genetic analysis of grain protein content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 1032-1040.
- Gonzalez-Hernandez, J.L., Elias, E.M. ve Kianian, S.F., 2004. Mapping genes for grain protein concentration and grain yield on chromosome 5B of *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides*. *Euphytica*, 139, 217-225.
- Gökmen, S. ve Ateş, Ö., 2005. AB sürecinde Türkiye’de tahıl üretimi ve politikaları. *Demokrasi Platformu*, 3, 175-197.
- Güleç, T., Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Yıldırım, A., 2010. Makarnalık buğdaylarda kalite ve kaliteyi etkileyen faktörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 113-120.
- Holtz, C. ve Brown, K.H., 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in population and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, 25, 94-204.
- Hoseney, R.C., 2010. Principles of cereal science and technology (Third edition). *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN.
- Joppa, L.R. ve Cantrell, R.G., 1990. Chromosomal location of genes for grain protein content of wild tetraploid wheat. *Crop Science*, 30, 1059-1064.
- Joppa, L., R., Du, C., Hart, G.E. ve Hareland, G.A., 1997. Mapping gene(s) for grain protein in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) using a population of recombinant inbred chromosome lines. *Crop Science*, 37, 1586-1589.

- Kade, M.A., Barneix, J., Olmos, S. ve Dubcovsky, J., 2005. Nitrogen up take and remobilization in tetraploid Langdon durum wheat and a recombinant substitution line with high grain protein gene *Gpc-B1*. *Plant Breeding*, 124, 343-349.
- Kendal, E., 2008. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde, farklı dozlarda uygulanan çinko ($ZnSO_4$) gübresinin makarnalık buğday çeşitlerinde verim unsurları ve kalite özelliklerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Adana.
- Khan, I.A., Procnier, J.D., Humphreys, D.G., Tranquilli, G., Schlatter, A.R., Marcucci-Poltri, S., Frohberg, R. ve Dubcovsky, J., 2000. Development of PCR-based markers for a high grain protein content gene from *Triticum turgidum* ssp *dicoccoides* transferred to bread wheat. *Crop Science*, 40, 518-524.
- Kraic, J., Zakova M. ve Gregova E., 1998. Comparison of differentiation capability of RAPD and SSR markers in commercial barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Cereal Research Communications*, 26 (4), 375-382.
- Kınacı, E., 1993. Cumhuriyet'ten bugüne makarnalık buğday araştırmaları ve gelişmeler. Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu, s. 49-56, Ankara.
- Kibite, S. ve Evans, L.E., 1984. Causes of negative correlations between grain yield and grain protein concentration in common wheat. *Euphytica*, 33, 801-810.
- Koyuncu, M., 2009. Yerel durum buğday çeşitlerinin makarnalık kalitelerini etkileyen önemli parametreler bakımından taranması. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Tokat.
- Kumar, J., Jaiswal, V., Kumar, A., Kumar N., Mir, R.R., Kumar, S., Dharival, R., Tyagi, S., Khandelwal, M., Prabhu, V.K., Prasad, R., Balyan, S.H. ve Gupta, K.P., 2011. Introgression of a major gene for high grain protein content in some Indian bread wheat cultivars. *Field Crops Research*, 123 (3), 226-233.
- Lawlor, D.W., 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: Mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany*, 53, 773-787.

- Levy, A.A. ve Feldman, M., 1987. Increase in grain protein percentage in high-yielding common wheat breeding lines by genes from wild tetraploid wheat. *Euphytica*, 36, 353-359.
- Liu, C.Y., Shepherd, K.W. ve Rathjen, A.J., 1996. Improvement of durum wheat pasta making and bread making qualities. *Cereal Chemistry*, 73, 155-166.
- Mae, T., 2004. Leaf senescence and nitrogen metabolism. Plant cell death processes. *Elsevier Academic Press*, 157-168.
- Masclaux, C., Quilleré, I., Gallais, A. ve Hirel, B., 2001. The challenge of remobilization in plant nitrogen economy. A survey of physio-agronomic and molecular approaches. *Annals of Applied Biology*, 138, 69-81.
- Mengel, K., 1995. Iron availability in plant tissues-iron chlorosis on calcareous soils. *Iron Nutrition in Soils and Plants*, p.389-397.
- 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, İtalya.
- Menzo, V.M., Mastrangelo, A.M., Cattivelli, L., Papa, R. ve DE Vita P., 2011. Development of a marker assisted selection program for the improvement of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Proceedings of The Joint Meeting AGI-SIBV-SIGA Assisi*, 19-22 September, İtalya.
- Mesfin, A., Frohberg, R.C. ve Anderson, J.A., 1999. RFLP markers associated with high grain protein from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* introgressed into hard red spring wheat. *Crop Science*, 39, 508-513.
- Mesfin, A., Frohberg, R.C., Khan, K. ve Olson, T.C., 2000. Increased grain protein content and its association with agronomic and end-use quality in two hard red spring wheat populations devired from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides*. *Euphytica*, 116, 237-242.
- Miller, G.W., Pushnik, J.C. ve Welkie, G.W., 1984. Iron chlorosis, a world wide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. *Journal of Plant Nutrition*, 7(15), 1-22.

- Mishra, K.V., Gupta, K.P., Arun, B., Chand, R., Vasistha, K.N., Vishwakarma, K.M., Singhyadav, P. ve Joshi, K.A., 2015. Introgression of a gene for high grain protein content (*Gpc-B1*) into two leading cultivars of wheat in eastern gangetic plains of India through marker assisted backcross breeding. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 7(8), 292-300.
- Morris, S.R., 2004. Grain: Quality attributes. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds:Wrigley, C. et al., Elsevier Ltd., p. 238-254, Amsterdam.
- Oda, S., Fujita, M., Hatta, K., Kubo, K. ve Kawada, N., 2008. Effect of *Gpc-B1* gene in F2 population crossed between hard red spring wheat cultivar and Japanese soft wheat cultivars. *In The 11th International Wheat Genetics Symposium Proceedings*, Sydney University Press.
- Olmos, S., Distelfeld, A., Chicaiza, O., Schlatter, AR., Fahima, T., Echenique, V. ve Dubcovsky, J., 2003. Precise mapping of a locus affecting grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 107,1243-1251.
- Özkan, H., Hatipoğlu, R. ve Toklu, F., 2014. Buğday danesinde çinko ve demir konsantrasyonunu artıran *Gpc-B1* geninin marköre dayalı geri melezleme yöntemi ile yazlık ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerine aktarılması. TÜBİTAK Projesi, Proje No:111O020.
- Özkaya, H. ve Özkaya, B., 1993. Makarna kalitesinde buğday bileşiminin önemi. Makarnalık Buğday ve Mamülleri Sempozyumu, s. 189-195, Ankara.
- Pekin, S., 1993. Türkiye’de ve dünyada makarna üretimi, Türk makarnasının dış piyasadaki önemi. *Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu*, s. 73-81, Ankara.
- Pogna, N.E., Autran, J.C., Mellini, F., Lafiandra, D.ve Feillet, P., 1990. Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: Genetics and relationship to gluten strength. *Journal of Cereal Science*, 11, 15-34.
- Porceddu, E., Pacucci, G., Perrino, P., Gatta, C.D. ve Maellaro, I., 1973. Protein content and seed characteristics in populations of *Triticum durum* grown at three different locations. *Proc. of the Symp. on Genetics and Breeding Durum Wheat, Univ, di Bari*, p. 217-222, Maggio.

- Porceddu, E. ve Blanco, A., 2014. Evolution of durum wheat breeding in Italy. *Ciheam*, 157-173.
- Rabie, S.A.A., 2012. Genetic studies on some wheat species for improving their nutritional value using biotechnology. *Master of Science, Agricultural Sciences (Genetics)*, Egypt.
- Simmonds, N.W., 1995. The relation between yield and protein in cereal grain. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 67, 309-315.
- Sissons, M., 2004. Pasta. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, C. Elsevier Ltd., p. 410-418, Amsterdam.
- Slafer, G.A., Andrade, F.H. ve Feingold, S.E., 1990. Genetic improvement of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in Argentina: relationships between nitrogen and dry matter. *Euphytica*, 50, 63-71.
- Strampelli, N., 1932. Origini, sviluppi, lavori e risultati. *Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura in Roma*, p. 207.
- Strelchenko, P., Kenneth S., Mitrofanova O., Machay M. ve Balfourier, F., 2002. Genetic diversity among hexaploid wheat landraces with different geographical origins revealed by microsatellites. *Theoretical and Applied Genetics*, 85 (1), 140-145.
- Tabbita, F., Lewis, S., Vouilloz, J.P., Ortega, M.A., Kade, M., Abbate, P.E. ve Barneix, A.J., 2013. Effects of the *Gpc-B1* locus on high grain protein content introgressed into Argentinean wheat germplasm. *Plant Breeding*, 132(1), 48-52.
- Triboi, E. ve Triboi-Blondel, A.M., 2002. Productivity and grain or seed composition: A new approach to an old problem-invited paper. *European Journal of Agronomy*, 16, 163-186.
- Trocchi, A., Borrelli, G.M., DeVita, P., Fares, C. ve DiFonzo, N., 2000. Durum wheat quality: A multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science*, 32, 99-113.
- Uauy, C., Brevis, J.C., Chen, X., Khan, I.A., Jackson, L., Chicaiza, O., Distelfeld, A., Fahima, T. ve Dubcovsky, J., 2005. High-temperature adult plant (HTAP) stripe rust resistance gene *Yr36* from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* is closely

- linked to the grain protein content locus *Gpc-B1*. *Theoretical and Applied Genetics*, 112, 97-105.
- Uauy, C., Distelfeld, A., Fahima, T., Blechl, A. ve Dubcovsky, J., 2006a. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science*, 314(5803), 1298-1301.
- Uauy, C., Brevis, C.S. ve Dubcovsky, J., 2006b. The high grain protein content gene *Gpc-B1* accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2785-2794.
- Vishwakarma, K.M., Mishra, K.V., Gupta, K.P., Yadav, S.P., Kumar, H. ve Joshi, K., 2014. Introgression of the high grain protein gene *Gpc-B1* in an elite wheat variety of Indo-Gangetic Plains through marker assisted backcross breeding. *Current Plant Biology*, 1, 60-67.
- Vogel, K.P., Johnson, V.A. ve Mattern, P.J., 1978. Protein and lysine contents of endosperm and bran of the parents and progenies of crosses of common wheat. *Crop Science*, 18, 751-754.
- Yu, L.X., Abate, Z., Anderson, J.A., Bansal, U.K., Bariana, H.S., Bhavani, S. ve Sorrells, M.E., 2009. Developing and optimizing markers for stem rust resistance in wheat. *Borlaug Global Rust Initiative, 2009 Technical Workshop*, p. 117, Sonora, Mexico.
- Yüksel, F., 2009. Bazı makarnalık buğday ileri ıslah hatlarının kalite özellikleri ve stabilite yetenekleri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Tokat.
- Waters, B.M., Uauy, C., Dubcovsky, J. ve Grusak, M.A., 2009. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. *Journal of Experimental Botany*, 60(15), 4263-4274.
- Welch, R.M., 2002. The impact of mineral nutrients in food crops on global human health. *Plant and Soil*, 247, 83-90.
- White, M., 2010. What is a food's nutritional value?. Whole Foods for Health E-book. <http://www.healthy-food-site.com/food-nutritional-value.html>. (Erişim Tarihi: 20.01.2016).

WHO, 2002. The world health report, 2002. Reducing Risks, Promoting Healthy Life, *World Health Organization*, Geneva, İsviçre.

Worland, T. ve Snape, J.W., 2001. Genetic basis of worldwide wheat varietal improvement. In: Bonjcan, A.P., Angus, W.J. (Eds), *The World Wheat Book, A History of Wheat Breeding Groupe Limagrain*, p. 59-100, Paris.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Leyla Nurefşan GÜNDÜZ
Doğum Tarihi ve Yer : 05.07.1990 / Adana
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0534 9210669
e-mail : leylanurefsan01@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Tarih
Lise	Adana Kız Lisesi	2004 – 2008
Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2009 – 2013
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2013 – 2016

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

Lisans Tezi: Proteomik

Uzmanlık Alanları:

- Bitki Islahı ve Biyoteknolojisi
- Markör Destekli Seleksiyon
- DNA İzolasyonu ve Saflaştırılması
- Agaroz Jel Elektroforezi
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Optimizasyonu

Yapılan Bilimsel Çalışmalar

a. Projeler

- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Sayaslan, A., Gündüz, L.N., Özbey, R., 2014. Bazı makarnalık buğday ileri ıslah hatlarının markör destekli kalite ıslahı. *TÜBİTAK 1001 Projesi, Proje No: 112T910, 2014-2106, Proje Bursiyeri.*
- Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Gündüz, L.N., 2015. Makarnalık buğdayda *Gpc-B1* geni bakımından melez hatların elde edilmesi ve tanımlanması. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi BAP Projesi, Proje No: 07-YL-14, 2014-2106, Araştırmacı*

b. Katıldığı Kongreler

- International Mesopotamia Agriculture Congress – IMAC, 22-25 September, Diyarbakır, Turkey (Sunulu Bildiri).
- 11. Tarla Bitkileri Kongresi-7-10 Eylül, Çanakkale, Türkiye (Sunulu Bildiri).

c. Yayınlar

- 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., 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., Özbey, R., Güleç, T., Terzi, B. ve Gündüz, L.N., 2014. Makarnalık buğdayda *Lpx-B1* geni bakımından melez hatların elde edilmesi. *11. Tarla Bitkileri Kongresi*, 7-10 Eylül, s. 141, Çanakkale, Türkiye (Sunulu Bildiri).
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Gündüz, L.N., Terzi, B., Güleç, T. ve Özbey, R., 2014. Makarnalık buğdayda *Gpc-B1* geni bakımından markör destekli geri melezleme ıslahı. *11. Tarla Bitkileri Kongresi*, 7-10 Eylül, s. 146, Çanakkale, Türkiye (Sunulu Bildiri).

