

**BAZI MAKARNALIK BUĞDAY GENOTİPLERİNİN  
PİGMENT İÇERİĞİ VE LİPOKSİJENAZ  
AKTİVİTESİ BAKIMINDAN MOLEKÜLER VE  
BİYOKİMYASAL ANALİZLERİ**

**Ayşe Suna BALKAN**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**  
**Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı**  
**Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**  
**Aralık-2011**

**T.C.  
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI MAKARNALIK BUĞDAY GENOTİPLERİNİN PİGMENT İÇERİĞİ VE  
LİPOKSİJENAZ AKTİVİTESİ BAKIMINDAN MOLEKÜLER VE BİYOKİMYASAL  
ANALİZLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayşe Suna BALKAN**

**Anabilim Dalı: BİYOLOJİ**

**Programı: MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**KARAMAN-2011**

## TEZ ONAYI

Ayşe Suna BALKAN tarafından hazırlanan “Bazı Makarnalık Buğday Genotiplerinin Pigment İçeriği ve Lipoksijenaz Aktivitesi Bakımından Moleküler ve Biyokimyasal Analizleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM

İmza

Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Abdulvahit SAYASLAN

Tez Savunma Tarihi: 05/12/2011

**Yukarıdaki Sonucu Onaylarım**

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Feri KILIÇEL  
Müdür

## **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.

**Ayşe Suna BALKAN**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BAZI MAKARNALIK BUĞDAY GENOTİPLERİNİN PİGMENT İÇERİĞİ VE LİPOKSİJENAZ AKTİVİTESİ BAKIMINDAN MOLEKÜLER VE BİYOKİMYASAL ANALİZLERİ

Ayşe Suna BALKAN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Aralık, 2011, 82 sayfa

Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel kriter makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Durum buğdayının pigment içeriği ve oksidatif enzimlerinin miktarı makarna kalitesi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Son yıllarda geliştirilen genetik markörler ve farklı spektrofotometrik ölçüm teknikleri sayesinde bu özelliklerin çalışılması ve etki düzeylerinin belirlenmesi mümkün hale gelmiştir.

Bu çalışma ile son ürün kalitesini etkileyen karotenoid pigmenti ve lipoksijenaz (LOX) enziminin bazı Türk makarnalık buğday çeşitleri ile bazı ileri ıslah hatlarındaki miktarları belirlenmiştir. Araştırmada, LOX enzim aktiviteleri ve pigment içerikleri DNA markörleri ile yapılan moleküler taramalar ve spektrofotometrik ölçümlere dayalı olan biyokimyasal taramalar ile belirlenmiştir. Böylece incelenen çeşit ve hatlar arasından pigment içeriği ve LOX enzimi bakımından kaliteli son ürün üretimine en uygun olanlar hem biyokimyasal hem de moleküler olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda kaliteli makarna yapımı için LOX enzim aktivitesi bakımından en uygun çeşit ve hatların Gediz-75, Gdem-12, Hat-19, Zenit, Hat-7 ve Hat-20 olduğu saptanmıştır. Pigment içeriği bakımından ise sarı renkli makarna üretme potansiyeli en yüksek olanların Kyle, Zenit, Gdem-12, Gdem-2, TMB1 ve TMB3 hat ve çeşitleri olduğu belirlenmiştir. Pigment içerikleri ve LOX aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde Gediz-75, Gdem-12 ve Zenit makarnalık buğday çeşidi ve hatlarının sarı renkli makarna üretme potansiyellerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Makarnalık buğday, *Triticum durum*, Pigment içeriği, LOX, SSR

## **ABSTRACT**

**Ms Thesis**

### **MOLECULAR AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF SOME DURUM WHEAT GENOTYPES FOR CAROTENOID PIGMENT CONTENT AND LIPOXYGENASE ACTIVITY**

**Ayşe Suna BALKAN**

**Karamanoğlu Mehmetbey University**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of Biology**

**Supervisor: Asst. Prof. Dr Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**December, 2011, 82 pages**

The main criterion that determines the quality of durum wheat is the degree of suitability for pasta production. Pigment content and quantity of oxidative enzymes of durum wheat have the important roles on the quality of pasta. It has been possible to study these features and to specify their effects by using recently developed genetic markers and various spectrophotometric measuring techniques. The quantity of the karotenoid pigment and lipoxgenase enzyme (LOX) affects the final product quality of some Turkish durum wheat varieties and some advanced breeding lines have been determined. In the study, LOX enzyme activities and pigment contents have been determined with molecular screening by using DNA markers and biochemical methods based on spectrophotometric measuring. Thus, the most suitable varieties and lines for quality of end-use product as pigment content and LOX enzyme have been determined by using both biochemical and molecular analysis. According to obtained results, Gediz-75 , Gdem-12 , Hat-19, Zenit, Hat-7 and Hat- 20 have been determined as the most suitable lines or varieties for production of high quality pasta based on LOX enzyme activity. As for pigment content, Kyle, Zenit, Gdem-12, Gdem-2, TBM1 ve TBM3 lines or varieties have been determined as having the highest potential for production of yellow-colored pasta. When the pigment content and the LOX activities were evaluated together, potential of Gediz-75, Gdem-12 and Zenit durum wheat varieties and lines to produce yellow-colored pasta products were very high.

**Keywords :** Durum wheat, *Triticum durum*, Pigment content, LOX, SSR

## ÖN SÖZ

Tez çalışmalarımın başlangıç ve en zor döneminde danışmanlığımı devralan sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU'na; bana karşı hep sabırlı ve anlayışlı davrandığı, anlayamadığım ve yetersiz olduğum çalışmalarda yanımda olduğu, güler yüzünü benden esirgemediği, son dakikaya kadar hep yanımda ve destekçim olduğu için teşekkür ediyorum. Ayrıca ders dönemim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen başta Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM olmak üzere Biyoloji bölümü öğretim üyelerine teşekkür ediyorum. Tüm yüksek lisans sürecimde yanımda olan sevgili aileme; anneme, baba şefkatini her dakika en derinlerde hissettiğim bana kıyamadığı için birebir laboratuvar çalışmalarına dahil olan sevgili yardımcım babama, hayatımdaki en kıymetli varlığım olan, tezimin her santiminde çok emeği olan en büyük destekçim olan ablama her şey için teşekkürlerimi sunuyorum. Laboratuvar çalışmalarında birçok şeyi öğrendiğim, çalışmalarımda kaynak araştırmalarıma ve tezimle ilgili birçok konuda bana çok yardımcı dokunan ablam ve hocam Tuğba GÜLEÇ'e biyokimyasal analizlerim için yardımını esirgemeyen Mehmet KOYUNCU'ya, yardımlarını ve bilgilerini benden esirgemeyen hocam Doç. Dr. Tuna UYSAL ve Meryem BOZKURT'a, araştırma görevlisi arkadaşlarım Buğrahan EMSEN ve Ezgi TÜZÜN'e, evinin sıcaklığını benden hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım Serap EROLDU'ya yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma, 04-L-11 numaralı araştırma projesi kapsamında BAP tarafından desteklenmiştir.

**Ayşe Suna BALKAN**

**Aralık, 2011**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖNSÖZ</b> .....	iii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	4
2.1. Makarnalık Buğdayın Önemi .....	4
2.2. Makarnalık Buğdayda Kalite .....	5
2.2.1 Makarnalık Buğdayda Kalite Kriteri Olarak Renk .....	6
2.2.1.1. Pigmentler .....	7
2.2.1.2. Oksidatif Enzimler .....	9
2.2.1.2.1. Lipoksijenaz Enzimi (LOX) .....	10
2.3. Biyokimyasal ve Moleküler Analizler .....	13
<b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....	16
3.1. Materyal .....	16
3.2. Metot .....	17
3.2.1. DNA İzolasyonu .....	17
3.2.2. Markör Taramaları .....	19
3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	21
3.2.4. Pigment İçeriği .....	23
3.2.5. Enzim Ekstraksiyonu .....	24
3.2.6. Lipoksijenaz (LOX) Aktivitesi .....	24
3.2.7. Nem İçeriği .....	25
3.2.8. İstatistiksel Değerlendirme .....	25
3.2.9. Moleküler Verilerin değerlendirilmesi .....	25
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	28
4.1. Moleküler Veriler .....	28
4.2. Lipoksijenaz Enzimine ve Pigment Miktarına İlişkin Spektrofotometrik Ölçüm Verileri .....	49



<b>5. SONUÇ</b> .....	57
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	60
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	69

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 : % 1'lik agaroz jelde koşulan DNA örnekleri .....	19
Şekil 3.2 : PZR'de kullanılan thermal cycler .....	22
Şekil 3.3 : % 3'lük metaphore agaroz jel örneği .....	22
Şekil 3.4 : % 1'lik agaroz jel örneği .....	23
Şekil 3.5 : Kuyucukları işaretlenmiş jel fotoğrafı .....	26
Şekil 3.6 : Bantları işaretlenmiş jel fotoğrafı .....	26
Şekil 4.1.a : Xscar 3362 primeri ile % 1'lik agaroz jel görüntüsü .....	28
Şekil 4.1.b : Xscar 3362 primeri ile % 1'lik agaroz jel görüntüsü .....	29
Şekil 4.2.a : Xgwm 63 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	30
Şekil 4.2.b : Xgwm 63 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	31
Şekil 4.3.a : Xgwm 46 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	32
Şekil 4.3.b : Xgwm 46 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	33
Şekil 4.4.a : Xgwm 344 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	34
Şekil 4.4.b : Xgwm 344 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	35
Şekil 4.5.a : Xwmc 93 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	36
Şekil 4.5.b : Xwmc 93 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	37
Şekil 4.6.a : Xwmc 312 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	38
Şekil 4.6.b : Xwmc 312 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	39
Şekil 4.7.a : Xgwm 408 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	40
Şekil 4.7.b : Xgwm 408 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	41
Şekil 4.8.a : Xgwm 251 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	42
Şekil 4.8.b : Xgwm 251 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	43
Şekil 4.9.a : Xwmc 692 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	44
Şekil 4.9.b : Xwmc 692 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü .....	45
Şekil 4.10 : Lipoksijenaz enzimi için analiz sonucunda oluşan dendogram .....	46
Şekil 4.11 : Pigment için analiz sonucunda oluşan dendogram .....	48
Şekil 4.12 : Makarnalık buğday ileri ıslah hatları ve çeşitlerine ait LOX değerleri .....	51
Şekil 4.13 : Makarnalık buğday ileri ıslah hatları ve çeşitlerine ait pigment değerleri .....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 3.1</b> : Araştırmada kullanılacak olan makarnalık buğday ileri ıslah hatları.....	16
<b>Çizelge 3.2</b> : Araştırmada kullanılacak olan tescilli çeşitler, tescil yılları ve alındıkları kuruluşlar .....	17
<b>Çizelge 3.3</b> : Farklı haritalardan alınan ve LOX aktivitesiyle bağlantılı olan SSR markörleri .....	20
<b>Çizelge 3.4</b> : Farklı haritalardan alınan ve pigment ile bağlantılı olan SSR ve SCAR markörleri .....	21
<b>Çizelge 3.5</b> : Program tarafından skorlanan bir jelin bant büyüklükleri .....	27
<b>Çizelge 4.1</b> : Lipoksijenaz enzimine ait ortalama değerler .....	50
<b>Çizelge 4.2</b> : Pigmente ait ortalama değerler .....	53

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
cM	Centimorgan
cm	Santimetre
°C	Santigrat Derece
dev/dk	Devir/Dakika
dk	Dakika
kDa	Kilo Dalton
mg/kg	Miligram/Kilogram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Mili Molar
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
M	Molar
ng	Nanogram
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
pH	Hidrojenin Gücü (Power of Hydrogen)
ppm	Milyonda Bir (Parts per million)
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı (Revolution per minute)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
BME	Beta MerkptoEtanol
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EU	Enzim Ünitesi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

<b>ICARDA</b>	Kurak Alanlar için Uluslararası Tarımsal Araştırma Merkezi
<b>LOX</b>	Lipoksijenaz
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Magnezyum Klorür
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>NTSYSpc</b>	Sayısal Taksonomi ve Multivaryete Analiz Sistemi Yazılımı (Numerical Taxonomi and Multivariate Analysis System)
<b>POD</b>	Peroksidaz
<b>PPO</b>	Polifenol Oksidaz
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>QTL</b>	Kantitatif Karakter Lokusu
<b>RFLP</b>	Sınırlandırılmış Parçacık Uzunluğu Polimorfizmi(Restriction Fragment Length Polymorphism)
<b>RNase</b>	Ribonuclease A
<b>SCAR</b>	Diziye Özgü Çoğaltılmış Bölgeler (Sequence Characterized Amplified Regions)
<b>SDS</b>	Sodyum Dodesil Sülfat
<b>SPSS</b>	Veri Analiz Programı (Statistical Package for the Social Sciences)
<b>SSR</b>	Basit Dizi Tekrarı / Mikrosatelit (Simple Squence Repeat)
<b>UPGMA</b>	Aritmetik Ortalama ile Grup Eşleme Yöntemi (Unweighted Pair Group Method with Aritmetic Mean)

## 1. GİRİŞ

Buğday, dünyada ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen kültür bitkisi olup, insanların temel enerji ve protein kaynağını oluşturmaktadır. Türkiye’de günlük enerji ihtiyacının ortalama % 40’ı buğday ürünleri tarafından karşılanmaktadır (Anonim, 2008). Ülkemizin ekili alanları dikkate alındığında, bu alanların yaklaşık % 50’sini tahıllar, tahılların ekim alanlarının da yaklaşık % 70’ini buğday oluşturmaktadır (Anonim, 2008). Dünyada buğday üretimine ayrılan alanın yaklaşık % 6’sında, Türkiye’de % 16’sında makarnalık buğday, geri kalan kısmında ise ekmeklik buğday yetiştirilmektedir (Anonim, 2008).

Buğdaylar; ekmeklik buğdaylar (*Triticum aestivum*), makarnalık buğdaylar (*Triticum durum*) ve topbaş buğdaylar (*Triticum compactum*) olmak üzere üç grup altında incelenmektedir. Dünyada yıllık olarak 600-650 milyon ton civarında buğday yetiştirilmekte, bunların % 90-95’ini *aestivum*, yaklaşık % 6’sını *durum* ve çok az bir kısmını da (<%1) *compactum* türü buğday çeşitleri oluşturmaktadır. Türkiye’de üretilen 18-20 milyon ton civarındaki buğdayın ise yaklaşık % 80-85’lik kısmını *aestivum*, % 15-20’lik kısmını *durum* ve çok az bir kısmını da *compactum* türü buğday çeşitleri oluşturmaktadır (Anonim, 2006, 2007).

Durum buğdayları tetraploid ( $2n=4x=28$ , AABB) bitkiler olup, kalite özellikleri ve kullanım alanları bakımından çok farklı ve özel bir konuma sahiptirler. Durum türü içinde yer alan buğday çeşitleri, kaliteli makarna üretimine en uygun buğdaylardır (Hoseney, 1994; Bushuk, 1998; Durak, 1999; Sissons, 2004). Durum buğdaylarının ana kullanım şekli makarna çeşitleridir. Bunlara ilave olarak bulgur, kuskus ve değişik ekmek çeşitlerinin üretiminde de kullanılmaktadır.

Türkiye birçok bitkinin olduğu gibi makarnalık buğdayın da anavatanıdır. Bu bağlamda dünyada kaliteli makarnalık buğday üretebilecek en uygun ekolojik bölgelere sahip ülkelerden biridir. Ülkemiz 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 3 milyon ton makarnalık buğday üretimi ile dünyada dördüncü sırada yer almaktadır (Anonim, 2009). Ancak, son yıllarda makarnalık buğday ithal edilmektedir. Bunun temel nedeni makarna sanayisinin

istediği kalite özelliklerine sahip makarnalık buğdayın yeterli miktarda üretilememesi ve üretilen makarnalık buğdayların istenilen kalitede olmamasıdır. Kaliteli makarnalık buğday üretiminin artırılması için öncelikle ülkemizin hangi bölgelerinde verim ve kalite bakımından iyi sonuç alınabileceğinin tespit edilmesi ve bu bölgelere uygun çeşitlerin geliştirilmesi konusunda ıslah çalışmalarına ağırlık verilmesi gerekmektedir (Gökmen ve Ateş, 2005). Türkiye’de makarnalık buğday yetiştiriciliği için önemli bir ekolojik potansiyel mevcuttur fakat bu alandaki en büyük eksiklik yeterli kalitede tescilli makarnalık buğday çeşitlerinin bulunmamasıdır. Öncelikle mevcut çeşitlerin kalite genleri bakımından iyileştirilmesi gerekmektedir.

Durum buğdayının kalitesini belirleyen temel kriter, makarna üretimine uygunluk derecesi, yani makarnalık kalitesidir. Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünlerin kalitesi tanenin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi ile doğrudan ilgilidir. Durum buğdayının makarnalık kalitesi; tanenin sertlik ve camsılık oranı, test (hektolitre) ağırlığı, protein miktarı ve kalitesi (gluten kuvveti), öğütme kalitesi (irmik verimi ve kül oranı), sarı pigment konsantrasyonu ile sarı renk kaybı veya renk kararmasına neden olan lipoksijenaz/lipoksidaz (LOX), polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri gibi birçok etmen tarafından belirlenmektedir. Bunlardan özellikle tanenin protein miktarı ve kuvveti ile sarı pigment içeriği ve parlak sarı rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri oldukça önemlidir. Çünkü bu parametreler kaliteli bir makarnada istenen parlak sarı renk ve pişme kalitesini tayin eden başlıca özelliklerdir. Söz konusu kalite unsurları çevre faktörleri ve yetiştirme koşullarından etkilenmekle birlikte temelde çeşidin genotipik karakteri tarafından kontrol edilmektedir.

Buğdaydan elde edilen irmik veya makarnanın renginde belirleyici olan pigmentlerden en önemlileri, karotenoidler ve flavonoidlerdir (Fortmann ve Joiner, 1978; Kruger ve Reed, 1988; Borrelli ve ark., 1999; Troccoli ve ark., 2000; Coşkun, 2001; Aalami ve ark., 2007). Makarna renginde etkili olan önemli oksidatif enzimler ise LOX, POD ve PPO enzimleridir (Aalami ve ark., 2007). LOX enzimleri sarı renkli karotenoidlerin oksidatif olarak parçalanmalarına ve makarnanın sarı renginin kaybolmasına (ağarmasına) neden olurken, POD ve PPO enzimleri genellikle fenolik maddelerin oksidasyonu yoluyla koyu renkli bileşiklerin oluşmasına ve makarna renginin

kararmasına neden olmaktadır (Kobrehel ve ark., 1974; Fortmann ve Joiner, 1978; Taha ve Sagi, 1987; Kruger ve Reed, 1988; Whitaker ve Lee, 1995; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Fraignier ve ark., 2000; Troccoli ve ark., 2000; Coşkun, 2001; Morris, 2004). Parlak sarı renkli makarna üretebilmek için sarı pigment içeriği yüksek ve oksidatif enzim aktivitesi düşük buğday çeşitleri seçilmeli ve makarna üretimi sırasında sarı renk kaybı ve ürün kararmasını önleyici tedbirler (vakum altında yoğurma gibi) alınmalıdır. Buğdayların pigment ve oksidatif enzim içerikleri genotip ve çevreden etkilendiğinden (Kruger ve Reed, 1988; Troccoli ve ark., 2000; Aalami ve ark., 2007), parlak sarı renkli makarna üretimi için söz konusu özellikler bakımından üstün ve aynı zamanda farklı yetiştirme koşullarında stabil çeşitlerin seçilmesi veya ıslah edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma, Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen ve farklı bölge koşullarına adapte olmuş bazı makarnalık buğday çeşitleri ile bazı ileri ıslah hatlarının karotenoid pigment içerikleri ile lipoksijenaz enzim aktiviteleri bakımından moleküler ve biyokimyasal karakterizasyonlarının yapılarak, pigment miktarlarının ve LOX enzim aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Moleküler taramalarda hız ve güvenilirliği sağlamak için DNA markör teknolojilerinden yararlanılmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçların bitki ıslahçılara, çiftçi ve sanayicilere katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Makarnalık Buğdayın Önemi

Temel besin maddesi olan buğday dünyada ve Türkiye’de en fazla yetiştirilen kültür bitkisidir. Buğday birçok ülkenin temel kalori, protein ve mineral kaynağı durumundadır. Geniş adaptasyon yeteneğine sahip olan buğday hem dünyada hem ülkemizde temel gıdaların başında gelir ve bu özelliği ile stratejik bir öneme sahiptir.

Buğdaylar genom yapısına göre kaplıca (diploid), makarnalık (tetraploid) ve ekmeklik (hekzaploid) buğday olarak üç gruba ayrılırlar. Makarnalık buğdaylar, kalite özellikleri ve kullanım alanları bakımından ekmeklik (*T. aestivum*) ve topbaş (*T. compactum*) buğdaylardan çok farklı ve özel bir konuma sahiptir. *Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf.) tür adı ile bilinen makarnalık buğday allotetraploid ( $2n=4x=28$ , AABB) bir türdür.

Türkiye makarnalık buğdayın önemli gen merkezlerinden biridir. Yapılan çalışmalara göre ülkemizde makarnalık buğday yetiştiriciliğine elverişli alanlar toplam buğday ekim alanlarımızın yaklaşık yarısına karşılık gelmektedir. Ayrıca makarnalık buğdaylar, dünyada belli bölgelerde yetiştirilen ve ekmeklik buğdaya göre daha yüksek fiyatla alıcı bulan değerli buğdaylardır. Türkiye’de buğday ekim alanlarının yaklaşık % 15-16’sı makarnalık buğday üretiminde kullanılmaktadır. 2009-2010 yıllarında dünyada 677 milyon ton buğday üretilmiştir. Türkiye’de 2009 yılında üretilen makarnalık buğday miktarının 3 milyon ton civarında olduğu bilinirken, bu rakam dünyada 40 milyon tona yakındır (Anonim, 2011).

Durum buğdayları makarna ve spagetti gibi irmik ürünleri ile bulgur ve kuskus gibi granüler ürünlerde değerlendirilmektedir. Buğdayın insan gıdası olarak kullanımında makarna, ekmekten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bugün dünyada yaklaşık 12,3 milyon ton civarında olan makarna üretiminde, ülkemiz % 4,9’luk üretim payı ile dünya sıralamasında beşinci sıradadır (Anonim, 2010). Türkiye makarna tüketimi bakımından dünya ortalamasının üzerinde yer almakla birlikte birçok Avrupa ülkesi ve ABD’den oldukça geri durumdadır (Anonim, 2004).

## 2.2. Makarnalık Buğdayda Kalite

Makarnalık buğdayın kalitesini belirleyen temel kriter makarna yapımına uygunluk derecesi yani makarnalık kalitesidir. Durum buğdayı kalitesi ve bu buğdaydan elde edilen irmiğin kalitesi makarna kalitesini belirleyen önemli parametrelerdir. Makarna kalitesi genel olarak makarnanın görünüşü ve pişme kalitesiyle değerlendirilmektedir (Cole, 1991; Feillet ve ark., 2000). Makarna pişme kalitesi, görünüş, besin değeri, tat ve rengin yanı sıra tüketici tercihini belirlemede esas rol oynaması sebebiyle buğday üreticileri ve işleyicileri için de büyük öneme sahip olup makarna üretimi sırasında özellikle dikkate alınmaktadır (D'Egidio ve Nardi, 1996; Troccoli ve ark., 2000; Güler ve ark., 2002; Yeyinli, 2006).

Durum buğdayının makarnalık kalitesi; tanenin sertlik ve camsılık oranı, test (hektolitre) ağırlığı, protein miktarı ve kalitesi (gluten kuvveti), öğütme kalitesi (irmik verimi ve kül oranı), sarı pigment konsantrasyonu ile sarı renk kaybı veya renk kararmasına neden olan lipoksijenaz/lipoksidaz (LOX), polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri gibi tanenin fiziksel, kimyasal ve teknolojik özellikleri tarafından etkilenmektedir (Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Morris, 2004; Sissons, 2004; Koyuncu, 2009). Bunlardan özellikle tanenin protein miktarı ve kuvveti ile sarı pigment içeriği ve sarı parlak rengi olumsuz yönde etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri oldukça önemlidir. Söz konusu kalite unsurları çevre faktörleri ve yetiştirme koşullarından etkilenmekle birlikte, büyük oranda çeşidin genotipik özellikleri tarafından kontrol edilmektedir.

Makarnalık buğdaydan elde edilen son ürünün kalitesi tanenin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi ile doğrudan ilgilidir. Tane boyutu, sertliği ve camsılığı buğdayın uygun olduğu kullanım alanının tespitinde önemli olan fiziksel özelliklerdir.

Buğdayın kalite sınıfının belirlenmesinde kullanılan temel kriterlerin başında tane boyutu ve tane sertliği gelmektedir. Durum buğdayları en sert buğdaylar olduğu için irmik verimleri ve buna bağlı olarak da makarnalık değerleri oldukça yüksektir (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995; Bushuk, 1998; Morris, 2004). Buğdayın

önemli fiziksel özelliklerinden bir diğeri de tane sertliği ile ilişkili olan camsılık oranıdır. Durum buğdaylarının camsılık oranları genellikle diğer buğdaylardan daha yüksektir. Ayrıca durum buğdaylarının camsılık oranları ile irmik verimleri ve parlaklık dereceleri arasında pozitif bir ilişki vardır. Bu nedenle camsılık makarnalık buğdaylarda önemli bir kalite kriteridir. Buğday sertliğinde genotip belirleyiciyken, camsılıkta çevresel faktörler daha etkilidir (Atlı ve ark., 1993; Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995; Bushuk, 1998).

Makarnalık buğdaylarda tanenin rengi de önemli bir kalite kriteridir. Makarna renginin parlak sarı olması istenir. Makarna renginde en belirleyici olan faktör kullanılan irmiğin sarı renkli pigment içeriğidir. Son ürünün rengi; tane pigment konsantrasyonu, oksidatif enzimlerin aktiviteleri ve makarna üretim koşulları tarafından etkilenmektedir.

Son kullanım ürünleri açısından değerlendirildiğinde makarnalık buğdayın makarnalık kalitesini etkileyen kalite kriterlerinden en önemlileri; kaliteli bir makarnada istenen sarı parlak renk ve pişme kalitesini tayin eden başlıca özellikler olan protein miktarı ve gluten kuvveti ile pigment miktarı ve oksidatif enzim aktiviteleridir (Troccoli ve ark., 2000; Sissons, 2004; Aalami ve ark., 2007).

### **2.2.1. Makarnalık Buğdayda Kalite Kriteri Olarak Renk**

Renk, makarna ve makarnalık buğdaylarda önemli bir kalite kriteridir. Parlak sarı olması istenen makarna rengi; irmik pigment konsantrasyonu, oksidatif enzimlerin aktiviteleri ve makarna üretim koşulları tarafından etkilenmektedir. Makarna üretiminde kullanılan irmiğin sarı renkli pigment içeriği makarna renginde en belirleyici faktördür. Makarnalık buğdayların pigment içerikleri genotip ve yetiştirilme şartlarına bağlı olarak genellikle 4-8 mg/kg (ppm) arasında değişmektedir. Buğdayın irmiğe öğütülmesi ve makarnaya işlenmesi sırasında % 15-25 arasında pigment (renk) kaybı meydana gelmektedir (Hoseney, 1994; Troccoli ve ark., 2000; Coşkun, 2001; Borrelli ve ark., 2003; Yüksel, 2009).

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

#### **2.2.1.1. Pigmentler**

Kaliteli makarnayı tanımlayan önemli özelliklerden biri pişmemiş makarnanın rengidir. Makarnanın renk kalitesi açısından pigment içeriği ve renk stabilitesi önemlidir. Makarna renginde etkili pigmentler  $\beta$ -karoten, lutein ve trisin pigmentleridir (Fortmann ve Joiner, 1978; Kruger ve Reed, 1988; Borrelli ve ark., 1999; Troccoli ve ark., 2000; Coşkun, 2001; Aalami ve ark., 2007). Ayrıca buğday farklı pigmentler içermesine rağmen makarna renginde en belirleyici olan pigmentler karotenoid ve flavonoidlerdir (Fortmann ve Joiner, 1978; Laignelet, 1983; Kruger ve Reed, 1988; Feng ve McDonald, 1989).

Buğday ve buğdaydan elde edilen ürünlerin renginde en etkili pigmentlerin karotenoidler olduğu bilinmektedir. Karotenoidler kolaylıkla okside olurlar ve sarı renklerini kaybettiklerinde buldukları ürünün ağarmasına ya da renginin açılmasına neden olurlar.

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

Karotenoid pigmentler makarna renginin yanı sıra makarnanın besinsel değerini artırmak için de önemlidir (Garbus ve ark., 2009). Durum buğdayındaki sarı pigment içeriği hem makarnanın parlak sarı renkli olması için hem de antioksidan özellikleri nedeniyle insan sağlığı açısından oldukça önemlidir (Patil ve ark., 2008). Bu bağlamda karotenoidler, peroksidaz radikallerini temizleyip biyolojik membranlarda oksidatif

hasarı indirgeyerek antioksidan bileşenler olarak hareket ederler (Garbus ve ark., 2009). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar tam tahıl ve tam tahıl ürünlerinin tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar, yaşa bağlı göz hastalıkları, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıkların riskini azalttığını göstermiştir (Leenhardt ve ark., 2006). Lipitte çözünebilir özellikleri nedeniyle karotenoid bileşenler, çoklu doymamış yağ asitleri ile hücre zarındaki diğer bileşenlerin lipid peroksidasyon sürecini engeller ve sonuçta çeşitli dejeneratif hastalıkların patogenezi geciktirmede anahtar bir rol oynarlar (Leenhardt ve ark., 2006).

Makarnalık buğdayların pigment içeriklerini saptamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Buğday renginin gözlemsel olarak belirli renk kataloglarına göre belirlenmesinin yerini, son yıllarda rengin enstrümantal olarak belirli standartlara göre belirlenmesi yöntemleri almıştır. Williams ve ark. (1986), gözlemlerle belirledikleri öğütülmüş makarnalık buğday rengini spektrofotometre ile belirledikleri irmik rengi ile karşılaştırarak bir renk skalası geliştirmişlerdir. Günümüzde renk ve renk farklılığının enstrümantal olarak genellikle Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIELAB: Commission Internationale de l'Éclairage) tarafından geliştirilen yöntemle değerlendirilmesi yaygın bir hale gelmiştir (Şahin ve ark., 2006).

Makarna kalitesinin belirlenmesinde irmik ve makarna üzerinde pigment parametrelerinin değerlendirilmesi için bazı analitik teknikler geliştirilmiştir. Bunlar arasında; standart referanslarla görsel karşılaştırma, ışık yansıma ölçümleri (Anonim, 1995) ve kimyasal pigment ekstraksiyonu (Anonim, 1994) temel metotlar olarak yer almaktadır (Fратиanni ve ark., 2005).

Durum buğdayı ürünlerinin sarı pigmentleri genellikle ICC standart metod 152 ya da AACC standart metod 14-50 ile ekstrakte edilir. Bunların her ikisi de suya doymuş 1-butanol ile toplam pigmentin ekstraksiyonu ve sonrasında referans olarak  $\beta$ -karotenin alınarak 440 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümlere dayanır. Özgün karotenoid bileşenlerin ayrılması ve belirlenmesini mümkün kılmak için, ters faz yüksek performanslı likit kromatografisine (RP-HPLC) dayanan doğru ve hassas analitik metotlar da geliştirilmiştir (Burkhardt ve Böhm, 2007).

Beleggia ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada spektrofotometrik ölçümlerin; durum buğdayındaki sarı pigment içeriğinin belirlenmesinde, az miktarda örnek, az hacimde çözelti ve kısa ekstraksiyon zamanına dayalı basit, hızlı ve tekrar kullanılabilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2.2.1.2. Oksidatif Enzimler**

Tane boyutu, sertliği, camsılık oranı, irmik verimi, protein miktar ve özellikleri (gluten kuvveti), sarı renkli pigment içeriği ve sarı renk kaybı veya ürün kararmasına neden olan oksidatif enzimlerin aktiviteleri durum buğdayının kalitesinde belirleyici olan faktörlerdir (Laignelet, 1983; Fares ve ark., 1997; Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Morris, 2004; Sissons, 2004). Makarnada arzu edilen sarı renk buğdayın pigment içeriği ve oksidatif enzimlerinin aktiviteleriyle ilişkilidir (Clarke ve ark., 1998; Troccoli ve ark., 2000). Parlak sarı renkli makarna üretebilmek için buğdayın pigment içeriği yüksek, oksidatif enzimlerinin aktiviteleri düşük olmalıdır (Özkaya ve Özkaya, 1993; Hosenev, 1994; Boyacıoğlu ve Tülbek, 2002; Morris, 2004).

Buğdaylarda bulunan oksidatif enzimlerden makarna rengi üzerine en etkili olanlar Lipoksijenaz (LOX), Polifenol Oksidaz (PPO) ve Peroksidaz (POD) enzimleridir (Taha ve Sagi, 1987; Hosenev, 1994; Clarke ve ark., 1998; Borrelli ve ark., 1999, 2003; Troccoli ve ark., 2000; Morris, 2004).

Polifenol Oksidaz enzimleri, substratları fenolik maddeler olan ve bakır içeren oksido-redüktaz grubu enzimlerdir. PPO enzimleri un veya irmikte bulunan fenolik maddelerin kinonlara oksidasyonunu kataliz etmektedir. Stabil olmayan kinon bileşikleri birbirleriyle polimerleşerek veya amin ya da tiyol içeren bileşiklerle reaksiyona girerek kahverengi-siyah renkli kompleksler oluşturmaktadırlar (Whitaker ve Lee, 1995).

Oksido-redüktaz grubu enzimlerden olan POD enzimleri de, PPO enzimleri gibi makarnanın kararmasına neden olmakta, ancak reaksiyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. POD enzimleri için önerilen etki mekanizmaları arasında, LOX

enzimlerinde olduğu gibi karotenoidlerin ko-oksidasyonu yoluyla renk ağarması veya PPO enzimlerinde olduğu gibi fenolik bileşiklerin dolaylı oksidasyonu ve renk esmerleşmesi sayılabilir (Kobrehel ve ark., 1974; Taha ve Sagi, 1987; Iori ve ark., 1995; Fraignier ve ark., 2000).

İrmiğin pigment içeriği ve oksidatif enzimlerinin yanında, makarna üretimi sırasında meydana gelen enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları da makarna rengine etki etmektedir. Makarna üretimi sırasında makarna renginin olumsuz yönde etkilenmesini engellemek amacıyla vakum altında yoğurma ve kontrollü kurutma teknikleri uygulandığı için makarnanın rengi kullanılan irmiğin pigment içeriği ve oksidatif enzimlerin aktivitelerine bağlı olarak değişmektedir (Hoseney, 1994).

#### **2.2.1.2.1. Lipoksijenaz Enzimi (LOX)**

Lipoksidaz olarak da bilinen lipoksijenaz; hem grubu olmayan ve demir içeren bir dioksijenazdır (Gökmen ve ark., 2007). Lipoksijenazlar, konjuge *cis,trans*-dien hidroperoksitlerini meydana getirmek için *cis,cis*-1,4 pentadien sistemi içeren çoklu doymamış yağ asitlerine, moleküler oksijenin ilavesini katalizlerler (Borrelli ve ark., 1999). Oksijenin birleşme yerine göre LOX, reaksiyonun ürünü olarak spesifik sterioizomer verir ve ayrıca lipid substrata bağlı olarak çok çeşitli ürünler meydana getirir (Garbus ve ark., 2009). Lipoksijenaz “Yağ asidi + O<sub>2</sub> = yağ asidi hidroperoksiti” reaksiyonunu katalizler.

Lipoksijenaz tahıllar ile sebzeler ve meyvelerin büyük bir çoğunluğunu içeren bitkilerde, memelilerde, balıklarda ve mikroorganizmalarda geniş bir dağılıma sahiptir (Gökmen ve ark., 2007). Bitkilerde lipoksijenazlar tohumlarda, fidelerde ve yapraklarda bulunur. Yüksek bitkilerde lipoksijenazların meydana getirdiği hidroperoksitlerin; bitkinin savunmasında, yaraya karşı oluşan yanıtta, senesenste ve bitkinin gelişiminde rol aldığı düşünölmektedir (Hessler ve ark., 2002). Bazı lipoksijenaz enzimleri vejetatif depo proteinleri olarak da çalışabilir (Kato ve ark., 1993).

Tek bir doku içerisinde; her bir izoform için yaygın ve/veya özgün fonksiyonları destekleyen, her biri farklı üç-boyutlu özgüllük ve substrat tercihi ile kinetik parametreleri olan, farklı pH profili ve hücre altı yerleşimi gösteren çeşitli bitki LOX izoformları bulunmuştur. L-1, L-2 ve L-3 olarak adlandırılan bu izoformlar, optimum 10,2, 4,8 ve 6,6 pH'da aktivite göstermişlerdir (De Simone ve ark., 2010). Kolonda yürüme profilleri L-1'in en temel lipoksijenaz olduğunu ve en yüksek derecede absorbe edildiğini işaret etmektedir. L-2 ve L-3 izoenzimleri pH 4,8-6,6'da optimum aktivite gösterirken L-1 pH 10,2 ve 11,4'de optimum aktivite göstermektedir (Hsieh ve McDonald, 1984).

Durum ürünleri için önemli olan birincil kalite özelliklerinin başında gelen parlak sarı renk tanedeki karotenoid pigmentlerin miktarına bağlıdır ve bu renk, pigmentin sentezi ile LOX tarafından indirgenmesi arasındaki dengenin sonucunda oluşmaktadır (Garbus ve ark., 2009).

Makarna yapımı sırasında gözlenen renk kaybının önemli bir kısmı karotenoid oksidasyonundan kaynaklanmaktadır (Gökmen ve ark., 2007). Lipoksijenaz - linoleat sistemi moleküler oksijen tarafından çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile durağan olmayan hidroperoksitlerin oluşumuna neden olur ve sonuçta karotenoid pigmentleri okside eder (Leenhardt ve ark., 2006). Substrat peroksidasyonunun ara basamakları sırasında üretilen yağ asidi radikalleri,  $\beta$ -karoten, ksantofil ve klorofiller gibi pigmentlerin oksidatif indirgenmesinden sorumludur (Borrelli ve ark., 1999). Makarna ürünleri ve hamurun beyazlaması, yağ asiti oksidasyonu tarafından meydana getirilen serbest radikaller nedeniyle pigmentlerin çifte oksidasyonunun bir sonucudur (Garbus ve ark., 2009).

Lipoksijenaz katalizli oksidasyon sırasında oluşan yağ asidi radikalleri,  $\beta$ -karoten ve ksantofillerin oksidatif olarak parçalanmalarına ve renklerini kaybetmelerine neden olmaktadır (Siedow, 1991). Linoleik aside karşı afiniteleri oldukça yüksek olan durum buğdayı LOX enzimlerinin moleküler ağırlıklarının yaklaşık 95 kDa ve optimum aktivitelerinin hamur pH değerlerine (pH 4-6) yakın olduğu belirlenmiştir (Barone ve ark., 1999). LOX enzimlerinin substratı olan linoleik asit, buğdayda en fazla bulunan (>%50) yağ asididir.



Buğdayların LOX katalizli oksidasyonu sonucu oluşan renk ağarması makarnalık buğdaylarda istenmeyen bir durumdur. Ancak bu durum ekmeklik buğdaylarda kontrollü olarak istenmektedir. LOX oksidasyonu ekmeklik buğday unlarının ağarmasına ve gluten proteinlerini dolaylı yoldan okside ederek hamurun kuvvetlenmesine neden olmaktadır (Hoseney, 1994; Elgün ve Ertugay, 1995).

Lipoksijenaz, molekül içi ve moleküller arasında disülfid bağlarını oluşturmak için gluten proteinlerinin sülfidril gruplarını oksitleme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle lipoksijenaz gluten protein komplekslerinin fiziksel özellikleri ve buğday unu hamurunun reolojik özelliklerini artırır (Geng ve ark., 2010). Tanede heterojen bir dağılıma sahip olan LOX enzimleri embriyo, kabuk ve endospermde bulunur (Rani ve ark., 2001). Embriyo endospermde 17 kat, kabuk ise endospermde dört kat daha fazla LOX enzimi içermektedir (Nicolas ve ark., 1982). Buğdayların LOX enzim aktiviteleri; tür, çeşit ve yetiştirme şartlarından etkilenmektedir. Durum buğdaylarının LOX enzim aktiviteleri genellikle diğer türlerden daha düşüktür (Hoseney, 1994; Coşkun, 2001).

Lipoksijenazın buğdayın bin dane ağırlığı, gluten içeriği ve hamur özellikleri gibi bazı kalite parametrelerinin şekillenmesinde de önemli bir işlevi olduğu bilinmektedir (Permyakova ve ark., 2010).

Bazı bitki lipoksijenaz reaksiyonu ürünleri, aroma üretiminde istenmeyen lezzet ve koku oluşumunu etkiler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılması ile şekillenen hidroperoksitler, hidroperoksit liyaz tarafından istenmeyen lezzet oluşturan formaldehitlere parçalanır (Hessler ve ark., 2002).

Lipoksijenaz aktivitesini ölçmek için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar; bir oksijen elektrodu ya da Warburg aparatı kullanılarak linoleik asit oksidasyonu sırasında oksijen tüketiminin belirlenmesi, iyodin ve tiyosiyanat ile hidroperoksit ürünlerinin kolorimetrik reaksiyonları, hidroperoksit ürünlerinde konjuge dien gruplarının spektrofotometrik ölçümleri ve ortak oksidasyon reaksiyonlarında pigmentlerin ağarmasının belirlenmesini içermektedir (Gökmen ve ark., 2007). Bunun dışında, lipoksijenaz aktivitesinin depolama koşullarından direk olarak etkilendiği de bilinmektedir.

Renk kalitesi yüksek makarna üretebilmek için yüksek pigment içerikli ve aynı zamanda düşük oksidatif enzim aktivitelerine sahip durum buğday çeşitleri seçilmeli ve/veya ıslah edilmelidir. Türkiye’de yetiştirilen durum buğdayı çeşitlerinin pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri konusunda yapılmış çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (Pekin ve Çakmaklı, 1987; Tuncer ve Ercan, 1999; Coşkun, 2001; Coşkun ve Ercan, 2003; Yüksel, 2009).

### **2.3. Biyokimyasal ve Moleküler Analizler**

Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonu için morfolojik markörler, biyokimyasal markörler ve moleküler markörler yaygın şekilde kullanılmaktadır. Morfolojik markörler çevre koşullarının etkisi altında kalabildikleri ve sınırlı sayıda oldukları için daha az kullanılmaktadır. Biyokimyasal markörlerin de sayılarının az olması sebebiyle kullanımları sınırlıdır. Moleküler DNA markörleri diğer belirleyicilere göre daha güvenilir olmaları, çevreden etkilenmeyişleri, bitkilerin gelişmelerinin her aşamasında kullanılabilmeleri ve geniş bir varyasyon göstermeleri gibi avantajları nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Özcan ve ark., 2001). Bu markörler genotiplere ait DNA nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyarlar. Ayrıca bu belirleyicilerin polimorfizm oranı morfolojik ve biyokimyasal belirleyicilerden çok daha fazladır (Parmaksız, 2004; Gündüz, 2008).

Moleküler markörler bitkiler aleminde genetik materyalin karakterizasyonu, genetik teşhis, transformantların karakterize edilmesi ve filogenetik analizlerde yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar (Rafalski ve ark., 1996; Ateş Sönmezoğlu, 2006). Bu belirleyiciler kullanılarak genetik varyasyon araştırılmakta ve türlerin taksonomik tanımlaması yapılarak, filogenetik akrabalıkları bulunabilmektedir (Lowe ve ark., 1996). Moleküler belirleyiciler, bitkilerin DNA parmak izlerinin çıkarılması ve çeşit tanımlamasında da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markörlerin kullanımı ile detaylı durum buğdayı genetik haritalarının yapısı, makarnada kalite özelliklerinin bazılarını etkileyen kromozom bölgelerinin daha hassas bir şekilde belirlenmesini kolaylaştırmıştır. Durum buğdayının ilk moleküler haritalarına RFLP markörlerinin kullanımı ile başlanmış (Blanco ve ark., 1998) ve daha sonra SSR markörleri ile

tamamlanmıştır (Korzun ve ark., 1999). Moleküler markörlerin farklı tiplerinin birleştirilmesi ile son yıllarda ilave haritalar yayınlanmıştır (Nachit ve ark., 2001; Elouai ve Nachit, 2004; Pozniak ve ark., 2007; Maccaferri ve ark., 2008; Peleg ve ark., 2008). Bu haritaların bazılarında tanede sarı pigment içeriği ve oksidatif enzimleri etkileyen gen bölgeleri gösterilmiştir (Elouai ve ark., 2001; Pozniak ve ark., 2007; Patil ve ark., 2008; Zhang ve Dubcovsky, 2008).

Moleküler markörlerden biri olan mikrosatelit markörleri günümüzde genotiplerin tanımlanması, kantitatif karakter lokuslarının (QTL) saptanması ve haritalanması ile genetik çeşitlilik araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Gupta ve Varshney, 2000; Budak ve ark., 2003; Ateş Sönmezoğlu ve ark., 2010; Yıldırım ve ark., 2011a; 2011b).

Tanede sarı pigment içeriği ile ilgili QTL, buğdayda 7AL ve 7BL kromozom kollarının distal bölgelerinde haritalanmış ve bu bölgede bulunan *Phytoene synthase 1 (Psy-1)* geni aday gen olarak önerilmiştir. *Psy-1* geninin tanede sarı pigment içeriğindeki farklılık ile tamamen bağlantılı olduğu da saptanmıştır. *Psy-1*'deki allelik varyasyonlar ile tanede sarı pigment içeriği arasındaki ilişkiler tanedeki sarı pigment içeriğinin belirlenmesinde bu genin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. *Psy-1*'deki allelik varyasyonlar 7L homolog grubunun uzun kolunun distal bölgesindeki en az bir ilave gen tanede sarı pigment içeriğindeki farklar ile ilişkilidir (Zhanng ve Dubcovsky, 2008).

Reimer ve ark. (2008), makarnalık buğdayda yaptıkları bir QTL analizi sonucunda; sarı renk pigmenti ile ilişkili markörlerin makarnalık buğday genomunun bütün kromozomlarında bulunduğunu ancak daha çok grup 7 kromozomlarında yoğunlaştığını, birkaç markörün 1, 2 ve 3 no'lu kromozomlarda tespit edildiğini, bir *Phytoene synthase* geni olan *Psy1-B1* geninin de sarı renk pigmenti için bir aday gen olduğunu bildirmişlerdir.

Singh ve ark. (2009), makarnalık buğdayda *Psy1-A1* geni üzerinde yaptıkları bir çalışmada; *Psy1-A1* geninin 7A kromozomunun uzun kolu üzerinde ve *Xwmc809* markörü yakınlarında haritalandığını, bu kromozom üzerinde sarı renk pigmentiyle ilgili bir QTL tanımlandığını, ikinci bir QTL'nin de *Psy1-A1* genine yaklaşık olarak 25

centimorgan (cM) uzaklıkta bulunduğunu ve sarı renk pigmentiyle ilgili olan *Psy1* ve başka bir genin 7A kromozomunun uzun kolunda yer aldığını bildirmişlerdir.

4B kromozomunun kısa kolu üzerindeki QTL, makarna rengi ile ilgili olan *Lpx-B1* lokusunda kayda değer bir etki göstermiştir. 4A kromozomu üzerinde bulunan *Lpx-A3* lokusu tanenin sarı pigment içeriği üzerinde kayda değer bir etki göstermiştir. Çalışılan örnekte *Lpx-B1.1* kopyasındaki bir delesyonun, tanedeki lipoksijenaz aktivitesi üzerinde 4.5 katlık bir indirgenme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Carrera ve ark., 2007).

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak daha önce yürütülen bir projede (TÜBİTAK Projesi, COST Programı - FA0604 Aksiyonu, Proje No: 107O004) geliştirilen dört adet ileri ıslah hattı ile ICARDA'dan sağlanan ve farklı çalışmalarda (Sakin ve ark., 2004; 2005) verim ve bazı hastalıklara direnç bakımından potansiyeli yüksek bulunan 11 adet makarnalık buğday ileri ıslah hattı kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Araştırmada tescilli çeşitlerden Sarıçanak-98, Salihli-92, Selçuklu-97, Kızıltan-91, Kyle, Zenit ve Gediz-75 çeşitleri de kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.1.** Araştırmada kullanılacak olan makarnalık buğday ileri ıslah hatları

Sıra No	İleri Islah Hattı
1	TMB 1 (COST Projesi, ileri ıslah hattı)
2	TMB 2 (COST Projesi, ileri ıslah hattı)
3	TMB 3 (COST Projesi, ileri ıslah hattı)
4	TMB 4 (COST Projesi, ileri ıslah hattı)
5	Gdem-2 (Mutant hat- Gaziosmanpaşa Üniv.)
6	Gdem-2-1 (Mutant hat- Gaziosmanpaşa Üniv.)
7	Gdem-12 (Mutant hat- Gaziosmanpaşa Üniv.)
8	Hat-1 (Mrb3/Albit-1)
9	Hat-4 (Aghrass-2)
10	Hat-5 (Terbol97-1)
11	Hat-7 (Zna-1//Dra2/Bcr)
12	Hat-11 (Lagamarb-1)
13	Hat-19 (Gby/4/Quadalete//Erp/Mal/3/Unk)
14	Hat-20 (Stj3/4/Stn//Hui/Sorno/3/Yav/Fg//Roh)
15	Hat-24 (Rutucha-1)

**Çizelge 3.2.** Araştırmada kullanılacak olan tescilli çeşitler, tescil yılları ve alındıkları kuruluşlar

Sıra No	Tescilli Çeşit	Tescil Yılı	Tohumun Alındığı Kuruluş
16	Sarıçanak-98	1998	GATAE
17	Salihli-92	1995	ÇÜZF
18	Selçuklu-97	1997	TBMAE
19	Kızıltan-91	1991	TBMAE
20	Kyle	-	SPARC
21	Zenit	2001	GATAE
22	Gediz-75	1976	ÇÜZF

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

Çalışmada genotiplerin kaliteli makarna üretiminde belirleyici olan pigment içerikleri ve LOX enzim aktiviteleri araştırılmıştır. Tüm analizler her bir çeşit ve hatta üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için makarnalık buğday çeşit ve hatlarının tohumları petrilere ekilerek iki yapraklı döneme kadar büyütülmüş, yaklaşık 4-5 cm boyundaki yaprak örnekleri alınmış ve genç yapraklarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bazı değişikliklerle standardize edilerek çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyonu metodu aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Doyle ve Doyle, 1990).

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

\* 100 ml buffer hazırlamak için

- 65 ml saf su,
- 10 ml 1 M Tris (pH: 7,5),
- 14 ml 5 M NaCl ve

- 10 ml 0,5 M EDTA (pH: 8,0) karıştırılarak 65 °C'de ısıtılır ve buna
- 1 gr CTAB ile
- 1 ml 14 M Beta MerkptoEtanol (BME) eklenir.

2) Bir ünite Proteinase K eklendikten sonra (bir ünite 5 µl konsantrasyon) vorteksde karıştırılır.

3) 40 µl % 20 SDS (veya 80 µl % 10 SDS) eklenerek 65 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulur ve ara sıra alt üst ederek karıştırılır.

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

5) 10.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.

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

7) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.

8) Sıvı dökülür. Pelet kuruduktan sonra 500 µl 1 x TE eklenir.

9) 10 mg / ml RNase çözeltisinden 1 µl eklenir. DNA 60 °C'deki su banyosunda 3 saat eritilir.

10) 400 µl kloroform: isoamil alkol (24:1) eklenir. Tüpler 5-10 dakika alt üst edilerek karıştırılır.

11) 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilir.

12) Süpernatant 80 µl 1,2 M NaCl (veya 20 µl 5 M NaCl ) içeren yeni bir tüpe alınır. Hafifçe karıştırılır.

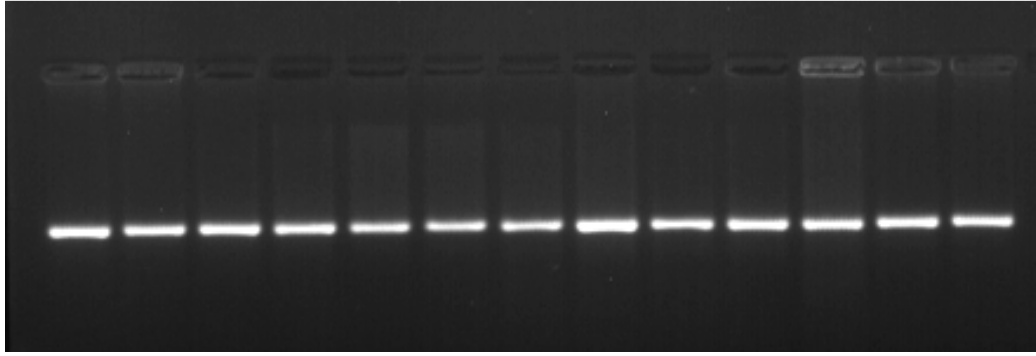
13) 800 µl % 96 soğuk etil alkol ilave edilir. Alt üst edilip karıştırılarak DNA çökeltilir.

14) 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilir ve sıvı dökülür.

15) Pelet 1200 µl % 70 soğuk etil alkol ile dikkatlice yıkanır. Ters çevrilmiş halde 2 saat kurutulur.

16) Kuruyan pelet 100 µl 1 x TE' de çözülür. Toplam 20 µg civarında DNA elde edilebilir.

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



Şekil 3.1. % 1'lik agaroz jelde koşulan DNA örnekleri

### 3.2.2. Markör Taramaları

Her bir bitkiden izole edilen DNA'lar, LOX aktivitesi ve pigment miktarı açısından moleküler markörlerle taranmıştır. Moleküler taramalarda bir çok araştırmacı tarafından haritalanan mikrosatelit (SSR) ve SCAR markörleri (Çizelge 3.3. ve 3.4) kullanılmıştır.



**Çizelge 3.3.** Farklı haritalardan alınan ve LOX aktivitesiyle bağlantılı olan SSR markörleri

<b>LOX Aktivitesiyle Bağlantılı SSR markörleri</b>	<b>Primer Dizisi (5'--- 3')</b>	<b>Genetik Harita Kaynağı</b>
Xgwm251-4B	Forward- CAACTGGTTGCTACACAAGCA Reverse- GGGATGTCTGTTCCATCTTAG	Geng ve ark., 2010
Xwmc312-1A	Forward- TGTGCCCCGCTGGTGCGAAG Reverse - CCGACGCAGGTGAGCGAAG	Somers ve ark., 2004
Xwmc692-4B	Forward- TTATCTTGATCCGAGCGA Reverse- ATGTGATTAGTCCTAAGGTCTCTCT	Somers ve ark., 2004
Xwmc93-1A	Forward- ACAACTTGCTGCAAAGTTGACG Reverse- CCAACTGAGCTGAGCAACGAAT	Somers ve ark., 2004

Bu amaçla Röder ve ark. (1998), Somers ve ark. (2004), Geng ve ark. (2010) ile Patil ve ark. (2008) tarafından haritalanan mikrosatellit (SSR) ve SCAR markörleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3 ve 3.4). PZR işlemleri farklı primerler için, kaynak makalelerinde belirtilen şartlara göre gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Farklı haritalardan alınan ve pigment ile bağlantılı olan SSR ve SCAR markörleri

<b>Pigment ile Bağlantılı SSR ve SCAR markörleri</b>	<b>Primer Dizisi (5'--- 3')</b>	<b>Genetik Harita Kaynağı</b>
Xgwm344-7B	Forward- CAAGGAAATAGGCGGTA Reverse- ATTTGAGTCTGAAGTTTGCA	Röder ve ark., 1998
Xgwm63-7A	Forward- TCGACCTGATCGCCCCTA Reverse – CGCCCTGGGTGATGAATAGT	Röder ve ark., 1998
Xgwm46-7B	Forward- GCACGTGAATGGATTGGAC Reverse - TGACCCAATAGTGGTGGTCA	Röder ve ark., 1998
Xgwm408-5B	Forward- TCGATTTATTTGGGCCACTG Reverse - GTATAATTCGTTACAGCACGC	Röder ve ark., 1998
Xscar3362-7A	Forward- TTGGCTTATTC CAATGCACA Reverse- TGTAAGGGCAACTCCCACAT	Patil ve ark., 2008
Xscar807	Forward- GAGAGAGTCTTATCTGATGTACCG Reverse- GAGAGAGTGGAATCACTTTGTGAG	Patil ve ark., 2008

### **3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

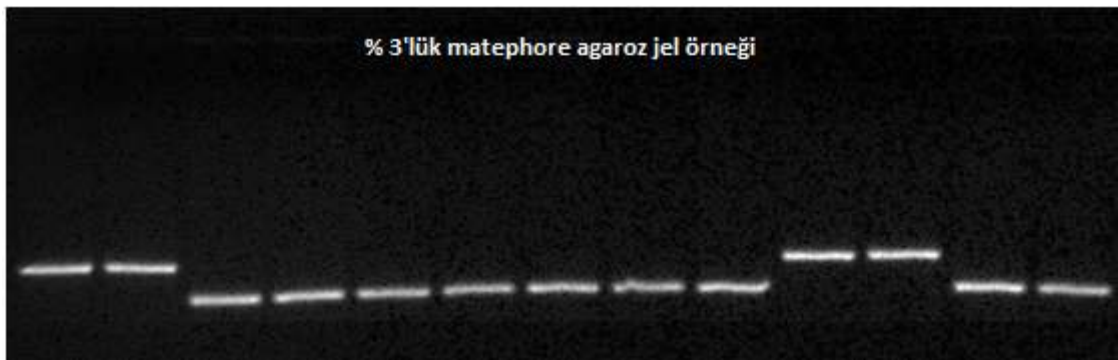
DNA izolasyonunun tamamlanmasından sonra her bir primer için, Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) kaynak makalelerinde gösterilen şartlarda yapılmıştır. PZR işleminin gerçekleştirildiği Bioneer (MyGenie 96 Thermal Block) marka thermal cycler Şekil 3.2’de verilmiştir.



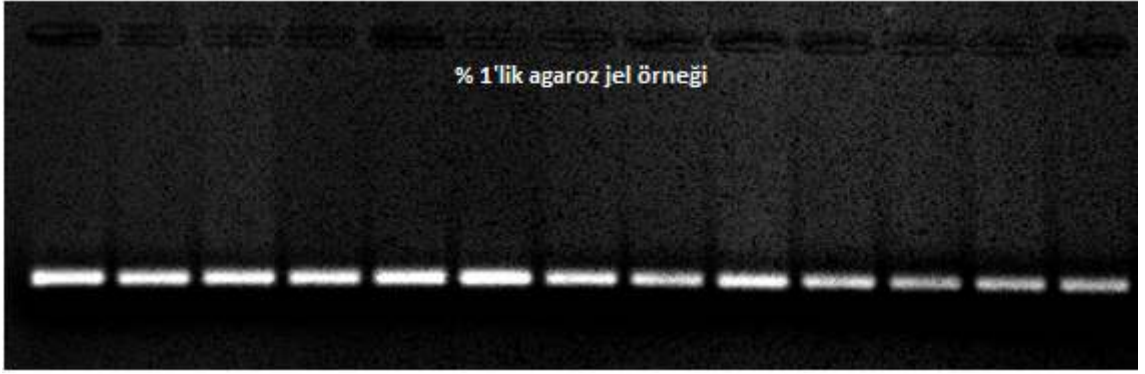
**Şekil 3.2.** PZR’de kullanılan thermal cycler

Her bir reaksiyonda; 250 nM primer, deoksinükleotidlerin her birinden 0.2 mM, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, bir ünite *Taq* Polimeraz enzimi ve 50-100 ng kalıp DNA mevcuttur. Bir PZR işlemi; 94 °C’ de bir dakika DNA’nın tek zincirli hale gelmesi (denatürasyon), primere bağlı olarak 50 ile 60 °C arasında primerlerin bağlanması (yapışma), 72 °C’ de bir dakika zincirin uzaması ve 72 °C’ de beş dakika son uzatma sirkülasyonundan oluşmaktadır.

Elde edilen PZR ürünleri primere bağlı olarak % 3’lük metaphore agaroz ya da % 1’lik agaroz jelde koşulmuştur. Şekil 3.3’deki görüntü % 3’lük metaphore agaroz jel görüntüsü, Şekil 3.4’deki görüntü ise % 1’lik agaroz jel görüntüsüdür.



**Şekil 3.3.** % 3’lük metaphore agaroz jel örneği



Şekil 3.4. % 1'lik agaroz jel örneği

### 3.2.4. Pigment İçeriği

Buğday örnekleri Polymix PX-MFC çekicli değirmen (Kinematica AG) kullanılarak 1,0 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüştür (Yüksel, 2009). Öğütülen örneklerin karotenoid pigment içeriklerinin tayini için örnekler su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstrakte edildikten sonra spektroskopik (435.8 nm) yaklaşımla ölçülmüştür. Sonuçlar, Sakin ve ark. (2011a) tarafından optimize edilen standart yöntem (AACC Method 14-50) göre hesaplanmıştır (Anonim, 2000).

Bu yöntemde 1 gram ölçülen örnekler 15 mL hacimli tüplere aktarıldıktan sonra üzerlerine 5 mL su ile doyurulmuş n-butanol ilave edilip manuel olarak iyice çalkalanmış, 16 saat süreyle oda sıcaklığında karanlık bir ortamda tutulmuş, daha sonra 5000 dev/dk hızda 10 dk santrifüjlenerek (Sigma 2-16 KC) berraklaştırılmıştır. Daha sonra elde edilen süpernatantların 435,8 nm dalga boyunda absorbanları ölçülerek (Optizen 3220 UVbio) pigment içerikleri;  $\text{Pigment İçeriği (mg/kg)} = \text{Absorbans}_{435,8} \times 30,1$  denkliği ile hesaplanmıştır (Anonim, 2000; Köksel ve ark., 2000).

### 3.2.5. Enzim Ekstraksiyonu

Öğütülen buğday örneklerinden lipoksijenaz enziminin ekstraksiyonu, Rani ve ark. (2001) ile Aalami ve ark. (2007) tarafından tanımlanan yöntemler modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

Öğütülen buğday örneklerine (1,0 g) 10 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi (50 mM, pH 7,5) ilave edilmiş ve 4 °C'de 1 saat süreyle çalkalandıktan (~80 dev/dk) sonra santrifüj edilmiştir (5000 x g, 15 dk). Tüpün üst kısmında biriken süpernatant alınmış ve bu sıvı ekstrakt enzim aktivitesi analizlerinde kullanılmıştır. Kullanılacağı zamana kadar LOX enzim ekstraktları buzlu su içerisinde saklanmıştır.

### 3.2.6. Lipoksijenaz (LOX) Aktivitesi

Buğdayların irmiğe öğütülmesi ve makarnaya işlenmesi sırasında sarı renk kaybına neden olan lipoksijenaz enzim aktivitesi Aalami ve ark. (2007) tarafından tanımlanan spektroskopik yöntem (234 nm) kullanılarak belirlenmiştir. Öğütülen buğday örnekleri önce uygun bir tampon çözelti ile belirtilen şartlarda ekstrakte edilmiş ve santrifüjlenerek berraklaştırılmıştır. Ekstraktlar LOX aktivitesi için linoleik asit ile uygun şartlarda muamele edilmiş ve absorbans değişimleri spektroskopik olarak takip edilerek enzimin aktivitesi belirlenmiştir (Aalami ve ark., 2007).

Örneklerin LOX aktivitelerinin ölçümünde kullanılan linoleik asit substratı ( $7,5 \times 10^{-3}$  M) Shiiba ve ark. (1991) tarafından tanımlanan yöntemle göre hazırlanmış sonrasında enzim aktiviteleri Sayaslan ve ark. (2011) tarafından optimize edilen ölçüm prensiplerine göre belirlenmiştir. Enzim aktivitelerinin ölçümünde kullanılan spektrometrenin bulunduğu ortamın sıcaklığı ölçümden önce  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmıştır. Spektrometre küvetine sodyum asetat tampon çözeltisi (2,8 mL, 0,2 M, pH 5,5), linoleik asit substratı (100 µL) ve enzim ekstraktı (100 µL) ilave edildikten sonra hızlıca manuel olarak karıştırılmış ve absorbanstaki (234 nm) değişim 2 dk süreyle takip edilmiştir. Absorbanstaki 1 birim/dk değişim 1 enzim ünitesi (EU) kabul edilerek örneklerin LOX enzim aktiviteleri hesaplanmıştır.

### 3.2.7. Nem İçeriği

Öğütölmüş 1 gram buğday örneğlerinin, 130 °C’de 30 saniyelik nem ölçümünün gösterdikleri değışiklikler dikkate alınarak 2-3 dakika (OHAUS MB45) süre ile nem miktarları saptanmıştır. Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm analizlerin sonuçları % 14 nem esasına göre düzeltilmiştir.

### 3.2.8. İstatistiksel Değerlendirme

Tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak elde edilen verilere, SPSS 15.0 yazılım paketi aracılığıyla çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, ortalamaların kıyaslanması amacıyla Duncan Testi’nden yararlanılmıştır.

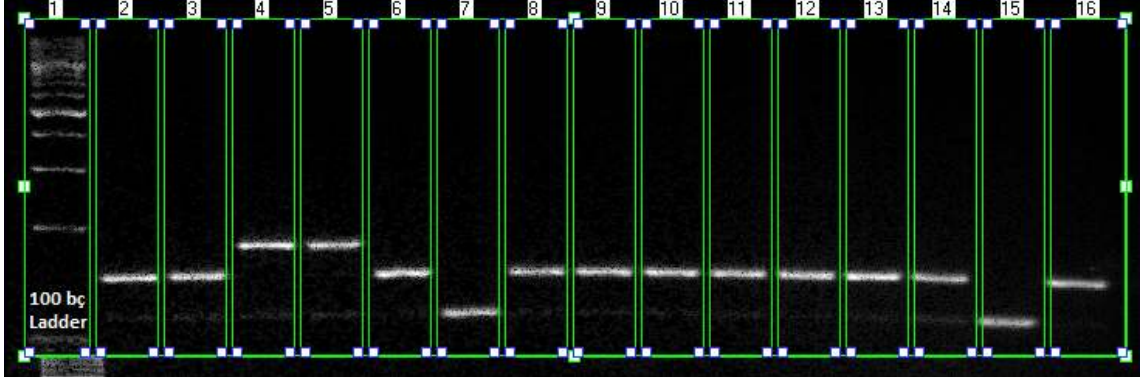
### 3.2.9. Moleküler Verilerin Değerlendirilmesi

Genotip analizlerinde UPGMA dendogramlarının oluşturulmasında Sayısal Taksonomi ve Multivaryete Analiz Sistemi Yazılımı (NTSYSpc, 2.11 versiyonu) kullanılmıştır. İleri ıslah hatları ve tescilli çeşitler arasındaki genetik uzaklıklar Nei-Li (1979) programı kullanılarak hesaplanmıştır.

PZR ürünlerinin yüklendiği % 3’lük metaphore agaroz jel; 6,75 gr mataphore, 44 ml 5 x TBE buffer ve 176 ml ddH<sub>2</sub>O’dan oluşmaktadır. Örneğlerin yüklendiği % 1’lik agaroz jel ise; 2,25 gr agaroz, 44 ml 5 x TBE buffer ve 176 ml ddH<sub>2</sub>O’dan oluşmaktadır. Jeller ethidium bromid (200 µl dH<sub>2</sub>O, 10 µl ethidium bromid) ile boyanmış ve jel imaj sisteminde (Vilber Lourmat, QUANTUM ST4) polimorfizm özellikleri gözlenmiştir.

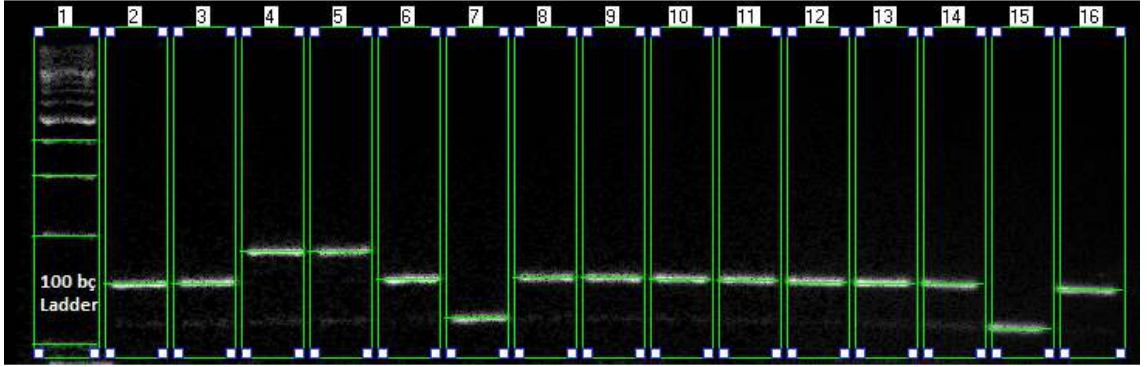
İleri ıslah hatları ve tescilli çeşitlerin PZR ürünlerinin tüm jellerde koşulma sırası; **1:** TMB 1, **2:** TMB 2, **3:** TMB 3, **4:** TMB 4, **5:** Gdem-2, **6:** Gdem-2-1, **7:** Gdem-12, **8:** Hat-1, **9:** Hat-4, **10:** Hat-5, **11:** Hat-7, **12:** Hat-11, **13:** Hat-19, **14:** Hat-20, **15:** Hat-24, **16:** Sarıçanak-98, **17:** Salihli-92, **18:** Selçuklu-97, **19:** Kızıltan-91, **20:** Kyle, **21:** Zenit, **22:** Gediz-75 olacak şekilde düzenlenmiştir.

Jel imaj sisteminde görüntülenen jellere ait fotoğraflar QUANTUM ST4 programında açıldıktan sonra kuyucuklar (lane) işaretlenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Kuyucukları işaretlenmiş jel fotoğrafı

Ladder'ın baz çifti (bç) bakımından bant büyüklükleri (100bç - 1000 bç) ve bulunduğu kuyucuk numarası girildikten sonra "Detection" imgesi ile bantlar otomatik olarak işaretlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Bantları işaretlenmiş jel fotoğrafı

Programın "Results" imgesi kullanılarak bantların gruplanmış tablosu elde edilmiştir (Çizelge 3.5). Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde jelden kaynaklanan hataların önüne geçebilmek için bütün jeller resimler üzerinde manuel olarak iki farklı araştırmacı tarafından gözle de skorlanmıştır. Böylece tüm bu skorlamalar karşılaştırılarak yanlış okumaların önüne geçilmeye çalışılmıştır. Analizler bant büyüklükleri tüm primerlerin bantlarını içeren tabloya yazıldıktan sonra yapılmıştır. Bant büyüklükleri tabloya yazılırken varsa 1 yoksa 0 yazılmıştır.

**Çizelge 3.5.** Program tarafından skorlanan bir jelin bant büyüklükleri

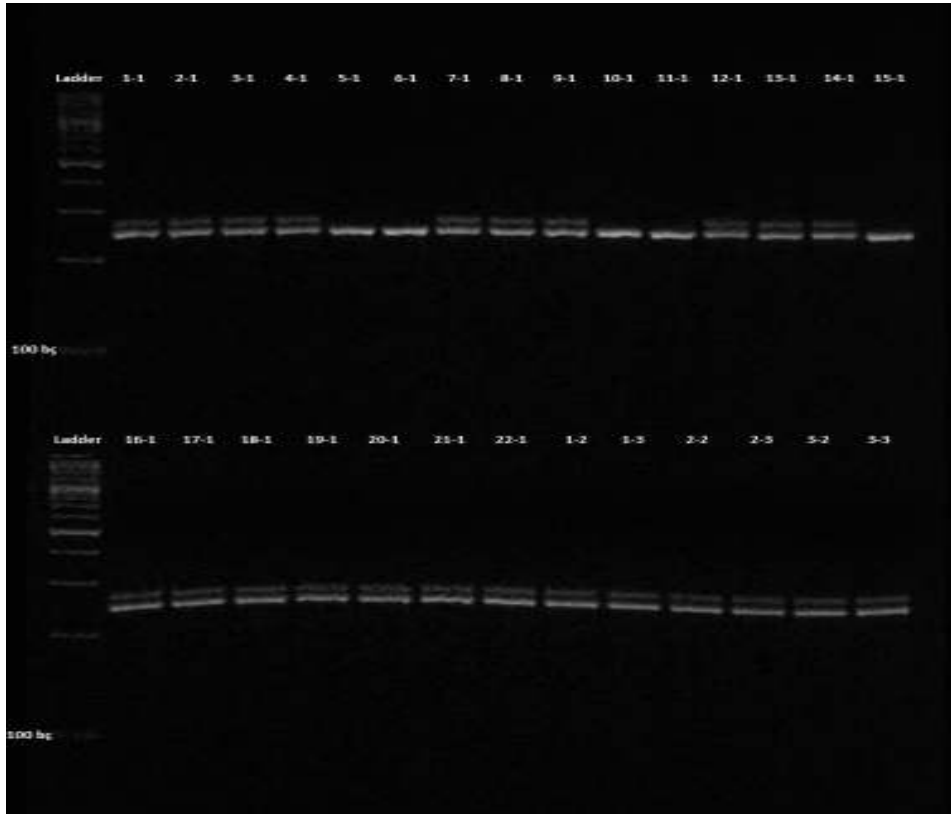
M.W. Values	Lane 1	Lane 2	Lane 3	Lane 4	Lane 5	Lane 6	Lane 7	Lane 8	Lane 9	Lane 10	Lane 11
Band 1	400.000	147.543	149.330	180.700	179.628	152.958	120.867	154.799	154.799	152.958	152.044
Band 2	300.000										
Band 3	200.000										
Band 4	100.000										



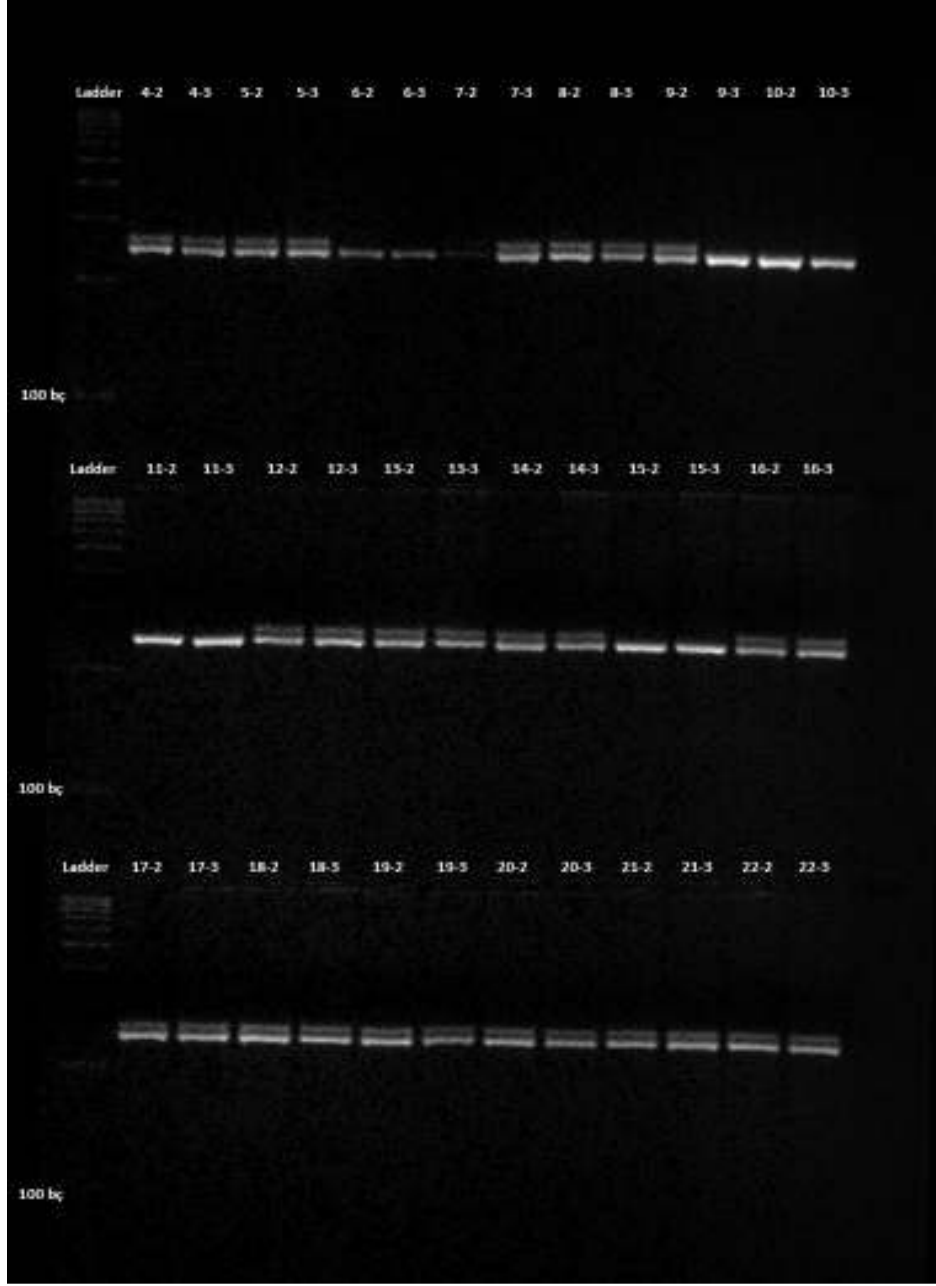
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Moleküler Veriler

Pigment içerikleri ve LOX enzim aktiviteleri bakımından ileri ıslah hatları ve tescilli çeşitler arasındaki genetik ilişkinin saptanması amacıyla 10 adet primer denenmiş ve moleküler taramalarda polimorfizm göstermeyen Xscar 807 primeri haricindeki dokuz adet primer kullanılmıştır. Bu primerlerden dört tanesi (Xgwm 251, Xwmc 312, Xwmc 692, Xwmc 93) LOX enzimi ile bağlantılı ve diğer beş tanesi de (Xgwm 344, Xgwm 63, Xgwm 46, Xgwm 408, Xscar 3362) pigment ile ilişkilidir. SSR primerlerinden elde edilen PZR ürünleri % 3'lük metaphore agaroz jelde, SCAR primerlerinden elde edilen PZR ürünleri ise % 1'lik agaroz jelde koşulmuştur. Görüntülenen jellerin bazıları Şekil 4.1 ve 4.9'da verilmiştir.

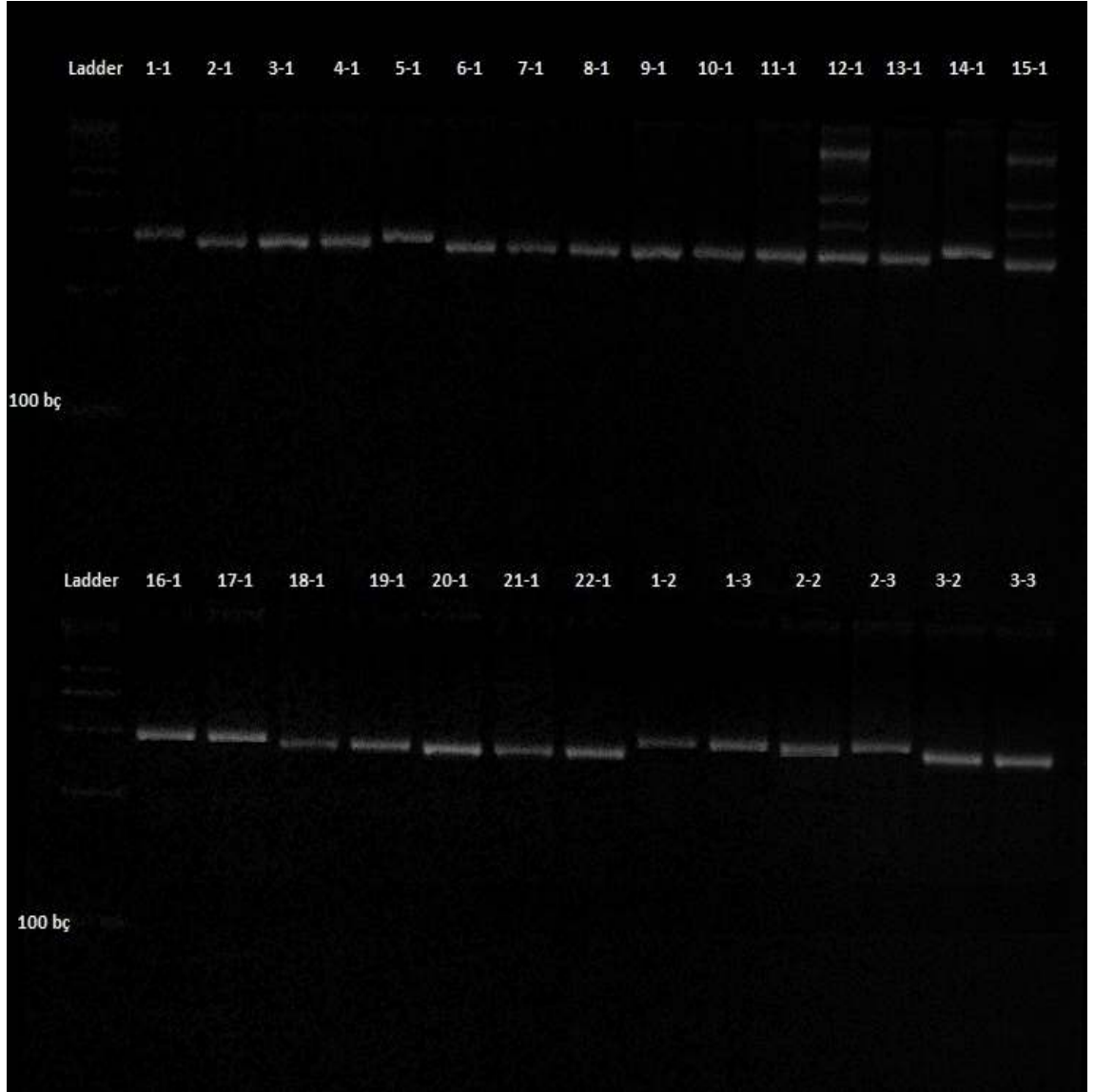


Şekil 4.1.a. Xscar 3362 primeri ile % 1'lik agaroz jel görüntüsü



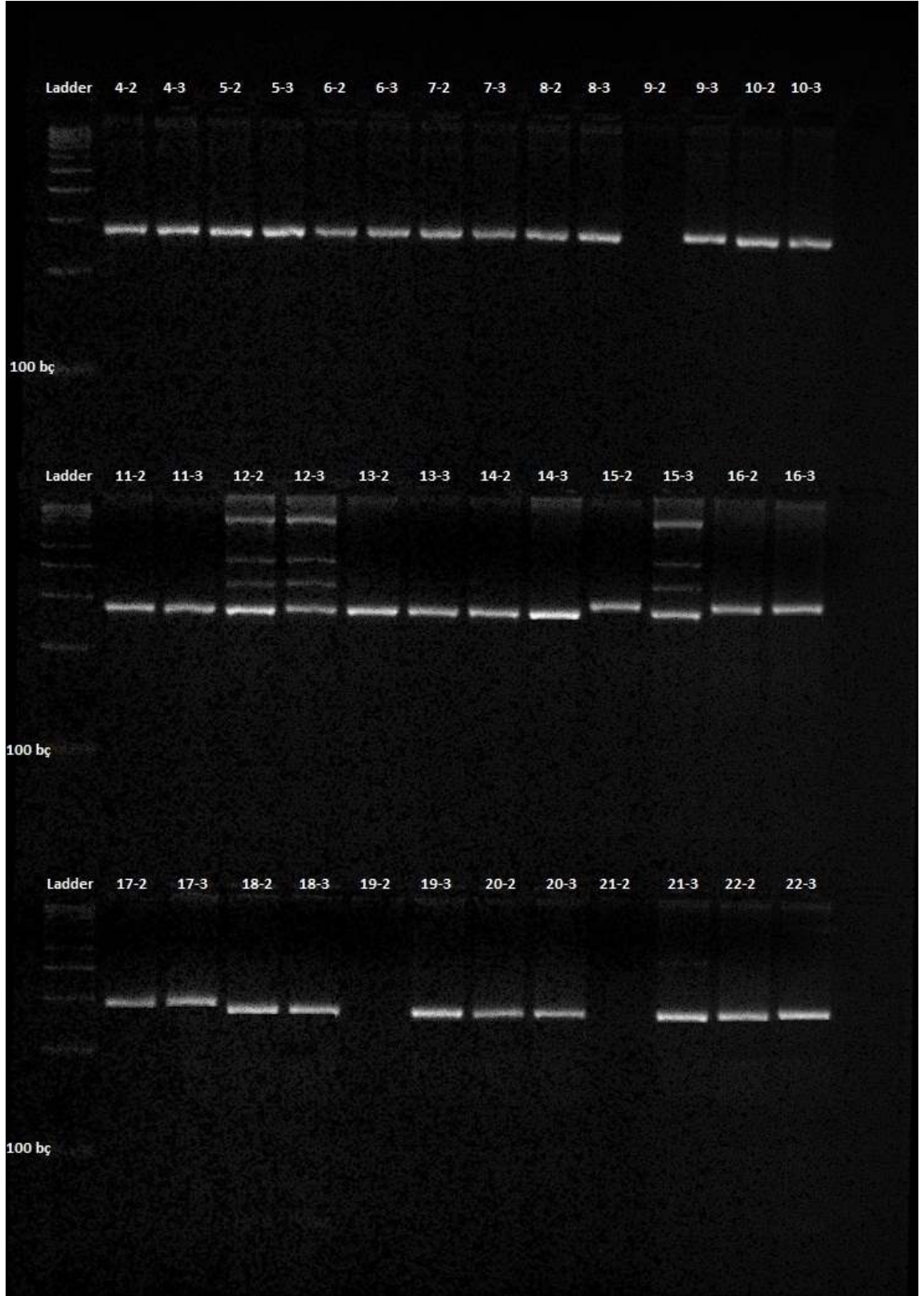
**Şekil 4.1.b.** Xscar 3362 primeri ile % 1'lik agaroz jel görüntüsü

Pigment geni ile bağlantılı primerlerden Xscar 3362 primerine göre Gdem-2-1, Hat-7, Hat-24 ve Hat-5 çeşitleri tekli bant verirken diğer çeşit ve hatlar çift bant profili göstermiştir (Şekil 4.1.a-b). Tek bant veren bu dört hattın spektrofotometrik pigment ölçümü sonuçları da düşük bulunmuştur. Patil ve ark. (2008) da Xscar 3362 primeri için benzer sonuçları bildirmişlerdir.

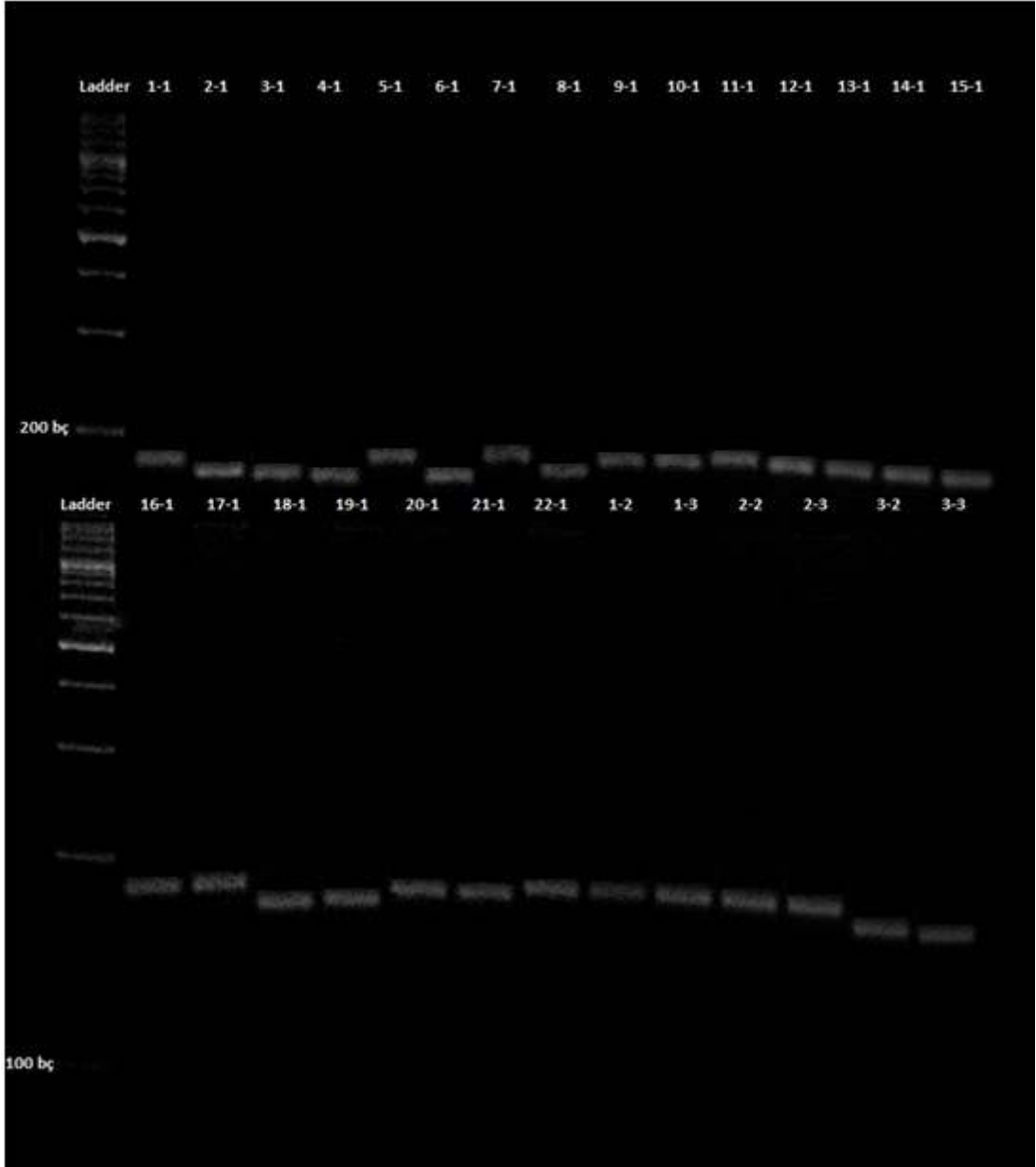


**Şekil 4.2.a.** Xgwm 63 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

İncelenen 22 adet makarnalık buğday hat ve çeşidi, Xgwm 63 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 262-298 bç arasında değişen bant boyutları ile 7 ana grupta toplanmıştır.

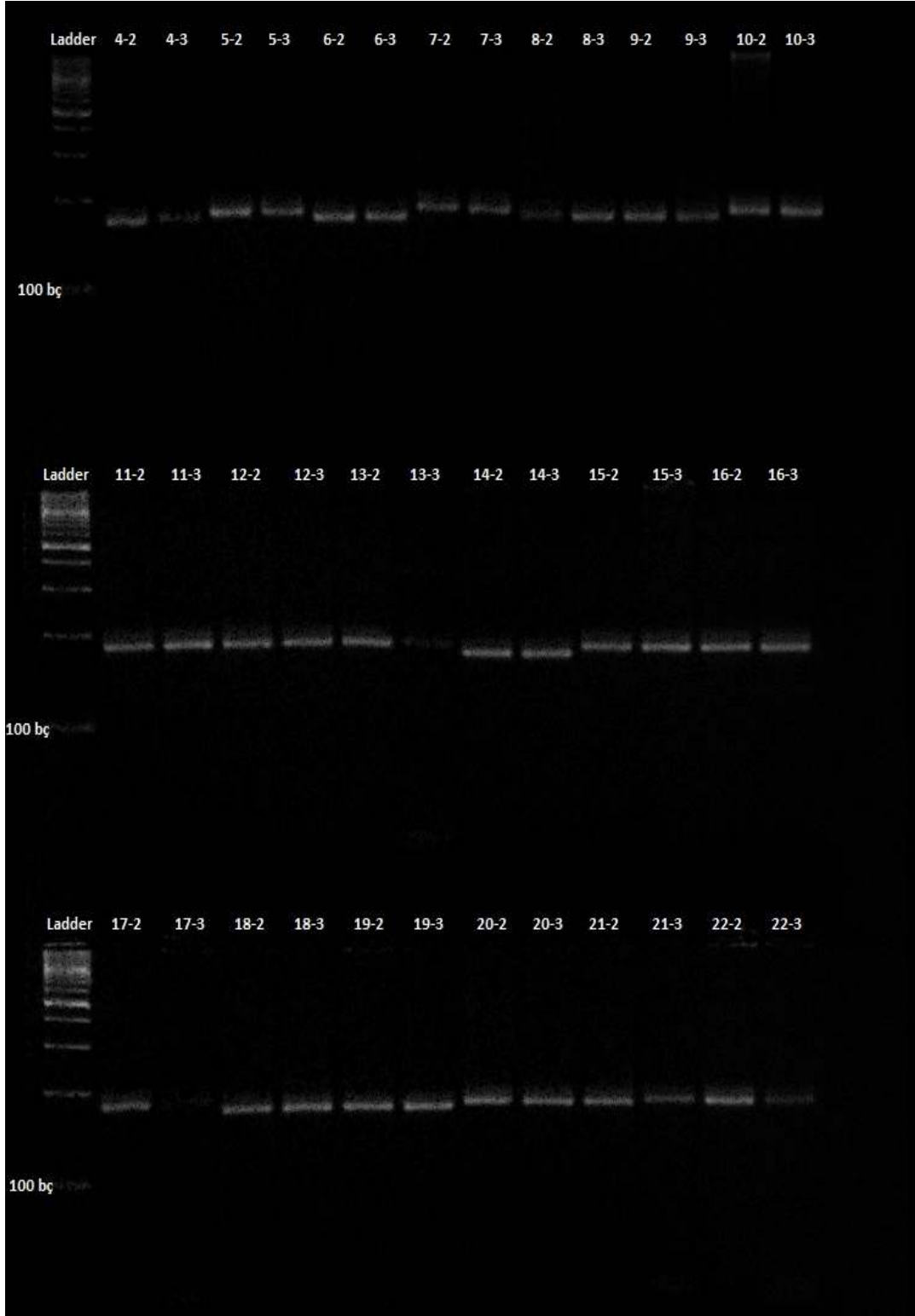


Şekil 4.2.b. Xgwm 63 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

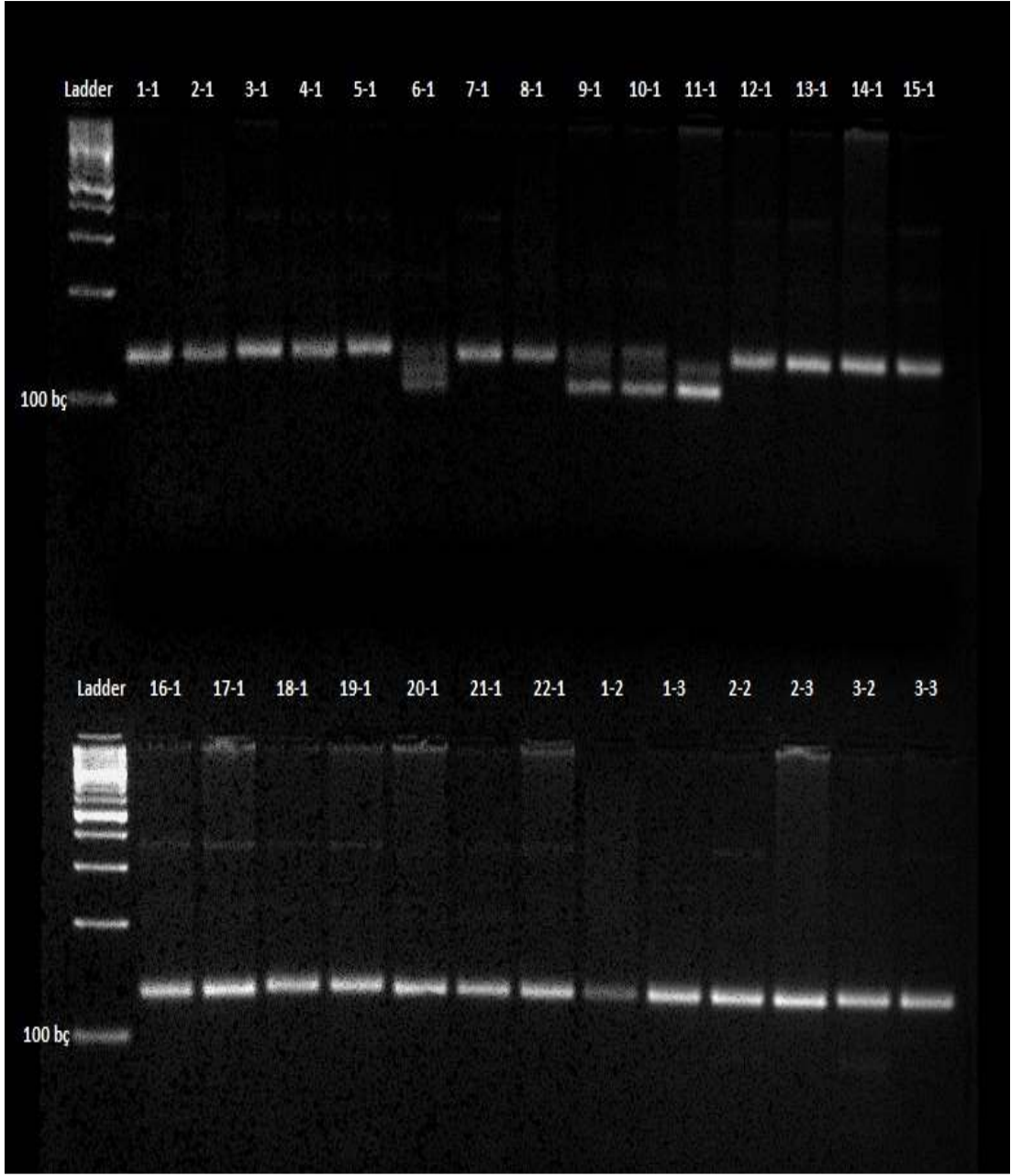


Şekil 4.3.a. Xgwm 46 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

Çalışmada kullanılan makarnalık buğday hat ve çeşitleri, Xgwm 46 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 155-190 bç arasında değişen bant profilleri ile 7 ana grupta toplanmıştır.

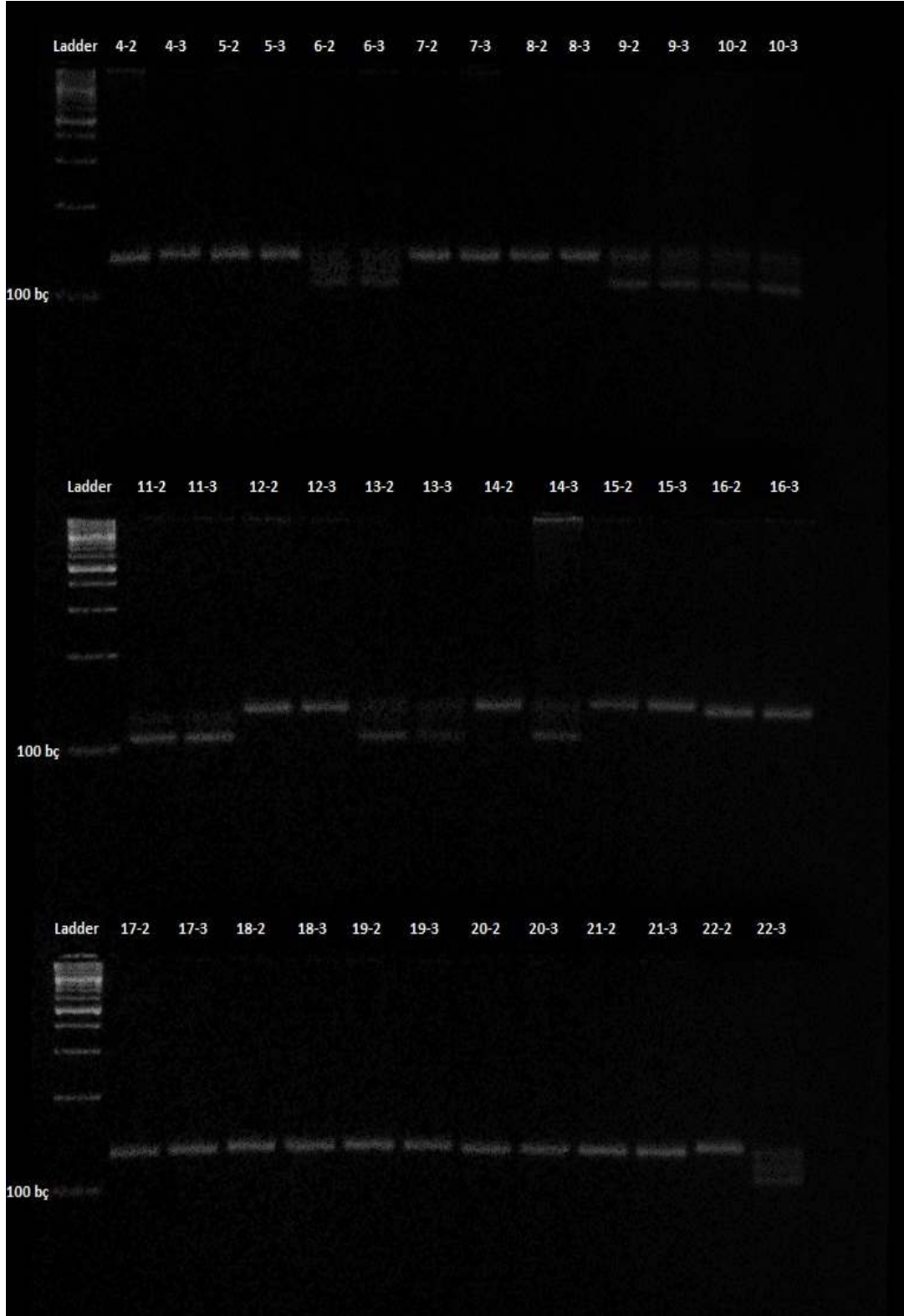


**Şekil 4.3.b.** Xgwm 46 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü



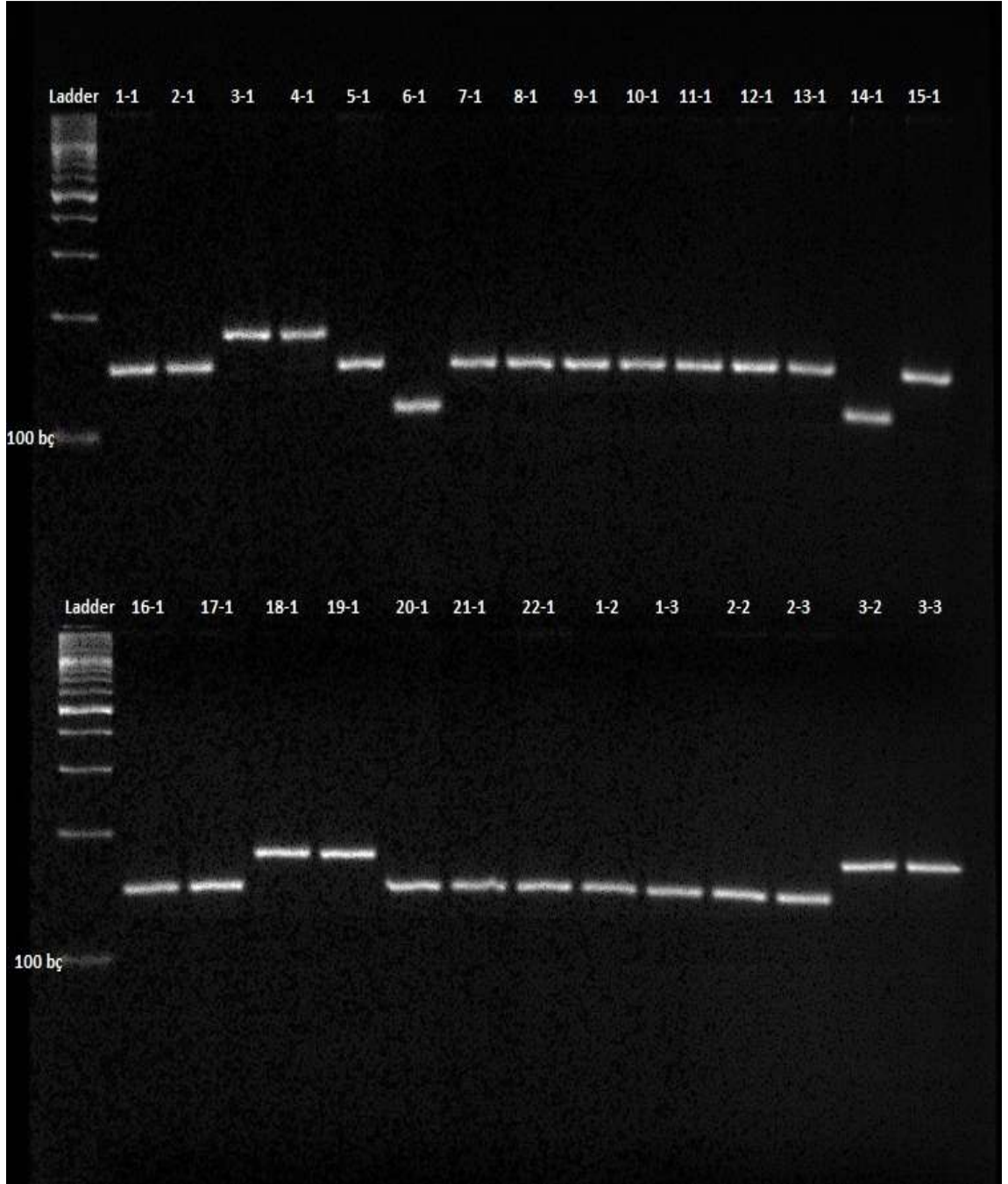
**Şekil 4.4.a.** Xgwm 344 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

İncelenen 22 adet makarnalık buğday hat ve çeşidi, Xgwm 344 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 107-145 bç arasında değişen bant boyutları ile 8 ana grupta toplanmıştır.



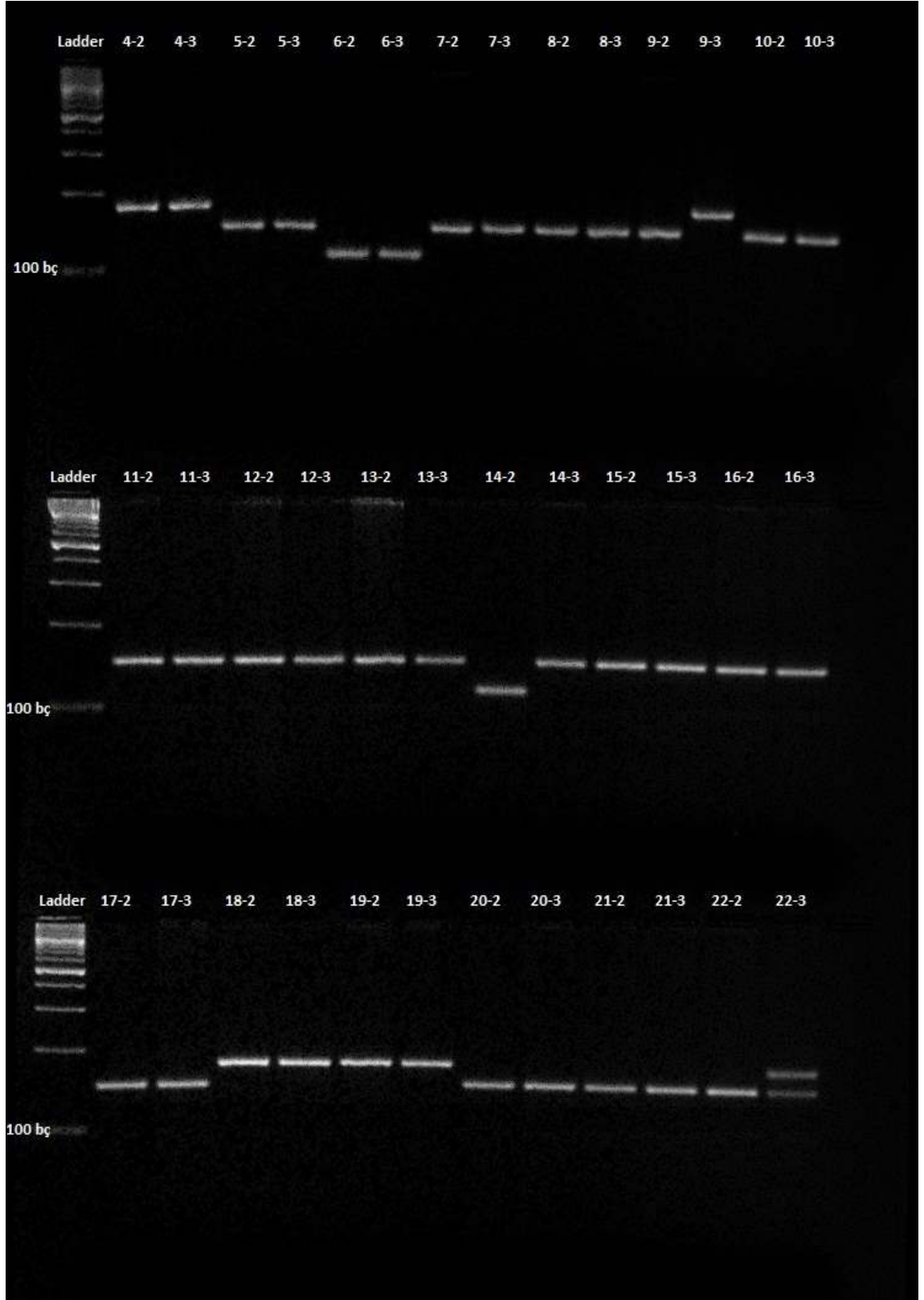
Şekil 4.4.b. Xgwm 344 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü



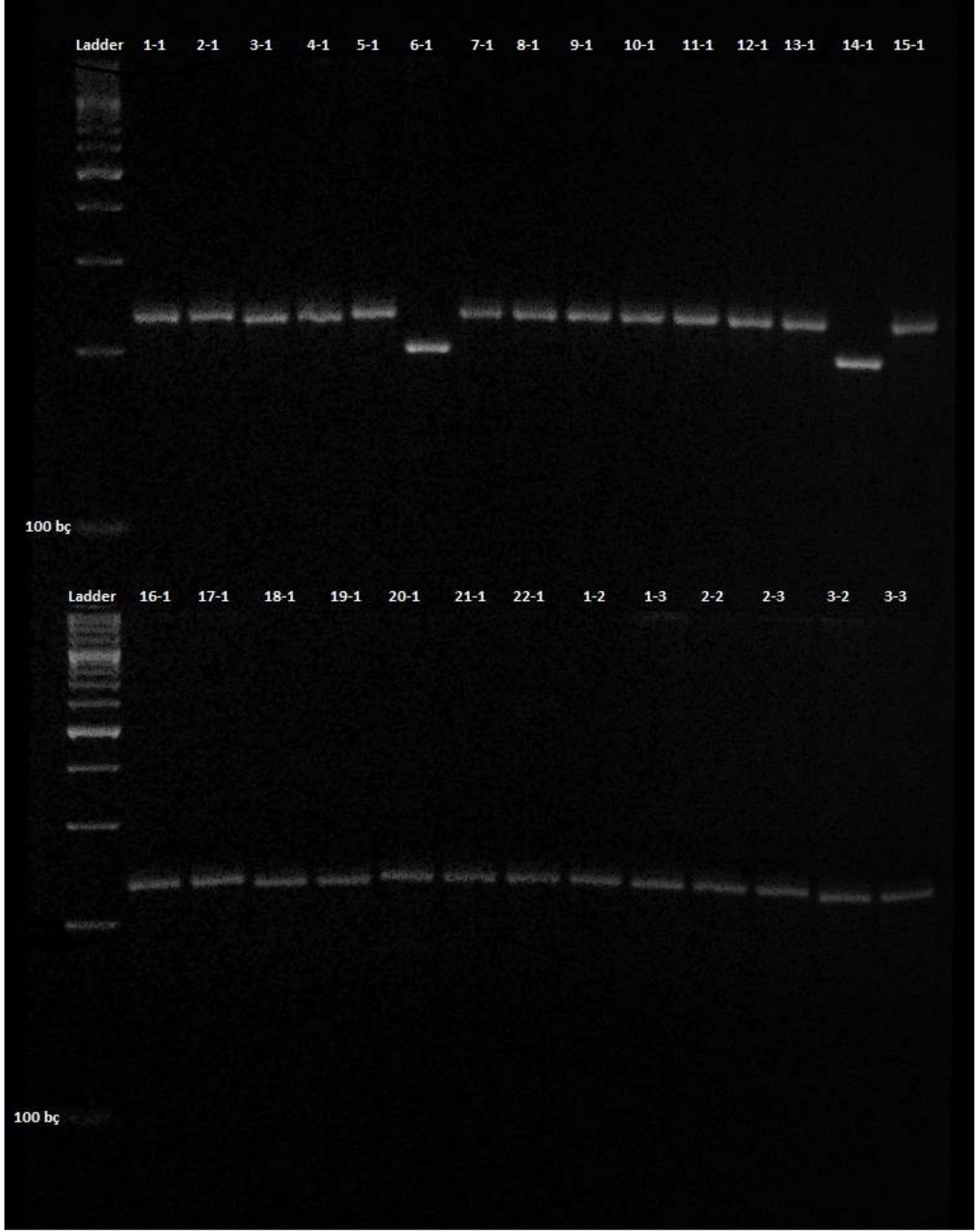


**Şekil 4.5.a.** Xwmc 93 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

Kullanılan makarnalık buğday hat ve çeşitleri, Xwmc 93 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 119-184 bç arasında değişen bant profilleri ile 9 ana grupta toplanmıştır.

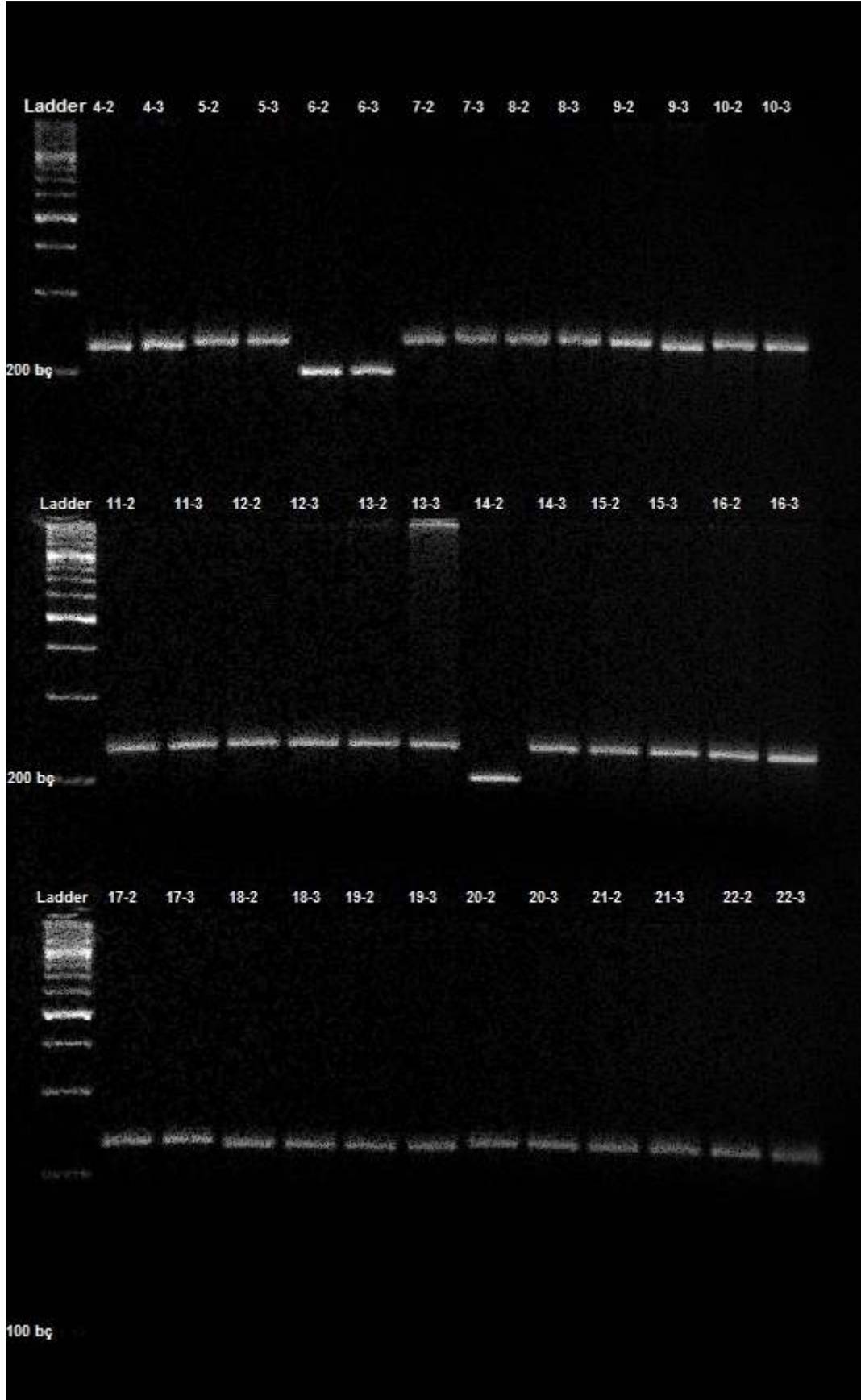


Şekil 4.5.b. Xwmc 93 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

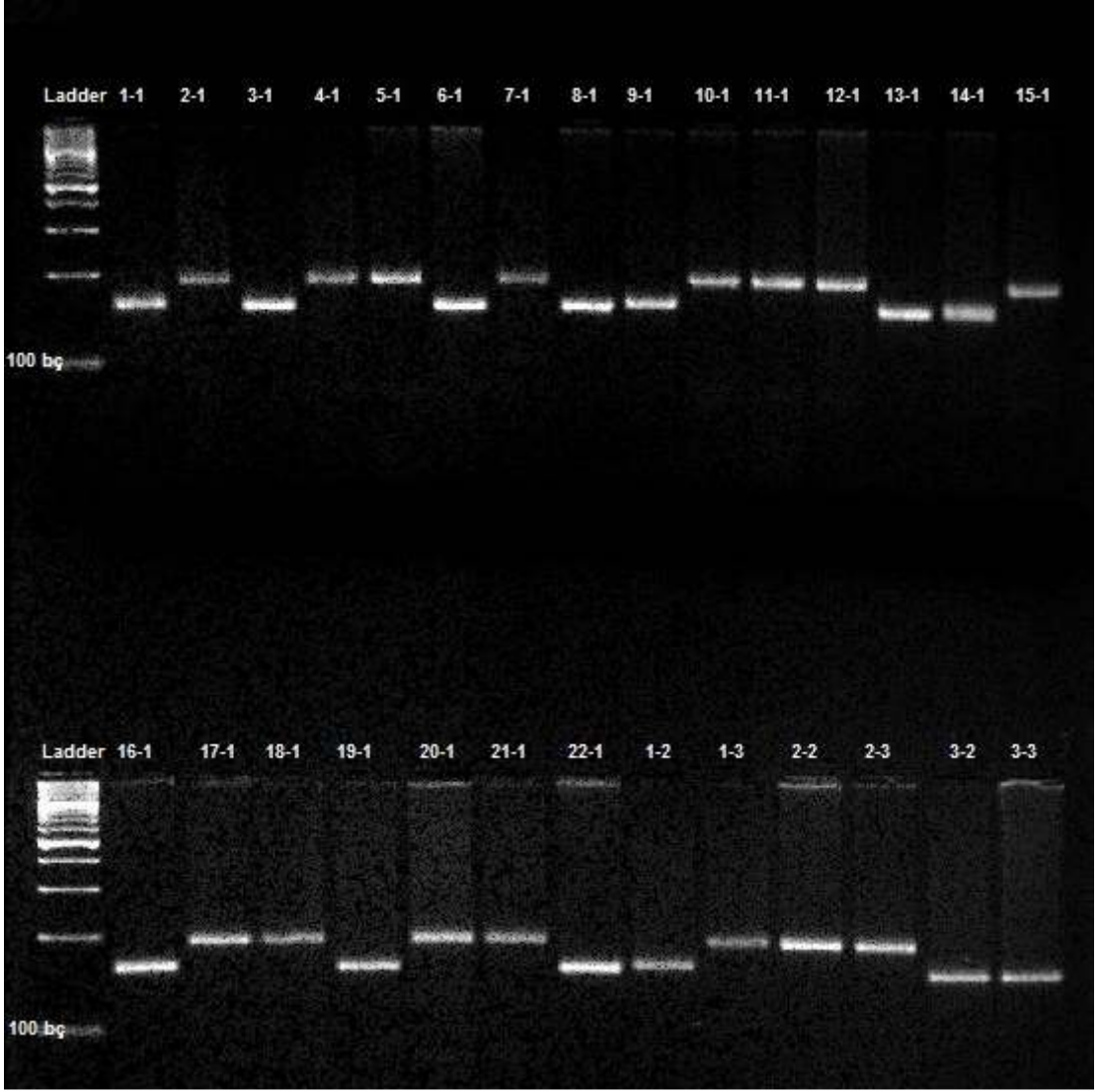


**Şekil 4.6.a.** Xwmc 312 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

İncelenen 22 adet makarnalık buğday hat ve çeşidi, Xwmc 312 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 198-236 bç arasında değişen bant boyutları ile 6 ana grupta toplanmıştır.



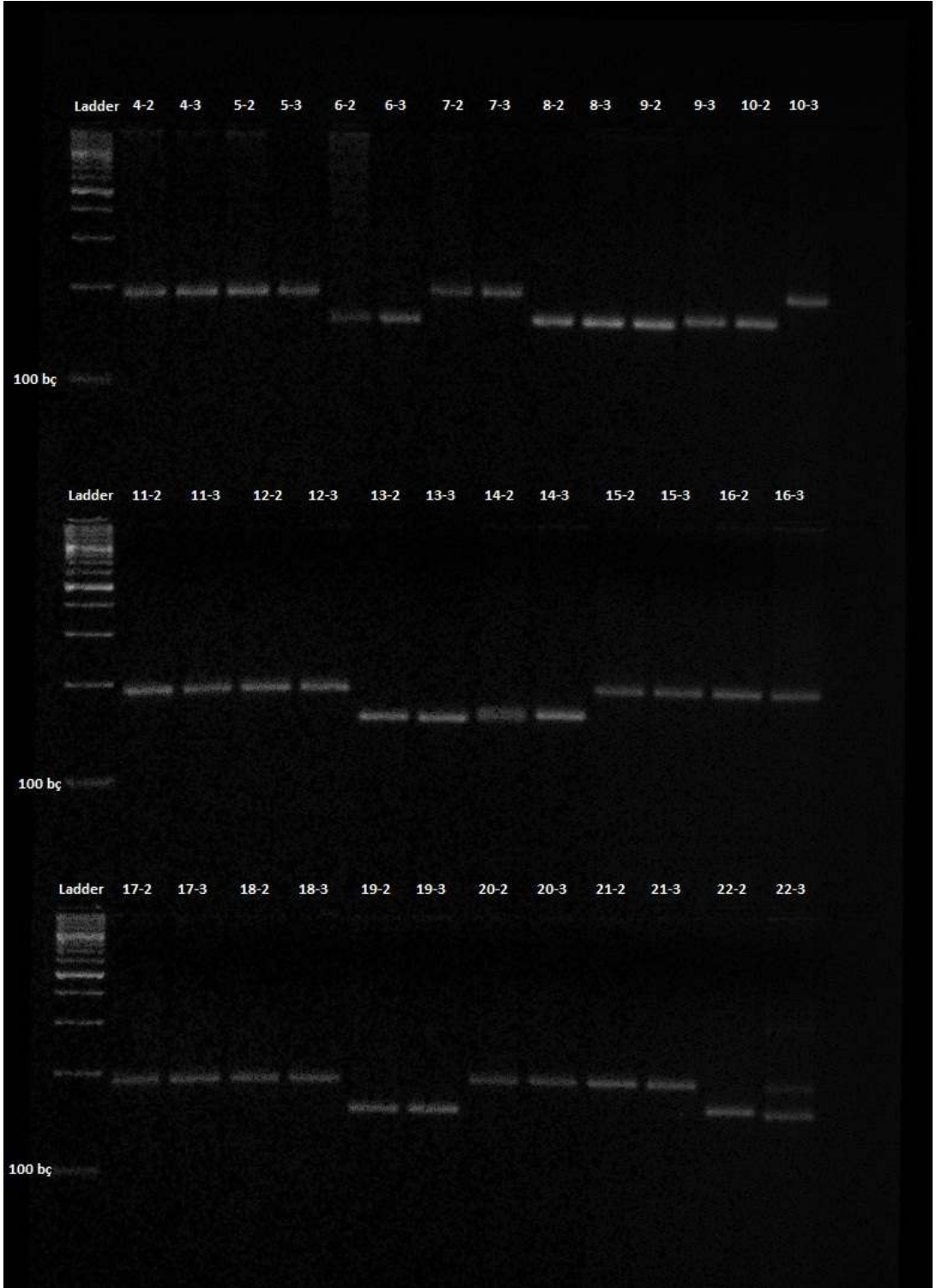
Şekil 4.6.b. Xwmc 312 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü



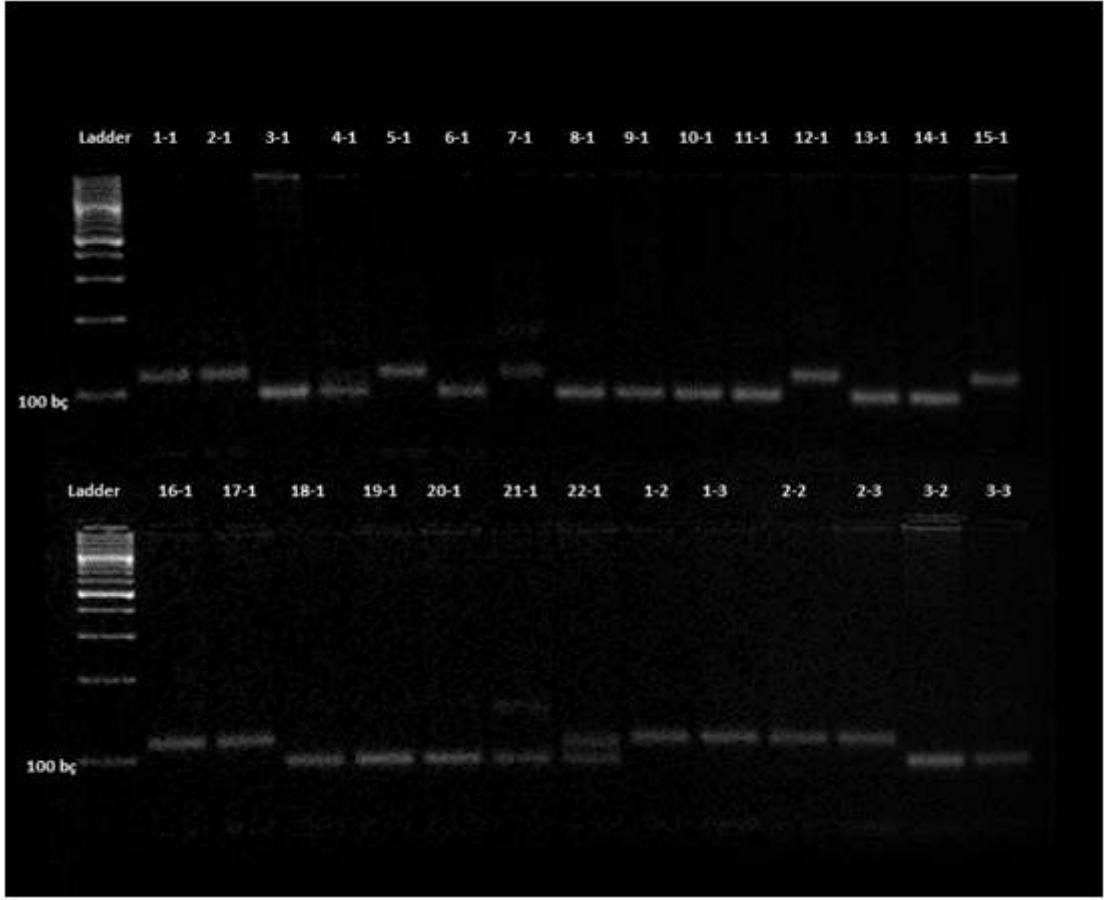
Şekil 4.7.a. Xgwm 408 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

Çalışmada incelenen makarnalık buğday hat ve çeşitleri, Xgwm 408 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 153-198 bç arasında değişen bant profilleri ile 7 ana grupta toplanmıştır.



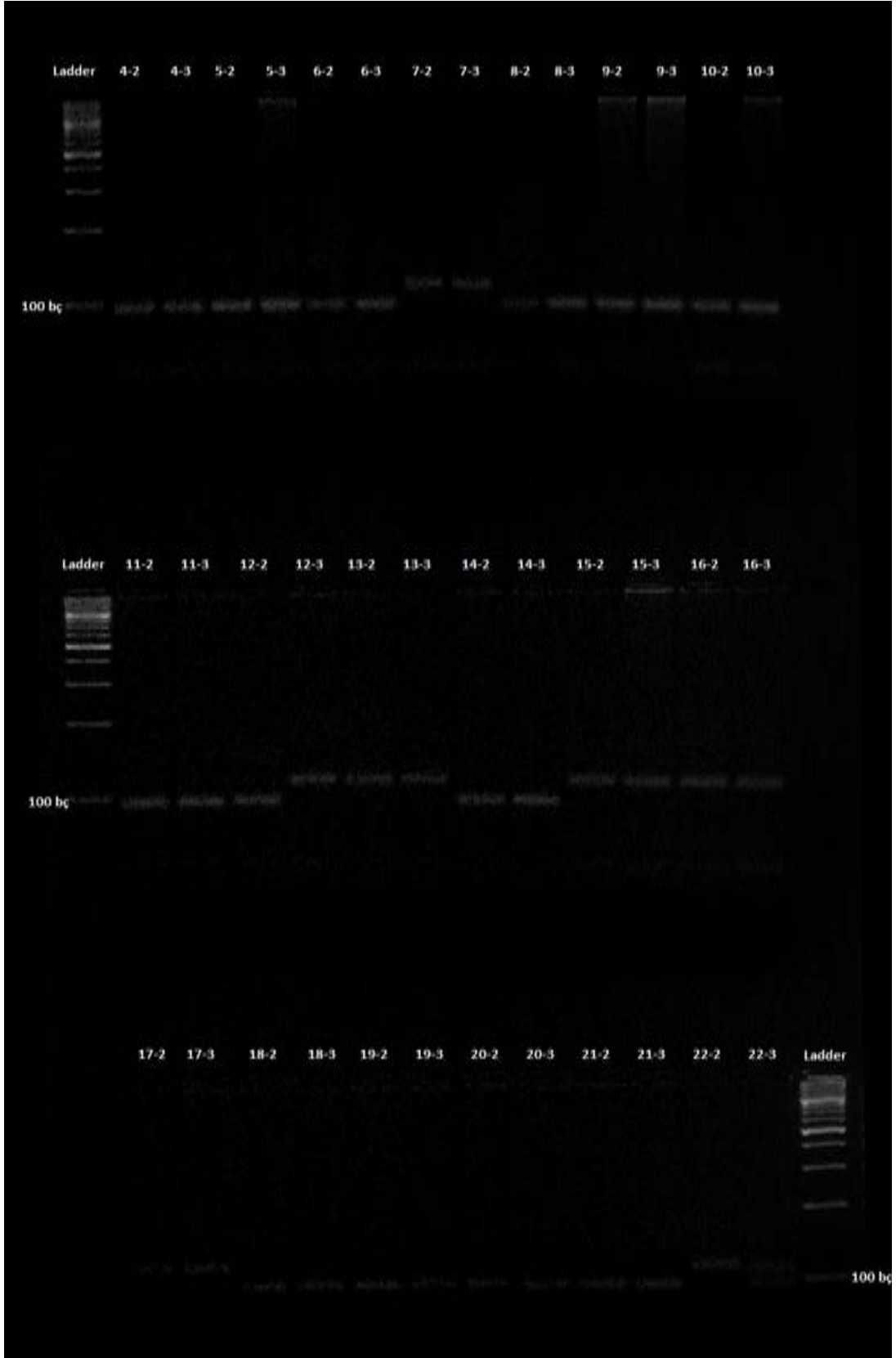


Şekil 4.7.b. Xgwm 408 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü



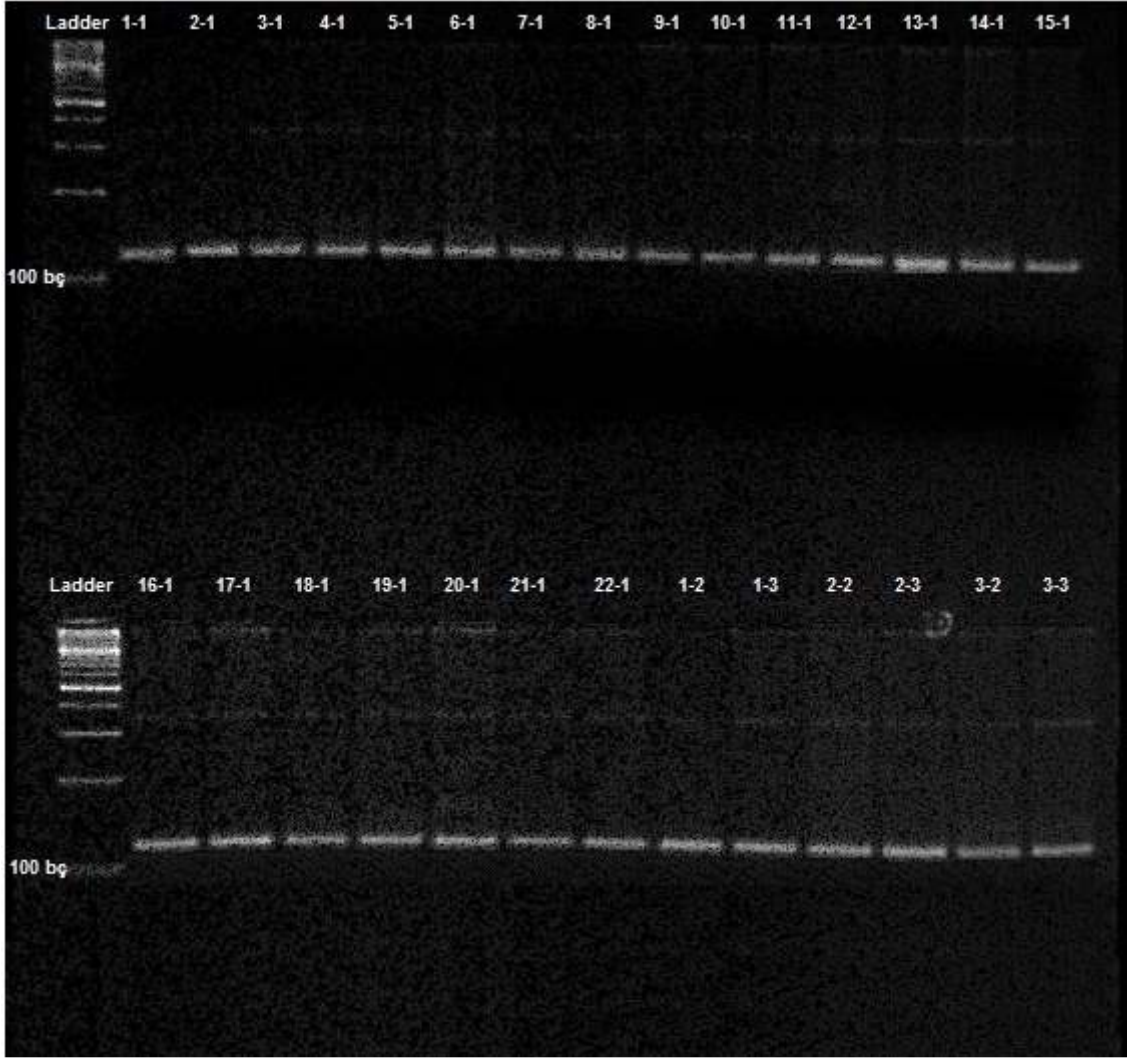
**Şekil 4.8.a.** Xgwm 251 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

Araştırmada incelenen 22 adet makarnalık buğday hat ve çeşidi, Xgwm 251 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 88-127 bp arasında değişen bant boyutları ile 8 ana grupta toplanmıştır.



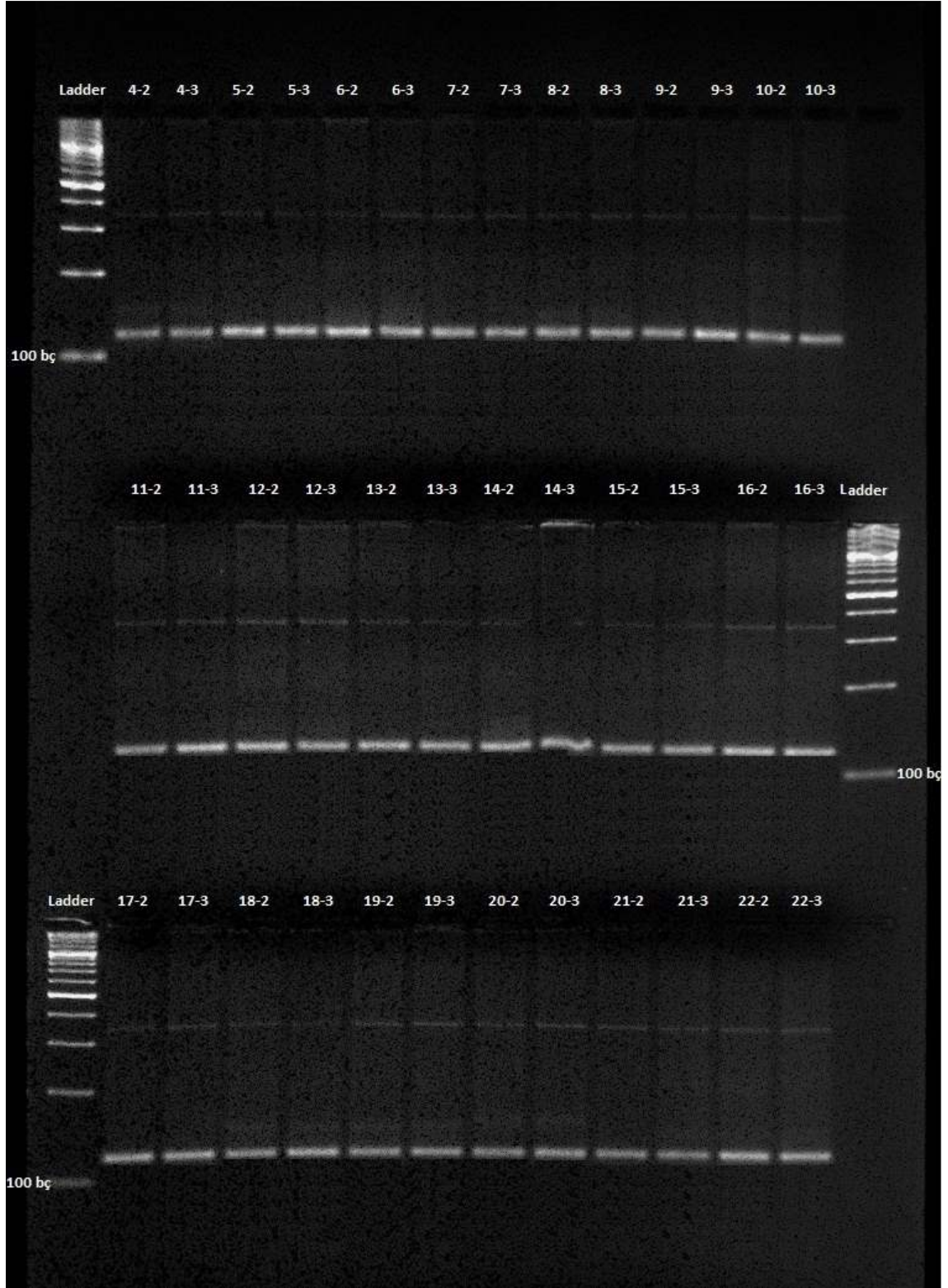
Şekil 4.8.b. Xgwm 251 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü





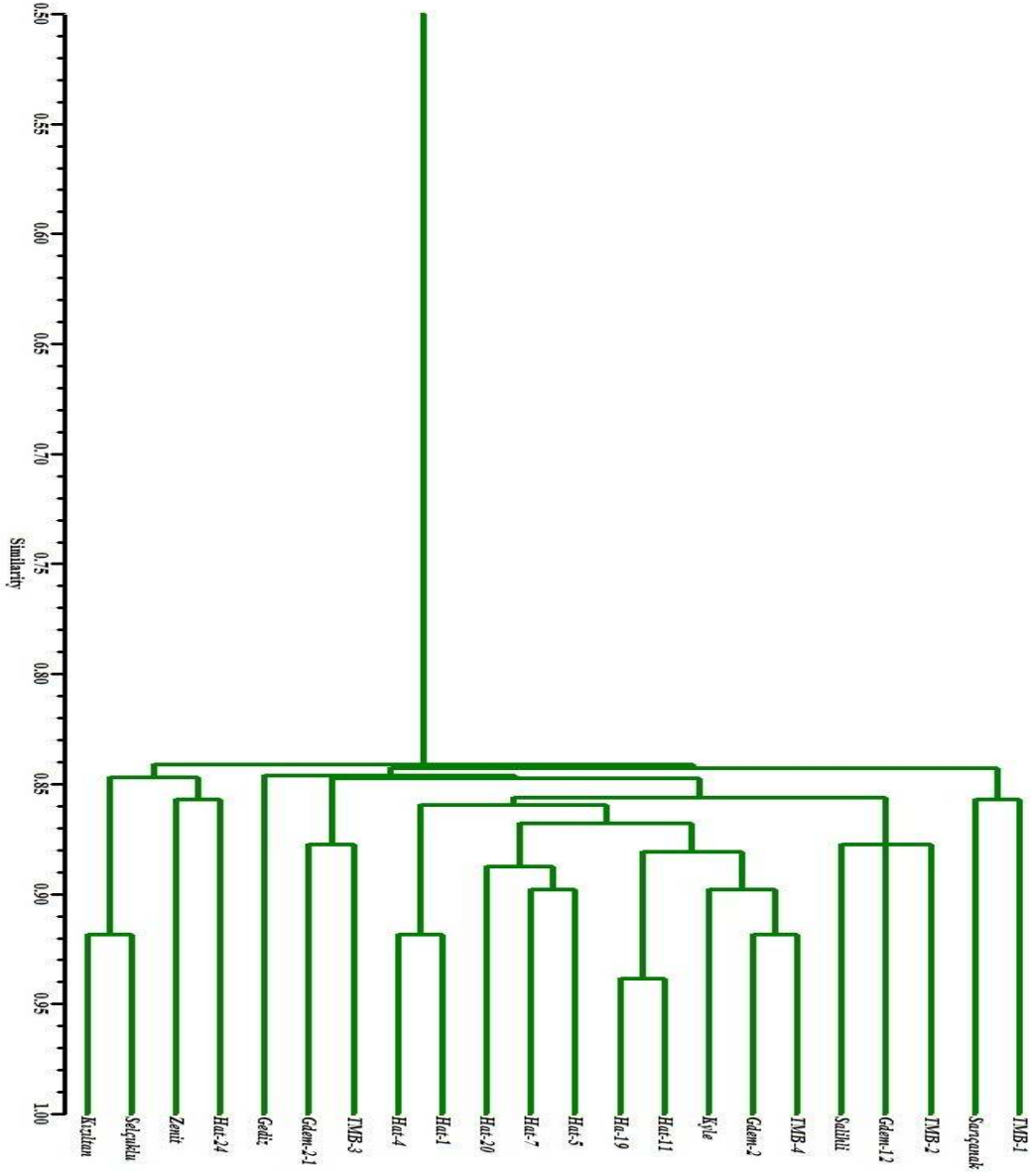
Şekil 4.9.a. Xwmc 692 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

İncelenen 22 adet makarnalık buğday hat ve çeşidi, Xwmc 692 primerinden elde edilen PZR ürünlerine göre 120-125 bç arasında değişen bant profilleri ile 2 ana grupta toplanmıştır.



Şekil 4.9.b. Xwmc 692 primeri ile % 3'lük metaphore agaroz jel görüntüsü

NTSYSpc 2.11 versiyonu, Nei-Li (1979) programı ile genetik benzerlik ve uzaklık matrisinden yararlanarak LOX enzimi ve pigmente ait moleküler verilere dayalı olarak elde edilen dendogramlar sırasıyla Şekil 4.10 ve 4.11’de verilmiştir.

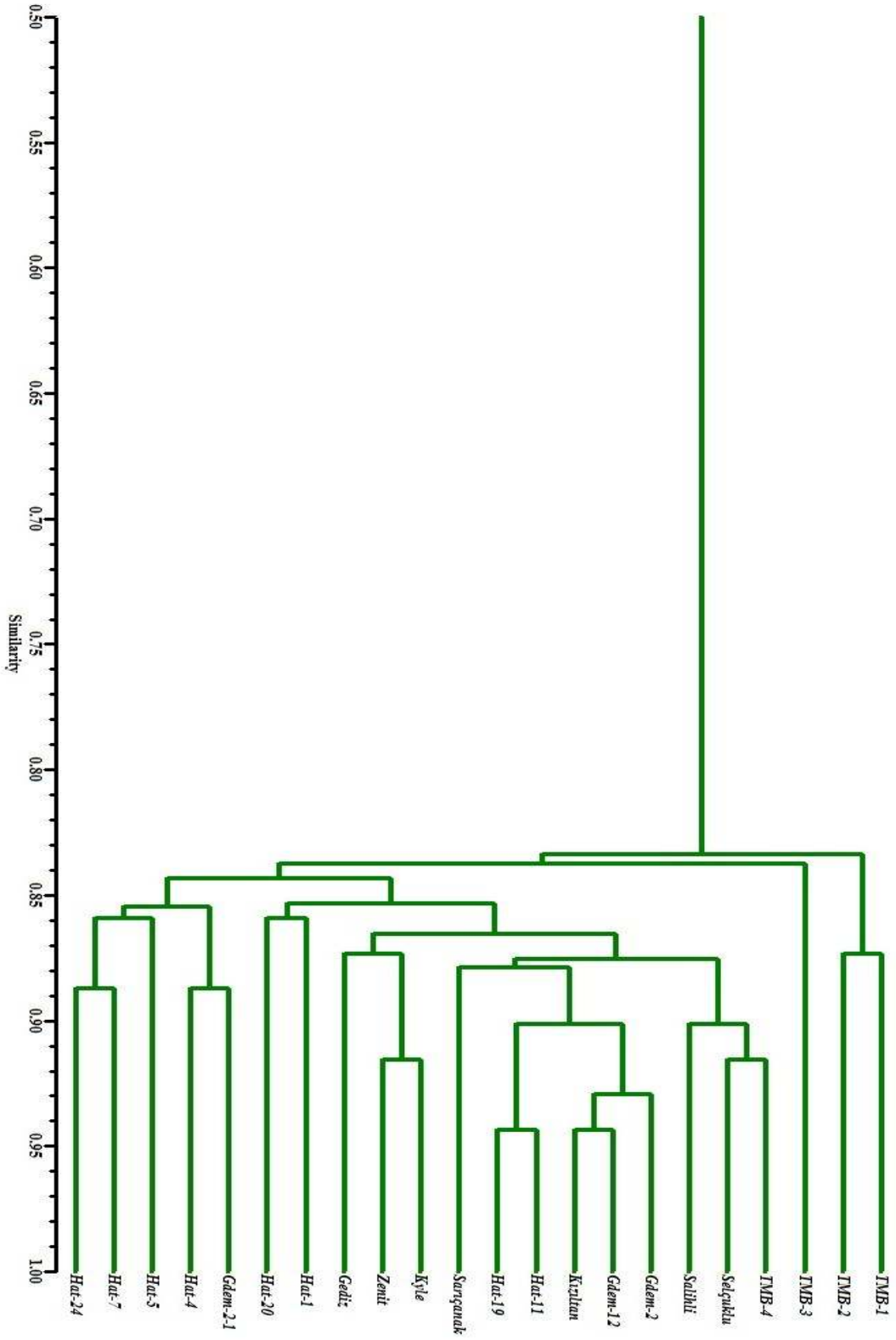


**Şekil 4.10.** Lipoksijenaz enzimi için analiz sonucunda oluşan dendogram (NTSYSpc 2.11)

Lipoksijenaz enzimi ile ilişkili primerlerden elde edilen verilere dayalı olarak geliştirilen dendograma göre (Şekil 4.10) Hat-4, 1, 20, 7, 5, 19 ve 11 makarnalık buğday hatları moleküler olarak yakın gruplara girmiştir. Benzer şekilde LOX ile ilgili moleküler verilere göre TMB 1 ile Sarıçanak-98'in; TMB 2 ile Gdem-12 ve Salihli-92'nin yakın gruplarda yer aldığı gözlenmiştir. TMB 1 ve Sarıçanak-98 (Yıldırım ve ark., 2011c) ile TMB 2 ve Salihli-92 (Ateş Sönmezoğlu, 2011) çeşit ve hatları aynı melezleme programında kullanılmıştır. Ayrıca incelenen LOX primerleri bakımından Selçuklu-97 ile Kızıltan-91 çeşitlerinin de moleküler açıdan birbirine benzer olduğu tespit edilmiştir.

Düşük LOX değerlerine sahip olduğu bilinen Gediz-75 ve Zenit çeşitleri moleküler tarama sonuçlarına ve dendogramdaki (Şekil 4.10) verilere göre de birbirlerine yakın gruplarda yer almıştır. Ayrıca birbirleri ile yakın LOX değerlerine sahip Hat-1, Hat-4, Hat-5, Hat-7 ve Hat-11'in moleküler veriler sonucunda elde edilen dendograma (Şekil 4.10) göre de LOX enzimi bakımından yakın gruplara girdiği tespit edilmiştir.

Pigment ile ilişkili primerlerden elde edilen verilere dayalı olarak geliştirilen dendograma göre (Şekil 4.11) TMB 1 ile TMB 2; TMB 4 ile Selçuklu-97 ve Salihli-92 çeşit ve hatları moleküler olarak yakın gruplara girmiştir. Moleküler verilere dayalı olarak pigment içeriği bakımından Hat-11 ile Hat-19'un, Hat-1 ile Hat-20'nin, Hat-4 ile Gdem 2-1'in birbirine benzer olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Gdem-2, Gdem-12 ve Kızıltan-91 çeşit ve hatlarının da yakın gruplarda yer aldığı gözlenmiştir. Ayrıca incelenen pigment primerleri bakımından Hat-5, Hat-7 ve Hat-24'ün de moleküler açıdan birbirine benzer olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. Pigment için analiz sonucunda oluşan dendrogram (NTSYSpc 2.11)

Elde edilen dendograma (Şekil 4.11) göre Kyle ve Zenit makarnalık buğday çeşitleri yakın gruplarda yer almıştır. Aynı çeşitlerin sırasıyla 7,68 ppm ile 7,72 ppm olan spektrofotometrik pigment ölçümleri de birbirine yakın çıkmıştır.

Pigment değerleri 5,64-6,59 ppm arasında olan TMB 1, TMB 2, TMB 3 ve TMB 4 ileri ıslah hatları (BC4F4) pigment ile ilgili primerlerle yapılan moleküler tarama sonuçlarına (Şekil 4.11) göre de moleküler olarak yakın grupta görülmüşlerdir.

#### **4.2. Lipoksijenaz Enzimine ve Pigment Miktarlarına İlişkin Spektrofotometrik Ölçüm Verileri**

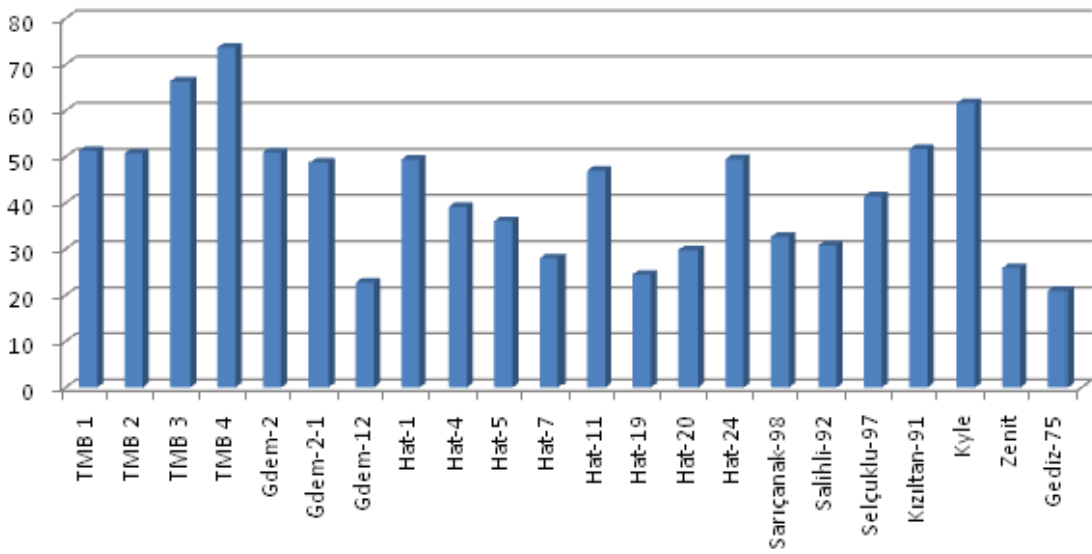
İleri ıslah hatları ve tescilli çeşitlerin lipoksijenaz enzim aktiviteleri ve pigment ölçümlerinden elde edilen spektrofotometrik ölçüm sonuçları sırasıyla Çizelge 4.1 ve 4.2’de verilmiştir. Verilere çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Aynı sütunda bulunan farklı kodlu harfler istatistikî olarak birbirinden farklı grupları göstermektedir ( $p<0,05$ ).

**Çizelge 4.1.** Lipoksijenaz enzimine ait ortalama değerler

<b>Hat ve çeşitler</b>	<b>Ortalama (EU/g)</b>	<b>İstatistiki Grup</b>
TMB 1	51,33	ı
TMB 2	50,75	ı
TMB 3	66,38	k
TMB 4	73,74	l
Gdem-2	51,02	ı
Gdem-2-1	48,80	hı
Gdem-12	22,76	ab
Hat-1	49,43	hı
Hat-4	39,17	fg
Hat-5	36,09	f
Hat-7	28,03	cd
Hat-11	46,98	h
Hat-19	24,48	b
Hat-20	29,76	de
Hat-24	49,52	hı
Sarıçanak-98	32,70	e
Salihli-92	30,83	de
Selçuklu-97	41,43	g
Kızıltan-91	51,68	ı
Kyle	61,65	j
Zenit	25,93	bc
Gediz-75	20,94	a

Makarna üretiminde sarı pigmentlerin oksidatif indirgenmelerine neden olan lipoksijenaz enzimi ölçüm değerleri incelenen buğday çeşit ve hatlarında 20,94-73,74 EU/g arasında değişkenlik göstermiştir. İstatistikî analizlere göre incelenen çeşit ve hatlar LOX aktiviteleri bakımından 12 farklı gruba girmişlerdir.

Yapılan spektrofotometrik ölçümlere göre LOX aktivitesi en düşük çıkan hat ve çeşitler sırasıyla Gediz-75 (20,94 EU/g), Gdem-12 (22,76 EU/g), Hat-19 (24,48 EU/g), Zenit (25,93 EU/g), Hat-7 (28,03) ve Hat-20 (29,76 EU/g)'dir. Bunları 30,83-39,17 EU/g arasında değişen LOX değerleri ile Salihli-92, Sarıçanak-98, Hat-5 ve Hat-4 çeşit ve hatları takip etmektedir. LOX enzim değerleri en yüksek olanlar sırasıyla TMB 4 (73,74 EU/g), TMB 3 (66,38 EU/g) ve Kyle (61,65 EU/g)'dir. Bunları sırasıyla 51,68-50,75 EU/g arasında değişen LOX değerleri ile Kızıltan-91, Gdem-2, TMB 1 ve TMB 2 hat ve çeşitleri izlemektedir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** Makarnalık buğday ıleri ıslah hatları ve çeşitlerine ait LOX değerleri

Biyokimyasal analizlere göre 20,94-25,93 EU/g arasında değişen LOX değerleri ile Gediz-75, Gdem-12, Hat-19 ve Zenit çeşit ve hatları yakın gruplarda (a,ab,b,bc) yer almıştır. Salihli-92 ve Hat-20 genotipleri ise LOX değerleri bakımından yapılan gruplandırmaya göre aynı istatistikî sınıfa (de) girmiştir. Benzer şekilde LOX enzim aktiviteleri 48,80-49,52 EU/g değerleri arasında değişen Gdem-2-1, Hat-1 ve Hat-24 genotipleri de aynı (h<sub>1</sub>) istatistikî grupta yer almıştır. TMB 2, Gdem-2, TMB 1 ve Kızıltan-91 çeşit ve hatları da 50,75-51,68 EU/g arasında değişen LOX değerleri ile "ı" grubuna girmiştir. Ayrıca en yüksek LOX değerlerine sahip olan Kyle, TMB 3 ve TMB 4 genotipleri yapılan istatistikî analizlere göre yakın gruplardadır.



Yüksel (2009) yaptığı çalışmada kullandığı çeşit ve ıslah hatlarından Gdem-12, Hat-4, Hat-5 ve Hat-7'nin düşük LOX aktivitelerine sahip olduklarını tespit etmiştir. Bu çalışmada da LOX değerleri bakımından yapılan analizler sonucunda aynı hatların LOX aktivitelerinin düşük olduğu ve sonuçların birbirleriyle benzer çıktığı saptanmıştır.

Spektrofotometrik LOX ölçümlerine göre birbirine yakın değerler gösteren Hat-7 ve Hat-20 buğday hatları moleküler pigment tarama sonuçlarına göre de birbirine yakın gruplarda görülmüştür.

Elde edilen veriler özellikle düşük enzim aktivitesi ile bilinen Gediz-75 ve Zenit çeşitleri ile Gdem-12 hattı için beklenen değerler arasındadır. Sakin ve ark. (2011b) da makarnalık buğday genotiplerinin kalite özelliklerini inceledikleri çalışmalarında Gediz-75, Zenit ve Gdem-12 hat ve çeşitlerinin düşük LOX aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Coşkun ve Ercan (2003), bazı makarnalık buğday çeşitlerinin lipoksijenaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, inceledikleri çeşitler arasında LOX enzim aktivitesi en düşük çeşidin Gediz-75 olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada incelenen çeşit ve hatlar arasında da en düşük LOX aktivitesini 20,94 EU/g değeri ile Gediz-75 çeşidi göstermiştir.

İleri ıslah hatları ve tescilli çeşitlerin ortalama pigment ölçüm değerleri ve çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanarak elde edilen istatistikî gruplar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Aynı sütunda bulunan farklı harfler istatistikî olarak birbirinden farklı grupları göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

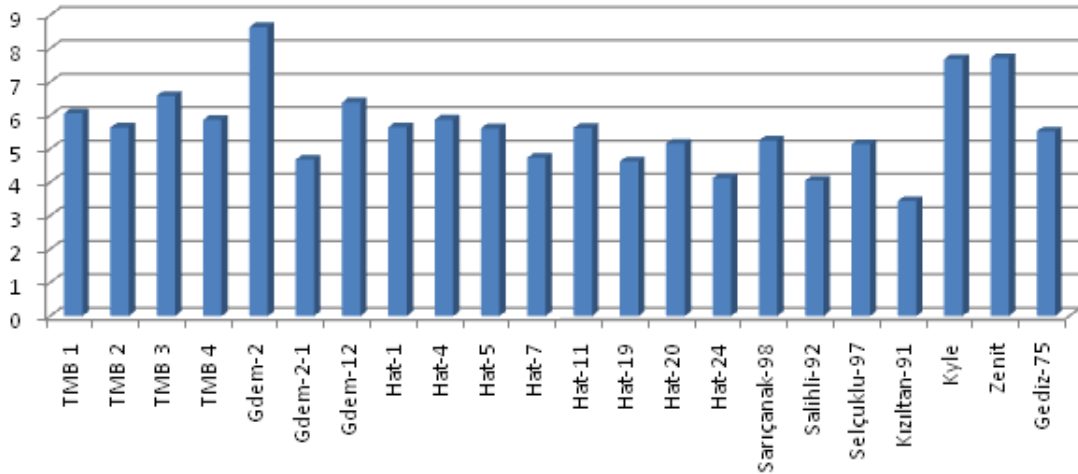
**Çizelge 4.2.** Pigmente ait ortalama değerler

<b>Hat ve Çeşitler</b>	<b>Ortalama (ppm)</b>	<b>İstatistikî Grup</b>
TMB 1	6,06	g
TMB 2	5,64	ef
TMB 3	6,59	ı
TMB 4	5,87	fg
Gdem-2	8,64	k
Gdem-2-1	4,68	c
Gdem-12	6,39	hı
Hat-1	5,65	ef
Hat-4	5,88	fg
Hat-5	5,61	ef
Hat-7	4,74	c
Hat-11	5,62	ef
Hat-19	4,63	c
Hat-20	5,16	d
Hat-24	4,12	b
Sarıçanak-98	5,24	d
Salihli-92	4,05	b
Selçuklu-97	5,14	d
Kızıltan-91	3,44	a
Kyle	7,68	j
Zenit	7,72	j
Gediz-75	5,52	e

Spektrofotometrik pigment ölçümü sonuçlarına göre, ileri ıslah hatları ve çeşitlerin pigment içerikleri 3,44-8,64 ppm değerleri arasında değişkenlik göstermiştir. Yüksel'de (2009) yaptığı çalışmada buğdayların makarna renginde etkili olan pigment içeriklerinin 3,67-8,31 ppm arasında değişim gösterdiğini saptamıştır. Makarnalık buğdayda sarı renk pigmenti içeriğinin genotipe göre değiştiği farklı araştırmacılar

tarafından da bildirilmiştir (Mathney, 2001; Coşkun ve ark., 2010; Sakin ve ark., 2011a).

Spektrofotometrik ölçümlerden elde edilen verilere göre pigment içeriği en yüksek olan makarnalık buğday genotipinin Gdem-2 (8,64 ppm) hattı olduğu tespit edilmiştir. Bu hattı sırasıyla Zenit (7,72 ppm), Kyle (7,68 ppm), TMB 3 (6,59 ppm), Gdem-12 (6,39 ppm) ile TMB 1 (6,06 ppm) çeşit ve hatları takip etmektedir. Ortalama pigment değerleri en düşük olan çeşit ve hatlar sırasıyla Kızıltan-91 (3,44 ppm), Salihli-92 (4,05 ppm), Hat-24 (4,12 ppm), Hat-19 (4,63 ppm), Gdem-2-1 (4,68 ppm), ve Hat-7 (4,74 ppm)'dir. Bunları sırasıyla 5,14-5,88 ppm arasında değişen pigment değerleri ile Selçuklu-97 (5,14 ppm), Hat-20 (5,16 ppm), Sarıçanak-98 (5,24 ppm), Gediz-75 (5,52 ppm), Hat-5 (5,61 ppm), Hat-11 (5,62 ppm), TMB 2 (5,64 ppm), Hat-1 (5,65 ppm), TMB 4 (5,87 ppm) ve Hat-4 (5,88 ppm) hat ve çeşitleri izlemektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Makarnalık buğday ıleri ıslah hatları ve çeşitlerine ait pigment değerleri

Farklı araştırmalarda da Zenit çeşidi pigment içeriği en yüksek olan genotip olarak belirlenmiş, ayrıca incelenen genotipler arasında Gdem-12 ve Gdem-2 ıslah hatlarının pigment içerikleri bakımından yüksek potansiyelli genotipler oldukları tespit edilmiştir (Yüksel, 2009; Sakin ve ark., 2011b). Benzer şekilde bu çalışmada da sırasıyla en yüksek pigment değerlerine sahip olan Gdem-2, Zenit ve Kyle hat ve çeşitlerinin pigment içerikleri bakımından üstün potansiyelli genotipler oldukları belirlenmiştir.

Yüksel (2009)'in yaptığı çalışmada yüksek pigment içeriği (7,15 ppm) ile öne çıkan Kızıltan-91 çeşidi, bu çalışmada yapılan spektrofotometrik ölçüm sonuçlarında 3,44

ppm gibi düşük bir değer vermiştir. Ortaya çıkan bu farklı veri sonuçları, makarnalık buğday kalitesinde genetik özelliklerin yanı sıra yetiştirme koşullarının da önemli olduğunu (Mariani ve ark., 1995; Bushuk, 1998; Ames ve ark.,1999; Troccoli ve ark., 2000) doğrulamaktadır.

Yapılan spektrofotometrik lumlere göre 1, 4, 5, 7, 11, 19 ve 20 nolu ıslah hatlarının pigment içerikleri 4,63-5,88 ppm değerleri arasında değişim göstermiştir. Aynı hatların kullanıldığı farklı bir araştırmada da, hatların pigment içeriklerinin sırasıyla Hat-1 için 5,86 ppm, Hat-4 için 5,37 ppm, Hat-5 için 5,10 ppm, Hat-7 için 4,68 ppm, Hat-11 için 5,27 ppm, Hat-19 için 4,52 ppm ve Hat-20 için 5,13 ppm olduğu saptanmıştır (Yüksel, 2009). Aynı hatların kullanıldığı iki farklı çalışmada elde edilen pigment verilerinin birbirine yakın çıktığı gözlenmiştir. Bu sonuca dayalı olarak pigment içeriği bakımından bazı ıslah hat ve çeşitlerinin evre şartlarından ziyade genotipten etkilendiği ve daha stabil oldukları ifade edilebilir.

İstatistikî analizlere göre incelenen çeşit ve hatlar pigment içerikleri bakımından 11 farklı gruba girmişlerdir. Biyokimyasal analizlere göre yüksek pigment içeriklerine sahip Zenit (7,72 ppm) ve Kyle (7,68 ppm) eşitleri aynı istatistikî sınıfa (j) girmiştir. Benzer şekilde pigment içerikleri 5,61-5,65 ppm değerleri arasında değişen Hat-5, Hat-11, TMB 2 ve Hat-1 genotipleri de aynı istatistikî grupta (ef) yer almıştır. Hat-19, Gdem-2-1 ve Hat-7 hatları da 4,63-4,74 ppm arasında değişen pigment değerleri ile "c" grubuna girmiştir. Selçuklu-97, Sarıçanak-98 ve Hat-20 genotipleri pigment verilerine göre aynı gruba (d) girmişlerdir. Ayrıca TMB 3 ve Gdem-12 genotipleri sırasıyla 6,59 ppm ve 6,39 ppm pigment ölüm verileri ile yakın gruplarda yer almışlardır.

Pigment lm değerlerine göre Hat-4 ve Hat-5 yakın gruplara girerken moleküler analiz sonuçlarına göre de benzer gruba girmişlerdir. Moleküler pigment analizlerinde aynı grupta yer alan Hat-1 ve Hat-20 buğday hatları, spektrofotometrik pigment ölümleri bakımından sırasıyla 5,65 ve 5,16 ppm olmak üzere birbirine yakın değerlere sahiptir. Yine benzer şekilde moleküler analizlerde aynı grupta bulunan TMB 4 ve Selçuklu-97 eşitleri yapılan pigment ölümlerinde de birbirlerine yakın sonuçlar vermiştir. Ayrıca pigment değerlerine ait moleküler verilere göre çok yakın grupta yer alan Kyle ve Zenit eşitlerinin pigment ölüm değerleri de (7,68-7,72 ppm) birbirlerine

oldukça yakın çıkmıştır. Sarı pigment içeriği yetiştirme koşullarından etkileniyor olmasına rağmen esas belirleyici faktörün genotip olduğu bilinmektedir (He ve ark., 2008).

## 5. SONUÇ

Makarna ürünleri için önemli olan kalite özelliklerinin başında gelen parlak sarı renkteki karotenoid pigmentlerinin miktarlarına bağlıdır ve bu renk, pigmentin sentezi ile LOX tarafından indirgenmesi arasındaki dengenin sonucunda oluşmaktadır (Garbus ve ark., 2009). Bu nedenle makarnalık buğday çeşit ve hatlarının pigment ve LOX içeriklerinin bilinmesi oldukça önemlidir. Karotenoid pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri buğday çeşitlerinin gerek kalitelerinin belirlenmesi gerekse çeşitler arasındaki ve içindeki farklılıkların saptanmasında kullanılmaktadır.

Bu çalışma ile 22 adet makarnalık buğday çeşidi ve ileri ıslah hattının pigment içerikleri ile LOX enzim aktiviteleri araştırılarak kaliteli makarna yapımına en uygun olan çeşit ve hatlar tespit edilmeye çalışılmıştır. Böylece incelenen genotipler arasından pigment içeriği ve LOX enzim aktiviteleri bakımından kaliteli son ürün üretimine en uygun olan çeşit ve hatlar hem spektrofotometrik ölçümlerle biyokimyasal olarak hem de DNA markörleri ile moleküler olarak tespit edilmiştir.

Makarnalık buğdayların pigment içerikleri genotip ve yetiştirilme şartlarına bağlı olarak genellikle 4-8 ppm arasında değişmektedir (Troccoli ve ark., 2000; Coşkun, 2001; Borrelli ve ark., 2003). Bu araştırmadan elde edilen verilere göre pigment içeriklerine ait istatistikî ölçümler dikkate alındığında sarı renkli makarna üretme potansiyeli en yüksek olan genotiplerin Gdem-2, Zenit, Kyle, Gdem-12, TMB 1 ve TMB 3 hat ve çeşitleri olduğu söylenebilir. Ayrıca pigment içerikleri 5,5-5,9 ppm arasında değişen TMB 4, Hat-4, Hat-1, Hat-5, Hat-11, TMB 2 ve Gediz-75 çeşit ve hatlarının da kaliteli makarnalık buğdayda istenen pigment değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Son ürünün sarı rengini olumsuz yönde etkileyebilen LOX enzimine ait istatistikî veriler dikkate alındığında kaliteli makarna yapımı için LOX enzim aktivitesi bakımından en uygun çeşit ve hatların Gediz-75, Gdem-12, Hat-19, Zenit, Hat-7 ve Hat-20 genotipleri olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada incelenen çeşit ve hatlardan pigment içeriği yüksek olan genotiplerin çoğunlukla LOX aktivitelerinin düşük olduğu saptanmıştır. Ekmeklik ve makarnalık

buğday çeşitlerinin karotenoid konsantrasyonları ile lipoksijenaz aktiviteleri bakımından genetik çeşitliliğin araştırıldığı farklı bir çalışmada da, LOX aktivitesinin karotenoid pigment miktarı ile ters orantılı olduğu belirlenmiştir (Coşkun, 2001; Leenhardt ve ark., 2006).

Çalışmada kullanılan genotiplerin pigment ve LOX enzimine ilişkin spektrofotometrik ölçüm sonuçlarının, aynı genotiplerin kullanıldığı farklı araştırmalarda da bazı çeşit ve hatlar için benzer olduğu belirlenmiştir. İncelenen özellikler bakımından bazı ıslah hat ve çeşitlerinin çevre şartlarından ziyade genotipten etkilendiği ve daha stabil oldukları ifade edilmiştir (Rharrabti ve ark., 2003; Yüksel, 2009; Sakin ve ark., 2011b). Ancak bazı genotiplerin ise farklı yetiştirme koşullarında pigment ve LOX değerleri bakımından farklı değerler verdiği gözlenmiştir. Bu veriler incelendiğinde makarnalık buğdayda lipoksijenaz aktivitesi ve pigment içeriği için, genotipin yanı sıra çevre faktörlerinin de önemli bir etken olduğu görülmektedir (Mariani ve ark., 1995; Bushuk, 1998; Ames ve ark., 1999; Troccoli ve ark., 2000).

Buğdayların pigment ve oksidatif enzim içerikleri genotip ve çevreden etkilendiğinden (Kruger ve Reed, 1988; Troccoli ve ark., 2000; Aalami ve ark., 2007), parlak sarı renkli makarna üretimi için söz konusu özellikler bakımından üstün ve aynı zamanda farklı yetiştirme koşullarında stabil çeşitlerin seçilmesi veya ıslah edilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda öncelikle mevcut makarnalık buğday çeşit ve hatları pigment ve oksidatif enzim içerikleri bakımından incelenerek, moleküler ve biyokimyasal karakterizasyonlarının yapılması ve incelenen kalite özellikleri bakımından üstün genotiplerin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışma ile bazı makarnalık buğday genotiplerinin kalite üzerinde etkili olan pigment içerikleri ve LOX aktiviteleri bakımından biyokimyasal ve moleküler analizleri yapılmıştır. Pigment içerikleri ve LOX aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde Gediz-75, Gdem-12 ve Zenit makarnalık buğday çeşidi ve hatlarının sarı renkli makarna üretme potansiyellerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Pigment içerikleri ve LOX aktivitelerinin birlikte değerlendirildiği farklı araştırmalarda da Gdem-12 ıslah hattının sarı renkli makarna elde etme potansiyelinin yüksek olduğu ifade edilmiştir (Yüksel, 2009; Sakin ve ark., 2011b). Aalami ve ark. (2007) da makarnalık buğday

eşitlerinin protein ve pigment içerikleri ile oksidatif enzim aktivitelerini ve aralarındaki ilişkileri göz önünde bulundurarak makarna yapımına en uygun eşitleri tespit etmişlerdir.



## KAYNAKLAR

- Aalami, M., Leelavathi, K. ve Rao, U.J.S.P., 2007. Spaghetti Making Potential of Indian Durum Wheat Varieties in Relation to Their Protein, Yellow Pigment and Enzyme Contents. *Food Chemistry*, 100, 1243-1248.
- Ames, N.P., Clarke, J.M., Marchylo, B.A., Dexter, J.E., ve Woods, S.M., 1999. Effect of Environment and Genotype on Durum Wheat Gluten Strength and Pasta Viscoelasticity. *Cereal Chemistry*, 76, 582-586.
- Anonim, 1994. ISO Method 11052. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- Anonim, 1995. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists; AACC: St. Paul, MN, AACC 14-10, 14-15, 14-50.
- Anonim, 2000. AACC Approved Methods (10<sup>th</sup> ed.). American Association of Cereal Chemists International. St. Paul, MN.
- Anonim, 2004. Türkiye Makarna Sektör Raporu, Türkiye Makarna Sanayicileri Derneği, Ankara.
- Anonim, 2006. Agricultural Statistics (FAO). <http://faostat.fao.org> (Erişim Tarihi: 23.07.2011).
- Anonim, 2007. Hububat Raporu - 2007. *Toprak Mahsulleri Ofisi*, Ankara.
- Anonim, 2008. <http://faostat.fao.org> (Erişim Tarihi: 18.08.2011)
- Anonim, 2009. International Grains Council (Nisan 2009 tahmini).
- Anonim, 2010. Orta Anadolu İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, *Makarna Sektör Raporu*, UN. A.F. P. A
- Anonim, 2011. Dünya'da Hububat Sektörünün Genel Görünümü. <http://www.tmo.gov.tr> (Erişim Tarihi: 20.10.2011)
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., 2006. Bazı Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Makarna Kalitesi Bakımından İslahı. *Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Mühendisliği Tarla Bitkileri Anabilim Dalı*, Tokat.
- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Güleç, T., Kandemir, N., Sayaslan, A. ve Koyuncu, M., 2010. Molecular Breeding of Selçuklu-97 Durum Wheat Cultivar for Some Genes Affecting Pasta Quality. *Journal of Applied Biological Sciences*, 4(3), 1-6.

- Ateş Sönmezoğlu, Ö., Yıldırım, A., Sayaslan, A., Güleç, T., Koyuncu, M. ve Kandemir, N., 2011. Makarnalık Buğdayda Moleküler Markör Destekli Kalite Islahı. Türkiye IX. Tarla Bitkileri Kongresi. 12-15 Eylül 2011, Bursa.
- Atlı, A., Koçak, N. ve Aktan, B., 1993. Ülkemiz Çevre Koşullarının Makarnalık Buğday Yetiştirmeye Uygunluk Yönünden Değerlendirilmesi. *Makarnalık Buğday ve Mamülleri Sempozyumu*, Ankara.
- Barone, R., Briante, R., D'Auria, S., Febbraio, F., Vaccaro, C., DelGiudice, L., Borrelli, G.M., DiFonzo, N. ve Nucci, R., 1999. Purification and Characterization of Lipoxigenase Enzyme from Durum Wheat Semolina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1924-1931.
- Beleggia, R., Platani, C., Nigro, F. ve Cattivelli, L., 2010. A Micro Method for The Determination of Yellow Pigment Content in Durum Wheat, *Journal of Cereal Science*, 52, 106-110.
- Blanco, A., Bellomo, M.P., Cenci, A., DeGiovanni, C., Dovidio, R., Iacono, E., Laddomada, B., Pagnotta, M.A., Porceddu, E., Sciancalepore, A., Simeone, R. ve Tanzarella, O.A., 1998. A Genetic Linkage Map of Durum Wheat. *Theor Appl Genet*, 97, 721-728.
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., DiFonzo, N. ve Fares, C., 1999. Durum Wheat Lipoxigenase Activity and Other Parameters That Affect Pasta Color. *Cereal Chemistry*, 76, 335-340.
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., Fares, C., Trono, D., De Leonardis, A.M., Padalino, L., Pastore, D., Del Giudice, L. ve Di Fonzo, N. 2000. Lipoxigenase in Durum Wheat: What is The Role in Pasta Colour? *CHIEM- Options Mediterraneennes*, 497-499.
- Borrelli, G.M., DeLeonardis, A.M., Fares, C., Platani, C. ve DiFonzo, N., 2003. Effects of Modified Processing Conditions on Oxidative Properties of Semolina Dough and Pasta. *Cereal Chemistry*, 80, 225-231.
- Boyacıoğlu, M.H. ve Tülbek, M.Ç., 2002. Makarnalık Buğday Kalitesine Bir Bakış. *Hububat 2002 - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, 03-04 Ekim 2002, Gaziantep.
- Budak, H., Pedraza, F. ve Cregan, P.B., 2003. Development and Utilization of SSRs to Estimate The Degree of Genetic Relationships in a Collection of Pearl Millet Germplasm. *Crop Science*, 43, 2284-2290.
- Burkhardt, S. ve Böhm, V., 2007. Development of a New Method for the Complete Extraction of Carotenoids from Cereals With Special Reference to Durum Wheat (*Triticum durum*) Def. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (21), 8295-8301.
- Bushuk, W., 1998. Wheat Breeding for End-Product Use. *Euphytica*, 100, 137-145.
- Carrera, A., Echenique, V., Zhang, W., Helguera, M., Manthey, F., Schragar, A., Picca, A., Cervigni, G. ve Dubcovsky, J., 2007. A Deletion At The Lpx-B1 Locus is Associated

with Low Lipoxygenase Activity and Improved Pasta Color in Durum Wheat. *Journal of Cereal Science*, 45, 67-77.

- Clarke, J.M., Marchylo, B.A., Kovacs, M.I.P., Noll, J.S., McCaig, T.N. ve Howes, N.K., 1998. Breeding Durum Wheat for Pasta Quality in Canada, Wheat: Prospects for Global Improvement. Eds: Braun, H.J. *Kluwer Academic Publishers*, Pp: 229-236, New York.
- Cole, M.E., 1991. Prediction and Measurement of Pasta Quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 26, 133-151.
- Coşkun, E., 2001. Makarnalık Buğdaylarda Lipoksijenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Ankara.
- Coşkun, E. ve Ercan, R., 2003. Makarnalık Buğdaylarda Lipoksijenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi. *Gıda*, 28 (3), 221-226.
- Coşkun, Y., İlhan, A., Köten, M. ve Coşkun, A., 2010. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Farklı Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Kalite Yönünden Değerlendirilmesinde Renk Değerlerinin Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. *HR.Ü.Z.F. Dergisi*, 14 (3), 25-29.
- D'Egidio, M.G. ve Nardi, S., 1996. Textural Measurement of Cooked Spaghetti. Pasta and Noodle Technology: Ed: James E. Kruger, Robert B. Matsuo ve Joel W. Dick. AACC. St. Paul Minnesota, USA: AACC Inc, 133-157.
- De Simone, V., Menzo, V., De Leonardis, A.M., Ficco, D.B.M., Trono, D., Cattivelli, L. ve De Vita, P., 2010. Different Mechanism Control Lipoxygenase Activity in Durum Wheat Kernels. *Journal of Cereal Science*, 52, 121-128.
- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L., 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Durak, F., 1999. Makarnalık Buğdaylarda Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerin Makarna Kalitesine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Manisa.
- Elgün, A. ve Ertugay, Z., 1995. Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum.
- Elouai, I., Nachit, M.M. ve Martin, L.M., 2001. Identification of a Microsatellite on Chromosome 7B Showing a Strong Linkage with Yellow Pigment in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Hereditas*, 135, 255-261.
- Elouai, I. ve Nachit, M.M., 2004. A Genetic Linkage Map of the Durum x *Triticum dicoccoides* Backcross Population Based on SSRs and AFLP Markers, and QTL Analysis for Milling Traits. *Theor Appl Genet*, 108, 401-413.

- Fares, C., Novembre, G., DiFonzo, N., Galterio, G., ve Pogna, N.E., 1997. Relationship Between Storage Protein Composition and Gluten Quality in Breeding Lines of Durum Wheat (*Triticum turgidum* spp. *durum*). *Agriculture Mediterranea*, 127, 137-144.
- Feillet, P., Autran, J.C. ve Icard-Verniere, C., 2000. Bases Biochimiques du Brunissement Des Pates Alimentaires. In Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region; New Challenges, Pp: 431-438.
- Feng, Y. ve McDonald, C.E., 1989. Comparison of Flavonoids in Bran of Four Classes of Wheat. *Cereal Chemistry*, 66, 516-518.
- Fortmann, K.L. ve Joiner, R.R., 1978. Wheat Pigments and Flour Color. Wheat Chemistry and Technology (2<sup>nd</sup> ed.), Ed: Pomeranz, Y. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN., 493-523.
- Fraignier, M.P., Michaux-Ferriere, N. ve Kobrehel, K., 2000. Distribution of peroxidases in durum wheat (*Triticum durum*). *Cereal Chemistry*, 77, 11-17.
- Fратиanni, A., Irano, M., Panfili, G. ve Acquistucci, R. 2005. Estimation of Color of Durum Wheat. Comparison of WSB, HPLC, and Reflectance Colorimeter Measurements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2373-2378.
- Garbus, I., Carrera, A.D., Dubcovsky, J. ve Echenique, V., 2009. Physical Mapping of Durum Wheat Lipoxigenase Genes. *Journal of Cereal Science*, 50, 67-73.
- Geng, H., Zhang, Y., He, Z., Zhang, L., Appels, R., Qu, Y. ve Xia, X., 2010. Molecular Markers for Tracking Variation in Lipoxigenase Activity in Wheat Breeding. *Molecular Breeding*, 28, 117-126.
- Gökmen, S. ve Ateş, Ö., 2005. AB Sürecinde Türkiye’de Tahıl Üretimi ve Politikaları. *Demokrasi Platformu Dergisi*, 3, 175-197.
- Gökmen, V., Serpen, A., Atli, A. ve Köksel, H., 2007. A Practical Spectrophotometric Approach for the Determination of Lipoxigenase Activity of Durum Wheat. *Cereal Chemistry*, 84 (3), 290-293.
- Gupta, P.K. ve Varshney, R.K., 2000. The Development and Use of Microsatellite Markers for Genetic Analysis and Plant Breeding wiht Special Emphasis on Bread Wheat. *Euphytica*, 113,163-185.
- Güler, S., Köksel, H. ve Ng., P.K.W., 2002. Effects of Industrial Pasta Drying Temperatures on Starch Properties and Pasta Quality. *Food Research International*, 35, 421-427.
- Gündüz, R., 2008. Mikrosatellit Belirleyicileri Kullanılarak Tokak Yerel Arpa Çeşitindeki Genetik Varyasyon Düzeyinin Belirlenmesi ve Safhatların Seçimi. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.*

- He, X.Y., Zhang, Z.H., He, Z.H., Wu, Y.P., Xiao, Y.G., Ma, C.X. ve Xia X.C., 2008. Characterization of Phytoene Synthase 1 Gene (*Psy1*) Located on Common Wheat Chromosome 7A and Development of a Functional Marker. *Theoretical and Applied Genetics*, 116, 213-221.
- Hessler, T.G., Thomson, M.J., Benschel, D., Nachit, M.M. ve Sorrells, M.E., 2002. Association of a Lipoxygenase Locus, Lpx-B1, with Variation in Lipoxygenase Activity in Durum Wheat Seeds. *Crop Science*, 42, 1695-1700.
- Hoseney, R.C., 1994. Principles of Cereal Science and Technology (2<sup>nd</sup> ed.). *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN.
- Hsieh, C.C. ve McDonald, C.E., 1984. Isolation of Lipoxygenase Isoenzymes from Flour of Durum Wheat Endosperm. *Cereal Chemistry*, 61(5),392-398.
- Iori, R., Cavalieri, B. ve Palmieri, S., 1995. Cathodic Peroxidases of Durum Wheat Flour. *Cereal Chemistry*, 72, 176-181.
- Kato, T., Shirano, Y., Iwamoto, H. ve Shibata, D., 1993. *Plant Cell Physiol.*, 34, 1063-1072.
- Kobrehel, K., Laignelet, B. ve Feillet, P., 1974. Study of Some Factors of Macaroni Brownness. *Cereal Chemistry*, 51, 675-684.
- Korzun, V., Röder, M.S., Wendehake, K., Pasqualone, A., Lotti, C., Ganal, M.W. ve Blanco A., 1999. Integration of Dinucleotide Microsatellites From Hexaploid Bread Wheat into a Genetic Linkage Map of Durum Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 1202-1207.
- Koyuncu, M., 2009. Yerel Durum Buğday Çeşitlerinin Makarnalık Kalitelerini Etkileyen Önemli Parametreler Bakımından Taranması. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tokat*.
- Köksel, H., Sivri, D., Özboy Ö., Başman, A. ve Karacan, H., 2000. *Hububat Laboratuvarı El Kitabı*, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Ankara.
- Kruger, J.E. ve Reed, G., 1988. Enzymes and Color. Wheat: Chemistry and Technology (3rd ed., Vol. I), Ed: Pomeranz, Y., *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN., Pp: 441-500.
- Laignelet, B., 1983. Lipids in Pasta and Pasta Processing. Lipids in Cereal Technology, Ed: Barnes, Y., *Academic Press*, Pp: 269-286, London.
- Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Boussard, A., Potus, J., Chanliaud, E. ve Remesy, C., 2006. Genetic Variability of Carotenoid Concentration, and Lipoxygenase and Peroxidase Activities among Cultivated Wheat Species and Bread Wheat Varieties. *European Journal of Agronomy*, 25, 170-176.

- Lowe, A.J., Hinotte, O. ve Guarino, L., 1996. Standardization of Molecular Genetic Techniques for The Characterization of Germplasm Collections: The Cause of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107, 50-54.
- Maccaferri, M., Sanguineti, M.C., Demontis, A., El-Ahmed, A., Garcia del Moral, L., Maalouf, F., Nachit, M., Nserallah, N., Ouabbou, H., Rhouma, S., Royo, C., Villegas, D. ve Tuberosa, R., 2008. Association Mapping in Durum Wheat Grown Across a Broad Range of Water Regimes. *Journal of Experimental Botany*, 62, 409-438.
- Mariani, B.M., D'Egidio, M.G., ve Novaro, P., 1995. Durum wheat quality evaluation: Influence of genotype and environment. *Cereal Chemistry*, 72, 194-197.
- Mathney, F., 2001. Durum Wheat Color. [www.ag.ndsu.nodak.edu/plantsci/breeding/durum](http://www.ag.ndsu.nodak.edu/plantsci/breeding/durum)
- Morris, S.R., 2004. Grain: Quality Attributes. *Encyclopedia of Grain Science*, Elsevier Ltd., Pp: 238-254, Amsterdam.
- Nachit, M.M., Elouafi, I. ve Pagnotta, M.A., 2001. Molecular Linkage Map for an Intraspecific Recombinant Inbred Population of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. Var. durum). *Theoretical and Applied Genetics*, 102,177-186.
- Nei, M. ve Li, W., 1979. Mathematical Modal for Study The Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5267-5273.
- Nicolas, J., Autran, M. ve Drapron, R., 1982. Purification and Some Properties of Wheat Germ Lipoxygenase. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 33, 365-369.
- Özcan,S., Gürel, E. ve Babaoğlu, M., 2001. *Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, P: 334-361.
- Özkaya, H. ve Özkaya, B., 1993. Makarna Kalitesinde Buğday Bileşiminin Önemi. *Makarnalık Buğday ve Mamulleri Sempozyumu*, 30 Kasım - 03 Aralık 1993, Ankara.
- Parmaksız, İ., 2004. Papaver Cinsi *Oxytona* Seksiyonunun Türkiye’de Yetişen Türlerinde Genetik Çeşitliliğin RAPD Markörleri ile Analizi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı*, Ankara.
- Patil, R.M., Oak, M.D., Tamhankar, S.A., Sourdille, P. ve Rao, V.S., 2008. Mapping and Validation of a Major QTL for Yellow Pigment Content on 7AL in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum). *Molecular Breeding*, 21, 485-496.
- Pekin, F. ve Çakmaklı, Ü., 1987. Bazı Türk Islah Çeşidi Buğdayların Kimi Teknolojik ve Renk Özellikleri Üzerinde Araştırma. *Türkiye Tahıl Sempozyumu*, 06-09 Ekim 1987, Bursa.
- Peleg, Z., Saranga, Y., Suprunova, T., Ronin, Y., Röder, M.S., Kilian, A., Korol A.B. ve Fahima, T., 2008. High-density Genetic Map of Durum Wheat and Wild Emmer Wheat Based on SSR and DArT Markers. *Theor Appl Genet*, 117,105–115.

- Permyakova, M.D., Trufanov, V.A., Pshenichnikova, T.A. ve Ermakova, M.F., 2010. Role of Lipoxygenase in the Determination of Wheat Grain Quality. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(1), 87-92.
- Pozniak, C.J., Knox, R.E., Clarke, F.R. ve Clarke, J.M., 2007. Identification of QTL and Association of a *Phytoene synthase* Gene with Endosperm Colour in Durum Wheat. *Theor Appl Genet.*, 114, 525-537.
- Rafalski, A., Morgante, M., Powell, W., Vogel, J.M. ve Tingey, S.V. 1996. Generating and Using DNA Markers in Plants. In: Birren B., Lai E. (Eds): Analysis of Non-Mammalian Genomes- A Practical Guide. *Academic Pres.* New York.
- Rani, K.U., Prasada-Rao, U.J.S., Leelavathi, K., ve Haridas-Rao, P., 2001. Distribution of Enzymes in Wheat Flour Mill Streams. *Journal of Cereal Science*, 34, 233-242.
- Reimer, S., Pozniak, C. J., Clarke, F. R., Clarke, J.M., Somers, D. J., Knox, R. E., Singh, A. K.. 2008. Association Mapping of Yellow Pigment in an Elite Collection of Durum Wheat Cultivars and Breeding Lines. *Genome*, 51(12), 1016-1025.
- Rharrabti, Y., Royo, C., Villegas, D., Aparicio, N. ve Garcia' del Moral, L. F., 2003. Durum Wheat Quality in Mediterranean Environments I. Quality Expression Under Different Zones, Latitudes and Water Regimes Across Spain. *Field Crops Res.* 80, 123-131.
- Röder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier M., Leroy, P. ve Ganal, M.W., 1998. A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics*, 149(4), 2007-2023.
- Sakin, M.A., Yıldırım, A. ve Gökmen, S., 2004. Tokat Kazova Koşullarında Bazı Makarnalık Buğday Genotiplerinin Verimi, Verim Unsurları ile Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 10, 481-489.
- Sakin, M.A., Yıldırım, A. ve Gökmen, S., 2005. Determining Some Yield and Quality Characteristics of Mutants Induced from a Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivar. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29, 61-67.
- Sakin, M.A., Sayaslan, A., Düzdemir, O. ve Yüksel, F., 2011a. Quality characteristics of registered cultivars and advanced lines of durum wheats grown in different ecological regions of Turkey. *Canadian Journal of Plant Science*, 91, 261-271.
- Sakin, M.A., Düzdemir, O., Sayaslan, A. ve Yüksel, F., 2011b. Stability properties of certain durum wheat genotypes for major quality characteristics. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35, 343-355.
- Sayaslan, A., Koyuncu, M., Yıldırım, A., Eserkaya Güleç, T., Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Kandemir, N., 2011. Quality characteristics of selected Turkish durum wheat (*Triticum durum*) landraces. *Turkish Journal of Field Crops* (in press).

- Shiiba, K., Negishik, Y., Okaka, K. ve Nagao, S., 1991. Purification and Characterization of Lipoxygenase Isozymes from Wheat Germ. *Cereal Chemistry*, 68, 115-122.
- Siedow, J.N., 1991. Plant Lipoxygenase: Structure and Function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42, 145-188.
- Singh, A., Reimer, S., Pozniak, C.J, Clarke F.R., Clarke J.M, Knox, R.E. ve Singh A.K., 2009. Allelic Variation at *Psy1-A1* and Association with Yellow Pigment in Durum Wheat Grain, *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 1539-1548.
- Sissons, M., 2004. Pasta. *Encyclopedia of Grain Science*, Eds: Wrigley, Elsevier Ltd., Pp:410-418, Amsterdam.
- Somers, D.J., Isaac, P. ve Edwards, K., 2004. A High-Density Wheat Microsatellite Consensus Map for Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1105-1114.
- Şahin, M., Akçura, M., Akçacık, A.G. ve Doğan,S., 2006. Makarnalık Buğday Islahında Renk Spektrofotometresi ile Ölçülen Parametrelerin Değerlendirilmesi. *Bitkisel Araştırma Dergisi*, 2, 17-21.
- Taha, S.A. ve Sagi, F., 1987. Relationship Between Chemical Composition of Durum Wheat Semolina and Macaroni Quality. II. Ash, Carotenoid Pigments and Oxidative Enzymes. *Cereal Research Communications*, 15, 123-129.
- Trocchi, A., Borrelli, G.M., De Vita, P., Fares, C. ve Di Fonzo, N., 2000. Durum Wheat Quality: A Multidisciplinary Concept. *Journal of Cereal Science*, 32, 99-113.
- Tuncer, T. ve Ercan, R., 1999. Makarnalık Buğdaylarda Lipoksigenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi. TÜBİTAK-TOGTAG-1711 *Nolu Proje Sonuç Raporu, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu*, Ankara.
- Yeyinli, N., 2006. Makarna Kalitesinin Belirlenmesinde Tekstürel Yöntemlerin Kullanılabilirliği. *Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Manisa.
- Yıldırım, A., Ateş Sönmezoğlu, Ö., Gökmen, S., Kandemir, N. ve Aydın, N., 2011a. Determination of Genetic Diversity among Turkish Durum Wheat Landraces by Microsatellites. *African Journal of Biotechnology*. 10(19), 3915-3920.
- Yıldırım, A., Eserkaya Güleç, T., Sayaslan, A., Koyuncu, M., Ateş Sönmezoğlu, Ö. ve Kandemir, N., 2011b. Molecular and Biochemical Analysis of Local Turkish Durum Wheat Cultivars for  $\gamma$ -Gliadine and LMW Glutenin Genes Affecting Pasta Quality. *Turkish Journal of Field Crops* (in press).
- Yıldırım, A., Ateş Sönmezoğlu, Ö., Sayaslan, A., Koyuncu, M., Güleç, T. ve Kandemir, n., 2011c. Marker-Assisted Breeding of Durum Wheat for  $\gamma$ -Gliadin and LMW-Glutenin Proteins Affecting Pasta Quality. *Breeding Science* (in press).



- Yüksel, F., 2009. Bazı Makarnalık Buğday İleri İslah Hatlarının Kalite Özellikleri ve Stabilitte Yetenekleri. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Tokat.
- Zhang, W., ve Dubcovsky, J., 2008. Association Between Allelic Variation at the *Phytoene synthase 1* Gene and Yellow Pigment Content in the Wheat Grain. *Theor Appl Genet* 116,635–645.
- Willams, P.C., El-haramein, F.J., Nakkaoul, H. Ve Rihawi, S., 1986. Crop Quality Evaluation Methods and Gudilines. *ICARDA*, 142, Aleppo, Suriye.
- Whitaker, J.R. ve Lee, C.Y., 1995. An overview - Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning. Enzymatic Browning and Its Prevention, *American Chemical Society*, Pp: 2-7, Washington.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ayşe Suna BALKAN  
Doğum Tarihi ve Yer : 15.05.1986 / KONYA  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
Telefon : 05067179523  
e-mail : asuna\_42@hotmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2011
Lisans	Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Konya Lisesi (Y.D.A)	2004

### İş Deneyimi

Yıl	Kurum	Görev
2011	Konya Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2010	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	Araştırma Görevlisi