

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE LİPOKSİGENAZ
AKTİVİTESİNİN GENETİK TANIMLANMASI**

MEDİNE YURDUSEVEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2022

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE LİPOKSİGENAZ
AKTİVİTESİNİN GENETİK TANIMLANMASI**

MEDİNE YURDUSEVEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2022

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE LİPOKSİGENAZ
AKTİVİTESİNİN GENETİK TANIMLANMASI**

**MEDİNE YURDUSEVEN
TARLA BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

TEMMUZ 2022

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE LİPOKSİGENAZ
AKTİVİTESİNİN GENETİK TANIMLANMASI**

**MEDİNE YURDUSEVEN
TARLA BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez 01/07/2022 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Taner AKAR (Danışman)

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

ÖZET

MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE LİPOKSİGENAZ AKTİVİTESİNİN GENETİK TANIMLANMASI

Medine YURDUSEVEN

Yüksek Lisans Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Taner AKAR

Temmuz 2022; 36 sayfa

İrmik ve makarna üretimi için kullanılan makarnalık buğdayda (*Triticum durum* L.) temel kalite faktörleri arasında yüksek dane protein içeriği ve kalitesi ile irmik rengi bulunmaktadır. Makarnada sarı rengin ağarmasına sebep olan oksidatif enzimlerin başında lipoksigenazlar gelmektedir. Makarnalık buğday çeşitlerinin pigment içerikleri ve oksidatif enzim aktiviteleri genetik olarak kontrol edilmekle birlikte yetiştirme koşulları da bunları etkilemektedir. Bu nedenle irmik rengi yüksek fakat oksidatif enzim aktiviteleri düşük kararlı makarnalık buğday çeşitlerinin ıslahı ve yetiştirilmesi makarna endüstrisi için çok önemlidir. Bu çalışmada ülkemizde tescil edilmiş 56 adet makarnalık buğday çeşidi 7 farklı moleküler belirteç kullanılarak lipoksigenaz aktivitesini etkileyen genler bakımından tanımlanmıştır. Elde edilen moleküler verilere göre, makarnalık buğday çeşitleri lipoksigenaz aktivitelerine göre düşük, orta ve yüksek olarak haplotiplere ayrılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların ülkemizde düşük lipoksigenaz aktivitesine sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesi için yürütülecek ıslah çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: İrmik rengi, Lipoksigenaz (LOX), Makarnalık buğday, *Triticum durum* L.

JÜRİ: Prof. Dr. Taner AKAR (Danışman)

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

ABSTRACT

GENETIC CHARACTERIZATION OF LIPOXYGENASE ACTIVITY FOR DURUM WHEAT VARIETIES

Medine YURDUSEVEN

MSc Thesis in Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Taner AKAR

July 2022; 36 pages

High protein content and quality together with semolina color are utmost importance for durum wheat (*Triticum durum* L) used mainly for semolina and pasta production. Macaroni color is whitened by mainly lipoxygenases. Semolina color and oxidative enzymes are controlled genetically; however, environmental factors also somehow contribute to this criterion. For this reason, selection of macaroni genotypes with higher semolina color level and lower oxidative enzyme activities is utmost importance for macaroni industries. In this study, 56 durum wheat varieties registered in Turkey were genetically characterized by using 7 different molecular markers linked to lipoxygenase activity. Durum wheat cultivars were classified into three different haplotypes such as low, medium and high lipoxygenase activity, respectively. It is thought that these results can contribute to develop new durum wheat cultivars with lower lipoxygenase activity in Turkey.

KEYWORDS: Durum wheat, Lipoxygenase (LOX), Semolina color, *Triticum durum* L.

COMMITTEE: Prof. Dr. Taner AKAR (Supervisor)
Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK
Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

ÖNSÖZ

Bu tez konusunu belirlemede yardımcı olan, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, yönlendirici fikirleri ile bana yol gösteren danışmanım Sayın Prof. Dr. Taner AKAR'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Tez savunma sınavı jürimde yer alan ve değerli görüşlerini paylaşan Sayın Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK ve Sayın Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ'e teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında yapılan arazi ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Mehmet TEKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu süreçte beni destekleyen değerli aileme yaptıkları fedakârlıklarından dolayı sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Makarnalık Buğdayın Önemi.....	3
2.2. Makarnalık Buğdayın Kalitesi ve Lipoksigenazlar ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	3
2.3. Sarı Pigment İçeriği ve Lipoksigenaz Aktivitesi ile İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar.....	6
3. MATERYAL VE METOT.....	12
3.1. Materyal.....	12
3.1.1. Genetik materyal.....	12
3.2. Metot.....	14
3.2.1.DNA izolasyonu.....	14
3.2.2.Moleküler belirteçlerin belirlenmesi.....	15
3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu.....	16
3.2.4. Jel elektroforezi ve görüntüleme.....	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Lipoksigenaz Aktivitesi Bakımından Genotipik Tanımlanması.....	19
5. SONUÇLAR.....	28
6. KAYNAKLAR.....	30
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Makarnalık Buğday Çeşitlerinde Lipoksigenaz Aktivitesinin Genetik Tanımlanması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

01/07/2022

Medine YURDUSEVEN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
A	: Adenin
Bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
Cm	: Santimetre
Da	: Dekar
dH ₂ O	: Distile su
Dk	: Dakika
G	: Gram
G	: Guanin
LOX	:Lipoksigenaz
M	: Molar
MgCl ₂	:Magnezyum klorür
Ml	: Mililitre
Mm	: Milimolar
POD	:Peroksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
Sn	: Saniye
T	: Timin
U	: Ünite
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar

Kısaltmalar

DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen DiaminTetra Asetik Asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
LOX	: Lipoksigenaz
POD	: Peroksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
TBE	: Tris/Borik asit/EDTA Tampon çözeltisi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Makarnalık ve ekmeklik buğdayda <i>Lox</i> genlerinin yapılarının şematik gösterimi.....	9
Şekil 3.1. DNA izolasyonu için genetik materyallere ait tohumların ekimi ve çimlenmelerine ait görseller.....	14
Şekil 3.2. Genomik DNA izolasyonu aşamalarına ait görseller	15
Şekil 3.3. Genomik DNA'lara ait örnek agaroz jel görüntüsü.....	15
Şekil 3.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan cihazlara ait görüntüler	18
Şekil 4.1. <i>Lpx-B1</i> lokusunun analizi için elde edilen örnek jel görüntüleri.....	19
Şekil 4.2. <i>TaLox-B1</i> ve <i>TaLox-B2</i> lokuslarının analizi için elde edilen örnek jel Görüntüleri.....	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makarnalık buğday genetik materyaline ait bilgiler...	13
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan moleküler belirteçlere ait bilgiler	16
Çizelge 3.3. Her bir belirteç için PZR çalışmalarında kullanılan reaksiyon hacmi, reaksiyon içeriği ve çoğaltma koşulları	17
Çizelge 4.1. <i>Lpx-B1</i> genleri ve allellerinin 56 makarnalık buğday çeşidi arasındaki dağılımı.....	20
Çizelge 4.2. Makarnalık buğday çeşitlerinde tanımlanan <i>Lpx-B1</i> haplotiplerine ait bilgiler	22
Çizelge 4.3. <i>Lpx-B1</i> haplotiplerinin tescil dönemlerine göre dağılımları	16
Çizelge 4.4. <i>TaLox-B1</i> genleri ve allellerinin 56 makarnalık buğday çeşidi arasındaki dağılımı	24
Çizelge 4.5. Makarnalık buğday çeşitlerinde tanımlanan <i>TaLox-B1</i> ve <i>TaLox-B2</i> allellerine ait bilgiler	26

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde enerji kaynağı olarak kullanılan tahıllar arasında buğday (*Triticum L.*), 2020 yılı verilerine göre 219 milyon ha ekiliş alanı ve yaklaşık 761 milyon ton üretimiyle dünyada ilk sıralarda yer almaktadır (FAOSTAT 2022). Ülkemizde ise toplam buğday ekiliş alanı 6.6 milyon ha ve üretimi ise 17.6 milyon tondur (TÜİK 2022). Makarnalık buğday (*Triticum durum L.*, $2n=4X=28$, AABB) özelinde bakılacak olursa hasat edilen alan yaklaşık 1.2 milyon ha ve 268 kg/da verim ortalamasıyla toplam üretim yaklaşık 3.2 milyon tondur (TÜİK 2022).

Makarnalık buğday türüne ait buğday çeşitleri makarna yapımına en uygun buğdaylar olarak bilinmektedir. Makarnalık buğdaylarının temel kullanım şekli makarnadır. Makarnaya ek olarak irmik, bulgur, kuskus ve çeşitli ekmek yapımlarında da kullanılmaktadır. 20. yüzyılda makarnalık buğday ıslah programları daha çok verimin artırılması ve biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklılık çalışmalarına odaklanmıştır. Bu yüzyılda ise verimden ziyade kaliteye odaklanma artmış ve araştırma amaçları arasına beslenme değeri ve tahmin edilebilen diğer parametreler olan protein içeriği, su kaldırma kapasitesi ve un rengi gibi özellikler eklenmiştir. Son zamanlarda ise insan sağlığı için büyük bir beslenme değerine sahip karotenoid pigmentlerinin de önemi artmıştır.

Buğday danesindeki karotenoid içeriği çoğunlukla lutein ve az miktarlarda da zeaxanthin ve β -cryopazanthin'den meydana gelmektedir (Hentschel vd. 2002; Adom vd. 2003). Lutein, daha çok makarnanın organoleptik kalitesine (sarılık) katkı sağlayan bir maddedir (Hentschel vd. 2002). Yüksek bir karotenoid içeriği, oksidatif zararlanmaya karşı karotenoidlerin hücre zarını koruyucu rolünden dolayı (Carrera vd. 2007) hücredeki serbest radikallerin etkili konsantrasyonu düşürmesiyle birlikte besleyici içeriği artırmaktadır (Borrelli vd. 1999; Garbus vd. 2009). Dane ve irmik sarılığı, başaktaki içsel karotenoid içeriği, öğütme oranı, makarna yapım koşulları ve lipoksigenaz enzimlerinin kilit rol oynadığı enzimlerin oksidatif degradasyonu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Borrelli vd. 1999; Porceddu ve Blanco 2014). Bu yüzden, ıslah programları düşük oksidatif aktiviteye ve yüksek içsel karotenoid içeriğine sahip çeşitlerin geliştirilmesine odaklanmalıdır (Borrelli vd. 2003).

Sarı pigment içeriği (YPC), sarılık ve makarna kalitesi arasında pozitif bir ilişki (Borrelli vd. 2003) olduğundan dolayı makarnalık buğday için en önemli kalite parametrelerinden biridir (Borrelli vd. 1999; Troccoli vd. 2000). Bu sebeple, özellikle Avrupa'nın birçok ülkesinde makarna üretiminde yapay boyaların kullanımında yasal bir sınır koyulmasından sonra (Hare 2006) sarı pigment içeriğini artırma birçok makarnalık buğday ıslah programı için ana ıslah amaçlarından biri olmuştur.

Yüksek karotenoid içeriği ve yüksek endosperm sarılığı her ne kadar makarna kalitesi üzerinde çok büyük etkiye sahip olsa da her zaman makarna ürünlerindeki yüksek sarılık içeriğini garanti etmemektedir. Makarna yapımı sırasında karotenoidlerin oksidatif degradasyonları meydana gelebilir ve bu da nihai ürünlerin ağarmasına yol açabilir. Peroksidaz ve polifenol oksidazlar gibi birkaç enzim bu degradasyonda rol oynamasına rağmen asıl önemli faktör lipoksigenazlardır. Lipoksigenaz enzimleri, hidroperoksitleri üretmek için cis, cis-1,4 pentadien sistemi boyunca moleküler oksijen ilavesini katalize ederler. Lipoksigenazlar bitkilerin tohumlarında ve tüm toprak üstü aksamalarında

bulunmaktadır ancak danenin farklı kısımlarına, yetiştirme koşullarına ve olgunluk derecesi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Coşkun ve Ercan 2003).

Farklı reaksiyonlardan lipoksigenazlar tarafından üretilen metabolitlerin çoğu genel olarak oksilipinler olarak adlandırılır ve bunlar bitki büyümesi ve gelişmesi (Berg vd. 2006), yaşlanma (Seltmann vd. 2010), yaralanma ve stres tepkisi (Veronico vd. 2006) ve bitki savunmasında (Wang vd. 2008) önemli roller oynamaktadırlar. Buğday tanesindeki *Lox* içeriği çok düşüktür, ancak yağın enzimatik oksidasyonu sırasında üretilen reaktif oksijen türleri, sadece un, erişte, buharda pişirilmiş ekme ve ekme unu ürünlerinin rengini etkileyen pigmenti bozmakla kalmaz (Manna vd. 1998; Loiseau vd. 2001), aynı zamanda undan elde edilen ürünlerin beslenme ve işleme özelliklerine de önemli ölçüde etki eder (Shiiba vd. 1991; Trufanov vd. 2007; Permyakova vd. 2010; Permyakova ve Trufanov 2011).

Modern moleküler tekniklerin kullanılmasıyla birlikte arpa (van Mechelen vd. 1999), makarnalık buğday (Carrera vd. 2007; Garbus vd. 2009; Verlotta vd. 2010) ve ekme buğday (Feng vd. 2010, 2012; Geng vd. 2012; Garbus vd. 2013) gibi birçok tahılda *Lox* genleri haritalanmış ve klonlanmıştır. Günümüze kadar makarnalık buğdayın 4A, 4B, 5A ve 5B kromozomları üzerinde *Lpx-A3* (DQ474242 ve DQ474244), *Lpx-A1-like* (FJ518909), *Lpx-B1.1* (DQ474240), *Lpx-B1.2* (DQ474241), *Lpx-B1.3* (HM126469), *Lpx-B3* (DQ474243), *Lpx-A2* (DQ448002), ve *Lpx-B2* (DQ448001) olmak üzere toplamda 8 *Lox* geni kısmi veya tam olarak klonlanmıştır (Hessler vd. 2002; Carrera vd. 2007; Zhang vd. 2008; Garbus vd. 2009; Verlotta vd. 2010). Verlotta vd. (2010) *Lpx-B1.1* lokusunda *Lpx-B1.1a* (HM126466), *Lpx-B1.1b* (HM126468) ve *Lpx-B1.1c* (HM126470) olmak üzere 3 farklı allel olduğunu belirtmiş ve *Lpx-B1b* ve *Lpx-B1.3* kombinasyonu taşıyan genotipler haplotip I, *Lpx-B1.1a* ve *Lpx-B1.2* kombinasyonu taşıyan genotipler haplotip II ve *Lpx-B1.1c* ve *Lpx-B1.2* kombinasyonu taşıyan genotipler ise haplotip III olarak adlandırılmıştır. Sonuç olarak bu haplotiplerin sırasıyla yüksek, orta ve düşük lipoksigenaz aktivitesi sağladığı vurgulanmıştır. Feng vd. (2010, 2012) da *TaLox1* (GU167920/GQ166692), *TaLox2* (GU167921/GQ166691) ve *TaLox3* (HQ913602) olarak adlandırılan 3 farklı *Lox* genini klonlamıştır. Geng vd. (2012) da farklı lipoksigenaz aktivitesine sahip ekme buğday çeşitlerine ait *TaLox-B1* sekanslarının bu lokusta *TaLox-B1a* (HQ406779) ve *TaLox-B1b* (HQ406780) olarak adlandırılan 2 farklı allele işaret ettiğini belirtmiş ve *TaLox-B1a* ve *TaLox-B1b*'nin üçüncü ekzonunda tek nükleotid polimorfizmi (SNP) bulunduğunu tespit etmiştir.

Yapılan literatür taramalarına göre şu ana kadar ülkemizdeki makarnalık buğday çeşitlerinin lipoksigenaz aktivitesi ile ilişkili olduğu bilinen *Lpx-B1.1*, *Lpx-B1.2*, *Lpx-B1.3*, *TaLox-B1*, *TaLox-B2* ve *TaLox-B3* lokusları bakımından moleküler olarak incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu tez çalışması, Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen makarnalık buğday çeşitlerinin lipoksigenaz aktivitesi ile ilişkili lokuslar bakımından moleküler olarak taranması ve genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Makarnalık Buğdayın Önemi

Türkiye makarnalık buğdayın önemli gen merkezlerinden biridir. Ülkemizde 2021 verilerine göre yaklaşık 1.2 milyon ha'lık makarnalık buğday ekilişi ve yaklaşık 3.2 milyon ton üretimi yapılmaktadır. (TÜİK 2022) Toplam buğday ekilen alanın %16'sını ve toplam üretimin ise %17'sini makarnalık buğday oluşturmaktadır. Makarnalık buğday amber ve kırmızı renkli olmak üzere ikiye ayrılır. Makarna sanayisi için kırmızı renkli olan makarnalık buğdaylar önemli değildir, daha çok hayvan yemi olarak kullanılırlar. Bu grupta yer alan buğdaylar daha çok Arjantin'de yetiştirilmektedir. Amber renkli makarnalık buğdaylar ise makarna sanayisi için önem arz ederler. Makarnalık buğdayların içindeki en sert buğdaylar amber renkli olan buğdaylardır. Protein miktarları çevreye bağlı olarak değişse de çoğunlukla yüksektir (Morris 2004; Eserkaya 2010).

Makarnalık buğdaylar spagetti ve makarna gibi irmik ürünleri ile bulgur ve kuskus gibi tanecikli (granüler) ürünler olarak değerlendirilmektedir. İnsan beslenmesinde gıda olarak ekmekten sonra en çok tüketilen besin makarnadır. 2017 yılı Uluslararası Makarna Organizasyonunun verilerine göre Türkiye, İtalya ve Amerika'nın ardından yaklaşık 1.3 milyon ton makarna üretimiyle Dünya üçüncüsü konumundadır (IPO 2017). 2019 yılı verilerine göre ise %6'lık paya tekabül eden 607 milyon dolar ile İtalya, Çin ve Kore'nin ardından dördüncü büyük ihracatçıdır (Anonymous 2019).

Makarna; kolay ve uzun süre saklanabilmesi, kolay hazırlanışı, ekonomik olması, çeşit zenginliği, düşük glisemik indekse (GI) sahip olması, düşük miktarda yağ ve tuz içermesi gibi sebeplerle tercih edilmektedir (Sayaslan 2005). Gerek beslenme gerekse duysal bakımdan kaliteli makarna üretimi, uygun hammadde ve uygun işleme teknolojisi seçimiyle sağlanır. Makarnalık buğdaylarının makarnalık kaliteleri, çevresel faktörler ve genetikten farklı derecelerde etkilenen dane fiziksel özellikleri ve danenin kimyasal bileşimleri tarafından kontrol edilmektedir (Troccoli vd. 2000).

2.2. Makarnalık Buğdayın Kalitesi ve Lipoksigenazlar ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Makarnalık buğday dane kalitesi ve elde edilen irmiğin kalitesi makarna kalitesini belirleyen en önemli parametrelerdir. Kaliteli makarnalık buğday tanımları ülkelere, alışkanlıklara ve son ürüne göre değişiklik göstermektedir. Bu sebeple kaliteli makarnalık buğday değerlendirmesi ekmeklik buğdaya göre zordur. Kalite kriterleri ıslah kuruluşları, makarnalık buğdayı işleyen sektör ve ticaret borsaları istekleri dikkate alınarak belirlenmelidir. Makarnalık buğday standardının derecelendirme faktörleri danenin fiziksel özellikleri, kalite özellikleri ve hastalık ve zararlı etkileri olarak ayrı ayrı ele alınmalıdır (Atlı vd. 2010).

Makarnalık buğdayının kalitesi, hektolitreye ağırlığı, renk, camsılık oranı, dane sertliği, protein miktarı ve kalitesi, öğütme kalitesi (irmik verimi ve kül oranı), sarı pigment içeriği, sarı renk kaybı ya da renk kararmasına sebep olan lipoksigenaz (LOX), peroksidaz (POD) ve polifenol oksidaz (PPO) gibi oksidatif enzimlerin aktiviteleri gibi tanenin kimyasal, fiziksel ve teknolojik özellikleri tarafından etkilenmektedir (Borrelli vd. 1999, 2003; Troccoli vd. 2000; Morris vd. 2004; Koyuncu 2009).

Bu etkenlerden özellikle tanenin protein kalitesi (gluten dayanımı) ve protein miktarı ile sarı parlak rengi ve sarı pigment içeriği olumsuz olarak etkileyen oksidatif enzimlerin aktiviteleri oldukça önemlidir. Bu parametreler kaliteli bir makarnada istenilen pişme kalitesini (pişirilirken yapışmayan ve dağılmayan tüketilirken ağızda hissedilebilir sertlikte bir yapı ‘al dente’) ve parlak sarı renk oluşumunu tayin eden özelliklerdir (Clarke vd. 1998). Bu özellikler her ne kadar genotipik olarak kontrol edilse de yetiştirme koşulları ve çevresel faktörler de kaliteyi etkileyen önemli unsurlardır (Aalami vd. 2007; Balkan 2011; Özbey 2016).

Dane iriliği, camsılığı ve sertliği de özellikle kullanım alanı ile yakından ilişkili fiziksel özelliklerdir. Dane iriliği büyük oranda genotipik olarak kontrol edilmekle birlikte az da olsa çevresel etmenlerden etkilenmektedir. Hastalıktan arı, dolgun ve iri boyutta bir makarnalık buğday danesi özellikle öğütme işlemi ve tavlama işlemlerinin etkinliği için ve dolayısıyla un ve irmik verimi bakımından oldukça önemlidir. Dane boyutuna paralel olarak kabuk-endosperm oranı arttığı için irmik veya un verimini de yükselmektedir. Tavlama ve öğütme gibi işlemlerde koşulların ve farklı ürünlere uygunluk derecesi sağlayan fiziksel özelliklerden tanenin sertliği/yumuşaklığıdır. Buğday tane sertliğinde endosperm katmanı belirleyici bir etkiye sahip olup, tane sertliğinin temelde gluten-nişasta arasındaki bağlar veya etkileşim kuvveti belirler. Buğday dane sertliği genetik olarak kontrol edilmektedir. Çoğunlukla buğdayın D genomunun 5. kromozomun kısa kolu (5 DS) üzerinde bulunan *Ha* gen bölgesi tarafından kontrol edilmektedir. Makarnalık buğdayda D genomu bulunmamasından dolayı en sert buğdaylardır. Sert endosperme sahip makarnalık buğdaylarda irmik verimi ve buna bağlı olarak makarnalık değeri oldukça yüksektir (Yüksel vd. 2011). Makarnalık buğdayın önemli fiziksel özelliklerinden birisi de camsılıktır. Dane sertliği ile ilişkili olan camsılık oranı genellikle makarnalık buğdaylarda diğer buğday türlerine göre daha yüksektir. Makarnalık buğdayların camsılık oranları ile parlaklık dereceleri ve irmik verimleri arasında pozitif bir ilişki vardır. Makarnalık buğday sertliğinde genotip belirleyici etmenken camsılıkta çevresel faktörler etkilidir (Bushuk 1998; Eserkaya vd. 2010).

Hektolitre ağırlığı buğday yoğunluğunun ölçüsü ve belli bir hacimdeki buğdayın ağırlığı olarak bilinmektedir. Hektolitre ağırlığı ile irmik verimi arasında olumlu bir doğrusal ilişki (korelasyon) vardır. Bu nedenle makarnalık buğdayın hektolitre ağırlığının yüksek olması istenilir. Makarnalık buğday hektolitresi diğer buğday türleriyle karşılaştırınca %9-10 kat daha fazladır (Bushuk 1998). Bin dane ağırlığı ise bin adet buğday danesinin ağırlığıdır. Makarnalık buğdayın bin dane ağırlığı diğer buğday türlerine göre daha yüksektir. Buğday danesi büyüdükçe kabuk oranı azaldığı için irmik verimi artar fakat bu ilişki dane büyüklüğünün homojenliği, camsılığı, danenin şekli ve dane içerisindeki yabancı madde ile ilişkilidir (Hoseney 1994; Eserkaya vd. 2010).

Makarnalık buğdayda önemli kalite kriterlerinden bir tanesi de dane rengidir. Makarna renginin parlak sarı olması istenmektedir. Un rengi buğday için kilit bir kalite özelliğidir ve elde edilen son ürünün pazarlanmasında belirleyici role sahiptir. Un, erişte ve buharda pişirilmiş ekmek unu ürünlerinin rengini ve beslenmesini önemli ölçüde etkileyen bol miktarda doğal pigmentler içerir (Crawford vd. 2011). Bu konuda yapılan birçok çalışma un renginin danedeki içsel karotenoid pigmentlerinden kaynaklandığı ancak son ürünlerin elde edilmesi için gerekli süreçler sırasında Lox (Manna vd. 1998; Loiseau vd. 2001; Trufanov vd. 2007), fitoen sentaz (*Psy*) (He vd. 2009b; Crawford vd. 2011) ve polifenol oksidaz (Baik vd. 1995; Chang vd. 2007) gibi enzimlerden

etkilendiğini göstermiştir. Ağırlıklı olarak serbest ve esterlenmiş luteinden oluşan karotenoidler, makarna ürünlerinin önemli bir estetik parametresi olmasının yanı sıra yüksek besin değerine sahiptir. Çoğunlukla yaşa bağlı makula dejenerasyonu ve katarakt dahil oküler hastalık riskini azaltmadaki önemi ile bilinen lutein tüketimi, son zamanlarda kardiyovasküler hastalık ve çeşitli kanser türleri geliştirme riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu bağlamda, makarna gibi yaygın olarak tüketilen bir gıdadaki lutein içeriğinin artırılması, özellikle günlük önerilen dozla karşılaştırıldığında düşük günlük lutein alımı ile insan sağlığının korunmasına faydalı olması muhtemeldir.

Yukarıda da bahsedildiği gibi pigmentler esas olarak ürünlerin öğütülmesi ve işlenmesi sırasında bozular. Öğütme işlemi danenin dış kısmında yer alan tabakadaki pigmentlerin mekanik kaybına sebep olabilir ancak asıl maksimum kayıp Lox aktivitesinden kaynaklanmaktadır (Borrelli vd. 1999). Lox irmikteki ağarma ile ilişkili en önemli enzimlerden biri olarak kabul edilmektedir. Zilic vd. (2010) düşük Lox aktivitesine sahip çeşitlerin daha yüksek besleme değerine sahip olabileceğini vurgulamıştır. Shiiba vd. (1991) da Lox izozimi ile muamele edilmiş unun, enzim muamelesi yapılmayan kontrol unundan daha kısa hamur geliştirme süresine ve daha az dirence sahip olduğunu belirlemiştir.

Permyakova vd. (2010) spesifik Lox aktivitesi ile hamur uzayabilirliği arasındaki negatif korelasyon olduğunu ve bunun bu enzimin gluten ve hamur kalitesindeki kararsız rolünü açıkladığını iddia etmiştir. Trufanov vd. (2007) de Shiiba vd. (1991)'i doğrulayarak Lox aktivitesi ile gluten dayanımı arasında negatif bir olduğunu belirlemiştir. Tüm bu çalışmalar dikkate alındığında, Lox aktivitesinin sadece un ve un ürünlerinin rengini etkilemediğini, aynı zamanda gluten mukavemeti ve hamur reolojik özellikleri ile de yakından ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.

Bunun yanısıra Lox aktivitesinin depolama sırasında da özellikle ekmeklik buğdayın depo kalitesini etkilediğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Leenhardt vd. (2006) daneden ekmeğe kadar olan süreçte buğday karotenoidleri ve E vitamini içeriği bakımından değişimleri ele almış ve bunların seviyelerini etkileyen önemli işleme süreçlerini irdelemişlerdir. Önemli ölçüde genetik tabana bağlı olan karotenoid pigment kaybı ile lipoksigenaz aktivitesi arasında çok güçlü bir pozitif korelasyon ($r^2= 0.97$; $p<0.05$) olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle yüksek karotenoid ve düşük lipoksigenaz aktivitesine sahip çeşitlerinin kullanılması ile önemli bir miktarda karotenoidin ekmekte muhafaza edilebileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca hamur yapımı sırasındaki E vitamini içeriği ile LOX aktivitesi arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, ekmeklik buğdaydaki düşük Lox aktivitesi depolama süresini artırmakta ve dolayısıyla ticari değerini de yükseltmektedir (Leenhardt vd. 2006; Borrelli vd. 2008). Tolouie vd. (2018) atmosferik soğuk plazma işleminin buğday danelerindeki lipaz ve lipoksigenazın inaktivasyonuna etkisini değerlendirmek üzere bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma ile depolama sırasında atmosferik soğuk plazma işlemine maruz bırakılan danelerin içeriğinde bulunan lipaz ve lipoksigenaz enzimlerinin bir kısmının geri kazanıldığı anlaşılmış ancak bu oranın lipaz için daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, soğuk plazma işleminin danedeki enzim aktivitesini çok düşük seviyelere indirmede fakat dane içeriğini stabilize etmek ve raf ömrünü uzatmak için yeni bir potansiyel olarak sunulabileceği öne sürülmüştür.

Ülkemizde makarnalık buğdaylarda lipoksigenaz aktivitesinin araştırılmasını esas alan çok detaylı bir çalışma bulunmamakla beraber biyokimyasal yöntemlerle yapılan birkaç çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde Coşkun ve Ercan (2003) 9 farklı makarnalık buğday çeşidini lipoksigenaz aktivitesi bakımından değerlendirmiş ve danelerdeki lipoksigenaz aktivitesinin 0.09 ile 0.39 mg O₂ L⁻¹dk⁻¹g⁻¹ arasında değiştiğini tespit etmiştir. Bunun yanında aynı danelerden elde edilmiş irmik ve makarnalarda da lipoksigenaz aktivitesi araştırılmış ve sırasıyla 0.06-0.025 l⁻¹dk⁻¹g⁻¹ ve 0.00 ve 0.09 L⁻¹dk⁻¹g⁻¹ arasında değişim aralığına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Aynı örneklerde pigment ölçümleri de yapılmış ve irmik örneklerinde pigment miktarının 5.54-8.81 ppm ve makarna örneklerinde ise 42.27-8.06 ppm arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca makarna pigment kaybı oranının %7.6 ile %22.9 arasında değiştiğini ve lipoksigenaz enzim aktivitesi arttıkça makarna pigment miktarındaki kaybın da arttığı vurgulanmıştır. Aynı çalışmada Kunduru-1149 ve Çakmak-79 gibi makarnalık buğday çeşitlerinin lipoksigenaz aktivitelerinin yüksek, Gediz-75 çeşidinin ise en düşük olduğu belirlenmiştir.

Bir diğer çalışmada da Ates Sonmezoglu ve Balkan (2014) 15 saf hat ve 7 tescilli çeşitten oluşan 22 genotiplik bir makarnalık buğday setinde moleküler ve biyokimyasal yöntemler kullanarak LOX aktivitesi ve pigment içeriğini belirlemişlerdir. Çalışma ile elde edilen sonuçlara göre Gediz-75 ve Zenit çeşitleri ile 4 hattın LOX aktivitesi ile ilişki olarak kaliteli makarna üretimi için en uygun genotipler olduğunu belirlenmiştir. Bunun yanında pigment içeriği bakımından Kyle, Zenit, Gdem-12, Gdem-2, TMB-1 ve TMB-3 genotiplerinin yüksek potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Her iki özellik birlikte değerlendirildiğinde Gediz-75 ve Zenit çeşitleri ile Gdem-12 hattının makarna üretimi için yüksek potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır.

2.3. Sarı Pigment İçeriği ve Lipoksigenaz Aktivitesi ile İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar

Dane sarılığı genetik olarak kontrol edilen bir özellik olmasına rağmen (Borrelli vd. 1999; Clarke vd. 2006; Magallanes-Lopez vd. 2017) oldukça karmaşık bir özelliktir (Patil vd. 2008; Roncallo vd. 2012). Sarı pigment içeriği için neredeyse tüm kromozomlarda kantitatif özellik lokusları (QTLs) tanımlanmıştır. Phytoene synthase enzimi (PSY) geranilgeranil difosfattan phytoene sentezindeki hız kontrol basamağını kataliz etmektedir. *Psy1-A1* ve *Psy1-B1* genleri, sarı pigment içeriği için sırasıyla kromozom 7A ve 7B'de bulunan büyük QTL'lerini kodlamaktadır (Patil vd. 2018). Bu genlerde buğdaydaki dane sarılığı varyasyonu ile ilgili allelik varyasyon hakkında önemli bilgiler bulunmaktadır. Hem makarnalık hem de ekmeklik buğdayda yüksek sarılık içeriklerine sahip hatları/çeşitlerin seçimini kolaylaştırabilecek hem *Psy1-A1* hem de *Psy1-B1* genleri için geliştirilmiş moleküler belirteçler mevcuttur (Patil vd. 2018; Zhang vd. 2008; Zhang vd. 2015; Zhai vd. 2016; He vd. 2008, 2009a, 2009b). Düşük irmik sarılığına sağlayan *Psy1-A1a*, orta irmik sarılığı sağlayan *Psy1-A1l* ve yüksek irmik sarılığı sağlayan *Psy1-A1o* allelleri *Psy1-A1*'deki allelik varyantlar olarak bilinmektedir (Singh vd. 2009). Bunun yanında Campos vd. (2015) tarafından 20 modern çeşit ve 155 köy çeşidinden oluşturulan bir set ile yürütülen bir çalışmada *Psy1-B1a* ve *Psy1-B1b* allelleri taşıyan genotipler arasında irmik rengi bakımından bir fark gözlenmediği rapor edilmiştir.

Öte yandan makarna işleme sırasında pigment oksidasyonunun bir sonucu olarak genellikle bir renk kaybı olmaktadır. Makarnalık buğday irmiğinde bulunan peroksidazlar ve polifenol oksidazlar gibi enzimlerin karotenoid ağartmaya katkıda bulunduğu bilinse de ana rolün lipoksijenaz-linoleat sistemindeki olduğu görülmektedir. Lipoksijenaz (LOX, linoleat:oksijen oksidoredüktaz; EC 1.13.11.12), karşılık gelen hidroperoksitleri üretmek için 1,4-cis,cis pentadien yapıları içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin konumsal ve spesifik dioksijenasyonunu katalize eden proteinsiz (hem olmayan) demir içeren dioksijenazların bir sınıfıdır. Bitkilerde, LOX reaksiyonunun ürünlerinin vejetatif büyüme, yaralanma, otobur ve patojen saldırısına tepki ve ayrıca çimlenme sırasında depo lipidlerinin mobilizasyonu gibi çeşitli işlemlerde rolleri olduğu gösterilmiştir. Makarnalık buğday irmiğinde, linoleat hidroperoksidasyonunun ara durumları sırasında üretilen radikaller karotenoid pigmentlerin oksidasyonuna ve sonuç olarak makarna ürünlerinde sarı renk kaybına neden olabilir.

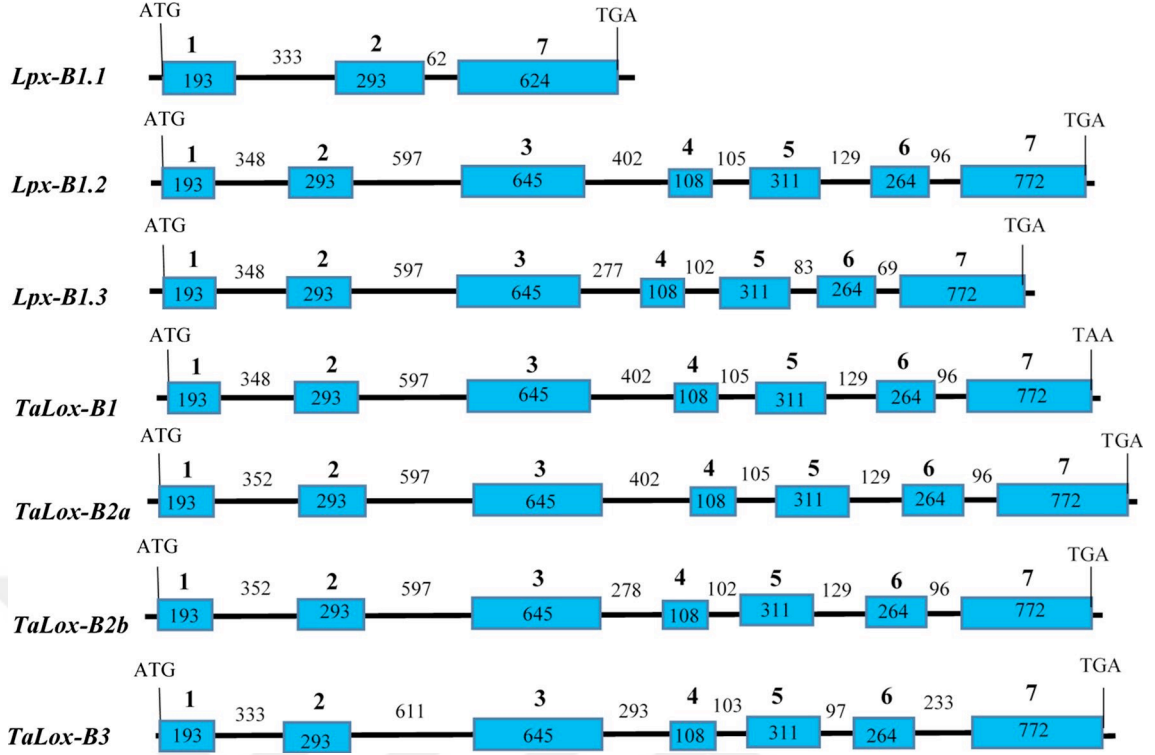
Parada vd. (2020) *Phytoene synthase 1 (Psy1)* ve *lipoksijenaz 1 (Lpx-1)* genlerinin makarnalık buğdayda karotenoid pigmentlerinin katalizinde ve sentezinde rol alan ve sırasıyla irmiğin ve makarnanın sarı renk derecesini ve bunların yüksekliğini ve düşüklüğünü düzenleyen kilit genler olduğunu vurgulamışlardır. Yaptıkları çalışmalarında ise bu genin yeni haplotiplerinin danede ve irmikte sarı pigment içeriğini önemli ölçüde etkilediğini rapor etmişlerdir. Elde edilen sonuçlardan sonra *Psy1* geninin dane gelişimi sırasında irmik rengini belirlemede, *Lpx-1* geninin ise daha çok hasat sonrası dönemlerde ve makarna yapım sürecinde daha belirleyici olduğu vurgulanmıştır.

Lox aktivitesi üzerine yapılan moleküler çalışmalar irdelenecek olursa öncelikli olarak Lox aktivitesini kontrol eden lokusların arpada (*Hordeum vulgare* L.) tanımlandığı ve daha sonra ortologlarının buğdayda belirlendiği anlaşılmaktadır. Arpada LOX-1 ve LOX-2 olmak üzere iki farklı izoform saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir (Yang vd. 1993). LOX-1 izoformu olgun danelerdeki toplam LOX aktivitesine katkıda bulunurken, LOX-2 aktivitesinin çimlenme sırasında arttığı bilinmektedir (Holtman vd. 1996). LOX proteinlerini kodlayan üç cDNA dizisi arpa tanelerinden izole edilmiş ve bunlara karşılık gelen genlerin kromozomal konumları belirlenmiştir. LoxA ve LoxC klonlarının sırasıyla LOX-1 ve LOX-2 izoformlarına karşılık geldiği (van Mechelen vd. 1995) ve LoxB (van Mechelen vd. 1999) olarak bilinen üçüncü bir klonun ise bugüne kadar tanımlanmamış bir LOX izoformu olduğu belirlenmiştir. LoxA ve LoxB lokusları sıkı bir şekilde bağlantılı olduğu (1 cM) ve 4HS kromozomunda tanımlandığı, LoxC lokusunun ise 5H kromozomunun uzun koluna yer aldığı bilinmektedir (van Mechelen vd. 1999). De Simone vd. (2010) da düşük ve yüksek enzim aktivitelerine sahip çeşitlerin olgun danelerinde *Lpx-1* ve *Lpx-3* genlerinin farklı transkriptler sentezlediğini fakat *Lpx-2* transkriptlerinin bu aşamada bulunmadığını bildirmiştir.

Makarnalık buğdayda LOX genleri arpa ile doğrusal olan bölgelerde bulunmaktadır ve bu nedenle ortolog oldukları düşünülmektedir: makarnalık buğdaydaki iki *Lpx-2* dizisi arpada grup 5 kromozomunda tanımlanmış ve LoxC genine karşılık gelirken, yine makarnalık buğdayda *Lpx-3* olarak tanımlanmış iki dizi arpada grup 4 kromozomunda tanımlanan LoxB'ye karşılık gelmektedir. Arpa LoxA'ya ortolog olan makarnalık buğday genlerinin tanımlanmasına kadar, makarnalık buğdayda, son introndaki minyatür bir ters çevrilmiş tekrar yer değiştirebilir elemanın (MITE) kararsızlığından kaynaklanan üç doğal *Lpx1* gen varyantı olduğu bilinmekteydi (Hessler vd. 2002). Bu çalışmada MITE'nin tam (C7.2.1), kısmi (J4.2) ve hatta mevcut olmadığı

(J2.2/C5.36.2) gösterilmiş ve bu polimorfizmin 4BS kromozomunda tanımlanan *Lpx-1* dizilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Araştırmacılar, üç dizi arasındaki benzerliklere ve çeşitler arasındaki dağılımlarına dayanarak, C721 ve J42 dizilerinin, kromozom 4B'nin kısa kolundaki aynı *Lpx-1* lokusundaki allelleri temsil ettiğini, fakat J22 ve C5362 dizilerinin bir farklı bir *Lpx-1* lokusundaki bir geni temsil ettiğini öne sürmüşlerdir. Bu hipotez, MITE'li ve MITE'siz dizilere karşılık gelen DQ474240 ve DQ474241 olmak üzere iki diziyi vurgulayan Carrera vd. (2007) nın bulgularıyla da desteklenmiştir. Garbus vd. (2009) tarafından yapılan haritalama çalışmasında bu dizilerin makarnalık buğdayın 4B kromozomu üzerinde yer alan *Lpx-B1* lokusundaki iki farklı gen (*Lpx-B1.1* ve *Lpx-B1.2*) olduğu ortaya koyulmuştur. Aynı çalışmada ayrıca *Lpx-B1.1* geninin kopyasında bir delesyon bulunduğu ve bu delesyondan kaynaklı oluşan varyasyonun irmik ekstraktlarındaki LOX aktivitesinde güçlü bir azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Verlotta vd. (2010) olgun danede Lox aktivitesinin belirlenmesinde *Lpx-1* geninin rolünün etkinliğini araştırmak için bir çalışma yürütmüşler ve bu çalışmada *Lpx-B1.1a* (aksesyon kodu: HM126466), *Lpx-B1.1b* (aksesyon kodu: HM126468), *Lpx-B1.1c* (aksesyon kodu: HM126470), *Lpx-B1.2* (aksesyon kodu: HM126467) ve *Lpx-B1.3* (aksesyon kodu: HM126469) olarak tanımlanan 5 farklı allelin LOX aktivitesindeki rollerini tanımlamışlardır. Yapılan QTL analizleri sonucunda lipoksigenaz aktivitesindeki varyasyonun %36-54 oranında *Lpx-B1* lokusundan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, bu genlerden oluşan 3 farklı kombinasyon tanımlanmıştır. Buna göre *Lpx-B1b* ve *Lpx-B1.3* kombinasyonu taşıyan genotipler haplotip I, *Lpx-B1.1a* ve *Lpx-B1.2* kombinasyonu taşıyan genotipler haplotip II ve *Lpx-B1.1c* ve *Lpx-B1.2* kombinasyonu taşıyan genotipler ise haplotip III olarak adlandırılmıştır. Sonuç olarak bu haplotiplerin sırasıyla yüksek, orta ve düşük lipoksigenaz aktivitesi sağladığı vurgulanmıştır. Ayrıca Feng vd. (2010, 2012) da ekmeklik buğdayda *TaLox1* (GU167920/GQ166692), *TaLox2* (GU167921/GQ166691) ve *TaLox3* (HQ913602) olarak adlandırılan 3 farklı *Lox* genini klonlamıştır. Geng vd. (2012) da farklı lipoksigenaz aktivitesine sahip ekmeklik buğday çeşitlerine ait *TaLox-B1* sekanslarının bu lokusta *TaLox-B1a* (HQ406779) ve *TaLox-B1b* (HQ406780) olarak adlandırılan 2 farklı allele işaret ettiğini belirtmiş ve *TaLox-B1a* ve *TaLox-B1b*'nin üçüncü ekzonunda tek nükleotid polimorfizmi (SNP) bulunduğunu tespit etmiştir. Zhang vd. (2015) *Lox-B1*, *Lox-B2* ve *Lox-B3* lokuslarındaki genlerin 5 farklı kombinasyonu arasında *TaLox-B1a/TaLox-B2a/TaLox-B3a* kombinasyonunun yüksek Lox aktivitesine yol açtığını ancak *TaLox-B1a/TaLox-B2b/TaLox-B3b* kombinasyonuna sahip genotiplerin ise düşük Lox aktivitesine sahip olduğunu vurgulamıştır. Bu çalışmalarda tanımlanan lokusların yapılarının şematik gösterimi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Makarnalık ve ekmeklik buğdayda *Lox* genlerinin yapılarının şematik gösterimi. Kutular ekzonları çizgiler ise intronları temsil etmektedir (Zhang vd. 2015)

Lox aktivitesi ile ilgili yapılan diğer çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Carrera vd. (2007) *Lpx-B1* lokusunda tekrarların olduğunu ve *Lpx-B1.1* kopyasındaki bir delesyondan kaynaklı bir allelik varyasyon olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu delesyonun LOX aktivitesinde yaklaşık 4.5 kat düşüş sağladığını ve makarna rengini artırdığını ($p < 0.0001$) fakat makarna üretim sürecinde pigment degradasyonunu azalttığından dolayı irmik rengiyle istatistik olarak ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. UC1113 hattı ile Kofa çeşidi arasında melezden elde edilen bir popülasyonda 4B kromozomu üzerinde bu delesyon için bir moleküler belirteç haritalanmıştır. Bunun yanında 4A kromozomu üzerinde irmik ve makarna rengi ile ilişkili ($p < 0.01$) ikinci bir lipoksigenaz lokusu (*Lpx-A3*) haritalandığı fakat bu lokusun olgun danede LOX aktivitesi ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir. Bu belirteçler ve yeni allelik varyantların *Lpx* lokusundaki varyasyonu etkilemede ve makarna renginin geliştirilmesinde katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

De Simone vd. (2010) 71 genotipten oluşan İtalyan makarnalık buğday koleksiyonunda sarı pigment içeriği (YPC), lipoksigenaz (LOX) aktivitesi ve *Lpx-B1.1* lokusundaki polimorfizmi belirlemek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda hem YPC (3.68-9.43 $\mu\text{g/g dw}$) hem LOX aktivitesi (0.02-7.91 EU/g dw) bakımından genotipler arasında büyük bir varyasyonun olduğu belirlenmiştir. Ayrıca LOX aktivitesindeki farklılıklarla *Lpx-B1.1* lokusundaki polimorfizm arasında önemli bir pozitif ilişki bulunduğu belirlenmiştir.

Geng vd. (2011) Zhongyou 9507 x CA9632 melezinden açılan 71 double haploid hat ile SSR markıklarını kullanarak ekmeklik buğdayda LOX aktivitesi için QTL

haritalaması gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda 1AL ve 4B kromozomları üzerinde *QLpx.caas.1AL* ve *QLpx.caas-4B* olmak üzere LOX aktivitesi ile yakından ilişkili iki kantitatif bölge belirlemişlerdir. Bu bölgelerdeki *Xwmc312* ve *Xgwm251* SSR lokusları, 1AL kromozomu için %13.4-25.2 ve 4B kromozomu için %14.3-27.0 fenotipik varyansı açıklamıştır. Bu SSR lokuslarını doğrulamak için 198 Çin buğday çeşidi ve ileri hattı kullanılarak çalışma yürütmüşler ve LOX aktivitesi ile yüksek derecede önemli ($p<0.01$) ilişki tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak *Xwmc312/Xgwm251* belirteç kombinasyonunun LOX aktivitesi için yürütülen belirteç destekli seleksiyon çalışmalarında güvenilir bir şekilde kullanılabilceğini öne sürmüşlerdir.

Geng vd. (2012) dominant fonksiyonel markırlar olan LOX16 ve LOX 18'in yüksek ve düşük LOX aktiviteleri ile yüksek derecede ilişkili olduğunu belirtmiştir. Ek olarak, *TaLOX1* ve *TaLOX2* gen bölgelerinin ekmeklik buğdayda toplam LOX aktivitesine katkı sağlayabileceğini ileri sürmüştür (Feng vd. 2010; Geng vd. 2011).

Özbey (2016) hem yüksek protein kalitesine hem yüksek lipoksigenaz aktivitesine sahip olan TMB2 ve TMB3 hatlarından düşük lipoksigenaz aktivitesine sahip melezler elde etmek amacıyla bir çalışma yürütmüş ve enzim aktivitesi oldukça düşük olduğu bilinen Gediz-75 çeşidi melezlemelerde ebeveyn olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak elde edilen melezlerden hedeflenen gen bölgesini (*Lpx-B1.1*) taşıyanlar SSR belirteçleri yardımıyla seçilmiştir.

Kaur vd. (2019) 33 Hindistan buğday genotipinde lipoksigenaz aktivitesi ve sarı pigment içeriğini biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle tespit etmek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda *LOX16*, *LOX18* ve *YP7A* belirteçlerinin LOX aktivitesi ve sarı pigment içeriğini genotipik olarak kontrol etmede etkili bir araç olduğunu ve bu belirteçlerin çeşit geliştirme aşamalarında güvenli bir şekilde kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

Lv vd. (2021) Çin buğday örneklerinde lipoksigenaz aktivitesi ile ilişkili genleri tanımlamak için genom çapında ilişki analizi (GWAS) çalışması yürütmüşler ve 306 tek nükleotid polimorfizmi (SNPs) tanımlanmışlardır. Bunların arasında bir biparental popülasyonda 3B kromozomu üzerinde lipoksigenaz kodlayan *TaLpx-B4* genini tespit etmişlerdir. Özellikle *TaLpx* gen ailesinin yumuşak buğday un kalitesi artırmada faydalı olabileceğini belirtmişlerdir.

Tohum depolanabilirliği ya da bir diğer adıyla tohum canlılığı özellikle tohum gen bankaları ve kendi tohumluğunu üreten çiftçiler için oldukça değerli bir özelliktir ve genellikle LOX aktivitesi ile negatif yönlü ilişkili olduğu bilinmektedir. Yang vd. (2021) CIMMYT buğday öz koleksiyonundaki (CIMGOG) 60 buğday örneğinin tohum depolanabilirliğini çimlenme potansiyeli (RGP), çimlenme oranı (RGR) ve fide vigor indeksi (RVI) gibi üç parametreyi de içeren yapay yaşlandırma testi (AA) yoluyla değerlendirmişlerdir ve PGP, RGR ve RVI arasında önemli pozitif ilişkiler belirlenmiştir. Bunun yanında genotipler, lipoksigenaz aktivitesi ile ilişkili üç gen bölgesi (*QLpx.caas-4B*, *QLpx.caas-1AL* ve *TALOX-B1*) ile moleküler belirteçler yardımıyla tanımlanmışlar ve özellikle *Xgwm251-125bp* + *Xwmc312-247bp* + *TaLox-B1b* haplotipine sahip genotiplerin tohum depolanabilirliğinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Zheng vd. (2022) 10 buğday çeşidinin genotip, lokasyon ve bunların interaksiyonunun lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkilerini belirlemek için karşılaştırmalı bir çalışma yürütmüşlerdir. Ayrıca çalışma kapsamında 192 SSR belirteci kullanarak 123 buğday çeşidini lipoksigenaz aktivitesini kontrol eden alleller bakımından değerlendirmiş ve LOX aktivitesi ile ilişkili elit allelleri tanımlamışlardır. Yapılan ilişki analizi sonucunda toplam 22 SSR belirtecinin LOX aktivitesi ile yüksek derecede ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Özellikle 4., 5. ve 7. homolog gruplardaki 13 belirteç lokusunun %27 ile %32 arasında değişen varyansa sahip olduğunu bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Genetik materyal

Bu çalışmada eski ve yeni makarnalık buğday çeşitlerinden oluşturulan 56 çeşit genetik materyal olarak kullanılmıştır. Bu setin içerisindeki 32 çeşit 2000 yılı ve sonrasında tescil edilmiştir. Bunların yanında düşük lipoksigenaz aktivitesine sahip olduğu bilinen Kyle çeşidi kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan makarnalık buğday çeşitlerine ait bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.



Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makarnalık buğday çeşitlerine ait bilgiler

No	Çeşit adı	Tescil eden kuruluş*	Tescil yılı	No	Çeşit adı	Tescil eden kuruluş	Tescil yılı	No	Çeşit adı	Tescil eden kuruluş	Tescil yılı
1	Akbaşak073/144	TARM	1964	20	Meram-2002	BDUTAEM	2002	39	GAP	ETAEM	2004
2	Kunduru 414/44	TARM	1963	21	Tunca 79	TTAEM	1979	40	Turabi	ETAEM	2004
3	Berkmen 469	TARM	1967	22	Gökgöl 79	TTAEM	1979	41	Sham-1	DAKTAEM	1991
4	Çakmak 79	TARM	1979	23	Diyarbakır-81	GAPUTAEM	1987	42	Amanos-97	DAKTAEM	1997
5	Kızıltan 91	TARM	1991	24	Ceylan 95	GAPUTAEM	1995	43	Fuat bey 2000	DAKTAEM	2000
6	Altın 40 /98	TARM	1998	25	Sarı Çanak 98	GAPUTAEM	1995	44	Sarı Başak	DAKTAEM	2013
7	Yılmaz 98	TARM	1998	26	Altın toprak 98	GAPUTAEM	1998	45	Akçakale-2000	GAPTAEM	2002
8	Ankara 98	TARM	1998	27	Aydın-93	GAPUTAEM	1998	46	Özberk	Harran Üniversitesi	2005
9	Çeşit-1252	TARM	2000	28	Fırat-93	GAPUTAEM	2002	47	Pınar-2001	Uludağ Üniversitesi	2001
10	Mirzabey 2000	TARM	2000	29	Artuklu	GAPUTAEM	2002	48	Zenit	TASACO	2001
11	Eminbey	TARM	2009	30	Eyyubi	GAPUTAEM	2008	49	Svevo	TASACO	2001
12	İmren	TARM	2009	31	Şahinbey	GAPUTAEM	2008	50	Levante	TASACO	2011
13	Kunduru1149	GKTAEM	1967	32	Zühre	GAPUTAEM	2008	51	Saragolla	TASACO	2011
14	Altıntaş 95	GKTAEM	1995	33	Güney Yıldızı	GAPUTAEM	2010	52	Maestrale	TASACO	2012
15	Kümbet 2000	GKTAEM	2000	34	Gediz-75	GAPUTAEM	1976	53	Burgos	Fito Tohumculuk	2011
16	Yelken 2000	GKTAEM	2000	35	Ege 88	ETAEM	1988	54	Bisante	Trakya Tarım	2012
17	Dumlupınar	GKTAEM	2006	36	Salihli 92	ETAEM	1992	55	Karam	TASACO	2022
18	Fata 'S'	GKTAEM	1964	37	Şölen 2002	ETAEM	2002	56	Tirex	TASACO	2022
19	Selçuklu-97	BDUTAEM	1997	38	Tüten 2002	ETAEM	2002				

*TARM: Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, GKTAEM: Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BDUTAEM: Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, TTAEM: Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, GAPUTAEM: GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, ETAEM: Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, DAKTAEM: Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, GAPTAEM: GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.

3.2. Metot

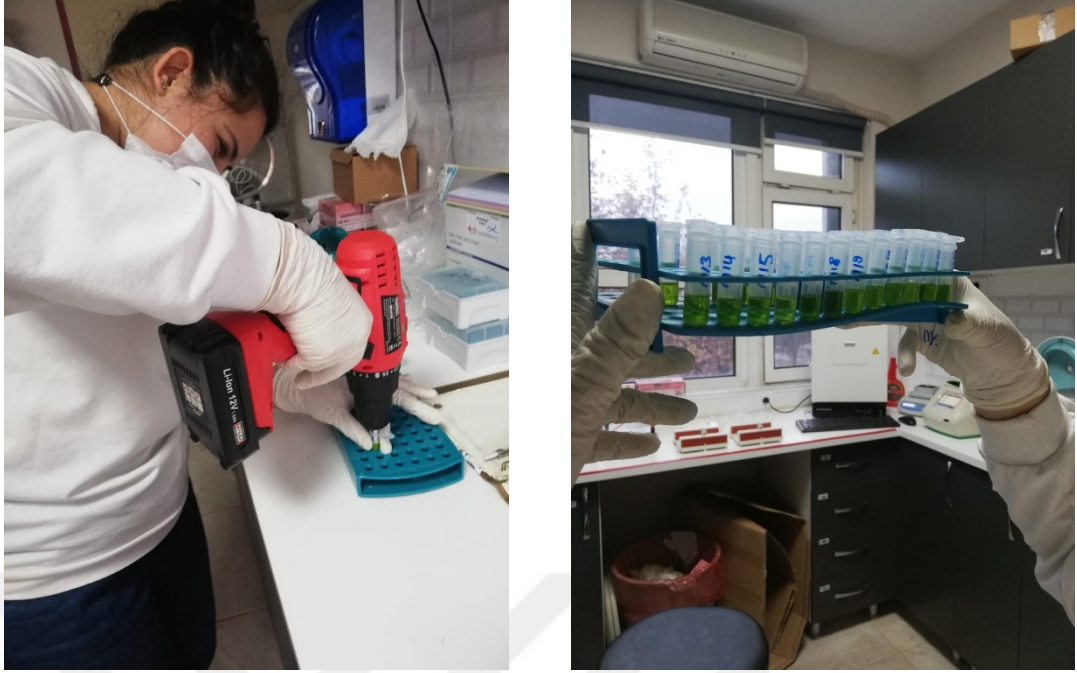
3.2.1.DNA izolasyonu

Genomik DNA izolasyonu için NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Yüksek miktarda ve kaliteli DNA eldesi için bir genotipe ait en az 3 tohum viyollere ekilmiş ve 2-3 yapraklı döneme kadar yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).



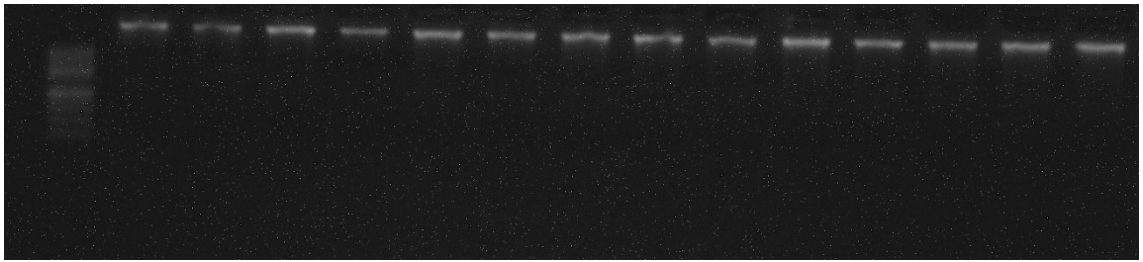
Şekil 3.1. DNA izolasyonu için genetik materyallere ait tohumların ekimi ve çimlenmelerine ait görseller

Aynı genotipe ait en az 3 bitkiden birlikte (bulk) alınmış yapraklardan 50-100 mg tartılarak 1.5 mL'lik mikrotüplerin içerisine koyulmuş ve üzerine 400 μ L PL1 tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Yaprak örnekleri tüp içerisinde rahatça hareket ettirilebilen steril plastik ezme çubukları (pistil) ile iyice ezilmiştir. Ezme işleminin ardından mikrotüplerin içerisine 10 μ L *RNAaz* eklenmiş ve örnekler 65 °C'de 1 saat termal çalkalayıcıda (TS-100, Biosan, Letonya) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra mikrotüplerin içerisindeki örnekler mikropipet yardımıyla collection tüplere aktarılmış ve 2 dk 13000 rpm'de santrifüjlenerek filtrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Filtreden geçen kısım yeniden mikrotüplere aktarılmış ve mikrotüplere 450 μ L PC tamponu eklenerek vortekslenmiştir. Tampon ile iyice karışan lizatlardan mikropipet yardımıyla 700 μ L çekilerek yeniden collection tüplere aktarılmış ve 1 dk 13000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası filtrenin altında kalan kısım dökülmüş ve 400 μ L PW1 tamponu eklenerek 1 dk 13000 rpm'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Filtrenin altında kalan kısım dökülmüş ve bu sefer 700 μ L PW2 tamponu eklenerek 1 dk 13000 rpm'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi tamamlanan örneklerin filtreleri mikrotüplere aktarılmış ve 65 °C'de önceden ısıtılmış 50 μ L TE (10 mM Tris-HCL and 1 mM EDTA, pH 8.0) tampon çözeltisi eklenerek 5 dk 65 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası mikrotüpler 1 dk 13000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bu işlem tekrarlanmış ve 100 μ L stok genomik DNA çözeltisi elde edilmiştir. Genomik DNA'nın tamponun içerisinde çözünmesi için en az 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. DNA izolasyonu ait görseller Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Genomik DNA izolasyonu aşamalarına ait görseller

TE tamponu içerisinde çözdürülmüş DNA'ların yoğunlukları, standart DNA (λ) ile agaroz jel elektroforezinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. Her bir genotipten elde edilen 5 μ L hacimde DNA 2 μ L 6X yükleme boyası ile karıştırılarak önceden hazırlanmış %1'lik agaroz jele otomatik pipet yardımıyla yüklenmiştir. Elektroforez cihazında 65 volttta 30 dk yürütülen jeller, UV görüntüleme cihazı (Solo Touch, UVP-Analytik Jena AG, İngiltere) yardımıyla görüntülenmiştir. Yoğun olduğu belirlenen DNA'lar, standart DNA ile karşılaştırılmış ve TE tamponu eklenerek seyreltilmiştir. Seyreltme işlemi sonrası polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizlerinde kullanılacak DNA'lar +4 °C'de, geri kalan stok DNA'lar ise -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Elde edilen DNA'lara ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Genomik DNA'lara ait örnek agaroz jel görüntüsü

3.2.2.Moleküler belirteçlerin belirlenmesi

Çalışma kapsamında kullanılan genetik materyallerin lipoksijenaz aktivitesinin genetik olarak belirlenmesi için daha önceki çalışmalarda geliştirilen moleküler belirteçler polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizlerinde kullanılmıştır. Moleküler belirteçlerin seçimi öncesinde detaylı bir kaynak taraması yapılmış ve moleküler belirteç destekli seçim (MAS) çalışmalarında en güvenilir ve yaygın olarak kullanılanların seçilmesine önem verilmiştir.

Lpx-B1.1, *Lpx-B1.2* ve *Lpx-B1.3* lokuslarındaki allelik varyasyonun belirlenebilmesi için Verlotta vd. (2010) tarafından geliştirilen moleküler belirteçler kullanılırken *TaLox-B1*, *TaLox-B2* ve *TaLox-B3* lokuslarındaki allelik varyasyonun tespitinde Geng vd. (2011, 2012) tarafından geliştirilen belirteçler kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan moleküler belirteçlere ait bilgiler Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan moleküler belirteçlere ait bilgiler

Belirteç	Baz dizilimi (5'-3')	Bağlanma sıcaklığı (°C)	Fragman boyutu (bp)	Kaynak	
<i>Lpx-B1.1a/Lpx-B1.1b</i>	GCAGGCGCTGGAAAGCAACAGGC ACTCCGCGTACTCGTCCGTC	68	992	Verlotta vd. 2010	
<i>Lpx-B1.1c</i>	CCAAGATGATACTGGGCGGGC CGCCGCTTGCCGTGGTTGG	67	1558		
<i>Lpx-B1.2</i>	TACACGCCGGTGCCGAGCGGCAG CGTGTCACGCTGCCGAGGTAGAG		1137		
<i>Lpx-B1.3</i>	CCGGTGCCGAGCGGCTCCATG CGGTCGGGAGGAACCCCGGTAG		871		
<i>LOX16</i>	CCATGACCTGATCCTTCCCTT GCGCGGATAGGGGTGGT	60	489		Geng vd. 2012
<i>LOX18</i>	ACGATGTGAGTTGTGACTTGTGA GCGCGGATAGGGGTGC	60	791		
<i>Lox-B23</i>	TTCCCGCTCCAGTCATCAA AGGGCCTGCATGCAACAAGT	64	788/677/660	Zhang vd. 2015	

3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu

PZR çalışmalarında Verlotta vd. (2010), Geng vd. (2011, 2012), Zhang vd. (2015) ve Parada vd. (2020) tarafından önerilen reaksiyon hacmi ve koşulları kullanılmıştır. Önerilen hacim ve koşullarda tam sonuç alınmadığı durumlarda gradient PZR ile ilgili belirteç için en uygun bağlanma sıcaklığı bulunarak optimizasyon sağlanmıştır. İlgili lokuslar için optimize edilen reaksiyon hacmi ve PZR koşulları Çizelge 3.3’te verilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan cihazlara ait görseller Şekil 3.4’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Her bir belirteç için PZR çalışmalarında kullanılan reaksiyon hacmi, reaksiyon içeriği ve çoğaltma koşulları

Belirteç	Reaksiyon hacmi	Reaksiyon içeriği	Çoğaltma koşulları
<i>Lpx-B1.1a/Lpx-B1.1b</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.2 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 1'; 35 x (94 °C 30"; 68 °C 10"; 72 °C 1'25"); 1 x 72 °C 7'
<i>Lpx-B1.1c</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.2 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 1'; 35 x (94 °C 30"; 67 °C 20"; 72 °C 1'35"); 1 x 72 °C 7'
<i>Lpx-B1.2</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.2 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 5'; 35 x (94 °C 1'; 72 °C 30"; 72 °C 1'); 1 x 72 °C 7'
<i>Lpx-B1.3</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.2 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 5'; 35 x (94 °C 1'; 72 °C 30"; 72 °C 1'); 1 x 72 °C 7'
<i>LOX16</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.15 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 5'; 35 x (94 °C 45"; 60 °C 45"; 72 °C 1'30"); 1 x 72 °C 10'
<i>LOX18</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.15 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 5'; 35 x (94 °C 45"; 60 °C 45"; 72 °C 1'30"); 1 x 72 °C 10'
<i>Lox-B23</i>	20 µL	1X PZR tamponu (Thermo Scientific), 1.5 mM MgCl ₂ , 0.2 mM dNTPs, 10 pmol forward ve reverse primer, 1 U <i>Taq</i> polimeraz (Thermo Scientific), 100 ng kalıp DNA	1 x 94 °C 5'; 35 x (94 °C 45"; 64 °C 45"; 72 °C 1'30"); 1 x 72 °C 10'



Şekil 3.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan cihazlara ait görüntüler; **a:** Santrifüj cihazı, **b:** PZR cihazı (Thermal Cycler), **c:** Agaroz jel elektroforezi, **d:** UV görüntüleme cihazı.

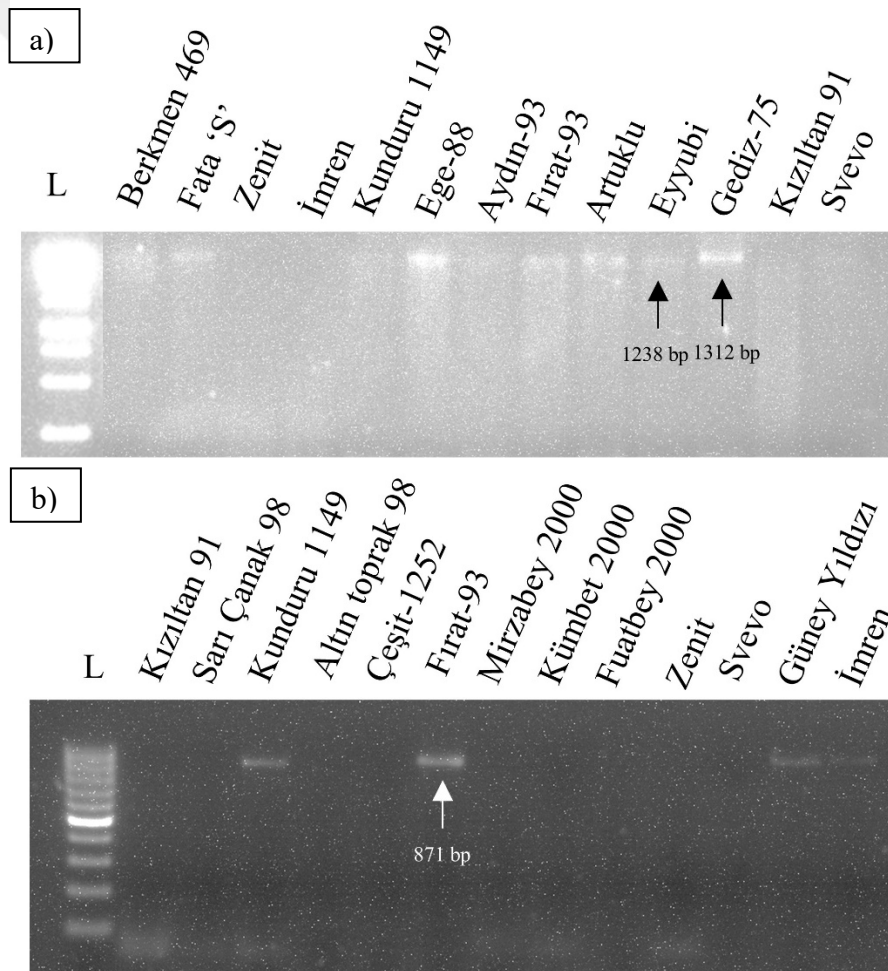
3.2.4. Jel elektroforezi ve görüntüleme

Agaroz jel elektroforezinde tampon çözeltisi olarak Tris/Borik asit/EDTA (TBE) kullanılmıştır. 54 g/L trizma (Tris-HCl), 27.5 g/L borik asit ve 40 mL EDTA (0.5 M, pH: 8.3) 1 L suda çözülürken 10X yoğunluğunda TBE elde edilmiştir. Tampon çözelti, distile su ile 1X yoğunluğuna seyreltilerek analizlerde kullanılmıştır. Tüm analizler %1.5'lük agaroz jel kullanılarak yürütülmüştür. PZR'da çoğaltılan ürünleri karşılaştırmak için daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen bant büyüklükleri dikkate alınarak çalışmada 100 bp ve 1 kb'lik DNA cetvelleri (GeneRuler®, Thermo Scientific) kullanılmıştır. Elektroforez sonrasında jeller, UV görüntüleme cihazı (Solo Touch, UVP-Analytik Jena AG, İngiltere) yardımıyla görüntülenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Lipoksigenaz Aktivitesi Bakımından Genotipik Tanımlanması

Materyal ve metot kısmında da açıklandığı üzere 56 makarnalık buğday çeşidinde *Lpx* genleri/allellerinin tanımlanması için PZR analizleri yürütülmüş ve agaroz jel elektroforezi yardımıyla görüntülenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da bulunduğu üzere *Lpx-B1.1a* allelini bulunduran çeşitler 1312 bp, *Lpx-B1.1b* allelini bulunduran çeşitler ise 1238 bp uzunluğundaki fragman ile tanımlanmaktadır (Verlotta vd. 2010). Aynı şekilde *Lpx-B1.1c* alleli 1558 bp, *Lpx-B1.2* alleli 1137 bp ve *Lpx-B1.3* alleli ise 871 bp uzunluğundaki fragman ile tanımlanabilmektedir. Çalışma kapsamında *Lpx-B1* lokusu için elde edilen örnek jel görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Agaroz jel görüntülerinin değerlendirilmesi ile çeşitlerin bu lokus bakımından allelik durumları belirlenmiş ve bu sonuçlar da Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Lpx-B1* lokusunun analizi için elde edilen örnek jel görüntüleri [a) 1312 bp büyüklüğündeki fragman *Lpx-B1.1a* alleli, 1238 bp büyüklüğündeki fragman *Lpx-B1.1b*, b) 871 bp uzunluğundaki fragman *Lpx-B1.3*, boş olanlar *Lpx-B1.2*]

Verlotta vd. (2010) bu allellerin 5 farklı şekilde birliktelik oluşturduğu ve *Lpx-B1.1b* ve *Lpx-B1.3* birlikteliğine sahip genotiplerin haplotip I, *Lpx-B1.1a* ve *Lpx-B1.2*

birlikteliğine sahip genotiplerin haplotip II ve *Lpx-B1.1c* ve *Lpx-B1.2* birlikteliğine sahip genotiplerin ise haplotip III olarak adlandırıldığını bildirmiştir. Bu haplotiplerin de sırasıyla yüksek (4.6 unit/g KM), orta (2.59 unit/g KM) ve düşük (0.12 unit/g KM) lipoksigenaz aktivitesini doğruladığını vurgulamıştır.

Çizelge 4.1 *Lpx-B1* genleri ve allellerinin 56 makarnalık buğday çeşidi arasındaki dağılımı

Çeşitler	Lokus					<i>Lpx-B1</i> Haplotipi
	<i>Lpx-B1.1</i>			<i>Lpx-B1.2</i>	<i>Lpx-B1.3</i>	
	<i>Lpx-B1.1a</i>	<i>Lpx-B1.1b</i>	<i>Lpx-B1.1c</i>			
Eski (1970 ve öncesi)						
Kunduru 414/44	√			√		II
Akbaşak073/144	√			√		II
Fata 'S'		√			√	I
Berkmen 469		√			√	I
Kunduru1149		√			√	I
Orta (1971-1990)						
Gediz-75	√			√		II
Tunca 79	√			√		II
Gökgöl 79	√			√		II
Çakmak 79	√			√		II
Diyarbakır-81	√			√		II
Ege 88		√			√	I
Modern (1991-günümüz)						
Kızıltan 91	√			√		II
Sham-1	√			√		II
Salihli 92	√			√		II
Altıntaş 95	√			√		II
Ceylan 95	√			√		II

Çizelge 4.1'in devamı

Selçuklu-97	√			√		II
Amanos-97	√			√		II
Sarı Çanak 98	√			√		II
Altın toprak 98	√			√		II
Aydın-93		√			√	I
Altın 40 /98		√			√	I
Yılmaz 98	√			√		II
Ankara 98	√			√		II
Çeşit-1252	√			√		II
Mirzabey 2000	√			√		II
Kümbet 2000	√			√		II
Yelken 2000	√			√		II
Fuat bey 2000	√			√		II
Pınar-2001	√			√		II
Zenit			√	√		III
Svevo	√			√		II
Meram-2002	√			√		II
Fırat-93		√			√	I
Artuklu		√			√	I
Şölen 2002	√			√		II
Tüten 2002	√			√		II
Akçakale-2000	√			√		II
GAP	√			√		II
Turabi	√			√		II
Özberk	√			√		II
Dumlupınar	√			√		II
Eyyubi		√			√	I
Şahinbey		√			√	I

Çizelge 4.1'in devamı

Zühre		√			√	I
Eminbey	√			√		II
İmren		√			√	I
Güney Yıldızı		√			√	I
Levante	√			√		II
Saragolla	√			√		II
Burgos	√			√		II
Maestrals	√			√		II
Bisante	√			√		II
Sarı Başak	√			√		II
Karam		√			√	I
Tirex	√			√		II

Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar da Verlotta vd. (2010) tarafından önerilen şekilde değerlendirilmiş ve çeşitler allel birlikteliklerine göre haplotiplendirilmiştir (Çizelge 4.2). Buna göre *Lpx-B1* lokusu bakımından 41 çeşit (%73.21) orta lipoksigenaz aktivitesini temsilen haplotip II, 14 çeşit (%25.00) yüksek lipoksigenaz aktivitesini temsilen haplotip I ve 1 çeşit (%1.79) düşük lipoksigenaz aktivitesini temsilen haplotip III olarak sınıflandırılmıştır. Haplotip III olarak tanımlanan çeşit ise Zenit çeşididir.

Çizelge 4.2. Makarnalık buğday çeşitlerinde tanımlanan *Lpx-B1* haplotiplerine ait bilgiler

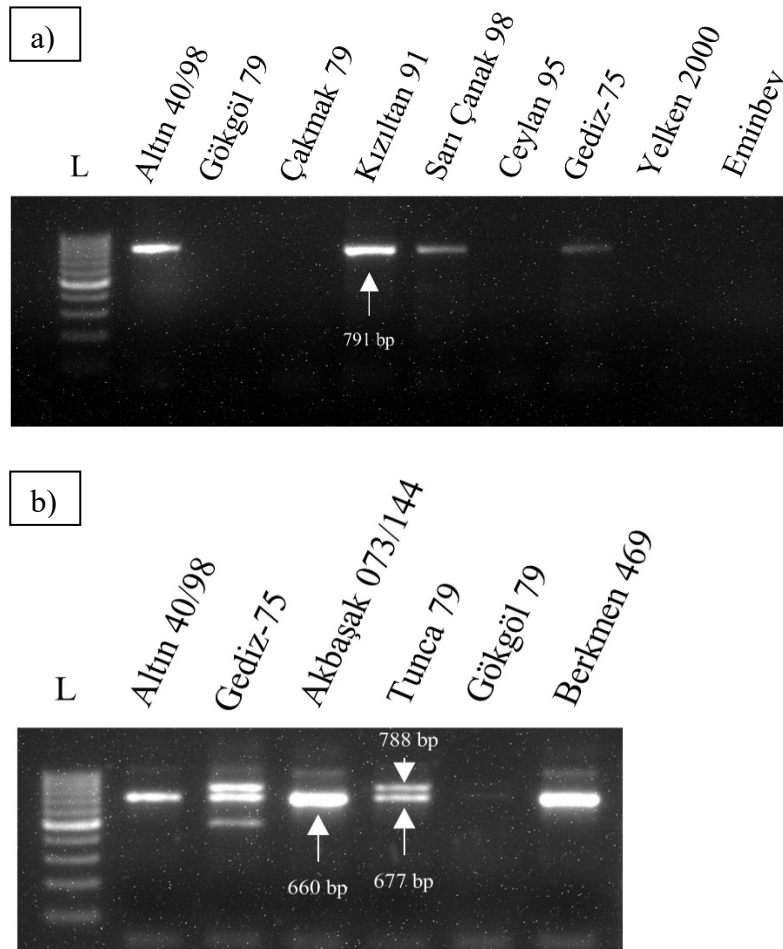
Haplotip	Allel birlikteliği	Genotip sayısı	Frekans (%)
I	<i>Lpx-B1.1b</i> ve <i>Lpx-B1.3</i>	14	25.00
II	<i>Lpx-B1.1.a</i> ve <i>Lpx-B1.2</i>	41	73.21
III	<i>Lpx-B1.1c</i> ve <i>Lpx-B1.3</i>	1	1.79

Çeşit tescil yıllarına göre haplotip durumlarına bakılacak olursa haplotip I'in 1970 yılı ve öncesinde tescil olan çeşitlerdeki dağılımının oldukça yüksek (%60.0) olduğu günümüze kadar gelen süreçte ise azaldığı açık bir şekilde görülmektedir. Bunun yanında tescil yıllarına göre eski (1970 ve öncesi), orta (1971-1990) ve modern (1991-günümüz) olarak tanımlanan tescil dönemlerinin tümünde de en yüksek dağılım haplotip II'de bulunmuştur (Çizelge 4.3). Özellikle orta ve yeni çeşitlerdeki bu artış dolaylı olarak son 30 senede yüksek ırmık rengine dayalı seçimin etkisinden ileri gelebilir.

Çizelge 4.3. *Lpx-B1* haplotiplerinin tescil dönemlerine göre dağılımları

Haplotip	Dağılım (%)		
	Eski	Orta	Modern
I (<i>Lpx-B1.1b</i> ve <i>Lpx-B1.3</i>)	60.0	16.7	22.22
II (<i>Lpx-B1.1.a</i> ve <i>Lpx-B1.2</i>)	40.0	83.3	75.56
III (<i>Lpx-B1.1c</i> ve <i>Lpx-B1.3</i>)	0.0	0.0	2.22

Geng vd. (2012) tarafından *TaLox-B1* lokusu ve Zhang vd. (2015) tarafından *TaLox-B2* lokusu için tasarlanan belirteçler kullanılarak yapılan PZR analizleri sonucunda elde edilen örnek agaroz jel görüntüleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Agaroz jel görüntülerinin değerlendirilmesi ile çeşitlerin bu lokus bakımından allelik durumları belirlenmiş ve bu sonuçlar da Çizelge 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.2. *TaLox-B1* ve *TaLox-B2* lokuslarının analizi için elde edilen örnek jel görüntüleri [a) 791 bp büyüklüğündeki fragman *TaLox-B1b* alleli, boş olanlar *TaLox-*

B1a, b) 788bp ve 677 bp büyüklüğündeki fragmanlar *TaLox-B2a/TaLox-B3*, 660 bp uzunluğundaki fragman *TaLox-B2b* alleli]

Çizelge 4.4. *TaLox-B1* genleri ve allellerinin 56 makarnalık buğday çeşidi arasındaki dağılımı

Çeşitler	Lokus				
	<i>TaLox-B1</i>		<i>TaLox-B2</i>		<i>TaLox-B3</i>
	<i>TaLox-B1a</i>	<i>TaLox-B1b</i>	<i>TaLox-B2a</i>	<i>TaLox-B2b</i>	<i>TaLox-B3a/b</i>
Eski (1970 ve öncesi)					
Kunduru 414/44		√	√		√
Akbaşak073/144		√		√	
Fata 'S'		√	√		√
Berkmen 469		√		√	
Kunduru1149		√	√		√
Orta (1971-1990)					
Gediz-75		√	√		√
Tunca 79		√	√		√
Gökgöl 79	√		√		√
Çakmak 79	√		√		√
Diyarbakır-81		√	√		√
Ege 88		√	√		√
Modern (1991-günümüz)					
Kızıltan 91		√	√		√
Sham-1		√	√		√
Salihli 92		√	√		√
Altıntaş 95		√	√		√
Ceylan 95	√		√		√
Selçuklu-97		√	√		√
Amanos-97		√	√		√

Çizelge 4.4'ün devamı

Sarı Çanak 98		√	√		√
Altın toprak 98		√	√		√
Aydın-93		√	√		√
Altın 40 /98		√		√	
Yılmaz 98		√	√		√
Ankara 98		√	√		√
Çeşit-1252		√	√		√
Mirzabey 2000		√	√		√
Kümbet 2000		√	√		√
Yelken 2000	√		√		√
Fuat bey 2000		√	√		√
Pınar-2001		√	√		√
Zenit		√	√		√
Svevo		√	√		√
Meram-2002		√	√		√
Fırat-93		√	√		√
Artuklu		√	√		√
Şölen 2002		√	√		√
Tüten 2002		√		√	
Akçakale-2000		√	√		√
GAP		√	√		√
Turabi		√	√		√
Özberk		√	√		√
Dumlupınar		√	√		√
Eyyubi		√	√		√
Şahinbey		√	√		√
Zühre		√	√		√
Eminbey	√		√		√

Çizelge 4.4'ün devamı

İmren	√		√		√
Güney Yıldızı		√	√		√
Levante		√	√		√
Saragolla		√	√		√
Burgos	√		√		√
Maestrale	√		√		√
Bisante		√	√		√
Sarı Başak		√	√		√
Karam		√	√		√
Tirex	√		√		√

TaLox-B1 lokusu bakımından elde edilen sonuçlar incelendiğinde 9 çeşidin (%16.07) *TaLox-B1a* alleleline sahip olduğu geri kalan 47 çeşidin (%83.93) *TaLox-B1b* alleleline sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5). Bu allelik varyasyonu ortaya çıkarmak için kullanılan belirteçlerin geliştirildiği çalışmada *TaLox-B1a* allelinin yüksek ve *TaLox-B1b* allelinin yüksek lipoksigenaz aktivitesine yol açtığı ve bunun biyokimyasal yöntemlerle doğrulandığı belirtilmiştir. *TaLox-B2* lokusu bakımından elde edilen sonuçlar incelendiğinde *TaLox-B2a/TaLox-B3* allel birlikteliğine sahip çeşit sayısı 52 (%92.86) olarak tespit edilirken 4 çeşidin (%7.14) de sadece *TaLox-B2b* alleleline sahip olduğu belirlenmiştir. Zhang vd. (2015) özellikle *TaLox-B1a/TaLox-B2a/TaLox-B3a* allel birlikteliklerinin yüksek lipoksigenaz aktivitesine buna karşın *TaLox-B1a/TaLox-B2b/TaLox-B3b* allel birlikteliğinin ise istatistiki olarak düşük lipoksigenaz aktivitesine yol açtığını vurgulamıştır. Bu çalışmada da *TaLox-B1* ve *TaLox-B2* lokusu birlikte değerlendirildiğinde 43 çeşidin *TaLox-B1b/TaLox-B2a/TaLox-B3* allel birlikteliğine, 9 çeşidin *TaLox-B1a/TaLox-B2a/TaLox-B3* allel birlikteliğine ve 4 çeşidin de *TaLox-B1b/TaLox-B2b* allel birlikteliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu birlikteliklerden de çeşitlerin çoğunluğunun orta lipoksigenaz aktivitesine sahip olduğu söylenebilir. Ancak daha kesin sonuca ulaşmak için *TaLox-B3* lokusu için ayırıcı bir belirteç kullanılarak allelik varyasyonun belirlenmesi gereklidir.

Çizelge 4.5. Makarnalık buğday çeşitlerinde tanımlanan *TaLox-B1* ve *TaLox-B2* allellere ait bilgiler

Belirteç	Allel	N*	Frekans (%)
Lox-B23	<i>TaLox-B2a/TaLox-B3</i>	52	92.86
	<i>TaLox-B2b</i>	4	7.14
Lox-16	<i>TaLox-B1a</i>	9	16.07
Lox-18	<i>TaLox-B1b</i>	47	83.93

Ülkemizde makarnalık buğdaylarda lipoksigenaz aktivitesinin belirlenmesi konusunda şu ana kadar yapılmış çok az çalışma bulunmaktadır. En öne çıkan çalışma Coşkun ve Ercan (2003) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 9 farklı makarnalık buğday çeşidinin danesinde ve bu danelerden elde edilen irmik ve makarnasında lipoksigenaz aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre danedeki lipoksigenaz aktiviteleri bakımından çeşitler yüksekten küçüğe Çakmak 79, Kunduru 1149, Ege-88, Çeşit-1252, Salihli 92, Kızıltan, Cosmidur, Diyarbakır 81 ve Gediz 75 olarak sıralanmıştır. Bu tez çalışmasında da Coşkun ve Ercan (2003) tarafından yapılan çalışmada da olduğu gibi Cosmidur çeşidi hariç diğer çeşitler kullanılmış ve genotipik olarak elde edilen verilerin uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Ancak Coşkun ve Ercan (2003) tarafından yürütülen çalışmada kullanılan çeşitlere ait danelerin farklı lokasyonlardan ve tek yıllık verilerden elde edilmiş olmasından dolayı kesin bir yargıya ulaşılamayacağı düşünülmektedir. Çünkü her ne kadar bu özellik genotipik olarak kontrol edilse de (Verlotta vd. 2010; Geng vd. 2011, 2012; Zhang vd. 2015) çevresel varyasyonun etkisi de oldukça fazladır. Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada da (Ates Sonmezoglu ve Balkan 2014) 15 saf hat ve 7 tescilli çeşitten oluşan 22 genotiplik bir makarnalık buğday setinde moleküler ve biyokimyasal yöntemler kullanarak LOX aktivitesi ve pigment içeriğini belirlenmiştir. Çalışma ile elde edilen sonuçlara göre Gediz-75 ve Zenit çeşitleri ile 4 hattın düşük LOX aktivitesi ile ilişki olarak kaliteli makarna üretimi için en uygun genotipler olduğunu belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen moleküler veriler önceki araştırmada kullanılan çeşitler ile büyük oranda benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Ülkemizdeki makarnalık buğday ıslahı çalışmalarında irmik rengi yüksek genotiplerin seçimine dönük olarak yıllardır melezleme ve seçim (seleksiyon) yapılmaktadır. Genellikle fenotipe dayalı olarak yani doğrudan daneden ya da irmikten renk ölçümüyle yapılan analiz sonuçlarına göre seçim yapılmaktadır. Yüksek irmik rengi tek başına yeterli olmayıp bu genotiplerin aynı zamanda sarılık değerlerini (irmik rengi) makarna yapımı sonrası koruyabilmesi için aynı zamanda düşük lipoksigenaz aktivitelerine de sahip olmaları gerekmektedir. Moleküler tekniklerin gelişmesi ve ıslah çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaya başlanması ile birlikte hem fenotip hem de genotipe dayalı ıslah çalışmaları özellikle gelişmiş ülkelerin ıslah programlarında yer almaya başlamıştır. Bu bağlamda ülkemizde tescil edilen eski ve yeni makarnalık buğday çeşitlerinin lipoksigenaz aktivitelerindeki genetik varyasyonun belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışma kapsamında 56 adet makarnalık buğday çeşidindeki LOX aktivitesi bakımından genetik değişimin (varyasyonun) 7 ayrı moleküler belirteç kullanılarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. Daha önce yapılan QTL analizlerine göre lipoksigenaz aktivitesindeki varyasyonu önemli ölçüde açıklayan (%36-54) *Lpx-B1* lokusu bakımından eski (1970 öncesi) orta (1971-1990) ve yeni (modern) (1991 sonrası) geliştirilen çeşitler arasında LOX aktivitesindeki değişimi belirlemek amacıyla [yüksek (haplotip I; *Lpx-B1.1b* ve *Lpx-B1.3*), orta (haplotip II; *Lpx-B1.1.a* ve *Lpx-B1.2*) ve düşük (haplotip III; *Lpx-B1.1c* ve *Lpx-B1.3*)] uluslararası kaynaklarla da uyumlu bir biçimde oluşturulan allel birlikteliği (kombinasyonları) göre:

a) Genotiplerin büyük çoğunluğu (41 adet) moleküler olarak orta (II) LOX aktivitesine sahip iken (%73.21) bunu %25 ile yüksek (I) LOX aktivitesine sahip grup izlemiş ve sadece 1 çeşit düşük LOX aktivitesine sahip olarak tanımlanmıştır,

b) Tescil yıllarına göre çeşitler değerlendirildiğinde ise eski çeşitlerde daha çok yüksek LOX aktivitesi (Haplotip I) (%60.0) gözlenirken orta ve yeni çeşitlerde Haplotip II oranları sırasıyla % 83.3 ve % 75.6 olarak daha yüksek bulunmuştur,

c) Eski çeşitlerden orta ve günümüz çeşitlerine doğru gelirken yüksek LOX aktivitesine sahip (Haplotip I) çeşitlerin oranında bir düşüş olurken özellikle Haplotip II oranında belirgin bir görülmektedir.

2. Diğer LOX genlerinden *Lpx-B1.2* ve *Lpx-B1.3* bakımından da önemli düzeyde değişim belirlenmiştir,

3. Makarnalık buğday çeşitlerinde tanımlanan *TaLox-B1* ve *TaLox-B2* allelleri birlikte değerlendirildiğinde ise araştırmada kullanılan çeşitlerin çoğunluğunun orta lipoksigenaz aktivitesine sahip olduğu dolayısıyla bu lokuslardan elde edilen verilerin *Lpx-B1* lokusundan elde edilen bulgularla büyük oradan benzerlik gösterdiği saptanmıştır,

4. Bu çalışmadan elde edilen moleküler verilerin aynı çeşitler kullanılarak fenotipik olarak elde edilecek LOX ve irmik rengi verileriyle doğrulanması gerekmektedir,

5. Fenotipik olarak doğrulanan haplotip birliktelikleri makarnalık buğday ıslahında hatların seçiminde hız ve etkinliği artırabilecektir.



6. KAYNAKLAR

- Aalami, M., Leelavathi, K. and Prasada Rao, U.J.S. 2007. Spaghetti making potential of Indian durum wheat varieties in relation to their protein, yellow pigment and enzyme contents. *Food Chemistry*, 100: 1243-1248.
- Adom, K.K., Sorrells, M.E. and Liu, R.H. 2003. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7825-7834.
- Anonymous 1: Trade statistics for international business development. <https://trademap.org> [Son erişim tarihi: 20.04.2019].
- Ates Sonmezoglu, O. and Balkan, A.S. 2014. Molecular and biochemical analysis of durum wheat genotypes to examine carotenoid pigment content and lipoxygenase enzyme activity. *Cereal Research Communications*, 42(2): 218-228.
- Atlı, A., Aktan, B., Şanal, T., Kaplan Evlice, A., Ünsal, S., Dönmez, E., Köten, M., Pehlivan, A. ve Özderen, T. 2010. Makarnalık buğdayın kalite özellikleri ve kalite değerlendirme. Makarnalık Buğday ve Mamülleri Konferansı, ss. 91-109, 7-18 Mayıs 2010, Şanlıurfa.
- Baik, B.K., Czuchajowska, Z. and Pomeranz, Y. 1995. Discoloration of dough for oriental noodles. *Cereal Chemistry*, 72: 198-205.
- Balkan, A.S. 2011. Bazı makarnalık buğday genotiplerinin pigment içeriği ve lipoksijenaz aktivitesi bakımından moleküler ve biyokimyasal analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, 82 s.
- Berg, C., Hammarstrom, S., Herbertsson, H., Lindstrom, E., Svensson, A.C., Soderstrom, M., Tengvall, P. and Bengtsson, T. 2006. Platelet-induced growth of human fibroblasts is associated with an increased expression of 5-lipoxygenase. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 96: 652-659.
- Borrelli, G.M., Troccoli, A., Di Fonzo, N. and Fares, C. 1999. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. *Cereal Chemistry*, 76: 335-340.
- Borrelli, G.M., De Leonardis, A.M., Fares, C., Platani, C. and Di Fonzo, N. 2003. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. *Cereal Chemistry*, 80: 225-231.
- Borrelli, G.M., De Leonardis, A.M., Platani, C. and Troccoli, A. 2008. Distribution along durum wheat kernel of the components involved in semolina colour. *Journal of Cereal Science*, 48: 494-502.
- Bushuk, W. 1998. Wheat breeding for end-product use. *Euphytica*, 100: 137-145.
- Campos, K.M., Royo, C., Schulthess, A., Villegas, D., Matus, I., Ammar, K. and Schwember, A.R. 2015. Association of phytoene synthase *Psy1-A1* and *Psy1-B1*

- allelic variants with semolina yellowness in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Euphytica*, 207: 109-117.
- Carrera, A., Echenique, V., Zhang, W., Helguera, M., Manthey, F., Schrager, A., Picca, A., Cervigni, G. and Dubcovsky, J. 2007. A deletion at the *Lpx-B1* locus is associated with low lipoxygenase activity and improved pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *Journal of Cereal Science*, 45: 67-77.
- Chang, C., Zhang, H.P., Xu, J., You, M.S., Li, B.Y. and Liu, G.T. 2007. Variation in two PPO genes associated with polyphenol oxidase activity in seeds of common wheat. *Euphytica*, 154: 181-193.
- Clarke, J.M., Marchylo, B.A., Kovacs, M.I.P., Noll, J.S., McCaig, T.N. and Howes, N.K. 1998. Breeding durum wheat for pasta quality in Canada. *Euphytica*, 100: 163-170.
- Clarke, F.R., Clarke, J.M., McCaig, T.N., Knox, R.E. and DePauw, R.M. 2006. Inheritance of yellow pigment concentration in seven durum wheat crosses. *Canadian Journal of Plant Science*, 86: 133-141.
- Coşkun, E. ve Ercan, R. 2003. Makarnalık buğdaylarda lipoksigenaz enzim aktivitesinin belirlenmesi. *Gıda*, 28(3): 221-226.
- Crawford, A.C., Stefanova, K., Lambe, W., McLean, R., Wilson, R., Barclay, I. and Francki, M.G. 2011. Functional relationships of *phytoene synthase 1* alleles on chromosome 7A controlling flour colour variation in selected Australian wheat genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, 123 :95-108.
- De Simone, V., Menzo, V., De Leonardi, A.M., Ficco, D.B.M., Trono, D., Cattivelli, L. and De Vita, P. 2010. Different mechanisms control lipoxygenase activity in durum wheat kernels. *Journal of Cereal Science*, 52: 121-128.
- Eserkaya, G.T. 2010. Yerel makarnalık buğday çeşitlerinin makarna kalitesini etkileyen y-gliadin genleri bakımından moleküler ve biyokimyasal analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 67 s.
- FAOSTAT 2022. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Son erişim tarihi: 20.05.2022].
- Feng, B., Dong, Z., Xu, Z., An X., Qin, H., Wu, H., Wang, D. And Wang, T. 2010. Molecular analysis of lipoxygenase (LOX) genes in common wheat and phylogenetic investigation of LOX proteins from model and crop plants. *Journal of Cereal Science*, 52: 387-394.
- Feng, B., Dong, Z., Xu, Z., Wang, D. and Wang, T. 2012. Molecular characterization of a novel type of lipoxygenase (LOX) gene from common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*, 30: 113-124.
- Garbus, I., Carrera, A.D., Dubcovsky, J. and Echenique, V. 2009. Physical mapping of durum wheat lipoxygenase genes. *Journal of Cereal Science*, 50: 67-73.

- Garbus, I., Soresi, D., Romero, J. and Echenique, V. 2013. Identification, mapping and evolutionary course of wheat *lipoxygenase-1* genes located on the A genome. *Journal of Cereal Science*, 58: 298-304.
- Geng, H., Zhang, Y., He, Z., Zhang, L., Appels, R., Qu, Y. and Xia, X. 2011. Molecular markers for tracking variation in lipoxygenase activity in wheat breeding. *Molecular Breeding*, 28: 117-126.
- Geng, H., Xia, X., Zhang, L., Qu, Y. and He, Z. 2012. Development of functional markers for a lipoxygenase gene *TaLox-B1* on chromosome 4BS in common wheat. *Crop Science*, 52: 568-576.
- Hare, R. 2006. Agronomy of the durum wheats Kamilaroi, Yallaroi, Wollaroi and EGA Bellaroi. https://www.dpi.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0007/63646/Agronomy-of-the-durum-wheats---Primefact-140-final.pdf [Son erişim tarihi: 16.05.2022].
- He, X.Y., Zhang, Y.L., He, Z.H., Wu, Y.P., Xiao, Y.G., Ma, C.X. and Xia, X.C. 2008. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theoretical Applied Genetics*, 116: 213-221.
- He, X., Wang, J., Ammar, K., Peña, R.J., Xia, X., and He, Z. 2009a. Allelic variants at the and loci in durum wheat and their associations with grain yellowness. *Crop Science*, 49: 2058.
- He, X.Y., He, Z.H., Ma, W., Appels, R. and Xia, X.C. 2009b. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour. *Molecular Breeding*, 23: 553-563.
- Hentschel, V., Kranl, K., Hollmann, J., Lindhauer, M.G., Bohm, V. and Bitsch, R. 2002. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by high-performance liquid chromatography in durum wheat grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6663-6668.
- Hessler, T.G., Thomson, M.J., Benscher, D., Nachit, M. and Sorrells, M. 2002. Association of a lipoxygenase locus, *Lpx-B1*, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds. *Crop Science*, 42: 1695-1700.
- Holtman, W.L., Van Duijn, G., Sedee, N., and Douma, A.C. 1996. Differential expression of lipoxygenase isoenzymes in embryos of germinating barley. *Plant Physiology*, 111: 569-576.
- Hoseney, R.C. 1994. Principles of Cereal Science and Technology, 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, USA.
- IPO. 2017. Annual report 2017. <https://internationalpasta.org/annual-report/> [Son erişim tarihi: 10.05.2018].

- Kaur, S., Kukreja, S., Salaria, N. and Goutam, U. 2019. Biochemical and molecular analysis of Indian durum wheat genotypes for lipoxygenase activity and yellow pigment content. *Think India Journal*, 22(34): 658-668.
- Koyuncu, M. 2009. Yerel durum buğday çeşitlerinin makarnalık kalitelerini etkileyen önemli parametreler bakımından taranması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 49 s.
- Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Boussard, A., Potus, J., Chanliaud, E. and 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.
- Loiseau, J., Vu, B.L., Macherel, M.H. and Deunff, Y.L. 2001. Seed lipoxygenases: occurrence and functions. *Seed Science Research*, 11: 199-211.
- Lv, G., Tian, Q., Zhang, F., Chen, J., Niaz, M., Liu, C., Hu, H., Sun, C., and Chen, F. 2021. Reduced expression of lipoxygenase genes improves flour processing quality in soft wheat. *Journal of Experimental Botany*, 72(18): 6247-6259.
- Magallanes-López, A.M., Ammar, K., Morales-Dorantes, A., González-Santoyo, H., Crossa, J. and Guzmán, C. 2017. Grain quality traits of commercial durum wheat varieties and their relationships with drought stress and glutenins composition. *Journal of Cereal Science*, 75: 1-9.
- Manna, F., Borrelli, G.M., Massardo, D.R., Wolf, K., Alifano, P., Giudice, D.L. and Di Fonzo, N. 1998. Differential expression of lipoxygenase genes among durum wheat cultivars. *Cereal Research Communications*, 26: 23-30.
- Morris, C.F., Campbell, K.G. and King, G.E. 2004. Characterization of the end-use quality of soft wheat cultivars from the eastern and western US germplasm 'pools'. *Plant Genetic Resources*, 2: 59-69.
- Özbey, R. 2016. Makarnalık buğdayda *LPX-B1* geni bakımından melez hatların elde edilmesi ve taranması. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, 65 s.
- Parada, R., Royo, C., Gadaleta, A., Colasuonno, P., Marcotuli, I., Matus, I., Castillo, D., de Camargo, A.C., Araya-Flores, J., Villegas, D. and Schwember, A.R. 2020. *Phytoene synthase 1 (Psy-1)* and *lipoxygenase 1 (Lpx-1)* genes influence on semolina yellowness in wheat Mediterranean germplasm. *International of Molecular Sciences*, 21: 4669.
- Patil, R.M., Oak, M.D., Tamhankar, S.A., Sourdille, P. and 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.
- Patil, R., Oak, M., Deshpande, A. and Tamhankar, S. 2018. Development of a robust marker for *Psy-1* homoeologs and its application in improvement of yellow pigment content in durum wheat. *Molecular Breeding*, 38: 136.

- Permyakova, M.D., Trufanov, V.A., Pshenichnikova, T.A. and Ermakova, M.F. 2010. Role of lipoxygenase in the determination of wheat grain quality. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46: 87-92.
- Permyakova, M.D. and Trufanov, V.A. 2011. Effect of soybean lipoxygenase on baking properties of wheat flour. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47: 315-320.
- Porceddu, E. and Blanco, A. 2014. Evolution of durum wheat breeding in Italy. In: Proceedings of the International Symposium on Genetics and Breeding of Durum Wheat; Porceddu, E., Qualset, C.O., Damania, A.B., Eds.; CIHEAM: Bari, Italy, pp. 157-173.
- Roncallo, P.F., Cerbigni, G.L., Jensen, C., Miranda, R., Carrera, A.D., Helguera, M. and Echenique, V. 2012. QTL analysis of main and epistatic effects for flour color traits in durum wheat. *Euphytica*, 185: 77-92.
- Sayaslan, A. 2005. Sağlıklı beslenme açısından gıdaların glisemik indeksi. *Dünya Gıda*, 10: 84-91.
- Seltmann, M.A., Stingl, N.E., Lautenschlaeger, J.K., Krischke, M., Mueller, M.J. and Berger, S. 2010. Differential impact of lipoxygenase 2 and jasmonates on natural and stress-induced senescence in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 152: 1940-1950.
- Shiiba, K., Nengishi, Y., Okada, K. and Nagao, S. 1991. Purification and characterization of lipoxygenase isozymes from wheat germ. *Cereal Chemistry*, 68: 115-122.
- Singh, A., Reimer, S., Pozniak, C.J., Clarke, F.R., Clarke, J.M., Knox, R.E. and Singh, A.K. 2009. Allelic variation at *PsyI-A1* and association with yellow pigment in durum wheat grain. *Theoretical and Applied Genetics*, 118: 1539-1548.
- Tolouie, H., Mohammadifar, M.A., Ghomi, H., Yaghoubi, A.S. and Hashemi, M. 2018. The impact of atmospheric cold plasma treatment on inactivation of lipase and lipoxygenase of wheat germs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47: 346-352.
- Troccoli, A., Borrelli, G.M., De Vita, P., Fares, C. and Di Fonzo, N. 2000. Mini review: Durum wheat quality: A multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science*, 32: 99-113.
- Trufanov, V.A., Permyakova, M.D., Pshenichnikova, T.A., Ermakova, M.F., Davydov, V.A., Permyakov, A.V. and Berezovskaya, E.V. 2007. The effect of intercultivar substitution of wheat *Triticum aestivum* L. Chromosomes on lipoxygenase activity and its correlation with the technological properties of flour. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 43: 91-97.
- TÜİK, 2022. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> [Son erişim tarihi: 25.05.2022].

- van Mechelen, J.R., Smits, M., Douma, A.C., Rouster, J., Cameron-Mills, V., Heidekamp, F. and Valk, B.E. 1995. Primary structure of a lipoxygenase from barley grain as deduced from its cDNA sequence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1254: 221-225.
- van Mechelen, J.R., Schuurink, R.C., Smits, M., Graner, A., Douma, A.C., Sedee, N.J.A., Schmitt, N.F. and Valk, B.E. 1999. Molecular characterization of two lipoxygenases from barley. *Plant Molecular Biology*, 39: 1283-1289.
- Verlotta, A., De Simone, V., Mastrangelo, A.M., Cattivelli, L., Papa, R. and Trono, D. 2010. Insight into durum wheat *Lpx-B1*: A small gene family coding for the lipoxygenase responsible for carotenoid bleaching in mature grains. *BMC Plant Biology*, 10: 263.
- Veronico, P., Giannino, D., Melillo, M.T., Leone, A., Reyes, A., Kennedy, M.W. and Bleve-Zacheo, T. 2006. A novel lipoxygenase in pea roots. Its function in wounding and biotic stress. *Plant Physiology*, 141: 1045-1055.
- Wang, R., Shen, W.B., Liu, L.L., Jiang, L., Liu, Y.Q., Su, N. and Wan, J.M. 2008. A novel lipoxygenase gene from developing rice seeds confers dual position specificity and responds to wounding and insect attack. *Plant Molecular Biology*, 66: 401-414.
- Yang, G., Schwarz, P.B. and Vick, B.A. 1993. Purification and characterization of lipoxygenase isoenzymes in germinating barley. *Cereal Chemistry*, 70: 589-595.
- Yang, Y., Qu, J., Zhang, J., Xiang, S., Li, J. and Wan, H. 2021. Seed storability of CIMMYT core wheat germplasm panel and their haplotypes in *Lipoxygenase* locus. *Agricultural Sciences*, 12(9): 977-989.
- Yüksel, F., Koyuncu, M. ve Sayaslan, A. 2011. Makarnalık buğday (*Triticum durum*) kalitesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(2): 25-31.
- Zhai, S., Li, G., Sun, Y., Song, J., Li, J., Song, G., Li, Y., Ling, H., He, Z. and Xia, X. 2016. Genetic analysis of phytoene synthase 1 (*Psy1*) gene function and regulation in common wheat. *BMC Plant Biology*, 16: 228.
- Zhang, W., Chao, S., Manthey, F., Chicaiza, O., Brevis, J.C., Echenique, V. and Dubcovsky, J. 2008. QTL analysis of pasta quality using a composite microsatellite and SNP map of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 117: 1361-1377.
- Zhang, F., Chen, F., Wu, P., Zhang, N. and Cui, D. 2015. Molecular characterization of lipoxygenase genes on chromosome 4BS in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical Applied Genetics*, 128: 1467-1479.
- Zheng, W.Y., Zhao, L., Li, Y.M., Li, J., Zhi, Z.H., and Yao, D.N. 2022. Association analysis between Lipoxygenase activity and SSR markers in wheat grains. *Cereal Research Communications*, 50: 297-303.

Žilić, S., Dodig, D., Šukalović, V.H.T., Maksimović, M., Saratlić, G. and Škrbić, B. 2010. Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and lipoxygenase and peroxidase activities. *International Journal Food Science and Technology*, 45: 1360-1367.



ÖZGEÇMİŞ

Medine YURDUSEVEN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2019-2022	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2015-2019	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya