ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Hasan PINAR

BİBERDE (*Capsicum annuum L.*) ÇİNKO ETKİNLİĞİNİ KONTROL EDEN GENLERİN KALITIMININ BELİRLENMESİ VE İLİŞKİLİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN GELİŞTİRİLMESİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA 2013

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİBERDE (*Capsicum annuum L.)* ÇİNKO ETKİNLİĞİNİ KONTROL EDEN GENLERİN KALITIMININ BELİRLENMESİ VE İLİŞKİLİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Hasan PINAR

DOKTORA TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez …/…/2013 Tarihinde A şağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

……	……	……
Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA	Doç. Dr. Nedim MUTLU	Prof. Dr. İbrahim ORTAŞ
DANIŞMAN	II. DANIŞMAN	ÜYE

……	……
Doç. Dr. Osman GÜLŞEN	Yrd. Doç.Dr. Hatıra TAŞKIN
ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma TÜBİTAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: TUBİTAK TOVAG 110 O 107

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

BİBERDE (*Capsicum annuum L.)* ÇİNKO ETKİNLİĞİNİ KONTROL EDEN GENLERİN KALITIMININ BELİRLENMESİ VE İLİŞKİLİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Hasan PINAR

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİMDALI

Danışman : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
Danışman II : Doç. Dr. Nedim MUTLU
Yıl: 2013, Sayfa: 201
Jüri : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
: Doç. Dr. Nedim MUTLU
: Prof. Dr. İbrahim ORTAŞ
: Doç. Dr. Osman GÜLŞEN
: Yrd. Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN

Çinko noksanlığı Türkiye ve dünyada bitkilerin verim ve kalitesini azaltan en yaygın mikroelement noksanlığıdır. Zn etkinliği açısından biberde (*C. annuum*) karakteri kontrol eden genlere bağlı moleküler markır geliştirilmesi ve kullanılması Zn etkinliği yüksek biber çeşitlerinin geliştirilmesi için önemlidir. Biberde *C. annuum* L. (Alata 21A) x *C. frutescens* L. (PI 281420) melezine ait F2, GM1P1 ve GM1P2 populasyonu ile Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden genlerin kalıtımı, F2:F3 popülasyonu ile ise Zn etkinliğini belirleyen QTL' ler tespit edilmiştir.

Zn noksanlığı simptomunun kalıtımında genetik varyans 0,818, additive (eklemeli) varyans 0,226, dominant varyans 0,592, çevre varyansı 0,090, geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0,906 ve dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0,249 olarak hesaplanmıştır. Eklemeli ve dominant gen etkisi %28 ve %72 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca X^2 analizinde 12:3:1 genetik oranının en uygun model olduğunu belirlenmiştir(X^2 =0.94, P=0.625, N=206). Bu durum ise kuvvetli dominant etkinin yanında bazı modifiye edici genlerin varlığına ve dominant epistasiye işaret etmektedir. Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden gen sayısı toplam 1,514 gen olarak belirlenmiştir. Ayrıca 62 adet (31 adet SRAP, 19 SSR ve 11 adet RAPD primeri) polimorfik markır ile 12 adet bağlantı grubu olacak şekilde 929,6 cM uzunluğunda bir harita elde edilmiştir. F2:F3 populasyonunda Zn etkinliği ile ilişkili 9 özelliğe ait toplam 41 adet QTL belirlenmiştir.

Sonuçlar ile biberde açılım gösteren genotipler arasında Zn noksanlığına dayanıklılık için bitkilerin seçimi Zn noksanlığına dayanıklı çeşitlerin ve genotiplerin geliştirilmesi için oldukça ümitvar gözükmektedir. Genle ilişkili moleküler markırlar düşük alınabilir çinko içeren topraklarda seleksiyona yardımcı olabilir ve Zn noksanlığına dayanıklı biber ıslahını hızlandırabilir.

Anahtar Kelimeler: Biber, çinko etkinliği, genetik haritalama

ABSTRACT

PhD THESIS

DETERMINATION OF HERITABILITY OF ZINC-EFFICIENCY IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.) and DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS LINKED TO QTL/GENES CONTROLLING ZINC EFFICIENCY

Hasan PINAR

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Süpervisor : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
Süpervisor II : Assoc. Prof. Dr. Nedim MUTLU
Year:2013, Page: 201
Jury : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
: Assoc. Prof. Dr. Nedim MUTLU
: Prof. Dr. İbrahim ORTAŞ
: Assoc. Prof. Osman GÜLŞEN
: Asst. Prof. Dr. Hatıra TAŞKIN

Zinc deficiency is a widespread problem reducing yield and quality of crop plants in Turkey and the world. It is important to improve and to use of molecular markers linked to Zn efficiency to develop high Zn efficient cultivars in pepper (*Capsicum annuum* L.). Heritability of genes were calculated controlling Zn deficiency symptoms using BC1P1, BC1P2 and F2 populations derived from *C. annuum* L. (Alata 21A)x*C. frutescens* L. (PI 281420) cross. QTLs for Zn efficiency were also mapped using F2:F3 population obtained from the same pepper cross.

Heritability estimates for genetic variance, additive variance, dominant variance and environment variance were calculated as 0,818, 0,226, 0,592 and 0,090, respectively. Broad sense heritability, and narrow sense heritability were calculated as ($h^2_{b)}$ 0,906 and (h^2_n) 0,249, respectively. Additive and dominant gene effects were 28% and 72%, respectively. X^2 analysis resulted with 12:3:1 genetic ratio (X^2 =0.94, P=0.625, N=206), meaning a dominant epistatis is in effect and suggesting strongly that a major dominance effect and some modifying genes.

The number of genes determining Zn deficiency symtoms was estimated to be 1,514 genes. A genetic map with 929,6 cM in lenght and 12 linkage groups were obtained using 62 markers (31 SRAP, 19 SSR ve 11 RAPD primers). The 41 linked QTLs related with nine (9) Zn efficiency characters were mapped on linkage groups using F2:F3 populations analyzed

Results suggest that selecting plants for resistant to Zn deficiency are expected to be rather responsive among segregating for breeding and developing genotypes and cultivars resistant to Zn deficiency in pepper. Molecular markers linked to the gene of interest should aid selection and expedite breeding peppers resistant to Zn deficiency in soils low for available zinc contents.

Keywords: Pepper, zinc efficiency, genetic mapping

TEŞEKKÜR

Öncelikle değerli hocalarım ve tez danışmanımlarım sayın Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA' ya, Doç. Dr. Nedim MUTLU' ya, bütün bilimsel çalışmalarda her türlü desteğini esirgemeyen Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürü Dr. Davut KELEŞ' e, çalışma boyunca hep yanımda yer alan arkadaşım Atilla ATA, Nihal DENLİ ve Mustafa ÜNLÜ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Islah ve Genetik Bölümü personeline, özellikle Mehmet BOYAR, Serhat YILDIZ, Mustafa BÜTÜN, Aykut ATEŞ, Ersoy SOYDAN, Hüzeyfe SOLAK, Hüseyin YILDIZ ve Mehmet ŞAHİN' e arkadaşlarım, Mustafa BİRCAN Veysel ARAS' a, Semra GÖNÜL' e ve Filiz BAYSAL' a Doç. Dr. Osman GÜLŞEN ve Yrd. Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN' a desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Element analizlerinde her türlü desteği veren laboratuar personeline ayrıca teşekkür ederim.

Yine bu doktora çalışmasının ön çalışmasını yüksek lisans çalışması olarak yürüten Mirhan EKEN' e, tez projemi destekleyen TÜBİTAK' a teşekkür ederim.

Doktora eğitimi boyunca her türlü fedakarlıktan kaçınmadan destek veren eşim Handan ve çocuklarım Mustafa Kaan, Yağız Batu ve henüz 5 aylık kızım Zümra PINAR' a ve katkıda bulunan herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IIV
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ X
SİMGELER VE KISALTMALAR XII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 13
2.1. İnsan Fizyolojisinde Çinkonun Önemi 14
2.2. Bitkilerde Çinko Noksanlığı 17
2.3. Topraklarda Çinko 20
2.3.1 .Topraklarda Zn noksanlığının dağılımı 20
2.3.2. Topraktan Çinko' nun Alınımı 22
2.3.3. Çinkonun Topraktan Bitkiye Alımını Etkileyen Faktörler 23
2.4. Çinko ve Diğer Besin Elementleri Arasındaki Etkileşimler 25
2.5. Bitkilerde Çinko 27
2.5.1. Bitkilerde Çinkonun fonksiyonu 27
2.5.2. Bitkide Çinkonun Alımı ve Hareketi 31
2.5.3. Bitkilerde Zn Noksanlığı 32
2.5.4. Bitkilerde Çinko Etkinliği Mekanizması 35
2.6. Bitkilerde Çinko Etkinliği için Islah 38
2.7. Çinko Etkinliğinde Genotipik Varyasyon 40
2.8. Çinko Etkinliğinin Kalıtımı ve Moleküler Çalışmalar 48
2.9. Çinko ve Diğer Mikrobesin Elementleri Etkinliği İçin Moleküler Markırların Geliştirilmesi 62
2.10. Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) ile İlgili Çalışmalar 66
2.11. Basit Tekrarlı Dizi (Simple Sequence Repeats SSR) Markırları ile İlgili Çalışmalar 71

2.12. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA, Randomly Amplified Polimorphic DNAs) Markırları ile İlgili Çalışmalar 73
2.13. Biberde Yürütülen Moleküler Çalışmalar 74
3. MATERYAL VE METOT 79
3.1. Materyal 79
3.2. Metot 80
3.2.1. Populasyonların Geliştirilmesi 80
3.2.2. Embriyo Kurtarma 81
3.2.3. Bitkilerin yetiştirilmesi 82
3.2.4. Çinko Noksanlığı Simptomunun Kalıtımının Hesaplanması 85
3.3. Melez Popülasyonların Oluşturulması ve Genetik Haritalama 87
3.3.1. Çinko Etkinliğinin Belirlenmesi 88
3.3.2. Çinko Konsantrasyonunun ve İçeriğinin Belirlenmesi 89
3.3.3. DNA İzolasyonu 89
3.3.4. SSR Markır Analizleri 90
3.3.4.1. SSR PCR Çalışmaları 90
3.3.5. SRAP Analizi 93
3.3.5.1. SRAP PCR Çalışmaları 93
3.3.5.2. PCR Bilesenleri ve PCR Döngüsü 93
3.3.6. RAPD PCR Çalışmaları 95
3.3.6.1. PCR Bilesenleri ve PCR Döngüsü 96
3.3.7. Elektroforez ve Jel Görüntüleme Çalışmaları 97
3.3.8. Bağlantı Gruplarının Oluşturulması ve QTL Haritalama 97
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 99
4.1. Popülasyon Oluşturulması için Ebriyo Kurtarma Yönteminin Uygulanması 99
4.2. Biberde Çinko Noksanlığına Karşı Testlemenin yapılması ve Noksanlığa Karşı Oluşan Simptomun Kalıtmının Belirlenmesi 101
4.2.1. Biberde Çinko Noksanlığına Karşı Testlemenin Yapılması 101
4.2.2. Biberde Çinko Noksanlığı Simptomunun Kalıtımı; 110
4.3. Çinko (Zn) noksanlığı Simptomunu Kontrol Eden Toplam Gen Sayısının Hesaplanması 111

4.4. Haritalama Popülasyonunda Çinko (Zn) Noksanlığı Simptomu Kalıtımının Belirlenmesi 114
4.5. Ebeveynlerin ve F1 bitkilerinin Çinko etkinlik değerleri [(-Zn toplam kuru ağırlık / +Zn toplam kuru ağırlık) x 100] ve sitoplazmik etki 117
4.6. Genetik Haritalama 123
4.6.1. Haritalama populasyonunun oluşturulması 123
4.6.2. Moleküler Çalışmalar 124
4.6.3. Genetik Haritanın Oluşturulması 131
4.7. QTL Analizinin Yapılması 132
4.7.1. F3 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık Simptomlarına Ait Skor ... 133
4.7.2. Toplam Kuru Madde Ağırlığı açısından Zn Etkinliği 134
4.7.3. Bitki Boyu açısından Zn Etkinliği 136
4.7.4. Toplam Kuru Madde Zn Konsantrasyonu Açısından Zn Etkinliği 137
4.7.5. Yaprak Kuru Madde Ağırlığı Açısından Zn Etkinliği 139
4.7.6. F2 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık Simptomlarına Ait Scor ... 140
4.7.7. Yaprak Zn İçeriği Açısından Zn Etkinliği 142
4.7.8. Toplam Kuru Madde Zn İçeriği Açısından Zn Etkinliği 143
4.7.9. Kök/Sürgün Oranı Açısından Zn Etkinliği 145
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 157
KAYNAKLAR 163
ÖZGEÇMİŞ 201

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 2.1. Bölgelere göre 5 yaş altındaki çocuklarda çinko noksanlığı (WHO, 2004) 15
Çizelge 2.2. Bitki türlerinin çinko noksanlığına olan göreceli duyarlılıkları..... 30
Çizelge 3.1. Embriyo kurtarma çalışmasında kullanılan besin ortamının içeriği 82
Çizelge 3.2. SSR analizleri için PCR bileşenleri 91
Çizelge 3.3. SSR analizlerinde kullanılan PCR Döngüsü..... 91
Çizelge 3.4. Biber genetik haritasını temsil eden ve kromozom bölgeleri bilinen Alata 21A ve PI 281420 arasında polimorfik bulunan SSR markırları 91
Çizelge 3.5. SRAP analizi için PCR bileşenleri..... 94
Çizelge 3.6. SRAP çalışmalarında kullanılan PCR koşulları..... 94
Çizelge 3.7. PCR çalışmalarında kullanılan SRAP primerlerinin baz dizilimleri ... 94
Çizelge 3.9. SRAP primer test çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerde çalışan primer kombinasyonları 95
Çizelge 3.10. RAPD çalışmalarında kullanılan PCR bileşenleri 96
Çizelge 3.11. RAPD çalışmalarında kullanılan PCR koşulları..... 96
Çizelge 3.12. RAPD primer test çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerde çalışan primerler (Operon® RAPD primerleri) 96
Çizelge 4.1. Farklı tarihlerde yapılan embriyo kurtarmadan elde edilen veriler 99
Çizelge 4.2. Ebeveynler (PI 281420 ve Alata 21A) çinko destekli (+Zn) ve çinko desteksiz ortamda (-Zn), ve bitki boyları, gövde (toprak üstü aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, kök (toprak altı aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, toplam bitki yaş ve kuru ağırlıkları ortalamaları 102
Çizelge 4.3. Çinko desteksiz ortamda (-Zn), GM1P1, GM1P2 ve F2 melez populasyonlarının bitki boyları, gövde (toprak üstü aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, kök yaş ve kuru ağırlıkları, toplam bitki yaş ve kuru ağırlıkları 103
Çizelge 4.4. F2, GM1P1, ve GM1P2 populasyonlarında Zn eksikliği simptompları (1-5 skalası) ile bitki boyu (BB), gövde yaş ağırlığı (GYA), gövde kuru ağırlığı (GKA), kök yaş ağırlığı (KYA), kök kuru ağırlığı (KKA), toplam yaş (TYA) ve toplam kuru ağırlık (TKA) arasındaki korelasyon (%)..... 109

Çizelge 4.5. Biberde çinko noksanlığına karşı testlenen F2 bitkilerinden elde edilen simptomların X^2 test sonuçları 111
Çizelge 4.6. Zn noksanlığı simptomu kalıtımının hesaplanmasında kullanılan ebeveynler ve GM1P1, GM1P2 ve F2 popülasyonlarına ait skor değerleri 113
Çizelge 4.7. Haritalamada kullanılan ebeveynler ve F1' lere ait skor değerleri 115
Çizelge 4.8. Biberde çinko noksanlığına karşı testlenen F2 bitkilerinden elde edilen simptomların *X2* test sonuçları 116
Çizelge 4.9. – Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen Alata 21A, PI 281420 ve *C. annuum* sitoplazması taşıyan F1 (21AxPI 281420) genotiplerine ait gövde (toprak üstü aksam) ve kök (toprak altı aksam) kuru ağırlıkları; Zn noksanlığı simptomu skala değerleri (1-5) ve Zn etkinliği değerleri. 117
Çizelge 4.10. – Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen Alata 21A, PI281420 ve *C. frutescens* sitoplazması taşıyan F1 (PI 281420x21A genotiplerine ait gövde (toprak üstü aksam) ve kök (toprak altı aksam) kuru ağırlıkları; Zn noksanlığı simptomu skala değerleri (1-5) ve Zn etkinliği değerleri. 118
Çizelge 4.11. Çinko destekli (+Zn) ve desteksiz ortamda (-Zn) yetiştirilen) 21A, PI281420 ve F1 (PI 281420x21A) genotiplerine ait yaprak, gövde ve kök Zn içerikleri (gr/kg) değerleri. 119
Çizelge 4.12. PI 281420 ve Alata 21A biber ebeveyenleri arasındaki SRAP polimorfizmi, ... 125
Çizelge 4.13. Şekil 4.12' de verilen SRAP jel resimlerine ait jel numaraları ve ilgili jellere ait primer kombinasyonları. 128
Çizelge 4.14. SRAP primer çalısmalarında tüm örneklerin çalışıldığı primer kombinasyonları 128
Çizelge 4.15. RAPD primer çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerin çalışıldığı primerler 129

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 2.1. Dünyada 5 yaş altı çocuklarda görülen çinko noksanlığı riski 14
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ebeveynler ve bu ebeveynlerin melezlenmesi ile elde edilen F1 bitkilerine ait meyvelerden bir görünüm..... 79
Şekil 3.2. *C. annuum* Alata 21A x *C.frutenscens* PI 281420 melezlenmesinden elde edilen tohumlara ait bir görünüm..... 81
Şekil 3.3. Embriyo kurtarma yöntemi ile elde edilen biber bitkileri..... 82
Şekil 3.4. Deneme alanından genel bir görünüm 84
Şekil 3.5. Zn noksanlığı skorlamasında kullanılan skala görünümü..... 85
Şekil 3.6. Alata 21A ve PI 281420 genotiplerine ait genomik DNA örnekleri 90
Şekil 4.1. GM1P1 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları bakımından dağılım. 104
Şekil 4.2. GM1P1 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı. 105
Şekil 4.3. GM1P2 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları bakımından dağılım. 106
Şekil 4.4. GM1P2 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı..... 107
Şekil 4.5. F2 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları arasında bitki sayıları bakımından dağılım. 108
Şekil 4.6. F2 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı. 108
Şekil 4.7. Zn etkinliğini haritalama amacıyla seçici genotipleme yapılan F2 bitkilerinin Zn noksanlık simptomlarının 1-5 skalasına göre skor edilmesi ile elde edilen dağılım. 115
Şekil 4.8. Zn destekli (+Zn) ve Zn desteksiz (-Zn) ortamda yetiştirilen 21A, PI281420 (1844), ve F1 (PI281420x21A) bitkilerden bir kısmının hasat edilmeden önce genel görünümleri. 120
Şekil 4.9. SSR primer setlerinin ilk 48 adedine ait PCR optimizasyon çalışması. 124
Şekil 4.10. SSR lokuslarına ait PCR ürünleri %3’ lük agaroz jeldeki görüntüleri ... 125

Şekil 4.11. PI 281420 ve 21A biber ebeveyenleri arasındaki Em (1-16) ileri ve Me (1-13) geri SRAP primer çifti kombinasyonları (208 adet) ile SRAP markır polimorfizmleri. 127
Şekil 4.12. RAPD primerleri ile ebeveynlerin testlenmesi sonucu elde edilen jel görüntüsü. 129
Şekil 4.13. F3 popülasyonu Zn noksanlığı simptom skoru dağılımı..... 134
Şekil 4.14. Toplam kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği dağılımı 135
Şekil 4.15. Bitki boyu açısından Zn etkinliği dağılımı 136
Şekil 4.16.Toplam kuru madde Zn konsantrasyonu açısından Zn etkinliği(%) dağılımı..... 138
Şekil 4.17. Yaprak kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği dağılımı..... 140
Şekil 4.18. Zn etkinliğinin haritalanması amacıyla test edilen F2 bitkilerinin Zn noksanlık simptomlarının dağılımı..... 141
Şekil 4.19. Yaprak Zn içeriği açısından Zn Etkinliği (%) dağılımı 143
Şekil 4.20. Toplam kuru madde Zn içeriği açısından Zn etkinliği (%) dağılımı 144
Şekil 4.21. Kök/sürgün oranı açısından Zn etkinliği(%) dağılımı 146
Şekil 4.22.Biberde Zn etkinliği için oluşturulan genom haritası ve belirlenen QTL' ler..... 148

SİMGELER VE KISALTMALAR

μm : Mili-mikron
AMF : Arbuskül mikoriza
Ca : Kalsiyum
Cl : Klor
CO2 : Karbondioksit
Cu : Bakır
Fe : Demir
K : Potasyum
KOH : Potasyum hidroksit
Mg : Magnezyum
Mn : Mangan
Na : Sodyum
N : Azot
NH4 : Amonyum
O.M. : Organik Madde
P : Fosfor
pH : Asidik-alkalilik faktörü
S : Kükürt
VAM : Vesicular-arbuskular mikoriza
Zn : Çinko
$ZnSO_4$: Çinko sülfat
SRAP : Sequence-Related Amplified Polymorphism
AFLP : Amplified Fragment Lenght Polymorfizm
RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA
SSR : Simple Squence Repeats
CAPS : Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
COS : Conserved Ortolog Set
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

1. GİRİŞ

Besin elementleri, biyolojik sistemlerin biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarında temel rol oynamaktadır. Yüksek bitkiler besin elementlerini topraktan sağlarken, hayvanlar ve insanlar çoğunlukla yüksek bitkilerden sağlarlar (Grusak ve Cakmak, 2005). Mineral element eksikliği, özellikle çinko (Zn) ve demir (Fe) noksanlığı dünya çapında 3 milyardan fazla insanı etkilemektedir (Welch and Graham, 2004). Çinko noksanlığı dünyada en yaygın görülen mikroelement noksanlığı olup hem bitkiler hem de insanlar için gerekli bir elementtir. Çünkü 300'ü aşkın enzimin katalitik komponentidir. Bu enzimlerin en önemlileri alkalin fosfataz, alkol dehidrogenaz, Cu-Zn süperoksit dismutaz ve karbonik anhidrazlardır. Çinko ayrıca Zn-finger, Zn-cluster ve Ring-finger gibi transkripsiyonu düzenleyen proteinlerde önemli yapısal rol oynar ve enzim sınıflarının altısında da bulunan tek metaldir (Barak ve Helmke, 1993). Zn insanlarda fiziksel büyüme ve gelişmede, bağışıklık sistemin çalışmasında, cinsel sağlık, tat duyusu ve sinir sisteminin gelişmesinde anahtar rol oynamaktadır (Hotz ve Browm, 2004). Bitkilerde Zn içeren veya Zn'nin aktive ettiği enzimler karbonhidrat metabolizmasında, protein sentezinde, hücre membranının korunmasında, oksin sentezinin düzenlenmesinde ve polen oluşumunda görev almaktadırlar (Marschner, 1995). Çakmak (2000) Zn'nin bitkilerde yüksek ışık yoğunluğu ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşullarına tolerans sağlayan genlerin çalışmasının düzenlenmesi için gerekli olduğunu bildirmiştir.

Çinko eksikliğinin sebep olduğu fizyolojik bozukluklar bitkide bodurlaşma, yapraklarda kloroz oluşumu, küçük yapraklılık, boğum aralarında kısalma ve yeterli indol asetik asit (IAA) üretilemediğinden yapraklarda büzüşme seklinde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca üründe önemli verim ve kalite (protein içeriği, iriliği ve görünüşü) kayıplarına neden olur. Zn noksanlığı fotosentetik karbon metabolizmasını da bozmaktadır. Zn noksanlığının bir sonucu olarak Zn içeren karbonik anhidraz enzim aktivitesi azalmaktadır (Rengel, 1995). Bu enzim tek bir Zn atomu ve CO_2'in hidratasyonunu katalizlemekte ve Calvin-Benson döngüsü için CO_2'in bağlanmasına olanak sağlamaktadır (Marschner, 1995). Şiddetli Zn

noksanlığı koşullarında kloroplast yapısının bozulması ve fotosentetik elektron transferinin engellenmesi nedeniyle fotosentez ağı sekteye uğramaktadır (Sharma ve ark.,1982). Zn noksanlığı bitki türlerine ve noksanlığın şiddetine bağlı olarak, net fotosentez düzeyinde % 50-70 arasında bir azalmaya neden olabilmektedir. Orta derecede çinko eksikliği gösteren topraklarda ise yukarıdaki belirtiler ortaya çıkmadan verim ve kalite kayıpları olmaktadır. Bu durum "gizli veya gözükmeyen eksiklik" olarak adlandırılmaktadır. Yüksek verimli yeni çeşitlerin üretilmeye başlamasıyla, Azot-Fosfor-Potasyum (NPK) besin elementlerine olan ihtiyaç artmış ve buna bağlı olarak yüksek fosfor seviyesinin Zn ile interaksiyonundan dolayı çinko noksanlığını arttırmıştır. Bu çeşitlerin çoğu " gizli çinko eksikliği" çekmekte ve buna bağlı olarak verim ve kalite düşüşleri önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Alloway, 2009). FAO tarafından desteklenen ve 1974-1982 yılları arasında yürütülen bir çalışmada, dünya tarım alanların % 30' unda Zn eksikliği olduğu (Sillanpaa, 1982); Belçika ve Malta dışındaki alanlar hariç çalışılan tüm ülke topraklarında yetişen bitkilerde Zn noksanlığı görüldüğü, Hindistan, Pakistan, Irak, Lübnan, Suriye ve Türkiye topraklarının en düşük alınabilir çinko düzeyine sahip ülkeler oldukları bildirilmiştir. NATO (Science for Stability-SFS) tarafından desteklenen proje çerçevesinde, Orta Anadolu Bölgesi Konya havzasından toplanan 76 adet toprak örneğinde yapılan analizler sonucunda, örneklerin % 92' sinde, DTPA (dietilentriamin pentaasetik asit) ekstraksiyon yöntemiyle alınabilir Zn içeriğinin kritik sınır olarak kabul edilen değerden (0,5 mg kg^{-1} toprak) daha düşük olduğu bulunmuştur (Çakmak ve ark., 1996a). Adana, Mersin ve Hatay illerini kapsayan 3000' in üzerindeki yaprak ve toprak örneklemesi sonucunda, yetersiz düzeyde Zn' ye sahip örneklerin oranının % 90 olduğu belirlenmişdir (Torun ve ark., 2005). Doğu Akdeniz Bölgesinde yürütülen başka bir çalışmada ise, bitkilerce alınabilir Zn' nin % 46 ile % 79 oranında düşük çıktığı tespit edilmiştir (Bayram ve ark., 1984; Doran ve ark., 1991). Türkiye' nin değişik bölgelerinden alınan 1500 adet toprak örneğinin yarısında Zn eksikliği tespit edilmiş olup, bunun 14 milyon ha tarım alanına karşılık geldiği açıklanmıştır (Eyüpoğlu ve ark., 1998; Çakmak, 2008).

FAO tarafından 15 ülkede 190 tarla denemesi ile yürütülen bir mikro element projesinde, çinko verime en yüksek etkiyi yapan mikro element olarak tespit

edilmiştir (Sillanpää, 1990). Proje sonuçları, çinko eksikliğinin %51' nin akut, %49' unda gizli-eksiklik olduğunu ortaya koymuştur. Gizli çinko eksikliği genellikle marjinal olarak düşük çinko içeren topraklarda " çinko-randımansız" çeşitlerin yetiştirilmesiyle bağlantılıdır. Birçok çalışma aynı topraklarda " çinko-randımanlı" çeşitlerin gayet başarılı bir şekilde yetiştirilebildiğini göstermiştir (Graham ve Rengel, 1993).

Türkiye toprakları alınabilir çinko yönünden ' en yaygın çinko noksanlığı' gösteren ülkelerden birisi olarak tanımlanmıştır (Alloway, 2007). ' Çinko-randımanlı' veya " Çinko-etkinliği yüksek" genotipler verim ve kalite kaybına sebep olacak derecede çinko eksikliği görülen topraklarda bile normal büyüme ve verim kapasitesine sahiptirler (Graham ve ark., 1992, Çakmak ve ark., 1996). Çinko etkinliğinin temelinde bitkinin yüksek fitosiderofor salgılaması, çinkoyu daha etkin kullanması ve gerekli organlara daha iyi taşıması gibi fizyolojik sebebler olabileceği bildirilmiştir (Rengel, 1999a). Fakat bitkinin çinko etkinliğini belirleyen bu mekanizmaların genetik temeli iyi anlaşılmamıştır (Schachtman ve Barker, 1999). Bu durum çinko-randımanlı (çinko etkinliği yüksek) çeşit ıslahını sekteye uğratmıştır.

Eğer bir toprağa bir besin elementi eklendiğinde bitki daha iyi büyüme gösteriyorsa toprak o besin elementi açısından eksik olarak tanımlanır. Bununla birlikte toprak analizleri, gübreleme ile eksikliği giderilen mikro elementlerin verilenden çok daha fazla miktarının toprakta diğer elementlere bağlı olarak bitki tarafından alınamaz formda var olduğunu göstermektedir. Bu durum toprakta bu mikroelementin eksikliği değil, bitkinin bu mevcut elementten yararlanma yeteneğinden yoksun olduğu gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. Mikroelementler bakımından eksik topraklara tolerant (mikroelement-randımanlı) genotipler söz konusu toprak şartlarına daha iyi adapte olabilen ve diğer genotiplere göre daha yüksek verim elde edilebilen genotiplerdir. Çinko-randımanlı bitkilerin çinko eksikliği olan topraklarda yetiştirilmesi ' toprağın bitkiye hazırlanması' yerine ' bitkinin toprağa hazırlanması' nı temsil eden bir yaklaşımdır. Mikroelement-randımanlı genotipler kök salgılarıyla iz elementlerin bağlı oldukları yerden serbest kalmalarını ve alınabilir duruma geçmelerini sağlamaktadırlar. ' Mikroelement-randımanı karakteri' bitkinin mikroelement noksanlığı olan toprakta canlı kalabilme

kapasitesinden ziyade kısıtlı mikroelementi topraktan daha iyi alabilme yeteneği olarak tanımlanır. Azot ve fosfor gibi makro elementler gübreleme ile tarım yapılan topraklara ilave edilmezse birkaç yıl içinde tamamen tükenebilirler. Fakat çinko gibi mikroelementler gübreleme yapılmaksızın rüzgarla taşıma veya mikroelement-randımanlı çeşit veya türlerin yetiştiği topraklarda yüzlerce yıl yeterli düzeyde kalabilirler. Bu nedenle bitkinin az miktarda ihtiyaç duyduğu ve toprakta alınamaz formda bol miktarda bulunan çinko gibi elementler için ıslah çalışmaları, mikroelement-randımanlı çeşitlerin geliştirilmesine yönelmelidir. Diğer mikroelemenlerin aksine çinko eksikliği soğuk ve sıcak iklimlerde, iyi drenajlı ve sulak alanlarda, asidik ve bazik topraklarda, ağır ve hafif yapılı topraklarda aynı şekilde görülür. Çinko eksikliği görülen topraklarda çinko-randımanlı biberlerin yetiştirilmesinin gizli verim ve kalite kayıplarını azaltması nedeniyle çiftçiler tarafından kabul göreceği düşünülmektedir.

Çinko-randımanlı çeşitlerden çinko eksikliği olan topraklarda çinko-randımanlı olmayan çeşitlere göre daha yüksek verim elde edilmesinin olası nedenleri;

1. Topraktan mineral madde alımının randımanlı olması bitkinin biyotik ve abiyotik strese olan toleransını arttırmaktadır. Mikroelement eksikliği özellikle kök mantarı hastalıklarına karşı bitkiyi daha hassas duruma düşürmektedir (Graham ve Webb, 1991). Toprakta çinko ve fosfor eksikliği patojenik maddeler için uyartıcı olan şekerler, amidler ve amino asitlerin kökten sızmasını teşvik etmektedir. Bu durum patojenin bitki köklerini tıkaması nedeniyle mikroelement eksikliğine sebep olmasının yanısıra bitkiyi enfeksiyona açık hale getirmektedir (Graham ve Rovira, 1984; Sparrow ve Graham, 1988; Thongbai ve ark., 1993). Mikroelement alımı ve kullanımı daha randımanlı olan çeşitlerin ıslahı, toprak kökenli mantari hastalıklara olan toleransı arttırabilir.

2. Mikroelement-randımanlı çeşitler mikroelement eksikliği olan topraklarda daha derin kök gelişimi gösterirler ve topraktaki su ve besin elementlerinden daha iyi faydalanırlar. Toprağın üst tabakası kuruduğunda bu bölgedeki kökler aktivitesini kaybederler. Bitki daha fazla kök yaptığı için derindeki kökleriyle hayatta kalır ve verim potensiyelini devam ettirecek su ve besin elementlerini almaya devam eder.

Derin köklerin varlığı bitkinin kurağa dayanımını da arttırır (Graham ve Welch, 1996).

3. Mikroelementce zengin tohumlar daha yüksek çimlenme gücüne (vigor) ve buna bağlı olarakta daha yüksek verime sahiptirler.

Çok düşük alınabilir çinko içeren topraklarda tüm bitkiler çinko noksanlığına karşı hassastırlar. Ancak düşük çinko miktarını tolere etme bakımından bitki türleri ve bu türlere ait çeşitler büyük farklılıklar gösterirler. Alloway (2009) bitkileri çinko-randımanlı ve çinko randımansız olarak sınıflandırmıştır. Marjinal çinko içeren topraklarda, çinko-randımanlı çeşitler çinkoyu çinko-randımansız çeşitlere göre daha etkili kullanabilmekte ve kısmen daha iyi gelişip, yine kısmi olarak daha iyi kalite ve yüksek verim verebilmektedir. Çakmak (2000) Türkiye' de yetiştirilen yüksek verimli yeni buğday çeşitlerinin, eski yerli çeşitlere göre daha az çinko-randımanlı olduğunu belirtmiştir. Kalaycı ve ark., (1999) Orta Anadolu' da ekmeklik buğday çeşitlerinin çinko randımanlarının %57 ile %92 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bir bitki türüne ait çeşitler arasında çinko randımanı bakımından görülen farklılıkların temel nedenleri şu şekilde sıralanabilir: 1. Kök miktarı ve uzunluğundaki fark, 2. Kökten kaynaklanan rizosferdeki pH değişimi, 3. Fitosiderefor ve organik asit gibi kök salgıları, 4. Mikorizadan kaynaklanan emilim artışı, 5. Alındıktan sonra bitkinin çinkoyu kullanma randımanı, 6. Büyümekte olan bitki dokuları arasında çinkonun geri dönüşümü, 7. Bikarbonat gibi engelleyici iyonlara tolerans (Graham ve Rengel, 1993; Gao ve ark., 2007). 8. Bitkilerin mikorizaya bağımlılıklarının genotipler yönünden farklılık göstermesi (Ortas ve Akpınar, 2012).

Bitkilerde çinko alımı ile ilgili araştırmalar daha çok çinko seviyesi yüksek alanlarda yaşayabilen ve çinko fazlasını sürgünlerinde depolayabilen çalışmalarda yoğunlaşmıştır (Lasat et al., 1996). Fakat Türkiye toprakları düşük alınabilir çinko sorunuyla karşı karşıyadır. Çinko eksikliğini ortaya çıkaran toprak şartları; düşük (alınabilir) çinko miktarı, yüksek kil ve kalsiyum karbonat içeriği, 7 ve üzeri toprak pH' ı, yüksek alınabilir fosfor, yüksek bikarbonat ve/veya magnezyum, uzun sureli su baskını ve yüksek sodyum, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarıdır (Lindsay, 1972). Yanlış sulama yapılan arazilerde tuz birikmesinden dolayı tuzluluk

sorunu oluşmaktadır. Tuzlu topraklarda yüksek pH ve EC alınabilir çinko miktarını azaltmaktadır. Aktas ve ark. (2006) biberde yüksek tuz miktarının çinko noksanlığı belirtilerini arttırdığını ve kuru madde miktarını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada araştırıcılar yeterli çinko alımının bitkinin tuz stresine dayanımını arttırdığı bildirmişlerdir. Yüksek bikarbonat konsantrasyonu, çinko-randımanlı çeşitlerde dahi çinkonun kökler tarafından alınmasını ve bitkinin büyüme noktalarına taşınmasını kısıtlamaktadır. Fosfor toksitesinin hem toprakta hem de bitkide fosfor-çinko interaksiyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir (Lonergan ve Webb, 1993). Gereğinden fazla fosfor gübrelemesi marjinal çinko içeren topraklarda yetiştirilen bitkilerde de çinko eksikliğine sebep olmaktadır. Topraktaki yüksek fosfor miktarının çinko alımını azaltmasının nedenleri: fosfor-çinko bileşiklerinde çökelti oluşması (Barrow, 1987), negatif yüklerdeki artışın ardından oksit ve hidroksitlerin yüklü yüzeylerinde çinkonun spesifik alımındaki artış (Barrow, 1993), organik asitlerin salınımındaki azalmayı takiben çinko çözünürlüğündeki azalma (Marschner ve Romheld, 1996), saçak köklerdeki azalma (Bates ve Lynch, 1996), mikoriza miktarının azalması (Loneragan ve Webb, 1993) olarak sayılabilir. Yüksek fosfor miktarının bitkinin çinko gereksinimini arttırdığı düşünülmektedir (Loneragan ve Webb, 1993; Marschner, 1995). Çakmak ve Marschner (1986, 1987) yüksek miktarda fosfor alımının çinko-fosfor bileşiklerinin çökelmesine neden olması sonucu sürgünlerde çinko eksikliğini oluşturduğunu belirtmişler ve bu durumu ‘ fosfor’ un sebeb olduğu çinko eksikliği’ diye tanımlamışlardır. Çakmak ve Marschner (1987) köklerden fosforun alınması veya alınan fosforun kökten sürgünlere taşınmasını kontrol eden “ geriye besleme” (feedback)’ mekanizması için çinkonun çok önemli bir element olduğunu bildirmişlerdir. Çinko noksanlığının bu kontrol mekanizmasını sekteye uğrattığını ve fosforun floemden tekrar translokasyonunu engellediğini ve sonuçta fosforun yapraklarda toksik seviyelerde birikmesine sebep olduğunu da aynı araştırmacılar belirtmişlerdir. Bunlara ek olarak çinko hücre membranının yapısal bütünlüğünü korumakta, eksikliği köklerde hücre membranındaki peroksidasyonu arttırmakta ve besin elementleri ile organik metobolitlerin sızmasına sebep olmaktadır (Çakmak ve Marschner, 1988a,b; Parker ve ark., 1992; Pinton ve ark., 1994; Welch ve ark.,

1982). Yapraktan $ZnSO_4$ uygulaması membran sızıntısını önlediğinden, sadece köklerdeki çinko seviyesi değil bitkinin genel çinko seviyesinin membran bütünlüğünde etkili olduğu düşünülmektedir (Parker ve ark., 1992). Huang ve ark., (2000) çinkonun fosfor alımını kontrol eden genlerin çalışmasını düzenlediğini ve çinko noksanlığı çeken bitkilerde fosfor taşıyıcı proteinlerin parçalandığı ve fosfor birikimine sebep olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çinko noksanlığı olan topraklarda bitkilerin daha fazla bor (B) aldığı ve bu durumun B toksisitesine sebep olduğu bildirilmiştir (Graham ve ark., 1987).

Bitki tür ve çeşitleri Zn eksikliğine karşı farklı tolerans göstermektedir. Mısır (Özer, 1999; Özgüven ve ark., 2001), buğday (Torun, 1998; Hacısalihoğlu ve ark., 2001), sakız kabağı (Yağmur ve ark., 2002), fasulye (Karaman ve ark., 1998; Hacısalihoğlu ve ark., 2004), nohut (Akay, 2005), biber (Güneş ve ark., 1999; Aktaş ve ark., 2006) gibi türlerde ve bu türlerin çeşitleri arasında Zn noksanlığına ve uygulamalarına karşı önemli genotipsel farklılıkların olduğu belirtilmiştir. Askari ve ark., (1995) patlıcan ve biberde yapılan ve saksı denemeleri olarak planlanan çalışmalarında; farklı dozlarda Zn içeren iki kompleks çözeltiyi yapraktan uygulayarak, bitkilerde çiçeklenmede ve meyve tutumunda kontrole göre yirmi gün erkencilik, meyve sayısında ve iriliğinde artma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bitkilerde çinko noksanlığını gidermenin yollarından bir tanesi düşük çinko içeren topraklarda dahi gizli-çinko eksikliği çekmeyecek " çinko-randımanlı" çeşitlerin geliştirilmesi iken, diğer ve geçici olanıda çinko içeren gübreleme programı uygulamasıdır (Çakmak, 2008). Bitkilerin besin elementi alım etkinliği açısından ıslahında genotipler element eksikliği görülen topraklarda bu elementi alabilme ve bundan faydalanabilme yeteneği bakımından değerlendirilir. Bu noktada yüksek verim ve insan sağlığı için daha besleyici ürün amaçlı ıslah birbirini tamamlamaktadır.

Şimdiye kadar çinko etkinliği yüksek bir bitki çeşidi ıslah edilmemiş olmasının temel sebeplerinin birincisi seleksiyon yoluyla çinko etkinliğinin test edilmesinin çok işçilik gerektiren yavaş bir işlem olması, ikincisi arazi denemelerinin yüksek çevresel varyans göstermesi (fenotipik seleksiyonda genetik ilerlemenin yavaş olması), üçüncüsü karakterin çok genle kontrol edilen kompleks bir yapı

göstermesidir. Çinko etkinliğinin fizyolojik/genetik olarak kompleks bir yapı göstermesi ve çinko etkinliği yüksek çesitlerin geliştirilmesinde fenotipik seleksiyondan elde edilecek genetik ilerlemenin yavaş (kalıtım derecesinin düşük) olması nedeniyle markır yardımlı seleksiyon (MAS) çok güçlü bir alternatif yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çinko alımını kontrol eden genlerin haritalandığı az sayıdaki çalışmalardan birisinde (Lonergan ve ark., 2009) arpada dokuz adet QTL' in çinko alımını etkilediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada en önemli dört adet QTL' den birisinin çinkonun kökler tarafından alınmasını veya kökten sürgünlere taşınmasını kontrol ettiği, iki adet QTL' in bitkide çinko translokasyonunu kontrol ettiği, dördüncü QTL' in de olgunluk döneminde gövdedeki çinko içeriğini kontrol ettiği belirtilmiştir. Üç adet pozitif QTL' in birlikte olmasının bitki çinko konsantrasyonunu %53, çinko içeriğini de %75 oranında arttırdığı görülmüştür. Araştırma sonuçları ile ilk defa en önemli üç adet QTL' e bağlı moleküler markırlar kullanılarak yüksek çinko randımanlı arpa çeşitlerinin yetiştirilmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir. Ayrıca diploid bir buğdayda tohum çinko içeriğinin %18.8' ini açıklayan bir QTL bildirilmiştir (Vijay ve ark., 2008). Benzer bir çalışmada (Peleg ve ark., 2009), buğday dane protein konsantrasyonu ile dane çinko miktarı arasında önemli pozitif korelasyon bildirilmiş ve dane protein konsantrasyonunu belirleyen 10 adet QTL' den üçünün çinko içeriğini kontrol eden altı QTL' den üç tanesi ile aynı olduğu görülmüştür. Çinkonun bitkilerde membran fonksiyonundaki, protein sentezindeki ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonundaki değişik fizyolojik ve metabolik işlevlerde oynadığı rol dikkate alındığında (Çakmak, 2000) bu durum daha iyi anlaşılabilir. Buğday dane çinko ve fosfor içeriği ile ilgili bir moleküler çalışmada, çinko ve fosfor içeriğini kontrol eden dört adet QTL' in aynı olduğu ve bu iki besin elementinin buğdayda birlikte arttırılabileceği belirtilmiştir (Shi ve ark., 2007). Buğdayda çinko etkinliğinin ve dane çinko içeriğinin çalışıldığı farklı bir çalışmada (Genç ve ark., 2008), bitki kuru madde miktarı ile çinko miktarı arasında kuvvetli negatif korelasyon olduğu ve iki QTL' in düşük çinko içeren topraklarda bitkilerin sağlıklı büyümesini teşvik eden (çinko etkinliği sağlayan) bir özellik gösterdiği ve bu iki adet QTL için moleküler markırlar geliştirilmesi gerektiğini belirtilmiştir. Son olarak Gomez-Becerra ve ark.,

(2010)'un belirtiğine göre genotip x çevre interaksiyonunun buğday dane çinko içeriğine etkisi %16' dan az ve geniş anlamda kalıtım ise 0,72 olmuştur.

Zn alım etkinliğiyle ilgili çalışmalar genellikle tahıllar üzerinde yoğunlaşmıştır. Tahıllardan sonra en fazla tüketilen ürünlerin başında gelen sebze türlerinde, hem bitki gelişimi hemde insan beslenmesi için Zn alım etkinliği oldukça önemlidir. Bu sebzelerden biriside biberdir. İklim koşullarının uygun olduğu fakat toprak koşullarının uygun olmadığı geniş alanlarda yapılan biber üretimi, çinko noksanlığı nedeni ile sınırlanabilmektedir.

Biber tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de 93.826 hektarlık alanda 1.975 milyon ton üretim miktarı ile önemli bir sebzedir (FAOSTAT, 2011). Ülkemiz biberin anavatanı olmamasına rağmen önemli bir genetik çeşitliliğe sahiptir (Aktaş ve ark., 2009).

Biberin yer aldığı *Capsicum* cinsi 27 türü içermekte olup bunlardan beş tanesi (C. *chinense, C. baccatum, C. frutescens, C. pubescens ve C. annuum*) kültüre alınmıştır. 21 biber türü ise Güney Amerikanın tropiklerinde yarı kültüre alınmış ve 1 tanesi ise endemik yabani türdür. Ticari açıdan önemli olan biber türü *C. annuum* ıslah çalışmalarına en çok konu olan türdür.

Genetik haritalama, bitki ıslahında moleküler markır yardımlı seleksiyon (MAS) ve ihtiyaç duyulan genlerin genomda yerlerinin tespiti için temel bir araçtır. Biberde şimdiye kadar türler arasında (Livingstone ve ark., 1999; Rao ve ark., 2003; Yi ve ark., 2006) ve tür içinde (Barchi ve ark., 2007; Ben Chaim ve ark., 2001; Lefebvre ve ark., 1995) farklı genetik kaynaklarla ve amaçlarla birçok genetik harita oluşturulmuştur. Bu genetik haritalar Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polymorfizm (AFLP), Sekans İlişkili Çoğaltılan Polimorfizm (SRAP) ve Değişken DNA Dizilerinin Tesadüfen Çoğaltılması (RAPD) gibi çoklu markır sistemler kullanılarak dizayn edilmiştir. Çok markır veren bu sistemler kullanılarak genetik haritalar moleküler markırlarla doyurulmuş ve detaylı haritalar oluşturulmuştur. Fakat bu markırlar çoğunlukla dominant karakterde olup (temsil ettiği lokustaki homozigot/heterozigot yapıyı ayırt edemez) haritanın oluşturulduğu genetik materyalin dışında kullanılamamaktadır. Buna karşılık lokus-spesifik markır sistemleri (SSR-Basit Tekrar Dizileri; CAPS-Bölünmüş Çoğaltılmış Polimorfik

Diziler; COS-Korunmuş Bölge Seti) haritalama popülasyonun dışında o türün ve/veya akraba türlerin genotiplerinde de kullanılabilmaktedir. SSR markırları kullanılarak *C.annuum x C. frutescens* türleri arası melez popülasyonu (Portis ve ark., 2006; Ben-Chaim ve ark., 2006) ve *C. annuum x C. chinense* popülasyonları (Yi ve ark., 2006; Lee ve ark., 2009) kullanılarak haritalanmıştır.

Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü' nde (Erdemli, Mersin) 75 adet dolmalık, çarliston, yağlık, sivri ve süs biber saf hatlarının çinko noksanlığına tepkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen bir çalışmadan elde edilen sonuçlar, çinko uygulamasının bitkinin kuru madde oranını çinkosuz ortamda yetiştirilenlere göre %100 ile %1300 arasında değiştirdiğini ortaya koymuştur (Eken, 2007). Bu çalışmanın sonuçları biber genotipleri arasında çinko alım etkinliği çok yüksek (çinko eksikliğinden çok az etkilenen) ve ıslah açısından kullanılabilir çok büyük bir genetik varyasyon olduğunu göstermiştir. Bu kadar geniş bir varyasyonun olması çinko-randımanlı (çinko-etkinliği yüksek) çeşitlerin geliştirilebileceğini ve biber genotiplerinin Zn noksanlığına karşı farklı dayanıklılık mekanizmalarına sahip olduklarına işaret etmektedir.

Bu çalışmaya konu olan *Capsicum frutescens* genotipi Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü' nde çinko etkinliği düşük olduğu tespit edilen PI 281420' dir. Wu ve ark., (2009).tarafından *Capsicum annuum* cv. NuMex RNaky x *Capsicum frutescens* var. BG 2814-6 F2 populasyonu kullanılarak SSR, COSII, CAPS, dCAPS, ve SCAR markırlarından oluşan biber entegre haritası yayınlanmıştır Bu harita (solgenomics.net' de Pepper-FAO3 ve Pepper-COSII) biberde yayınlanan ilk tam harita olmuş ve 12 adet biber kromozomuna denk gelen 12 adet bağlantı grubu belirtilmiştir. Bu entegre biber haritası toplam 1613 cM uzunluğunda, ve 271 adet COSII markırı (CAPS, dCAPS,SCAR), 25 adet domates ve biberden elde edilmiş PCR temelli markır, 22 adet domates (Sınırlı Parça Uzunluk Polimorfizmi, RFLP) markırlarından elde edilen PCR temelli markır, 63 adet biber SSR markırları olmak üzere toplam 381 adet markırdan oluşmuştur (bunlardan sadece 11 adet markırın primer dizilimi verilmemiştir). Ayrıca aynı entegre haritada kullanılabilir 280 adet COSII markırının muhtemel kromozom bölgesi belirtilmiş, ancak haritalanmamıştır. Bunlara ilaveten Portis ve ark., (2006) tarafından bildirilen 47 adet

SSR markırı da *C. annuum* x *C. frutescens* melez popülasyonunda kullanılabilir niteliktedir.

Türkiye topraklarının yarısından çoğu çinko eksikliği göstermesine rağmen bu eksikliğin sebep olduğu verim ve kalite kayıpları konusunda sadece tahıllarda detaylı araştırmalar yürütülmüştür. Biberde ise bu konuda bir çalışma yürütülmemiştir. Bu çalışmanın amacı biberde çinko noksanlığına karşı dayanıklılığı kontrol eden genlerin kalıtımının belirlenmesi ve bu genlere bağlı moleküler markırların tespit edilmesi olmuştur. Bu çalışma ile erişilmek istenen sonuçlar; çinko alımını etkileyen genlerin kalıtımının ortaya çıkarılması ve devamında ticari amaçlı kullanılacak biber çeşitlerine aktarılması amacıyla yürütülecek ıslah yöntemlerinin belirlenmesidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Biber, dünyadaki beş önemli sebzeden bir tanesi olup dünyada ve ülkemizde değişik şekillerde yoğun olarak tüketilmektedir. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde az veya çok biber yetiştiriciliği yapılmaktadır. Taze tüketimin yanısıra toz biber, salça, közleme, sos, turşu ve ana yemeklerin içerisinde çok değişik şekillerde değerlendirilmektedir (Keleş, 2007).

Solanaceae familyasında yer alan biberin anavatanı Güney Amerika olup yaygın olarak kullanılan türü *C. annuum L.* olarak isimlendirilir. *Solanaceae* familyasının *Capsicum* cinsi içinde 20– 30 tür yer almaktadır. Çoğu biber türleri 2n=24 kromozomlu olmakla birlikte, yabani biberlerde 2n=48 kromozoma rastlamak mümkündür (Krug, 1986). *Capsicum* cinsinin 5 türü (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. frutescens* ve *C. chinense*) ekonomik olarak kültüre alınmıştır.

Capsicum cinsi 2C DNA kapsamı 7.65 pg/çekirdek (*C. annuum*)' ten 9.72 pg/çekirdek' e kadar (*C. pubescens*) kadar ve ortalama 8.42 pg/çekirdek olan geniş bir genoma sahiptir (Belletti ve ark., 1998). Bu değerler, 3.691 (*C. annuum*), 4.690 (*C. pubescens*) ve 4.063 (genel ortalama) Mbp 1C genom büyüklüğüne denk gelmektedir. Değerler karşılaştırıldığında biber genomunun domates (*Solanum lycopersicum L.*) genomundan 3-4 kez daha büyük olduğu ortaya çıkmaktadır (Arumuganathan ve Earle, 1991).

Capsicum annuum' un geniş bir çeşitlilik gösterdiği Meksika ve Orta Amerika biberin birincil gen merkezi, Güney ve Orta Avrupa, Afrika, Asya ve Latin Amerika' nın bazı kesimleri ise ikincil gen merkezleri olarak bilinmektedir (IBPGR, 1983).

Biber, besin içeriği bakımından oldukça zengindir. 100 g taze yeşil tatlı biberde, 29 kalori, 1,1g protein. 0,2 g yağ, 92,6 g su, 4,2 g karbonhidrat, 1,4 g selüloz bulunmaktadır. Yine yeşil tatlı biberler A, B1, B2, C vitaminlerince zengin olup, ayrıca P ve K ile alkoloitlerde içermektedirler. Biber tohumlarındaki yağ oran %25-28 arasındadır (Günay, 2005).

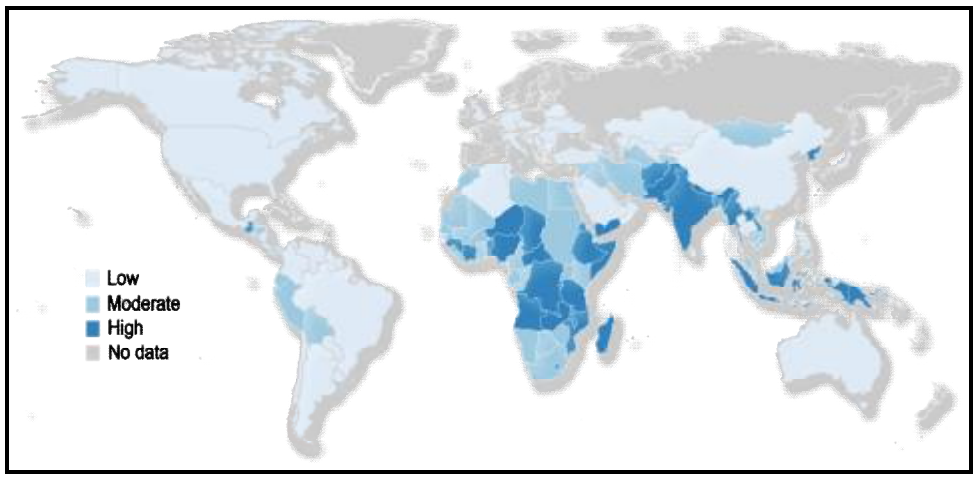
İçeriğinde bulunan " capsaicin" isimli alkoloid maddesinin oranına göre meydana gelen acılık iştahı arttırıcı özelliği ile birlikte sindirim sisteminde bir çeşit

dezenfektan olarak da görev yapmaktadır (Anonymous, 2005). Suyu sıkıldığı ve dışardan sürüldüğü zaman romatizmaya iyi geldiği bilinmektedir. Ayrıca boğaz iltihabına karşı ilaç olarak kullanılmaktadır (Günay, 1981). Son yıllarda biber suyu adale ağrısı ve romatizma için çeşitli ilaçların bileşimine girmektedir.

Türkiye' ye girdikten sonra sevilerek tüketilen gıdalar arasına giren biberin dünya üretimi 29 milyon ton/yıl' dır. Türkiye üretimi 1.975.270 ton/yıl olup ülkemiz sebze üretiminde domates, karpuz, soğan, kavun ve hıyardan sonra 6. sırada yer almaktadır. Türkiye dünya biber üretiminde bazı yıllar Çin' den sonra ikinci sırada, bazı yıllarda ise Endonezya ile yer değiştirerek dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2011).

2.1. İnsan Fizyolojisinde Çinkonun Önemi

Yetersiz çinko alımı yüzünden dünyada milyarlarca insan çinko noksanlığı riski altındadır. Her yıl 400.000' den fazla çocuk çinko noksanlığı yüzünden ölmektedir. Tahminlere göre günümüzde insanlarda çinko noksanlığı riski dünya nüfusunun yaklaşık olarak üçte birine tekabül etmektedir. (World Health Organization, Global Health Observatory, 2004) .(düşük (≤20.0%), orta (>20%–40%), ve yüksek (≥40%)



Şekil 2.1. Dünyada 5 yaş altı çocuklarda görülen çinko noksanlığı riski

Çinko elementi, diğer minerallarden daha fazla vücut fonksiyonlarına etki etmektedir. Zn' nin önemi, 200' den fazla enziminin kompanenti olarak görev almasının yanı sıra, normal büyüme ve gelişme, cinsel fonksiyon, vücut dokularının korunması, görme ve bağışıklık sistemi için gerekli olması nedeniyle artmaktadır. Zn yaşam için oldukça önemli bir element olup, noksanlığı sağlıkta önemli problemlere yol açmaktadır. Özellikle Zn gereksinimin yoğun olduğu çocukluk döneminde Zn noksanlığı (Çizelge 2.1.) kaynaklı sorunlar daha ön plana çıkmaktadır (Harvestplus, 2010).

Çizelge 2.1.Bölgelere göre 5 yaş altındaki çocuklarda çinko noksanlığı (WHO, 2004)

Bölge Adı	Yaygınlık (%)	Ölümler (‘ 000)
Doğu Asya & Pasifik	7	15
Doğu Avrupa & Orta Asya	10	4
Latin Amerika & Karayipler	33	15
Orta Doğu & Kuzey Afrika	46	94
Güney Asya	79	252
Sub-Sahra Afrika	50	400
Gelişmiş Ülkeler	5	0

Zn noksanlığına sebep olan beslenme rejimi en yaygın beslenme bozukluğu şeklidir (Ronaghy, 1987). Dünyada toplam 3 milyardan fazla insan beslenme bozukluğundan dolayı sorunlar yaşamaktadır (Welch ve Graham, 2004). Afrika' da 500-600 milyon insanın düşük Zn alımına bağlı olarak risk altında olduğu tahmin edilmektedir (HarvestPlus, 2007). Zn noksanlığı iştahsızlık, cücelik, zayıf bağışıklık sistemi, deri lezyonu, hipogonadizma ve ishal gibi sağlık problemlerine neden olmaktadır (Solomons, 2003; McClain ve ark., 1985). Ayrıca öncelikle kemiklerde ve iskelet kaslarında bulunan Zn bağışıklık sisteminde de önemli rol oynamakta olup T lenfosit gelişimi için gerekli bir elementtir (Frossard ve ark., 2000). Alkol dehidrogenaz insan vücudunda toksinleri parçalayan bir enzimdir ve bu

fonksiyonunu yerine getirebilmesi için düzenli olarak alınmalıdır. (Ronaghy, 1987). 15-74 yaş arasındaki erkeklerin günlük çinko ihtiyacı 12-15 mg iken 15-74 yaş arası bayanların günlük ihtiyacı 6-8 mg arasındadır (Sandstead, 1985). Zn aynı zamanda çocukluğun erken dönemlerindeki boy kısalığı ile ilişkilidir (Stein ve ark., 2005). Güney Asya ve Afrika' da cüceliğin görülme sıklığı oldukça yüksek olup söz konusu bölgelerdeki 5 yaş altı çocuklarda sırasıyla %44 ve %38' dir (United Nations System Standing Committee on Nutrition, 2004).

Son on yıl içerisinde bitki beslemede mikroelement içerikli beslemeye karşı ilgi artmıştır. Bunun en büyük nedeni üretim yapılan alanlarda bitkilerin mikroelement stresi çekmesi ve bu durumun üretimi, verim ve kalite olarak olumsuz etkilemesi olmuştur. Bitkiler, hayvanlar ve insanlar dengeli büyüme gösterebilmeleri için dengeli beslenmeye ihtiyaç duymaktadırlar. Bitkisel üretimde ihtiyaç duyulan mikroelementler karşılanamadığında verim ve kalite kayıpları yaşanmaktadır (Sadeghzadeh, 2008). İnsanlar sağlıklı büyüme gelişme için yüksek miktarlarda karbonhidrat, protein ve yağa, az miktarlarda da makro ve mikro elementlere (Fe, Zn, Cu, I ve Se) ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar (Welch ve Graham, 2004). Düşük gelirli insanlar için temel mikro element kaynakları bitkisel gıdalardır. Tohumların yenilebilir kısımları veya daneleri ile hazırlanan yiyecekler genellikle düşük seviyede mikro element içermektedir. Ancak bu gıdalar dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Birleşmiş Milletler raporuna göre dünya nufusunun yarısından fazlası mikro element noksanlığı ile sıkıntı yaşamakta ve çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerdeki anaokulu çağındaki çocuklarla kadınların bu durumdan yüksek oranda etkilenmekte oldukları rapor edilmiştir (United Nations System Standing Committee on Nutrition, 2004). Çinko hücre gelişmesi ve çoğalmasının yanı sıra gen ekspresyonunu etkileyen bir elementtir (Hambridge, 2000). Her yıl yaklaşık olarak 800.000 çocuğun ölümü Zn noksanlığına bağlanmaktadır (Micronutrient Initiative, 2006). Çünkü önemli oranda ishal, zatürre ve sıtma riski artmakta ve ayrıca 5 yaş altı çocukların ölüm oranları Zn noksanlığı ile ilişkilendirilmektedir. Dünyada Zn noksanlığının yaygınlığının %31 olduğu tahmin edilmektedir. En şiddetli olduğu bölgeler ise Zn noksanlığı yüzünden ishal ve sıtmanın yaygın olduğu Afrika ve Güney Asya'dır. Afrikada özellikle sıtma hastalığının ana sebebi Zn noksanlığına

dayandırılmaktadır. Zn noksanlığına bağlı hastalıkla ilgili sıkıntılar genellikle bayan ve erkekler arasında eşit olarak yaşanmaktadır (Caulfield ve Black, 2004).

Çinkonun insan beslenmesindeki öneminin anlaşılması eski yıllara dayanmakla beraber Türkiye' de 1990'ı l yılların başında farkına varılmaya başlanmıştır. Orta Doğu' da Zn noksanlığına bağlı olarak büyümede ortaya çıkan şiddetli etkilenme ilk defa 1961 yılında rapor edilmiştir (Prasad ve ark., 1961). Benzer bulgular Türkiye' deki işçilerde sebebi bilinmeksizin daha erken dönemlerde tespit edilmiştir (Tayanc, 1942; Cavdar ve ark., 1983). Yine Türkiye' deki Zn noksanlığını yaygınlığı ve önemi yoğun sörvey ve laboratuvar çalışmaları ile ortaya konulmuştur (Cavdar ve Arcasoy, 1972; Cavdar ve ark., 1980; 1983).

2.2. Bitkilerde Çinko Noksanlığı

Topraktan Zn yetersiz sağlandığı durumlarda bitkilerde Zn noksanlığı ortaya çıkmaktadır. Böylece çinkoya bağlı olarak meydana gelen bir veya daha fazla önemli fizyolojik fonksiyon bozulur ve büyüme olumsuz bir şekilde etkilenir. Bilimsel olarak son 70 yıldır dünyada Zn noksanlığının varlığı anlaşılmış ve Zn noksanlığının varlığı dünyanın bazı yerlerinde sadece son yıllarda kabul edilmiştir. Çinko noksanlığı dünya gıda üretimini tehdit eden birkaç mikrobesin eksikliğinden birisidir. Bundan dolayı çinko noksanlığını bilmek ve anlamak söz konusu sorunu uygun bir şekilde yönetmeye olanak sağlayacaktır.

Son zamanlarda yüksek verimli bitki çeşitlerinin kullanımı ve aşırı ekim ile her hasatta topraktan büyük miktarda Zn kaldırdığı için, farklı bitki türlerinde Zn noksanlığını beyan eden raporlar artmıştır. Yeni ıslah edilmiş bir çok çeşit lokal olarak adapte olmuş genotiplerden Zn noksanlığına daha hassastır. Ayrıca fosfor gübrelemesindeki artış Zn noksanlığının artışına neden olmaktadır (Loneragan ve Webb, 1993).

Bitkilerde Zn noksanlığının temel nedeni; düşük Zn alınabilirliliği (yüksek pH, kireçli ve sodik topraklar), düşük toplam toprak Zn konsantrasyonu (özellikle kumlu, sodik ve kireçli topraklar) yüksek azot ve fosfor seviyesi, yüksek su kapsamı ve toprakların yapısından kaynaklanan köklerin sıkışması sonucu sınırlanması ile

meydana gelen Zn noksanlığı ile toprakların marjinal Zn durumu olarak sıralanabilir (Alloway, 2001). Aşırı toprak işleme ve kısmi sterilasyon işlemleri sonucu doğal doğal mikorizanın elemine olması ile Zn noksanlığı görülür (Ortaş, 2006)

Çinko bitkilerin üreyebilmesi ve sağlıklı gelişmesi için temel sekiz iz elementten (Mn, Cu, Bor, Fe, Zn, Cl, Mo, Ni) birisidir. Zn transkripsiyon gibi olayları ile metaloenzim gibi çok sayıda büyük proteinlerin yapısal bileşiği olarak görev alması bakımından gereklidir (Berg ve Shi, 1996; Vallee ve Falchuk, 1993). Zn elementi noksanlığında bitki Zn' nin kritik rol oynadığı metabolik olaylara bağlı olarak fizyolojik strese girer.

Zn kayaların ayrışması sırasında toprak solüsyonu içine diğer birincil minerallerden serbest bırakılır (Chesword, 1991). Topraktaki toplam Zn konsantrasyonu toprak mineralizasyonu ve ana kaya materyalinin yapısı ile ilgilidir. Topraktaki toplam Zn konsantrasyonunun hepsi bitki için kullanılabilir değildir. Çünkü toplam Zn' nin diğer organik karbon çeşitleri, humik bileşikler ve organik bileşiklerle kompleks bir bileşik halindedir(Barak ve Helmke, 1993).

Zn noksanlığı simptomları genellikle şiddetli noksanlık olarak ortaya çıkmaktadır. Marjinal noksanlık açık simptom görülmese bile gizli çinko noksanlığı yüzünden ürün kalitesinde önemli azalmalara neden olmaktadır (Alloway, 2004). Bu gizli çinko noksanlığı üreticiler tarafından kısa sürede fark edilemeyebilir. Düşük çinko içeriğine sahip topraklar çinko gübrelemesi ile noksanlık düzeltilebilir. $ZnCI_2$, $Zn(NO_3)_2$, ZnO, $ZnCO_3$ ve $ZnSO_4$ gibi çinko kaynakları bu gübrelemede etkin olarak kullanılabilmektedir(Sadeghzadeh, 2008).

Gübre uygulamaları her zaman bazı toprakların sahip olduğu sınırlayıcı faktörler, yüzeysel toprak kuruması veya hastalık ve zararlı etkileşimleri gibi sebeplerden dolayı Zn noksanlığına bağlı sorunları ortadan kaldırmaz (Graham ve Rengel, 1993). Aynı zamanda Zn gübrelemesi gelişmekte olan ülkelerde her zaman mevcut yada uygulanabilecek durumda değildir. Zn noksanlığının yaygın olması nedeniyle ve çinko gübrelemesi ile sorunun ortadan kaldırılmasındaki zorluklar yüzünden özellikle düşük Zn içerikli toprak koşullarında etkin olabilen çeşitlerin geliştirilmesi mikrobesin kalitesi verim ve Zn noksanlığı toleransının gelişimi için önemli bir yaklaşımdır. Bunlara ek olarak, Zn etkin genotipler, makine ile işlemenin

azalması ile arazi bozunumlarınıda azaltabilecek (Thongbai ve ark.,1993) ve tarımsal alanlardaki gübrelemeye bağlı olarak oluşan girdileri azaltacaktır. Buğday, arpa ve çeltikte Zn-etkin genotipler tespit edilmiş ve düşük Zn konsantrasyonuna sahip topraklarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Genc ve McDonald, 2004; Genc ve ark., 1999; Gregorio ve ark., 2000).

Bitki genotipleri arasında düşük alınabilir Zn koşullarına tolerans bakımından geniş varyasyon vardır. Bitkilerin Zn noksanlığına toleransı genetik bir özellik olarak genellikle Zn-etkin olarak isimlendirilir ve çeşitlerin Zn noksan topraklarda standart bir çeşit gibi büyüme ve gelişme kabiliyetine sahip olması olarak tanımlanır (Graham, 1984). Zn noksanlığının fizyolojik ve moleküler mekanizmasının anlaşılması hala başlangıç aşamasındadır. Zn etkin genotipleri ıslah etmek için ilk adım Zn etkin ve etkin olmayan genotiplerin melezlenmesinden elde edilmiş fazla sayıdaki populasyonun değerlendirilmesidir. Bu yüzden Zn etkinliği için ıslah proğramlarında ucuz, hızlı ve basit tarama tekniklerine ihtiyaç vardır (Sadeghzadeh, 2008).

Saksı denemeleri arazi çalışmalarından daha ucuz ve daha hızlı bir tekniktir. Buna ek olarak toprak heterojenliği bu teknikle elimine edilebilir. Ancak küçük saksılarda kök bağlayıcılığı Zn etkinliğinin tam ifadesini ortaya çıkarmada bağımsız sınırlayıcı bir faktör olabilir (Sadeghzadeh,. 2008). Moleküler tekniklerin yakın gelecekte Zn etkinliği ve benzeri özellikleri taramada ve değerlendirmede yaygın bir şekilde kullanılacağı umulmaktadır. Özellikle, karakterlerin belirlenmesinde DNA markırlarının kullanılması yeni tür ve çeşitlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Genetik haritaların sayısının artması özel bir kromozom için bir özelliğin haritalanmasına izin vermektedir. Bu yolla, zaman alan ve pahalı biyolojik testler yerine ilgili DNA markırlarının seçimine izin verecektir.

2.3. Topraklarda Çinko

2.3.1. Topraklarda Zn noksanlığının dağılımı

Zn noksanlığına dünyanın farklı bölgelerindeki farklı toprak tiplerinde rastlanmaktadır. Ancak çok yağışlı tropikal bölgeler, yüksek pH' lı kireçli yarı kurak bölgeler, kumlu topraklar ile farklı iklime sahip olan Zn içeriği düşük olan topraklar Zn noksanlığından etkilenmeye daha fazla eğilim göstermektedirler. Dünya çapında 15 ülkenin 190 farklı alanında yapılan çalışmalar ile Zn noksanlığı mikrobesin noksanlıkları problemleri arasında en sık görülen noksanlık olarak belirlenmiştir. Zn noksanlığı, incelenen alanların % 49' unda görülürken aynı denemede kullanılan örneklerin %25' inde açık görülebilir simptomlar ve %24' ünde ise gizli noksanlık tespit edilmiştir (Sillinpaa, 1990).

Düşük Zn içerikli topraklar; Hindistan'ın kurak ve yarı kurak bölgelerinde, Pakistan'ın çeltik yetiştirme alanlarında, Çin' in direnaj az kalkerli çeltik yetiştirme alanlarında, Orta Anadolu' nun yüksek alkalili, düşük organik maddeli topraklarında kaydedilmiştir (Nayyar ve ark., 1990; Rashid ve Rafique, 1998; Silinpaa, 1982; Eyupoglu ve ark., 1994). Avustralya' nın Güney Avustralya, Viktorya, Queensland, Güneydoğu Avustralya bölgelerinde düşük alınabilir Zn' li topraklar tespit edilmiştir. Batı Avustralya' nın güneybatısının dünyada en fazla Zn eksikliği gösteren bölge olduğu düşünülmektedir. Bu durum Avusturalya' yı dünyanın mikroelement problemleri ile ilgili araştırma merkezi haline getirmiştir. Ayrıca dünyanın tahıl üretiminin %50' sinin düşük çinko içeriğine sahip topraklar üzerinde gerçekleştirildiğide tahmin edilmektedir (Graham ve Welch, 1996).

Türkiye' de bitkilerde ve topraklarda en yaygın mikro element noksanlığı Zn noksanlığıdır. Eyüpoğlu ve ark., (1994) tarafından tüm Türkiye' den toplanmış olan 1511 adet toprak örneği ile yürütülen bir çalışmada işlenen alanların %50' sinde çinko noksanlığının olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda Zn noksan alanlar 14 Mha alana tekabül etmektedir. Türkiye topraklarının büyük bir kısmının Zn bakımından fakir olması insanlarda Zn eksikliğinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Cavdar ve ark., 1983; Prasad, 1984; Cakmak ve ark., 1996d).

Tahıl üretiminde Zn noksanlığının etkileri 1996 yılının başından bu yana dikkate alınmaya başlanmıştır. 1982 yılında farklı ülkelerde yürütülen sörvey çalışmalarından sonra Türkiye topraklarındaki Zn konsantrasyonu oldukça düşük olarak rapor edilmiştir (Sillanpa, 1982). 1990-1991 üretim sezonuna kadar buğdayda çinko noksanlığının neden olduğu simptomlarla ilgili hiçbir bilimsel bulgu olmadığı Çakmak ve ark (1999) tarafından rapor edilmiştir.

Zn noksanlığı ülkemizde özellikle İç Anadolu Bölgesi topraklarında genelde yaygındır. Bu bölge Türkiye' nin toplam buğday üretim alanının neredeyse yarısı (4.5 Mha) olup, aynı zamanda Türkiye' nin en kurak bölgesidir. Aynı zamanda İç Anadolu bölgesi toprakları $CaCO_3$ bakımından zengin olup 7.5 ve 8.1 arasında değişen yüksek pH değerine sahiptir. Yüksek pH ve $CaCO_3$ ile düşük organik madde içeriği (%2' den düşük), 280-400 mm' lik oldukça düşük yağış İç Anadolu Bölgesi' nde ortaya çıkan Zn noksanlığının temel sebepleri olarak düşünülmektedir (Cakmak ve ark., 1996d; Cakmak ve ark., 1999). Bu faktörlerin topraktaki Zn hareketinde etkili olduğu bilinmektedir (Marschner, 1993). İç Anadolu Bölgesinde yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlar, bu bölge topraklarında var olan veya sonradan uygulanan çinkonun olumsuz koşullar nedeni ile toprakta güçlü bir şekilde tutulduğunu göstermiştir. Çalışmada topraklardaki toplam çinko konsantrasyonunun yüksek olmasına (40-80 ppm) rağmen, bitki tarafından alınabilir Zn' nin (DTPA-Zn; 0.11-0.64 ppm, ortalama 0.29 ppm) oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Cakmak ve ark., 1996d). Aynı bölgeden toplanan ve analiz edilen toprakların % 90' ından fazlasında Zn konsantrasyonu kritik değerin (<0.5 mg kg) altında bulunmuştur. Aynı çalışmada 136 adet yaprak örneğinde Zn konsantrasyonu 4 ila 25 mg kg kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir (Cakmak ve ark., 1996d; Cakmak ve ark., 1999).

Torun ve ark., (2005) Adana, Mersin ve Hatay illerinde turunçgil bahçelerinin mineral beslenme düzeyini belirlemek için iki yıl tekrarlamalı olarak (2000 ve 2001 yılları) toplam 1119 yaprak ve 2101 yüzey ve yüzey altı toprak örneği toplanmışlardır. Yapılan yaprak analiz sonuçlarına göre, yaprak örneklerinde başta Zn olmak üzere mikroelementlerin genelde yetersiz olduğu saptanmıştır. Yetersiz düzeyde çinkoya sahip örneklerin oranı %89,7 olarak bulunurken, Mn için bu değer %65,4 ve Fe için ise % 42 olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan Doğu Akdeniz Bölgesinin iki farklı yöresinden

toplanan topraklarda DTPA (dietilentriamin pentaasetik asit) ekstraksiyon yöntemiyle yapılan analizlerde, bitkilerce alınabilir çinkonun %46 ve %79 yöre oranları ile düşük çıktığını tespit etmişlerdir (Bayram ve ark., 1984; Doran ve ark., 1991).

GAP, Orta Anadolu ve Çukurova Bölgelerinde başta Zn olmak üzere mikro elementlerin topraktaki kimyasal formlarını ve bu formlardaki mikro element konsantrasyonlarını saptamak amacıyla yapılan çalışmada, alınan bölge topraklarının toplam mikro element içerikleri yönünden yeterli düzeyde oldukları belirlenmiştir. Diğer taraftan yüksek pH, kireç, kil ve düşük organik madde içeriği gibi çeşitli toprak özellikleri nedeniyle, mikro elementlerin bitkilerde yarayışlılığının önemli ölçüde sınırlı olduğu bildirilmiştir (Karanlık ve ark., 1998).

2.3.2. Topraktan Çinko'nun Alınımı

Çinko ilk olarak bitkinin kökleri tarafından topraktan Zn^{2+} formunda alınmaktadır. Bitkilerde Zn alımı kök yüzeyindeki iyon konsantrasyonuna, bitki talebine ve kök absorbsiyon kapasitesine bağlıdır. Besin elementleri bitki kök yüzeyine kütle akışı, difüzyon ve kök tarafından tutunma mekanizması yoluyla taşınmakdırlar (Mengel ve Kirkby, 1987; Salisbury ve Ross, 1992; Fageria ve ark. 1991). Transpiransla meydana gelen kütle akışı topraktan köke pasif besin taşınımıdır. Kök yüzeyine Zn taşınımından en önemli mekanizma, topraktan köke taşınan solüsyonun yüksek Zn konsantrasyonu içermesidir (Barber, 1984).

Zn konsantrasyonu düşük olduğu zaman, özellikle düşük Zn' li topraklarda difüzyon Zn, P, K, Cu, Fe ve Mn gibi elementlerin kök yüzeyine taşınmasında önemli rol oynar. Çünkü kütle akışı bitkiler tarafından ihtiyaç duyulan besinlerin sadece küçük fraksiyonlarını taşıyabilir (Barber ve Silberbush, 1984). Kütle akışının aksine difüzyon kök etrafında toprağın hacmini etkiler. Difüzyon sadece toprak koşullarından etkilenmeyip kök yakalaması gibi diğer bitki faktörler tarafından da etkilenmektedir.

Kök tarafından besinlerin yakalanması, Zn gibi hareketsiz besinler için önemli bir mekanizmadır (Mortvedt ve Gilkes, 1993). Yani kök yakalaması kök

büyümesi ve kök yüzey alanıyla birlikte bitki Zn alınabilirliğini belirlemede önemli bir faktördür (Marschner, 1993).

2.3.3. Çinkonun Topraktan Bitkiye Alımını Etkileyen Faktörler

‘ ’ Kullanılabilirlik’ ’ kelimesi yaygın olarak bitkilerin topraktan besin elementlerini alabilmesini ifade etmek için kullanılmaktadır (Tiller, 1983). Bitkilerin Zn kullanabilirliği toprak Zn içeriği, toprak pH’ sı, organik madde, toprak sıcaklığı, nem rejimi, kök dağılımı ve rizosfer etkisi gibi faktörlerden etkilenmektedir. Düşük toplam Zn konsantrasyonuna sahip topraklarda, tahıl üretiminde Zn yetersiz kalmaktadır. Zn kullanılabilirliği düşük asitli topraklar doğal olarak genellikle düşük Zn konsantrasyonuna sahiptirler (Lucasve Davis, 1961). Bu yüzden asidik topraklarda bitki büyümesindeki Zn noksanlığı genel olarak toplam düşük toprak Zn konsantrasyonuyla ilişkilendirilir. Zn eksikliğinin bu durumları Zn kullanılabilirliğinden ziyade mutlak Zn noksanlığı ile ilgilidir.

Mikroelement alınabilirliği genellikle toprak pH’ sı ile yakından ilşkilidir. Artan toprak pH’ sı metaloksit ve kil mineralleri gibi değişik toprak bileşenlerinin yüzeyine Zn’ nin absorbsiyonunu teşvik eder. Bu durum bitkilerde Zn çözünürlüğünün ve kullanılabilirliğinin azalmasıyla sonuçlanır (Barrow, 1993; Brümmer ve ark.,1988). Çinko yüksek pH’ larda $Zn(OH)_2$, $ZnCO_3$, $ZnSiO_4$ formlarında çökelebilir (Ma ve Lindsay, 1993). Toprak solüsyonunda Zn konsantrasyonu çoğunlukla pH’ ya bağlıdır. Örneğin; pH 5,0’ da toprak çözeltisindeki Zn konsantrasyonu yaklaşık 10^{-4} M iken pH 8,0’ da ise 10^{-10} M’ dır (Lindsay, 1991). Asitli toprakların kireçlenmesiyle toprak pH’ sının 5,2’ den 6,8’ e artışı toprak Zn konsantrasyonunu 10 kat azalmasıyla sonuçlanır.

Orta ve yüksek organik madde içeriğine sahip (15g/100 kg toprakta organik C) kireçli topraklarda (pH:7) toprak solüsyonundaki HCO_3 nedeniyle Zn noksanlığı ortaya çıkmaktadır. Düşük Zn’ li alkali topraklarda Zn uygulaması bitkide Zn konsantrasyonunu arttırmış, noksanlık simptomlarını azaltmış ve bitki büyümesini belirli bir oranda arttırmıştır (Liu ve Tang, 1999). Toprak organik madde içeriği bitkilerde Zn noksanlığına etki eden diğer bir faktördür. Yüksek toprak organik

madde kapsamının organik bileşikler tarafından Zn' nin absorbsiyonundaki artışı nedeniyle bitkiler tarafından alınabilirliliğin düşük olabileceği bildirilmektedir (Lindsay, 1972). Yeterli organik madde seviyesi topraktaki Zn difüzyon oranını ve çözünebilirliğini arttırır (Sharma ve Deb, 1988). Birçok araştırmacı çözünebilir Zn ve organik madde arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu belirlemişlerdir. Hem DTPA- çözünebilir Zn hem de organik madde içeriği toprak profilinde derinlikle birlikte azalmaktadır (Alloway, 2004).

Zn noksanlığına sebep olan diğer faktörler düşük toprak nemi ve sıcaklığıdır. Toprak nemi kök yüzeyine difüzyonu azaltarak besin miktarını azaltır (Marschner, 1993, 1986; Moraghan ve Mascagni, 1991). Topraklarda Zn difüzyonu yüksek oranda toprak nemine bağlıdır. Bitki Zn beslenmesi, bitkilerin büyüme ve gelişme dönemlerinde oluşan ve uzun süren kuraklıkların yaşandığı semi arid ve arid topraklarda risk altında olabilir. Bu nedenle Zn eksikliği olan kireçli topraklarda buğday verimindeki azalmalar sulama yapılan alanlara göre kurak alanlarda daha şiddetlidir (Ekiz ve ark., 1998). Diğer taraftan su baskınları topraktaki Zn formunu değiştirir. Örneğin bataklık olan topraklar iyi drene edilmiş topraklarla kıyaslandığında suda çözünebilir Zn konsantrasyonu daha az olmaktadır (Singh ve Abrol, 1986).

Erken büyüme sezonunda toprak sıcaklığı nispeten düşük olduğu zaman Zn noksanlığı meydana gelir ve sonrasında sıcaklık arttıkça bu durum ortadan kaybolur. Düşük toprak sıcaklığı genellikle Zn noksanlık simptomlarının şiddeti ve sıklığını arttırır (Moraghan ve Mascagni, 1991). Arpada kökler tarafından Zn alımı, 20ºC deki toprak sıcaklığında 10ºC ile kıyaslandığında % 82 daha yüksek olmuştur. Daha düşük kök bölgesi sıcaklığı VA mikoriza ile kök kolonizasyonunu, kök büyümesi ve Zn alımı ile sürgün içindeki taşınımını azaltmaktadır (Moraghan ve Mascagni,1991; Schwartz ve ark., 1987).

Zn eksikliği bulunan kritik toprak Zn seviyeleri, Zn izolasyon metoduna bağlı olarak 0.6 ve 2.0 mg Zn/kg arasında değişmektedir (Singh ve ark., 2005). DTPA, EDTA ve amonyum asetat gibi tuzların kullanımıyla alınabilir Zn kapsamını belirleyebilen bazı analitik toprak analiz yöntemleri topraktaki kullanılabilir Zn kapsamını önceden belirlemek için önemlidir. DTPA metodu topraktaki kullanılabilir

Zn' yi önceden belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılır. Sera ve tarla denemelerini ile kritik DTPA alınabilir Zn konsantrasyonu Hindistan'ın arid bölgelerinin kireçli topraklarında buğday üretilen alanlarda yaklaşık 0.6 mg/kg, Avustralya' da asitli topraklarda buğday üretilen alanlarda ise 0.25 mg/kg olarak rapor edilmiştir (Bansal ve ark., 1990; Brennan, 1996).

Düşük Zn' li topraklarda bitki için yeterli Zn miktarı Zn' li gübre uygulamaları ile arttırılarak iyileşme sağlanabilir. Bazı farklı Zn bileşikleri gübre olarak kullanılmakla birlikte en fazla $ZnSO_4$ kullanılmaktadır (Alloway, 2001).

2.4. Çinko ve Diğer Besin Elementleri Arasındaki Etkileşimler

Bitkilerde Zn ve diğer elementler arasındaki etkileşimler Zn noksanlığını değerlendirmede önemlidir. Besin etkileşimleri bitki Zn kullanılabilirliğini azaltmakta ve Zn' nin bitki tarafından alınması, taşınması ve kullanımını etkilemektedir. Bu etkileşimler, diğer katyonların Zn' nin alımı veya formundan ziyade bitki kökleri tarafından absorbsiyon oranına olan etkisi yüzündendir (Lonergan ve Webb, 1993).

Fosfor ve azot ile Zn interaksiyonu Zn, P ve N' un noksan olduğu toprak koşullarında çok önemli ve yaygındır. Zn noksanlığında azotun yüksek miktarlarda uygulanması; azotun bitki büyümesini teşvik etmesi, kök bölgesindeki pH' yı değiştirmesi ve beraberinde bitki büyüdükçe dokulardaki Zn' nin seyrelmesi nedeniyle Zn noksanlığının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bitki kök absorbsiyonu ve kök yoğunluğundaki artış olmadan bitki büyümesinin teşvik edilmesi çinko konsantrasyonunda azalışa neden olmaktadır (Loneragan ve Webb, 1993).

Topraktaki fosforun yüksek seviyeleri bazen Zn eksiklik semptomlarını arttırabilir. Zn ve fosforun toprakta birlikte çökmesi, çözünmez $ZnO_3(PO_4)_2$' nin oluşmasına sebep olabilir ki, buda topraktaki çinko konsantrasyonunun noksanlık seviyesine inmesine neden olabilir (Barrow, 1993). Bunların yanında fosfor bitkilerin birim Zn absorbsiyon oranını azaltmaktadır (Safaya, 1976). Zn ve fosforun sınırlı olduğu topraklarda fosfor uygulaması yapıldığında, büyümenin teşvik edilmesi

nedeniyle çinkonun bitki dokularındaki seyrelmesine ve çinko konsantrasyonunun noksanlık sınırına kadar gelmesine neden olmaktadır (Sharma ve ark., 1968; Singh ve ark., 1988).

Buğdayda yüksek P uygulaması Zn noksanlığını arttırabilir (Wagar ve ark., 1986). Ayrıca buğdayda çinko noksanlığında yüksek seviyede fosfor uygulaması ile sürgündeki Zn konsantrasyonu azalmış ve 250 mg P/kg toprak seviyesinde şiddetli Zn noksanlığı görülmüştür. Bu duruma ek olarak verimde azalış kaydedilmiştir. Zn etkin olmayan genotiplerle çinko etkin genotipler karşılaştırıldığında, yüksek P uygulaması ile Zn konsantrasyonunda daha fazla azalış elde edilmiştir (İmtiaz ve ark., 2006). Hatta yapraklarda Zn eksikliği fosfor konsantrasyonunun artmasını teşvik etmiştir (Cakmak ve Marschner, 1987). Çinko etkin buğday genotipleri fosfor konsantrasyonunu düşük seviyede korurken, topraktan daha fazla Zn absorbe etmişler ve daha iyi gelişme göstermişlerdirir. Çinko etkin olmayan genotiplerde fosforun çinkonun fizyolojik aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Cakmak ve Marchner, 1987; Leece, 1978).

K, Ca, NH_4 ve Mg gibi makroelement katyonları toprak solüsyonunda Zn absobsiyonunu azaltır (Loneragan ve Webb, 1993). Buğday fideleriyle yapılan bir çalışmada, $Ca(NO_3)_2$ uygulaması ile Ca' un 0' dan 40 mM' a artması ile yapraklardaki Zn konsantrasyonunda azalışın olduğu kaydedilmiştir (Chaaundhry ve Loneragan, 1972).

Diğer faktörlerin yanısıra mikro elementlerinde Zn alımını etkilediği rapor edilmiştir. Örneğin Cu inhibatör olmakla beraber toksik etkisiyle Zn alımını etkileyebilmektedir (Loneragan ve Webb, 1993). Çinkonun inhibisyonun nedeni köklerin plazma membranındaki absorbsiyon yüzeylerinde Zn ile Cu arasındaki rekabetten kaynaklanmaktadır (Chanudhry ve ark., 1973). Fe ve Zn interaksiyonu çok kompleks olup çok farklı sonuçlar sergileyebilmektedir. Fe' nin artışıyla sürgün Zn konsantrasyonu genellikle azalış göstermektedir (Zhang ve ark., 1991).

Ayrıca toprak tuzluluğunda etkili olan K, Na ve Cl gibi elementler ile Zn arasında ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar yürütülmüştür. Aktaş ve ark. (2006) tarafından kontrollu koşullarda yetiştirilen biber bitkilerinde (*Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-3) artan Zn konsantrasyonunun NaCI toksitesine etkisinin

araştırıldığı çalışmada, biber fidelerine şiddetli Zn noksanlığı koşullarında artan Zn (0, 2,ve 10 mg Zn kg^{-1} toprak) ve NaCl (%0, %0.5 ve %1.5 NaCl' li sulama suyu) uygulaması yapılmıştır. Uygulamadan 46 gün sonra bitkiler hasat edilmiş ve kuru madde miktarı Zn, Na, K ve P ile K/Na oranını belirlemek için analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar özellikle en yüksek tuz uygulamasında topraktaki Zn noksanlığının önemli derecede sürgün büyümesinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Beklenildiği gibi artan NaCI uygulaması sürgün kuru madde üretimini azaltmıştır. Fakat bu azalış 10 mg Zn kg^{-1} toprağa göre 2 mg Zn kg^{-1} toprakta daha yüksek bulunmuştur. Zn uygulamasındaki 2 den 10 mg kg^{-1} toprağa doğru artış sürgündeki Na konsantrasyonunu azaltırken, K konsantrasyonunu arttırmıştır. Sonuç olarak bitkilerin K/Na oranı en yüksek Zn uygulamasında en yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları tuz stresine töleransın gelişiminde bitkilerin Zn besinsel durumunun önemini ortaya koymuş ve yeterli Zn beslenmesinin tuzlu koşullarda verimliliğin ve yeterli büyümenin devamı için oldukça önemli olduğunu göstermiştir.

2.5. Bitkilerde Çinko

2.5.1. Bitkilerde Çinkonun fonksiyonu

Çinko tüm bitkilerin normal sağlıklı büyümesi ve üremesi için gerekli bir elementtir. Çinkonun çok küçük bir miktarı bitkilerin önemli fizyolojik olaylarını yerine getirebilmesi için anahtar rol oynamaktadır. Bu Fizyolojik olaylar büyümenin düzenlenmesi, enzim aktivasyonu, genlerin ifade edilmesi ve düzenlenmesi, fitokrom aktivitesi, protein sentezi, fotosentez ve karbonhidrat metabolizması, üreme ve tohum üretimi ve hastalıklara karşı savunmadır (Marschner, 1995). Zn noksanlığı bu fizyolojik olayları, bitkilerin sağlığını ve verimliliğini bozarak büyümede azalmaya, düşük verim ve kalite kaybına neden olabilir (Brown ve ark., 1993).

Zn oksidoredüktaz, transferaz, hidrolaz, lizaz, izomeraz ve ligaz olmak üzere 6 enzim sınıfında temsil edilen tek metaldir (Webb, 1992). Çeşitli enzimlerde Zn gereksinimi proteinler, karbonhidratlar ve oksin metobolizması ile üreme süreci için önemli olup, Zn noksanlığında genellikle tüm bu aşamalar sekteye uğramaktadır

(Brown ve ark., 1993; Römheld ve Marschner, 1991). Aynı zamanda Zn, protein metabolizmasında nükleik asitlerde yer alan metalenzimlerin aktivasyonu için gereklidir (Kastrup ve ark., 1996).

Aynı zamanda çinko karbonhidrat metabolizmasında yer alarak fotosentez ve şekerin dönüşümüne etki etmektedir. Zn noksanlığı nedeniyle oluşan fotosentezdeki azalış karbonik anhidras aktivitesi (CA), kloroplastların fotokimyasal aktivitesi, klorofil kapsamı ve kloroplast yapısındaki azalış ile sonuçlanabilmektedir (Sharma ve ark., 1982; Tkachuk ve ark., 1994). Düşük karbonik anhidras aktivitesi (CA) fotosentetik elektron transferini engelleyebilir ve bunun sonucunda klorofil kapsamını sınırlar (Römheld ve Marschner, 1991).

Zn protein metabolizmasında önemlidir. Zn' nin protein sentezindeki en önemli rolü genetik materyalin fonksiyonu ve stabilizasyonu ile ilişkisidir. Zn; kromotin yapısı, DNA-RNA metabolizması ve gen ifadesinde önemlidir (Vallee ve Falchuk, 1993). Zn noksanlığında RNA bozulması ve düşük RNA polimeraz aktivitesinden dolayı hem deformasyon hem de ribozom azalması meydana geleceğinden protein sentezi azalır (Marschner, 1995; Obata ve ark., 1999; Cakmak ve ark., 1989; Solaiman ve Wu, 1985; Brown ve ark., 1993; Kitagishi ve ark., 1987).

Zn, reaktif oksijen çeşitlerinin oluşum ve detoksifikasyonun kontrolünü sağlayarak hücresel membranların fonksiyon ve bütünlüğünün devamı için önemli bir fizyolojik etkiye sahiptir (Cakmak, 2000; Cakmak ve Marschner, 1988; Pinton ve ark., 1994). Reaktif oksijen çeşitleri, membran lipidlerine ve sülfür gruplarına zarar vermektedir (Bettger ve O' Dell, 1981; Rengel, 1995b). Bu bileşikler oksidatif stres yüzünden zararlandığında Zn noksan kök hücrelerinden karbonhidrat ve amino asit gibi bir çok organik bileşiklerdeki sızıntılar artmaktadır (Cakmak ve Marschner, 1988). Rizosferde karbon içeren bileşiklerdeki sızıntılar yüzünden Zn noksan bitkiler *Fusarium graminearum* gibi kök hastalıklarına karşı hassas hale gelebilirler (Grewal ve ark., 1996; Sparrow ve Graham, 1988).

Zn noksan koşullarda kök gelişimi; Zn etkinliğinin ifade edilmesinde etkili olan en önemli özellik olarak düşünülmektedir. Ancak Zn etkinliği farklı olan buğday genotipleri kök kuru madde üretimi bakımından Zn noksan koşullarda birbirinden çok farklı sonuçlar vermemiştir. Hatta besin solüsyonu denemelerinde,

durum buğdayının Zn noksan koşullardaki duyarlılığının kök gelişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Rengel ve Graham, 1995a; Cakmak ark., 1996c). Fakat Zn etkin ve etkin olmayan genotipler birbirinden absorbsiyonu etkileyen yüzey alanına bağlı olan kök morfolojisi bakımından farklı olabilirler (Dong eve ark., 1995)

Zn noksanlığındaki genotipsel farklılıklar, köklerden fitosidoresfer' in salınmasında farklılığa neden olabilir. Fitosidoresfer' in salınması sadece Fe noksanlığında değil aynı zamanda Zn noksanlığında da meydana geldiği (Zhang ve ark., 1989; Cakmak ve ark., 1994), rizosfer ve kök hücre duvarından Zn' nin hareketine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Treeby ve ark., 1989; Zhang ve ark., 1991). Fe noksanlığında fitosidoresfer' in salınması tahıl çeşitleri arasında ve içinde Fe noksanlığına karşı duyarlılıktaki farklılıklarla yakından ilişkilidir (Takagi ve ark., 1984; Marschner ve ark., 1986; Jolley ve Brown, 1989). Çakmak ve ark. (1994) tarafından yürütülen bir çalışmada, durum ve ekmeklik buğday hatları arasında Zn etkinliği bakımından oluşan farklılıkla fitosidoresfer salınım oranındaki deoxymugineic asitteki farklılıkla özellikle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Cakmak ve ark., 1994, 1996b). Zn noksanlığı koşullarında Zn etkin ekmeklik buğday kökleri durum buğdayı ile karşılaştırıldığında daha yüksek miktarlarda deoxymugineic acid içermekte ve salmaktadırlar. Ancak Zn etkin ve etkin olmayan ekmeklik buğday çeşitlerinin köklerinden fitosidoresfer salınım kapasitesi bakımından birbirinden farklı olmadıkları bildirilmiştir (Erenoglu ve ark., 1996). Hatta en etkin Zn çavdar çeşidi Aslım ile tritikale çeşidi Presto' nun Zn etkin olmayan ekmeklik buğdaylardan fitosidoresfer salınım oranı bakımından çok üstün olmadıkları rapor edilmiştir (Cakmak ve ark., 1998).

Genotiplerin düşük çinko koşullarında Zn' yi topraktan yüksek miktarda alabilme yeteneği Zn etkinliğinin ifade edilmesinde başlıca bitki özelliğidir. Altı ekmeklik ve dört durum buğday genotipi ile besin solüsyonu denemesinde, Zn etkin ekmeklik buğdayların Zn-noksan durum buğdaylarından bitki başına ortalama %29 daha fazla Zn birikimine sahip olduğu bildirilmiştir (Çakmak ve ark., 1999b). Çalışma ile elde edilen ilginç bir sonuçta ekmeklik buğdaylarda yüksek Zn birikimi görülürken, Zn noksanlığında ekmeklik ve durum buğdaylarının köklerinde Zn birikimi açısından bir fark bulunamamıştır (Cakmak ve ark., 1999c). Elde edilen

sonuçlar Zn etkinliğinin oldukça yoğun Zn alımı ve özellikle kökten sürgüne taşınım kapasitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca Zn alımı ve sürgünde taşınımının (apikal meristemlerde) çinko etkinliğinin ortaya çıkmasında çok önemli bir adım olduğu bildirilmiştir (Cakmak ve ark., 1999).

Arazi ve sera koşullarında 550' den fazla buğday çeşidi ve hattı ile yürütülen 3 yıllık denemelerde, çinko noksanlığı duyarlılığında coğrafi farklılıklarla sürgünlerdeki Zn konsantrasyonunun birbiri ile ilişkili olmadığı rapor edilmiştir. Zn noksan koşullarda bütün hatların sürgün ve yapralarının kuru maddelerinde benzer şekilde düşük miktarlarda Zn tespit edilmiştir. Fakat bu durumun tersi olarak her sürgündeki toplam Zn miktarı hatlar arasında farklılık göstermiş ve Zn noksanlığına bitkilerin hassasiyetleri ile paralel bir durum sergilemiştir (Cakmak ve ark., 1999)

Bitki türlerinin çinko noksanlığına olan duyarlılıkları farklı olmaktadır. Özellikle yüksek ticari katma değere sahip olan türler yüksek ve orta derecede duyarlılık sınıflarında yer alırken biber yüksek duyarlı sınıf içerisinde yer almıştır(Çizelge 2).

Çizelge 2.2 Bitki türlerinin çinko noksanlığına olan göreceli duyarlılıkları

*Yüksek	Orta	Düşük
Fasülye	Arpa	Yonca
Turunçgil	Pamuk	Havuç
Keten	Marul	Çim
Meyve Ağaçları	Patates	Yulaf
Bağ	Soya	Bezelye
Mısır	Şeker Pancarı	Buğday
Pirinç	Domates	
Sorgum		
Biber**		

*Martens ve Westermann (1991; Alloway, 2009)
**Eken, (2007)

2.5.2. Bitkide Çinkonun Alımı ve Hareketi

Kökler iki değerlikli bir katyon olarak Zn' yi topraktan alır ve yüksek pH' da, Zn' yi tek değerli ($ZnOH^+$) bir katyon olarak absorbe eder (Marschner, 1995). Bitki kökündeki Zn birikimi çift fazlı hareket gösterir. Başlangıçta hızlı girer ve kök hücre duvarına bağlanır, ardından plazma membranı arasından daha yavaş linear taşınıma devam eder (Santa Maria ve Ogliatti, 1988). Çinkonun hücre dışı solüsyondan kök hücre duvarının serbest bölgesine hareket süreci difüzyon yoluyla olur ve ardından Zn transfer proteinleri yardımıyla plazma mebranı arasından transfer edilir. Bitki hücresinin sitoplazması negatiftir ve hücrede bir elektriksel alan oluşturan katyonlar (Zn^{2+}) vardır. Kök Zn alımına farklı taşıma sistemleri aracılık etmektedir. Bunlar kök membran taşıma sistemi; yüksek hız, düşük benzerlik (*Km*=2-5 µM) ve düşük hız, yüksek benzerlik sistemidir (*Km*=0.6-2 nM). Bu taşıma sistemi düşük Zn' li topraklarda görülen baskın taşıma sistemidir (Hacisalihoglu, 2002; Hacisalihoğlu ve ark., 2001). Zn etkin olan bitkiler Zn etkin olmayan bitkilere göre genellikle daha düşük hız ve benzerlik değerlerine sahiptir (Hacisalihoğlu ve ark., 2001; Rengel ve Wheal, 1997b).

Besinler bitki kök yüzeyinden epidermis, korteks ve endodermis gibi farklı kök hücreleri boyunca kök ksilemi içinde taşınırlar. Ardından besinler ksilemden sürgünlerdeki büyüme organlarına hareket ederler (Marschner, 1995). Zn kökten ksileme yada kök hücreleri arasında hücrelerarası boşluklardan geçebilir (White ve ark., 2002). Apoplastik katyon akışı çoğunlukla, hücre duvarının özelliklerini değiştiren katyonlar ve Kaspariyan şerit oluşumu yoluyla su akışıyla belirlenir. Simplastik mineral akışı, plazma membranı ve tonoplast taşıma sistemi tarafından katalize edilir. (Sattelmacher, 2001). Artan dışsal Zn konsantrasyonu ile apoplastik yol, Zn alımına ve ksileme aktarılmasına katkıda bulunmaktadır (White ve ark., 2002).

Besin elementleri ksilem içinde transpirasyonla sürgünlere doğru hareket eder. Transpirasyon için gerekli bu itici güç atmosfer ve stomatal hücreler arasındaki su potansiyelindeki eğimden meydana gelir (Kochian, 1991). Ksilemin sıvı içeriğinin analizi, Zn' nin ksilemde kompleks bir formda hareket ettiğini göstermiştir (White ve

ark., 1981). Ksilemdeki Zn, küçük proteinlere ve Zn-fitat gibi çözünmez komplekslere bağlı çözünür formda ölçülmektedir. Metal kompleksler ve mikro elementlerin iyonik aktiviteleri ksilem ve floem özsuyunda farklıdır. Mikroelementlerin iyon aktiviteleri gibi metal kompleksler floem ve ksilem içinde farklıdırlar. Mn, Zn, Fe, Cu ve Ni gibi katyonik mikroelementlerin aktivitesi yüksek fosfat ve pH seviyesi nedeniyle floem içinde düşüktür. Bu nedenle bu mikroelementlerin floem sıvısı içinde kolay hareket etmeleri için metal kompleksler oluşturmaları gerekmektedir (Welch, 1995).

2.5.3. Bitkilerde Zn Noksanlığı

Bitki büyümesi için en önemli besin elementlerinden birisi olan çinkonun noksanlığı bitkide birçok problemlere neden olmaktadır. Bitkilerde çinko noksanlığının görsel simptomları yapraklarda beneklenme, damarlararası sararma ve bitki büyümesindeki azalma olarak sıralanabilir. Çinko membran bütünlüğünde, enzim aktivasyonunda ve gen ekspiresyonunda etkilidir (Kim ve ark, 2002). Bitki büyümesinde önemli bir element olmasına rağmen çinko alım mekanizması ile ilgili çok az çalışma mevcuttur (Reid ve ark., 1995). Bitkilerde çinko alım mekanizması ile öne sürülen görüşlerden bazıları; çinkonun termodinamik taşınımı, membrandan elektrokimyasal potansiyel gradient yoluyla geçişi, H+ -ATP-ase iyon pompası sayesinde taşınımı, çinko şelat taşınma sisteminin ve iyon kanallarının dahil olması olarak özetlenebilir (Yang ve Romheld, 1999).

Dünyanın en önemli tarımsal bölgelerindeki oldukça farklı toprak tiplerinde yetişen bitki türlerinin çoğu Zn noksanlığından etkilenmektedir. Farklı meyve ve sebze türleri ile pirinç, buğday, arpa, mısır, keten ve pamuk gibi major bitkiler çinko noksanlığından etkilenmektedir. Bitki kullanılabilir Zn miktarının düşük seviyeleri ürün verimini azalttığı gibi aynı zamanda ürünlerin besinsel kalitelerinde düşüşlere de neden olmaktadır (Graham ve Welch, 1996). Ancak, şiddetli noksanlıklar ciddi bir şekilde ürün verimini azaltabilir ve ürün sıkıntısıyla bile sonuçlanabilir.

Zn noksanlığı ürünlerde biyokimyasal faaliyetlerin çoğuna zarar verebilir. Yapraklarda damarlar arası kloroz, küçük ve biçimsiz yapraklar gibi görülebilir

semptomlar ortaya çıkarabilir ve boğum aralarını kısaltabilir (Marschner, 1995). Biberde, görülebilir Zn eksiklik semptomları; yapraklarda beyaz noktalar ve yaprak ortasında çökme, nekroz, yapraklarda kloratik bölgeler ve büyümesi engellenmiş yaprak ve bitkilerdir (kişisel gözlem). Buğdayda Zn eksiklik belirtileri; genç sürgünlerde yer yer beyazımsı- kahverengi ve sonrasında ince uzun nekrotik lezyonlar olarak gözlemlenmektedir (Cakmak ve Braun, 2001; Rengel ve Graham, 1995c). Semptomların görünüşü; diğer besinlerin temini, büyüklük, noksanlık aşaması, bitki yaşı ve çevre şartlarıyla değişebilir (Brennan ve ark., 1993).

Genotiplerin Zn eksikliği, yapraklarda şiddeti görülebilir eksiklik gibi fenotipik ifadelere dayanarak belirlenebilir. Zn noksanlığının görülür semptomları arpa genotipleri arasında kayda değer olarak değişebilir ve belirgin olarak tahıl verimi ve Zn eksikliğiyle ilişkilidir (Genc ve ark., 2002b).

Bütün bitki türleri içinde genotipler arasında Zn noksanlığına karşı töleransta varyasyon gözlemlenebilmektedir. Bu durum genotiplerin Zn etkinliğini taramak için önemlidir. Daha düşük kullanılabilir Zn' li toprak koşullarında çok dayanıklı genotipler (veya Zn etkili) yetiştirilebilmektedir. Genotipler yapraklardaki görülebilir Zn noksanlığı semptomlarının şiddeti ve ifadesine dayanarak taranabilirler. Çinko noksanlığının görsel simptomları kullanılarak, fide aşamasında çinko etkin genotiplerle etkin olmayan genotipler karşılaştırılarak Zn noksanlığına töleransta büyük varyasyon elde edilmiş ve söz konusu özelliğin tek genle kontrol edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu bulgularla görsel Zn noksanlığı simptomları skorlarının Zn noksanlığı töleransının genetik analizinde kullanılabileceği beyan edilmiştir (Genc ve ark., 2003).

Zn eksiklik simptomları görülmediği halde çinko noksanlığından kaynaklanan %5-25 dolayında verim kaybı görülebilmektedir (Brennan, 2000). Bundan dolayı hem bitki dokularında hemde toprakta Zn durumunu incelemek gereklidir. Ancak oluşan ürünlerin büyümesi etkilendikten sonra verim kaybının önüne geçmek ve eksiklik problemlerini iyileştirmek genellikle mümkün değildir (Smith, 1986). Ancak eksiklik durumunu fark etmek tekrar yetiştirilecek ürünlerin etkilenmesini engellemek için önemlidir. Bu durum toprak analizlerinin aksine, Zn eksikliğini teşhis etmek yerine önceden bilinmesine yardımcı olur. Bitkilerde besin

eksikliği problemlerinin tahmini ve teşhisi geçici ve/veya kısa süreli besin eksikliklerinin önüne geçmek için kullanılabilir. Örneğin serin bir sezonda Zn alımı sınırlandığı zaman, bitki analizi Zn eksiklik problemini akla getirecektir. Fakat sıcaklık arttıkça bitkiler ürün veriminde azalma olmadan noksanlık ortadan kalkmaktadır (Bell, 2000).

Dokulardaki kritik Zn konsantrasyonu (genellikle maksimum verim % 90 olarak belirlenir) bitki türü, çeşidi, bitki yaşı, bitki parçası ve çevreye göre değişmektedir. Bitkinin tüm organları; sürgün, kök, genç yapraklar ve taneler Zn teşhisi için kullanılabilmektedir. Ancak bitkide besin elementleri analizi için en uygun örneğin yaprak olduğu düşünülmektedir (Dang ve ark., 1993; Huang ve ark., 1996). Yaprak kritik Zn değerleri buğdayda 20 mg Zn/kg, çeltikte 15 mg Zn/kg, mısır ve yerfıstığında 22 mg Zn/kg arasında değişmektedir. Genç yapraklar için değerler; sorgumda 8 mg Zn/kg, çeltikte 22 mg Zn/kg, buğday ve nohutta 25 mg Zn/kg olarak kaydedilmiştir. Ancak farklı türlerin farklı çeşitleri arasında farklılıklar meydana gelebilmektedir (Alloway, 2001).

Özellikle bitki dokularındaki besinlerin elementlerinin inaktif olduğu dönemde biyokimyasal analizlerin besin statüsünün mükemmel bir indikatörü olabildiği tespit edilmiştir (Gibson ve Leece, 1981). Zn eksikliğini teşhis etmek için, mısır, hardal ve buğdayda karbonanhidraz aktivitesi kullanılmıştır (Rengel, 1995a; Chatterjee ve Khurana, 2007; Gibson ve Leece, 1981). Aynı zamanda aldolaz ve ribonükleaz aktivitesi hardalda Zn durumunu değerlendirmek için güvenli bir biyolojik indikatör olarak görünmektedir (Chatterjee ve Khurana, 2007). Biyokimyasal analizler spesifiklik ve kompleksliğe sahip olmadığı için besin noksanlıklarının teşhisinde geniş çapta kullanılmaz.

Ürünlerde Zn noksanlığı agronomik ve/veya genetik çalışmalarla iyileştirilebilir. Zn gübrelemesine bitkilerin olumlu tepkisi Avustralya, Hindistan ve özellikle Türkiye' nin İç Anadolu Bölgesi' nde tespit edilmiştir (Cakmak, 2004). Zn alımındaki genotipik farklılıklar ve tür içinde var olan doku kullanım etkinliği ile düşük Zn' li topraklarda ürün verimini arttırmak alternatif bir yaklaşımdır (Alloway, 2004; Cakmak, 2002; Hacisalioglu ve Kochian, 2003; Rengel, 2001). Bu yaklaşım bitkiye uygun toprağı modifiye etmektense toprağı bitkiye göre ayarlama ile

açıklanabilir. Düşük Zn' li toprakların bulunduğu arazilerde geniş çapta yetişebilen Zn-etkin çeltik ve buğday çeşitleri mevcuttur.

2.5.4. Bitkilerde Çinko Etkinliği Mekanizması

Çinko etkin genotiplerde Zn etkinliğini açıklamak amacıyla moleküler, fizyolojik, yapısal gelişme seviyelerinde çeşitli mekanizmalar önerilmektedir. Ancak Zn etkinliğini açıklayan kesin mekanizmalar çok açık değildir. Genellikle Zn etkin genotiplerin kökler ve/veya hücreler içinde Zn' yi etkili birşekilde kullanmalarıyla Zn alım etkinliklerini arttırdıkları bilinmektedir. Zn etkili bitki türleri, topraktan kendi Zn' sini rizosferden Zn alımını arttırarak alma yeteneğine sahiptirler (Cakmak ve ark., 1996a; Dong ve ark., 1995; Rengel ve ark., 1998). Artan çinko alımı VA mikoriza kolonizasyonuna, kök yüzey alanına, rizosferde pH'ın düşmesine, kökten fitosideroforez Zn şelatının serbest kalmasına, Zn alımında etkili olan polipeptitlerin girişi ve plazma membranları arasında taşınmasına bağlı olabilir (Cakmak ve Braun, 2001; Rengel ve Graham, 1995c).

Rizosferde Zn kullanılabilirliğinin artmasına ek olarak, sürgün hücrelerindeki daha etkili içsel Zn kullanımı gibi bazı diğer mekanizmalar bitkilerde Zn etkinliğinde rol oynayabilir (Hacisalihoglu ve Kochian, 2003; Rengel, 1999a). Gelişmiş Zn kullanım etkinliği, Zn gerektiren karbonanhidraz ve Cu/Zn süperoksit dismutaz enzimlerinin aktivitesinin ifade edilmesi ve aktivitesi ile ilgilidir. Zn etkili genotipler, hücrelerde daha düşük Zn konsantrasyonu altında diğer etkili enzimlerin ve bunların fonksiyonunun devamını sağlayabilir (Hacisalihoglu ve Kochian, 2003; Rengel, 1999a).

Zn etkinliği türler arasında farklı kök morfolojisi sebebiyle değişebilir (Dong ve ark., 1995). Daha uzun ve daha ince köklerle kök yüzey alanının artmasıyla, Zn, Cu, Mn ve Fe gibi diğer besinlerin kullanılabilirliği değişebilir (Rengel ve Graham, 1995c). Buna ek olarak mikorizal mantarlar tarafından kök kolonizasyonu gibi toprak biyolojik aktiviteleri Zn, P ve Cu gibi difüzyonla alımını sınırlı olan besinlerin alımını arttırır. Arbuskular mikoriza (AM) kök sistemi tarafından belirlenen toprağın hacmini genişleteterek Zn alımını arttırabilir (Kothari ve ark., 1991; Ortas, 2012).

Mantarsal hifler toprak içindeki köklerden yayılır ve oluşan kök uçları daha uzak mesafelere ulaşır. Mısır bitkisinde AM' nin Zn alımını ve düşük Zn içerikli toprakta köklerin almış olduğu Zn miktarını arttırdığı rapor edilmiştir (Faber ve ark., 1990).

Kök bölgesinde değişen rizosfer pH' sı ve/veya fitosiderosfer (PS)' in serbest bırakılmasıyla, rizosfer kimyası değişerek toprak çinkosu şelatlanabilir ve kullanılabilirliği artabilir (Fageria ve Stone, 2006; Wang ve ark., 2006; Cakmak ve ark., 1994; Zhang ve ark., 1989). Kök bölgesi pH' sındaki düşüş, toprağın inorganik ve organik sıvı fazında çözünebilir Zn miktarındaki artışa bağlı olarak alınabilir Zn miktarı artırmaktadır (Hacisalihoglu ve Kochian, 2003).

Birçok bilimsel çalışma Zn etkinliğinde meydana gelen kök uzamaları üzerine yoğunlaşmıştır. Fitosideroforezler, Fe ve Zn eksikliğinde *graminaceous* türünde köklerden salınan protein olmayan amino asitlerdir (Marschner, 1995; Kochian, 1993; Zhang ve ark., 1991). Köklerden salınan fitosidoforez, kireçli topraklarda Zn' nin hareketinde oldukça etkilidir (Treeby ve ark., 1989). Bunların buğday kök apoplastından Zn' nun hareketinde etkili olduğu bildirilmektedir (Zhang ve ark., 1991). Zn noksanlığı koşularında Zn alımı, Zn etkin durum buğdayı genotiplerinde fitosidoresfer salınımı etkin olmayan genotiplere göre 6-8 kat daha fazla olmaktadır (Cakve ark., 1998; Cakmak ve ark., 1996b).

Zn etkinliğinde köklerden PS salınımı ile ilgili çalışmalardan elde edilen sonuçlar hem çelişkili hem de hala tartışmalıdır. Örneğin Zn noksanlığı koşullarında yetiştirilen Zn etkin ve etkin olmayan buğday genotiplerden PS salınımındaki farklılığın Zn etkinliği ile paralel olmadığı bildirilmektedir (Erenoglu ve ark., 1996). Yine yapılan çalışmalarda Zn etkin olan genotiplerde PS salınımının etkin olmayan genotiplerden daha fazla olduğu rapor edilmesine rağmen, su kültüründe yetiştirilen arpada Zn noksanlığı PS salınımını teşvik etmemiştir (Gries ve ark., 1995; Pedler ve ark., 2000).

Zn takviyesi yapılmadığı koşullarda Zn etkin genotipler Zn etkin olmayan genotiplere göre köklerden sürgünlere daha fazla Zn taşımaktadır (Cakmak ve ark., 1996a; Rengel ve Graham, 1995c). Çavdarda diğer tahıllardan farklı olarak, yüksek Zn etkinliği çoğunlukla Zn' nin topraktan yüksek oranlarda alım ve sürgünlere taşınım kapasitesi ile ilişkilidir (Cakmak ve ark., 1997a).

Bazı çalışmalarla Zn' nin topraktan köklere, oradan da sürgünlere taşınımının Zn etkinliğinde önemli bir faktör olamadığı beyan edilmektedir. Hatta düşük çinko içeriğine sahip topraklarda görsel çinko noksanlığında büyük farklılıklar olmasına rağmen, çinko etkin ve etkin olmayan genotiplerin yapraklarındaki Zn konsantrasyonları arasında herhangi bir farkın olmadığı bildirilmektedir (Cakmak ve ark., 1999a; Hacisalihoglu ve ark., 2003a). Bu çalışmalardan Zn etkinliğinin sürgün ile ilişkili bir özellik olduğu ile ilgili bir sonuç çıkarılabilir. Büyük olasılıkla Zn etkinliğinin sürgünle ilişkili mekanizması hücredeki homeostasis ve hücre içi Zn birikimindeki değişimden kaynaklanabilir. Etkin genotipler yaprak hücresi stoplazmalarında yüksek seviyede Zn taşırlar ve Zn gerektiren makromoleküller düşük toprak Zn koşullarında bir ko-faktör olarak daha etkili birleştiğinden biyokimyasal hücresel Zn kullanımı daha etkindir (Hacisalihoglu ve Kochian, 2003).

Zn homeostaz için metal tepkisel elementler (MRE), bitkilerin metal içeriğindeki değişimlerde gen ekspresyonunun kontrol edilmesinde rol oynayabilirler. Metal tepkisel element-bağlanma transkripsiyon faktör-1 (MTF1), Zn homeostasiste yer alan Zn etkinliğinde ve toksitesine olan tepkide görev alan genlerin düzenlenmesine aracılık eder. MTF1 Zn' nin, MRE' ye bağlanmasına olanak sağlamasından dolayı hücredeki serbest Zn konsantrasyonun düzenlenmesinde ve metallothionein gen transkripsiyonunun başlatılmasında etkili olabileceği açıktır (Andrews, 2001).

Düşük Zn koşulları altında yetişen buğday çeşitlerinin yaprak doku analiz sonuçları, hem Zn etkin hem de Zn etkin olmayan çeşitlerin stoplazma (%9-11) ve kofullarında (%83-85) benzer Zn içeriğine sahip oldukları görülmüştür (Hacisalioglu ve ark., 2003a). Bu sonuçlar, hücre içi Zn durumunun Zn etkinliği ile ilişkili olmayabileceğini ve bu konuyla ilgili daha fazla çalışma yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çinko etkin ve etkin olmayan genotiplerde, yaprak Zn konsantrasyonunun benzer olduğu koşullarda çinkonun içsel kullanımı Zn etkinliği mekanizması için önemli bir potansiyel olarak düşünülmekte ve sadece Zn etkin olmayan genotipler şiddetli Zn noksanlığı göstermektedirler (Rengel ve Graham, 1995c). Ayrıca arpa

genotiplerindeki yüksek etkinliğin hücresel düzeyde daha fazla etkin kullanımdan kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Genc ve ark., 2002a).

Fasülye ve buğdayda, Zn etkinliği ve Zn isteyen enzimleri içine alan biyokimyasal kullanımların arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur (Hacisalihoglu ve ark., 2003a; Hacisalihoglu ve ark., 2003b). Zn etkin genotipler, çinkonun Zn gerektiren enzimlerle bağlanması ve metabolik faaliyetlere katılması nedeniyle önemli miktarda Zn içerebilirler. Çinko etkin buğday genotipleri çinko etkin olmayan genotiplere göre yapraklarındaki Zn konsantrasyonları benzer olmasına rağmen, yüksek Zn gerektiren enzimlerin (karbonik anhidraz ve Cu/Zn süperoksit dismütaz) aktivitesini göstermektedirler (Cakmak ve ark., 1997c; Rengel, 1995a). Zn etkili genotipler Zn etkinliğinin bir sonucu olarak, Cu/Zn içeren süperoksit dismutaz ve karbonanhidraz enzimleri arasında daha etkili Zn kullanırlar (Hacisalihoglu ve Kochian, 2003).

2.6. Bitkilerde Çinko Etkinliği için Islah

Bitki ıslahının amaçlarından bir tanesi daha yüksek verimli bitkiler geliştirerek üretimi arttırmaktır. Ancak mikroelementlerin bitkiler üzerinde etkileri ve besin içeriğinin artırılması da ıslah amaçları arasında yer almaktadır. Bitkilerde görülen bazı besinsel problemler kimyasal gübrelemelerle kolayca çözülemez ve bu nedenle modern ıslah teknikleri kullanılarak besin elementlerince noksan topraklara adapte olabilecek tür ve çeşitlerin ıslah edilmesi oldukça önemlidir. Yüksek pH' dan kaynaklanan mikro element noksanlıkları gübrelemelerle giderilemeyebilir ve bu nedenle genetik çözümler gereklidir (Cakmak ve Rengel, 1993). Buna ek olarak alt toprak katmanlarındaki olumsuzluklar, üst toprağın kuruması ve hastalıklardan kaynaklanan nedenler yüzünden Zn noksanlığının giderilmesi için gübreleme etkili olmayabilir (Graham ve Rengel, 1993). Bu sebeple Zn noksan koşullarda Zn etkin genotiplerin kullanımı üretimi kısıtlayan Zn noksanlığı için etkili ve sürdürülebilir bir çözümdür.

Tohumun çinko içeriği yapraktan veya topraktan gübre uygulamasıyla arttırılabilir. Aynı zamanda tohuma yapılacak uygulamalarla çinko kapsamını

arttırmak mümkündür (Orioli ve ark., 2008; Riberio, 1993). Tüm bu alternatiflere ek olarak maaliyet, aynı zamanda yenilenemeyen kaynakların kullanımına bağlıdır. Bunların yanısıra genetik ilerleme düşük maaliyetli ve aynı zamanda en etkili strateji olarak görünmektedir (Rosa ve ark., 2010).

Dokularda bulunan elementlerin konsantrasyonundaki genetik varyasyonları tespit etmek için yapılan taramalar ıslahın ilk aşamasını oluşturmaktadır. Bitkiler Zn gibi mineral elementler bakımından önemli varyasyonlar göstermektedirler. Örneğin buğday tanesinde Zn konsantrasyonu 14-42 mg Zn/kg aralığında ve ortalama 25 mg Zn/kg olarak belirlenmiştir. Farklı bir çalışmada ise buğday genotiplerinin Fe ve Zn konsantrasyonu bakımından incelenmesi ile dane Fe konsantrasyonu 8 ile 24 mg/kg arasında değişirken, Zn konsantrasyonu 14 ile 42 mg/kg arasında değişmiştir. Fe ve Zn konsantrasyonunda benzer oranlar çeltiktede elde edilmiştir (Bouis, 1995).

Bitki tür ve çeşitleri arasında Zn etkinliği bakımından büyük genotipik varyasyonlar olduğu için, bu varyasyonların seleksiyon yoluyla kullanımıyla Zn bakımından yüksek etkinliğe sahip bitkilerin ıslah edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Cakmak ve ark., 1998). Geçmişte çok sayıda genotipin kısa sürede taranmasına imkan sağlayacak uygun tarama metotlarının yokluğu Zn etkinliği için ıslaha engel teşkil etmiştir. Çalışmalar daha çok arazide besin tepkisi oluşabilecek alanlarda ve Zn' nin sınırlı ve sınırsız oranlarının kullanımıyla etkinliğin değerlendirilmesi şeklinde yürütülmüştür (Graham ve ark., 1992; Takkar ve ark., 1983). Böyle taramalardan elde edilen sonuçlar, kuraklık ve hastalık gibi büyümeyi sınırlayan diğer etkiler ile yıllara ve besin noksanlığı şiddetinin bölgelere göre değişmesine bağlı olarak farklılık gösterebilir. Bu nedenle daha güvenilir alternatif metotlara ihtiyaç duyulmuştur.

Tarama ve testlemelerde kontrollü çevre koşullarının kullanımı oldukça yaygındır. Moleküler markır geliştirilmesinde çok sayıda populasyonun test edilmesinin gerekliliği ve bunun için gerekli olan maliyet-zaman düşünüldüğünde taramaların saksı kültüründe yürütülmesi daha avantajlıdır. Kontrollü koşullarda toprakla yapılan saksı denemeleri, genotiplerin göreceli etkinliğini değerlendirmeye olanak sağlamaktadır (Cakmak ve ark., 1997b; Gec ve McDonald, 2004). Ancak saksı denemeleri fide gelişimine olanak tanırken dane veriminde efektif

kullanılamaz. Diğer taraftan tohum Zn kapsamı erken gelişme döneminde önemli rol oynamaktadır. Özellikle bu tohumlar düşük alınabilir Zn kapsamına sahip topraklarda çimlendirildiği zaman daha da önemlidir (Welch, 1999).

Buğday ve arpada Zn noksanlığına toleransı karakterize etmek için 4 yaklaşım seçilmiştir: (1) yüksek ve düşük Zn koşullarının karşılaştırılmasıyla göreceli sürgün ağırlığı (Zn etkinlik indeksi) (2) yüksek ve düşük Zn koşullarının karşılaştırılmasıyla göreceli sürgün/kök oranı (3) Zn noksanlığında toplam sürgün Zn alımı ve (4) noksanlık koşullarında kuru sürgün ağırlığı (Lombnaes ve Singh, 2003). Zn etkinlik oranıyla (-Zn' de verim/+Zn' de verim) şiddetli noksanlık simptomunun birlikte değerlendirilmesi kısa zamanda çok sayıda populasyonun Zn etkinliği için hızlı ve güvenilir bir şekilde taranması açısından makul bir yaklaşım olabilecektir (Cakmak ve Broun, 2001; Genc. ve ark., 2003).

Örneğin kuru fasülyede (*Phaseolus vulgaris*) açılım gösteren populasyondan yapılacak seleksiyonla veya kontrollü melezleme ile tohumdaki çinko içeriğinin %10' a kadar artırılması mümkün gözükmektedir (Gelin ve. ark., 2007).

2.7. Çinko Etkinliğinde Genotipik Varyasyon

Bitki genotipleri arasında Zn alımı ve kullanımı açısından Zn noksanlığına toleransta farklılıklar mevcuttur. Buğday, arpa, çeltik, nohut ve mısır genotiplerinde Zn noksanlığına tolerans ile ilgili çalışmalar yapılmış ve bu konuda ıslaha olanak sağlayabilecek yeterli genetik varyasyonun olduğu beyan edilmiştir (Banziger ve Long, 2000; Beebe ve ark., 2000; Genc ve ark., 1999; Gregorio ve ark., 2000; Khan ve ark., 1998; Ortiz-Monasterio ve Graham, 2000). Genetik x Çevre interaksiyonu ile ilgili bazı bulgular elde edilmesine rağmen besinsel özellikler çevreler arasında stabildir. Bu durum yüksek verim ile yüksek besinsel özelliklerin kombine edilebileceğini göstermektedir (Gregorio, 2000).

Zn noksanlığı koşullarında oluşan genotipik varyasyonun temelini anlamak için morfolojik ve fizyolojik bitki faktörleri ilgili çalışmalar yapılmıştır. Günümüze kadar çalışılan faktörler: a) Zn noksanlığı simptomunun yapraklardaki şiddeti, b) kök ve yeşil aksam kuru madde üretimi, c) köklerden çinko tarafından hareket ettirilen

fitosiderforlarının salınması, d) verim, e) bitkilerde çinkonun konsantrasyonu ve taşınması, (f) çinkonun köklerden alınması ve kökten yeşil aksama taşınımı ve g) Zn-superoxide dismutase (SOD) aktivitesidir. Tahıl çeşitlerinin Zn noksanlığına ve gübrelemesine olan tepkileri oldukça farklıdır. Yulaf ve makarnalık buğday Zn noksanlığına oldukça hassas iken tritikale ve özellikle çeltik yüksek çinko etkinliği göstermiştir. Zn noksanlığının şiddetine, biomass üretiminde ve dane verimindeki azalmaya bağlı olarak söz konusu türlerin Zn noksanlığına duyarlılığı şu şekilde sıralanabilir: Durum buğdayı > yulaf > ekmeklik buğday > arpa > tritikale > çavdar (Çakmak ve ark., 1997a; 1998; Çakmak ve ark., 1999).

Sera ve büyütme odası koşullarında sekiz adet ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*), üç adet makarnalık buğday (*T. durum*), iki adet çavdar (*Secale cereale*), üç adet arpa (*Hordeum vulgare*), iki adet tritikale (x*Triticosecale*) ve bir adet yulaf (*Avena sativa*) çeşidinin, şiddetli Zn noksan kireçli toprak ve besin solüsyonunda Zn noksanlığı ve Zn gübrelemesine olan tepkilerini belirlemek için denemeler yürütülmüştür. Görsel Zn noksanlığı simptomları makarnalık buğdayda ve yulafta hızlı ve şiddetli bir şekilde gelişmiştir. Ekmeklik buğday çeşitleri ise Zn noksanlığına duyarlılıkta büyük genotipik varyasyon göstermişlerdir. Tritikale ve çavdarda görsel noksanlık simptomları ya hiç gelişmemiş yada çok hafif gelişmiştir. Arpa ise orta düzeyde duyarlılık göstermiştir. Toprak koşullarında Zn noksanlığı yüzünden kuru madde miktarındaki azalış; çavdarda %15, tritikalede %25, arpada %34, ekmeklik buğdayda %42, yulafta %63 ve makarnalık buğdayda ise %65 olarak gerçekleşmiştir.

Tahıl türleri arasında ve içinde Zn etkinliğindeki farklılık toplam Zn miktarıyla oldukça ilişkili olmasına rağmen, Zn konsantrasyonu ve sürgün kuru madde miktarı ile herhangi bir ilişkinin olmadığı bildirilmektedir. Fakat Zn etkin çavdar ve ekmeklik buğday çeşitlerinin yapraklarında bulunan Zn-içeren süperoksit dismutaz aktivitesi Zn etkin olmayan ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, etkin genotiplerin yaprak dokularındaki fizyolojik olarak aktif Zn miktarının daha yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Besin solüsyonunda yapılan denemelerde Zn etkinliği ile köklerden salınan Zn-şelatlayıcı fitosidefores oranı arasında zayıf bir ilişki tespit edilmiştir. Ancak işaretlenmiş Zn ($_{62}$Zn) alımı ve sürgünlere taşınımı, Zn etkin çavdar ve ekmeklik

buğday genotiplerinde etkin olmayan ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinden daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, tahıllarda yüksek Zn etkinliğinin ifade edilmesinin genotiplerin topraktan çinkoyu alabilmesi ve dokularda etkili bir şekilde kullanabilmesi yeteneği ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Cakmak ve ark., 1998).

6 adet diploid, 9 adet tetraploid ve 7 adet hekzaaploid yabani ve ilkel buğday genotiplerinin çinko etkinliğinin belirlenmesi amacıyla sera koşullarında yürütülen bir çalışmada, yeşil aksam kuru madde üretimi ve yeşil aksam Zn konsantrasyonu incelenmiştir. Bitkiler şiddetli Zn noksan ve kireçli toprakta (+Zn; 5 mg Zn kg−" toprak) ve Zn uygulanmayan koşullarda 44 gün süreyle test edilmişlerdir. Şiddetli çinko noksanlığı bütün tetraploid buğday genotiplerinde hızlı bir şekilde ortaya çıkmıştır. Diploid ve hekzaploid buğday genotipleri tetraploid genotiplere göre daha az duyarlı olarak belirlenmiştir. Ortalama çinko etkinliği oranı tetraploid genotipler için %36,, diploid genotipler için %60 ve hekzaploid genotipler için %64 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile sadece genotiplerin çinko alım kapasitesindeki değişimleri değil aynı zamanda içsel çinko kullanım kapasitesinin çinko etkinliğinin ifade edilmesindeki rolü ortaya konulmuştur. Ayrıca buğdayda A ve D genomlarının çinko etkinliğini belirleyen genlerin olası kaynağı için önemli olduğu beyan edilmiştir (Cakmak ve ark., 1999).

Genotipler arasındaki çinko etkinliğinin tohumun Zn konsantrasyonu ve kapsamı ile ilişkili olmadığı bildirilmektedir. Çok düşük Zn etkinliğine sahip yabani tetraploid buğdaylar (ssp. *dicoccoides*) ikinci en yüksek tohum konsantrasyonuna sahip iken, yabani buğdayların kültürü yapılan buğdaylardan daha fazla tohum Zn içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir. Benzer bir şekilde kültürü yapılan ve İç Anadolu Bölgesinin Zn noksanlığına sahip topraklarına adapte olmuş hekzaploid buğday çeşidi Bezostaja'nın düşük Zn konsantrasyonuna sahip olmasına rağmenen yüksek oranda çinko etkinliği gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın sonuçları yeşil aksamdaki Zn içeriğinin çeşitler ve genotipler arasında daha fazla varyasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Yüksek Zn etkinliğine sahip genotipler genellikle daha yüksek yeşil aksam Zn içeriğine sahip olmuşlardır. Zn etkinliği ile Zn içeriği arasında yüksek oranda korelasyon bulunamamıştır. Ancak bitkilerin Zn içeriği ile

Zn etkinliği arasında, Zn konsantrasyonuna göre daha yüksek oranda korelasyon olduğu bildirilmiştir (Cakmak ve ark., 1999).

37 adet ekmeklik (*Triticum aestivum*) ve 3 adet makarnalık buğday (*Triticum durum*) çeşidinde Zn noksan toprakta tarla koşullarında yürütülen bir başka çalışmada, 0 ve 23 kg Zn ha^{-1} Zn uygulamaları yapılmıştır. Çalışmada dane verimi, Zn etkinliğini, dane ve sürgündeki Zn konsantrasyonu belirlenmiştir. Aynı sera denemesinde 21 adet ekmeklik buğday ve 3 adet makarnalık buğday çeşidinin sürgün kuru ağırlık, Zn etkinliği ve sürgün Zn konsantrasyonunu belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Arazide çeşitlerin Zn ile gübrelenmesi dane verimini her iki yılda da ortalama %30 kadar arttırmıştır. Zn gübrelemesi ile dane verimi çeşitler arasında %8' den %76' ya kadar değişen oranlarda varyasyon göstermiştir. Çeşitlerin Zn etkinliğinde çok büyük oranlarda varyasyon elde edilmiştir. Ortalama Zn etkinliği arazi denemesinde %57-92 arasında olurken, sera denemesinde %47-83 arasında değişmiştir. Çeşitlerin büyük bir kısmı tarla ve sera denemelerinde Zn noksanlığına karşı benzer tepkiler göstermiştir. Lokal alanlardan seçilmiş olan çeşitler, Zn-noksan koşullarda hem yüksek Zn etkinliğine hemde yüksek verime sahip olmuşlardır. Ekmeklik buğday çeşitleri her iki denemede de genellikle düşük Zn etkinliği ve düşük verime sahip olmuşlardır. Diğer taraftan bütün makarnalık buğdaylar Zn noksanlığı koşullarında düşük düzeyde dane verimi, sürgün kuru madde ağırlığı ve Zn etkinliği göstermişlerdir. Fakat dane Zn konsantrasyonu ve sürgün kuru madde ağırlığı ile Zn etkinliği arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Bu sonuçlar özellikle ekmeklik buğday çeşitleri arasında önemli varyasyonun olduğunu göstermiştir (Kalayci ve ark., 1999).

Rengel ve Wheal (1997b); buğday çeşitleri arasındaki Zn etkinliği açısından oluşan farklılıkların Zn alım kapasitesindeki belirgin farklılıklarla yakın ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Zn-noksan kireçli topraklarlardaki arazi denemelerinde, Zn etkinliği ile sürgünlerdeki toplam Zn miktarı arasında pozitif bir ilişkinin olduğu çeşitli araştırıcılar tarafından beyan edilmiştir (Cakmak ve ark., 1997b; Graham ve ark., 1992). Zn-etkin genotiplerin yüksek Zn alım yeteneğine sahip olmasına rağmen, aynı genotipler yaprakta, sürgün dokusunda ve danede yüksek Zn konsantrasyonu içermemektedirler (Graham ve ark., 1992). Hatta Zn-etkin olmayan buğday

genotipleri Zn etkin olan genotiplere göre danede ve yapraklarda daha yüksek oranda Zn konsantrasyonuna sahip olabilirler (Cakmak ve ark., 1997b; Cakmak ve ark., 1998; Rengel ve Graham, 1996).

Zn noksanlığı çeltik verimini azaltan faktörlerden bir tanesidir. Bu durumun anlaşılmasından sonra çeltik genotiplerinin yaprak ve tohum Zn içeriğindeki varyasyon incelenerek yüksek çinko etkinliğine sahip genotiplerin tanımlanması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar yaprak ve tohum çinko içeriğindeki genetik varyasyonu ortaya çıkarmıştır. Yaprak Zn içeriğinde büyük varyasyonlar tespit edilmesine rağmen, yaprak ve tohum Zn seviyeleri arasında herhangi bir ilişki rapor edilememiştir (Nagarathna ve ark., 2010).

Rengel ve ark., (2001) tarafından *Medicago* (yonca) türlerinde yapılan bir çalışmada; Zn etkinliği yüksek olan genotiplerin daha az sürgün azalması, daha yüksek kök ağırlığı, sürgünlerde daha yüksek Zn konsantrasyonu ve bitki başına toplam Zn, ve daha dengeli sürgün/kök oranı gösterdikleri belirlenmiştir. Tohum Zn içeriği Zn etkinlik sıralamasını etkilememesine rağmen, toplam verimi etkilemiştir.

164 adet ekmeklik buğday genotipi Zn destekli ve Zn noksan ortamlarda test edilmiştir. Zn etkinliği, Zn noksan ve Zn destekli ortamda yetiştirilen bitkilerin toprak üstü kuru ağırlıklarının oranı olarak hesaplanmıştır. Genotiplerin Zn etkinliğinin %33 ile %77 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Zn noksanlığına tolerans sürgün Zn konsantrasyonundan bağımsız, fakat her sürgündeki toplam Zn miktarı (içeriği) ile yakın ilişkili bulunmuştur. Zn noksan ortamda, Zn etkinliği yüksek genotiplerin sürgün kuru ağırlıklarının Zn etkinliği düşük genotiplerden 1.6 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Torun ve ark., 2000).

4 farklı mısır çeşidinde (301 Single Grass (A), 302 Single Grass (B), 307 Single Grass (C), 400 Single Grass (D) farklı Zn uygulamalarının Zn etkinliği üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülen bir çalışmada kuru madde ağırlığı ile Zn konsantrasyonu değerlendirilmiştir. Bitkiler sera koşullarında Zn-noksan kireçli topraklarda Zn' li (+Zn = 10 mg kg toprak) ve Zn' siz koşullarda yetiştirilmiş ve 40. ve 80. gün sonra hasat edilmişlerdir. Zn etkinliği ilk aşamada %63,5 ve %81,2 arasında değişirken ikici aşamada %63,5 ve %81,2 arasında değişmiştir. Zn uygulaması bütün çeşitlerde sürgün kuru madde ağırlığında artışa neden olmuştur.

40. günden sonra sürgünlerdeki en yüksek Zn konsantrasyonu D çeşidinde elde edilirken, en düşük Zn konsantrasyonu A çeşidinde ölçülmüştür. İkinci aşamada ise maksimum sürgün Zn konsantrasyonu D çeşidinden elde edilmiş ve bu nedenle bu çeşit en yüksek Zn etkinliğine sahip genotip olarak belirlenmiştir. Sürgünlerdeki Zn konsantrasyonun Zn etkinliği ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Chaab ve ark., 2010).

Şiddetli Zn noksanlığına sahip kireçli topraklarda Zn noksan (DTPA-Zn=0.09 mg kg^{-1} toprak) ve Zn yeterli koşullarda tarla ve sera denemeleri ile çavdar (***Secale cereale*** L. cv. Aslim), tritikale (***Triticosecale*** Wittmark. cv. Presto), 2 adet ekmeklik buğday (***Triticum aestivum*** L, cvs. Bezostaja-1 ve Atay-85) ve 2 adet makarnalık (***Triticum durum*** L. cvs. Kunduru-1149 ve C-1252) buğday çeşidinin Zn noksanlığına tepkileri belirlenmiştir. Zn noksanlığının ilk görsel simptomu yaprak ayasındaki kahverengileşmenin ardından sürgün gelişimindeki azalma olmuştur. Bu simptomlar çavdar ve tritikalede ya hiç görülmemiş ya da çok az görülmüştür. Fakat özellikle makarnalık buğdayda daha hızlı ve şiddetli ortaya çıkmıştır. Dane veriminde ve kuru madde miktarındaki azalış simptomla benzerlik göstermiştir. Örneğin tarla denemesinde başakların süt aşamasında Zn noksanlığı yüzünden kuru madde üretimindeki azalış, çavdarda %0 iken tritikalede %5, ekmeklik buğdayda %34 ve makarnalık buğdaylarda %70 olarak gerçekleşmiştir. Zn gübrelemesi çavdarda dane verimine etki etmezken diğer tahılları önemli şekilde etkilemiştir. Tahıllarda üretilen kuru madde üretimi bakımından hesaplanan Zn etkinliği ortalama olarak çavdarda %99, tritikalede %74, ekmeklik buğdayda %59 ve makarnalık buğdayda %25 olarak belirlenmiştir. Tahıllar arasında ve içindeki Zn noksanlığına hassasiyetin sürgündeki Zn miktarı ile yakın ilişkili olduğu, fakat kuru madde Zn konsantrasyonu ile herhangi ilişkinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Örneğin en Zn-etkin çavdar ve en etkin olmayan makarnalık buğday çeşitleri arasında Zn noksanlığı koşullarında sürgün Zn konsantrasyonu bakımından farklılık görülmemiştir. Fakat tüm sürgündeki Zn miktarı çavdarda makarnalık buğdaydan yaklaşık olarak 6 kat daha yüksek bulunmuştur. Zn uygulaması yapıldığında çavdar ve tritikalede buğdaydan daha fazla sürgünlere Zn taşınmaktadır. Tüm bu sonuçlar Zn etkinliğinin

çavdar > tritikale > ekmeklik buğday > makarnalık buğday şeklinde sıralandığını göstermiştir (Cakmak ve ark., 1997).

19 adet yabani esmer buğday (*Triticum turgidum ssp. dicoccoides (Ko¨rn.*) Thell.) genotipi Türkiye ve İsrail' de 5 farklı çevre koşulunda dane P, S, Mg, Ca, Zn, Mn, Fe ve Cu konsantrasyonu bakımından değerlendirilmiştir. Her mineral genotip x çevre interaksiyonları, genotip stabilitesi, mineraller arasındaki korelasyon, mineral stabilitesi bakımından incelenmeştir. Analiz edilen makro elementler arasında dane Ca konsantrasyonu (338– 2.034 mg kg-1) ve S (%0.18– 0.43) en yüksek varyasyonu göstermiştir. Mikro elementler bakımından ise en yüksek varyasyon, dane Mn konsantrasyonundan (13– 87 mg kg-1) elde edilmiştir. Aynı zamanda dane Fe (27– 86 mg kg^{-1}) ve Zn (39– 115 mg kg^{-1}) konsantrasyonları önemli varyasyon göstermişlerdir. Yüksek besin elementi (özellikle Fe ve Zn) konsantrasyonuna sahip genotipler aynı zamanda yüksek dane ağırlığına sahip olmuşlardır. Varyans analizi; çevrenin K, S, Ca, Fe, Mn ve Zn için en önemli varyasyon kaynağı olduğunu,%44 ila %78 arasında toplam varyasyonun bulunduğunu, G x Ç interaksiyonu varyasyanonunun S ve Zn hariç (% 16' dan daha az hesaplanmıştır) bütün minerallerde %20-40 arasında değiştiğini göstermiştir. Cu için genotip en önemli varyasyon kaynağı olduğu rapor edilmiştir (toplam varyasyonun %38' ini açıklamaktadır). Ayrıca genotip etkisi Mg, Mn, Zn ve S içinde önemli olmuştur. S ve Zn en yüksek (S: %77 ve Zn: %72), Fe ise en düşük kalıtım değerini göstermiştir (Gomez-Becerra ve ark., 2010).

Sera koşullarında dolmalık, çarliston, yağlık, sivri ve süs biber tiplerinden 15' er adet olmak üzere toplam 75 saf hat, Zn' li (5 mg Zn kg-1) ve Zn' siz (0 mg Zn kg-1) uygulamalarda 65 gün süresince yetiştirilmiştir. Biber tipleri ve saf hatlarının Zn noksanlığına karşı dayanıklılıkları; Zn' siz koşullardaki kuru madde veriminin Zn' li koşullardaki kuru madde verimine oranlanmasıyla elde edilen Zn etkinlik değeriyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Zn uygulaması bitkilerin kuru madde verimini önemli oranda arttırmıştır. Bu çalışma ile test edilen tüm saf hatların Zn etkinlik değerlerinin %7.1 ile 48.1 arasında değiştiği belirlenmiş ve saf hatların ortalama Zn etkinliğinin % 18.1 olduğu bulunmuştur. Bu ortalama değerden daha büyük Zn etkinliğine %24.4 ile yalnızca dolmalık biber tipinin sahip olduğu ve bunu

sırasıyla çarliston (%17.7), yağlık (%17.5), sivri (%16.7) ve süs biber tiplerinin (%13.1) takip ettiği belirlenmiştir. Bitkinin Zn' siz koşullarda yeşil aksamındaki Zn konsantrasyonuyla biber gruplarının Zn etkinlikleri arasında herhangi bir ilişki belirlenememesine karşılık, biber gruplarının aynı koşullarda yeşil aksamlarındaki toplam Zn miktarı (içereği) ile Zn etkinlik düzeyleri arasında % 5 düzeyinde (R2= 0.844*) önemli bir ilişki tespit edilmiştir. Aynı ilişki Zn' li koşullarda da (R2= 0.964**) saptanmıştır. Bu bulgular yanısıra biber tiplerinin Zn noksanlığına karşı dayanıklılığında Zn uygulanmayan koşullardaki yeşil aksam kuru madde veriminin (R2= 0.986***) ve saf hatların sahip oldukları simptom derecesinin de (R2= 0.744***) önemli olduğu bulunmuştur (Eken, 2007).

Erdem, (2009) tarafından 766 adet *Triticum spelta* genotipi farklı lokasyonlarda dane Zn, Fe ve N konsantrasyonu için test edilmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, spelta buğday genotiplerinin yüksek Zn ve Fe konsantrasyonuna ve bu elementlerin tanedeki konsantrasyonları açısından büyük varyasyonlara sahip olduklarını göstermiştir. Toplam 766 adet genotip içerisinde en düşük Zn konsantrasyonunun 29 mg kg-1 (SP 611), en yüksek Zn konsantrasyon değerinin 102 mg kg-1 (SP 217) ve ortalama dane Zn konsantrasyonunun 55 mg kg-1 olduğu saptanmıştır. Aynı değerler Fe için sırasıyla %19, %72 ve %36 mg kg-1 ve N için sırasıyla %2.41, %5.11 ve %3.43 olarak belirlenmiştir. Analizlerden elde edilen bir başka bulgu ise; danedeki Zn konsantrasyonu arttıkça N konsantrasyonununda arttığı, danedeki Zn ve N konsantrasyonları arasında *r*= 6179***, dane Fe konsantrasyonu ile N konsantrasyonu arasında (*r*= 0.5541***) ve dane Zn ve Fe konsantrasyonu arasında önemli ve pozitif ilişkilerin bulunduğu tespit edilmiştir. Sera koşullarında 72 adet genotipin Zn etkinliklerinin %43-95 arasında değişim gösterdiği ve ortalama %79 olduğu belirlenmiştir. Genotiplerin etkinliğinde Zn uygulanmayan koşuldaki kuru madde verimlerinin önemli olduğu (*r*=4794***), buna karşın ekim öncesi tohum Zn konsantrasyonunun, yeşil aksam Zn konsantrasyonu ve içeriğinin önemli olmadığı bulunmuştur. Bu bulgulara ilave olarak su kültüründe besin çözeltisiyle yapılan çalışmada, Zn etkin olan genotiplerin kuru madde verimleri ve yeşil aksam/kök oranlarının Zn etkin olmayan genotiplere göre daha yüksek çıktığı bildirilmiştir.

2.8. Çinko Etkinliğinin Kalıtımı ve Moleküler Çalışmalar

Kalıtım bir özellik bakımından genetik farklılıklara bağlı olarak elde edilen fenotipik farklılığın bir ölçümüdür (Klug ve Cummings, 2005). Kalıtım iki şekilde ifade edilebilir: 1. geniş anlamda kalıtım (H^2) ve 2. dar-anlamda kalıtımdır (h^2). Geniş anlamda kalıtım bir populasyon için deneme süresince çevre sınırları içerisinde genetik varyasyon (V_G) nedeniyle oluşan fenotipin (V_P) oranını ölçmektedir (Klug ve Cummings, 2005). Geniş anlamda kalıtım $H^2 = VG/VP$ şeklinde hesaplanmaktadır (Klug ve Cummings, 2005). Geniş anlamda kalıtım derecesinin 1.0 değerinin yakınında olması, bir populasyondan elde edilen fenotipik varyasyona çevre etkisinin çok az olduğunu göstermektedir. 0' a yakın olması ise farklılığın hemen hemen tamamından yalnızca çevrenin sorumlu olduğunu göstermektedir (Klug ve Cummings, 2005). Dar anlamda kalıtım derecesi (h^2) ise eklemeli genetik varyasyon (VA) nedeniyle oluşan fenotipik varyasyonunun oranını (VP) ortaya koymaktadır (Klug ve Cummings, 2005). Dar anlamda kalıtım derecesi seleksiyon esnasında yavru bireylerin fenotiplerinin tahmin edilmesinde faydalı olup, h^2 1' e yakın ise ebeveyn fenotiplerine ait bilgilere dayalı olarak yavru bireylerin fenotiplerinin kesin bir tahminini yapabilmek mümkün olmaktadır. Dar anlamda kalıtım derecesi h^2= VA/VP olarak hesaplanmaktadır (Klug ve Cummings, 2005). Kalıtım tahminleri tatlı patates genotipleri arasında Fe (H^2=0.73), Zn (H^2=0.81) ve kuru madde için (H^2=0.93) geniş anlamda kalıtım derecesinin olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda tatlı patates depo köklerinde Fe ve Zn içeriği arasında pozitif korelasyonun olduğu beyan edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar benzer bitkilerin kökleri arasında genetik varyasyonun çok az olduğunu göstermektedir (Courtney, 2007). Tatlı patates ıslahında ana amaç yüksek Zn ve Fe içeriğine sahip yumrular geliştirmektir. Elde edilen bulgular patatesin mikroelemet içeriği bakımından yüksek genetik varyasyona ve kalıtım derecesine sahip olması nedeniyle mikroelement etkinliği yüksek çeşitlerin elde edilmesinde ıslah tekniklerinin kullanılabileceğini göstermiştir. Son yıllarda ise çalışmalar Fe ve Zn içeriği ile ilgili hızlı ve etkili seleksiyon metodlarının geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır.

Zn etkinliği ile birçok bilimsel çalışma Zn alımının fizyolojik yönü üzerine olmuştur. Bu amaçla genotipler kendi aralarında düşük alınabilir Zn kapsamına sahip topraklarda büyümeye bağlı göreceli Zn etkinliği bakımından karşılaştırılmışlardır. Zn etkinliğinde bazı fizyolojik mekanizmalarla ilgili raporlar yayınlanmasına rağmen, bu mekanizmaların genetik kontrolü, Zn etkinliğinden sorumlu genlerin ve moleküler temelinin tanımlanması ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Zn etkinliği için genetik farklılıklar ve bu farklılıkların kalıtımı bitkilerde Zn etkinliğinin geliştirilmesi yönünde sürecin devamına olanak sağlayabilecektir.

Birçok bitki türünde sınırlı sayıdaki çalışma Zn etkinliğinin genetiğine ilişkin bazı deliller ortaya koymuştur. Çavdar hatları ile yürütülen çalışmalar Cu, Zn ve Mn etkinliğinin bağımsız karakterler olduğu ve farklı kromozomlarda yer aldıklarını göstermiştir (Graham, 1984). Çeltikte ise diallel analiz sonuçları Zn noksanlığını kontrol eden genlerin eklemeli ve daha yüksek derecede dominant olduğunu göstermektedir (Majumder ve ark., 1990). Mısırda başak yapraklarındaki Zn konsantrasyonunu 4 eklemeli genin kontrol ettiği rapor edilmiştir (El-Bendary ve ark., 1993). Çavdarda Zn etkinliğinin kromozom 1R ve 7R' de bulunan birkaç gen tarafından arttırıldığı ve 1R ve 7R kromozomlarının kısa kolundaki genlerin daha etkili olduğu beyan edilmiştir (Cakmak ve ark., 1997a; Schlegel ve Cakmak, 1997). Zn-etkin ve Zn-etkin olmayan soya fasülyesi genotiplerinin melezlenmesi ile edilen F3 populasyonun dağılımı, Zn etkinliğini çok az sayıda genin kontrol ettiğini göstermiştir (Hartwing ve ark., 1991). Zn etkinliği farklı yedi buğday genotipinin diallel melezlemesinden elde edilen F1 bitkilerinin karşılaştırılması ile elde edilen sonuçlar Zn etkinliğini kontrol eden genlerin dominant olduğunu göstermiştir (Cakmak ve Braun, 2001).

Tahıllarda *Thlaspi* türlerinde olduğu gibi Zn taşımasının yüksek düzeyde ekspres olması; bitki büyümesi, tohum mineral içeriği ve Zn taşınma oranını etkilemektedir. Lasat ve ark. (1996), *Thlapsi caerulescens* ve *T. arvense*' de Zn alımını arttırabilen, Zn taşıyıcılarını kodlayan genlerin varlığını belirlemişlerdir. Bir çok çalışma ile *Thlapsi caerulescens* türlerinde Zn alımında artışa neden olan, yüksek seviyede ekspres olan ZNT1 geni tespit edilmiştir (Assuncao ve ark., 2001; Lasat ve ark., 2000; Pence ve ark., 2000). ZNT1 geni iki değerli katyonların bir

türünü taşıyan metal taşıyıcı ZIP ailesinin bir üyesidir (Guerinot, 2000). Arpada *Aradobidopsis* Zn taşıyıcı geninin yüksek seviyede ifade edilmesi, kısa dönem Zn alımı ve tohum katyon içeriğinde artışa neden olmuştur (Ramesh ve ark., 2004).

Aynı zamanda *T. aestivum*' da apikal meristem (TaNAM) genlerindeki RNA seviyesindeki azalışın buğday dane Zn ve Fe konsantrasyonundaki azalış ve bayrak yapraklarındaki N, Zn ve Fe kalıntılarındaki artış ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir. Bu durumun büyük danelerden kaynaklanan seyreltme etkisinden ziyade, yapraklarda azalan Zn taşınmından kaynaklandığı bildirilmiştir (Uauy, 2006).

Zn etkin olmayan bir genotip RAC875-2 ve orta derecede etkin bir genotip Cascades arasında yapılan melezleme sonucu elde edilen dihaploid populasyon, düşük çinko koşullarında büyüme ile yaprak ve danelerdeki Zn ve Fe konsantrasyonu ile ilişkili QTL belirlemek amacıyla taranmıştır. İlk iki deneme kontrollü koşullarda yürütülürken, üçüncü deneme tarla koşullarında yürütülmüştür. Sürgün bioması ile sürgün Zn ve Fe konsantrasyonu negatif korelasyon gösterirken, dane Zn ve Fe konsantrasyonları arasında önemli bir genetik korelasyon elde edilmiştir. Sürgün bioması ile doku ve dane Zn konsantrasyonunun çok sayıda gen ile birkaç minor gen tarafından kontrol edildiği beyan edilmiştir. Özelliğe bağlı olarak %12-81' lik genetik varyasyon için QTL hesaplanmıştır. QTL' lerin çoğu Zn noksanlığında fide gelişimi ve bitki boyu ile ilişkili bulunmuştur. Dane Zn konsantrasyonu için dört ve Fe konsantrasyonu için 1 adet QTL belirlenmiştir. Dördüncü kromozomda Zn noksanlığının şiddeti, sürgün Zn konsantrasyonu ve dane ağırlığı ile ilişkili bir QTL belirlenmiştir. Sürgün ve dane Fe konsantrasyonu ve dane ağırlığı ile ilişki bir QTL, 4D kromozomunda tespit edilmiştir. Bu iki bölge, gelecekte yapılacak olan düşük çinko koşullarında Zn ve Fe alımına bağlı olarak büyümedeki artış için moleküler markırların geliştirilmesi çalışmaları için umut vaat etmektedir. Ebeveynler arasında önemli farklılıklar olmamasına rağmen, dane Zn konsantrasyonu populasyon içinde 29-43 ppm arasında değişmiş ve dane Zn konsantrasyonu ile ilişkili dört QTL belirlenmiştir. Bu QTL' ler 3D, 4B, 6B ve 7A kromozomlarında yer almış ve %92' lik genetik varyasyonu açıklamıştır. Her QTL, dane Zn konsantrasyonu üzerinde göreceli olarak küçük etkiye sahip olmaktadır. Fakat dört QTL bir araya getirildiğinde dane Zn içeriğinde %23' e kadar artışa neden olmaktadır. Bu durum

dane Zn içeriğini geliştirilmesinde genlerin bir araya getirilmesinin (prymiding) gerekliliğine, dane Zn konsantrasyonundaki artış için daha etkili bireysel QTL' lerin belirlenebileceğine işaret etmektedir (Genc ve ark., 2009).

Kuru fasülye tohumlarındaki Zn içeriği kalıtımının tahmini amacıyla yürütülen çalışmada; 3 çeşidin karşılıklı melezlenmesi ile elde edilen F1 ve F2 generasyonları ile geriye melez populasyonları kullanılmıştır. Test edilen bireylerden elde edilen kuru maddedeki Zn içeriği 21,76 mg/kg ile 53,48 mg/kg arasında değişmiştir. Dar anlamda kalıtım %57,5 ile orta ve %77,84 ile yüksek olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda trangresif açılım elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kuru fasülye tohumlarının Zn içeriğinin artırılabileceğini göstermiştir. Denenen 3 ebeveynin kullanımı ile Zn içeriğinde %37,3' lük artışın sağlanabileceği beyan edilmiştir (Simone ve ark., 2010)

Küçük beyaz fasülye (Navy bean)' lerde yapılan çalışmalarda Zn içeriğinin bir tek dominant allel ile eklemeli gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Cichy ve ark., 2005). Dar anlamada kalıtım Voyager ve Albion genotipleri ile yürütülen çalışmada %82 olarak belirlenmiş ve bu durum bu özelliğin tek genle kontrol edildiği ve yüksek kalıtım derecesine sahip olduğuna işaret etmiştir. Fakat ilerletilmiş Orta Amerika genotipleri ile yapılan çalışmalarda Zn içeriğinin genel bir dağılım gösterdiği ve bu durumun bu özelliğin birden çok genle kontrol edildiğine işaret ettiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar kuru fasülyede Zn içeriği ile ilgili karekterin tek genle mi yoksa birden çok genle mi kontrol edildiği konusunda hala şüphelerin olduğunu işaret etmektedir (Rosa ve ark., 2010).

Rosa ve ark., (2010) tarafından yapılan bir çalışmada karşılıklı melezlemeden elde edilen F1' lerin Zn kapsamı bakımından ebebeynlerden farklı olduğu ve her iki F1 arasında farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Söz konusu karakter bakımından hiçbir stoplazmik etkinin olmadığı da beyan edilmiştir. Kuru fasülye tohumlarının Zn içeriği koteledonlara bağımlıdır. Çünkü tohum Zn kapsamı koteledonlarda ve embriyonik uçta (axiste) yoğunlaşmıştır (Moraghan ve Grafton, 2002; Moraghan ve ark., 2002). Bundan dolayı kuru fasülyede Zn içeriği için seleksiyona F2 generasyondaki tohumlarla başlanmalıdır. Fakat F2 generasyonunda yapılacak

testlemeler tohumlarda zararlanmaya neden olacağından seleksiyon ancak ilişkili markırlar kullanılarak yapılabilir (Rosa ve ark., 2010).

Perola x Guapo Brilhante hibrit kombinasyonu(*Phaseolus vulgaris* L.) ile elde edilen populasyonda trangeresif açılım elde edilmiştir. F2 populasyonunda kuru maddedeki Zn içeriği 53,48 mg Zn kg olarak belirlenmiş ve bu değer Zn içeriğinde %37,26' lık artışa karşılık gelmiştir. Benzer sonuçlar Gelin ve ark., (2007) tarafından yürütülen çalışmalarda da elde edilmiştir. Kuru fasülyede Zn içeriği bakımından transgeresif açılım Blair ve ark., (2009)' un çalışmalarında da tespit edilmiştir. Bu sonuçlar genetik çalışmalarla kuru fasülye tohumlarının Zn içeriğinin arttırabileceğini göstermektedir.

Tarla ve sera koşullarında yetiştirilen arpa bitkilerinde, tohum Zn konsantrasyonu ve içeriği ile ilişkili iki bölge tanımlamışlardır. Aynı zamanda ölçülen özelliklerin dağılımı trangeresif açılım göstermiştir. Bu dağılım, söz konusu özelliğin beklenen çoklu genle kontrol edildiğini göstermektedir (Sadeghzadeh ve ark., 2010).

Arpada tohum Zn taşınımı için moleküler markır yardımıyla seleksiyon en etkili ıslah aracı olabilir. Tohumdaki Zn taşınımının artışı için moleküler markır geliştirmek amacıyla, Clipper (düşük çinko taşıyıcı) ve Sahara 3771 (yüksek Zn taşıyıcı) çeşitlerinden geliştirilen 150 dihaploid hat, tarla ve cam sera koşullarında tohum Zn konsantrasyonu ve içeriği için test edilmiştir. Mikrosatellit bağlantılı uzunluk polimorfizmi (MFLP) tekniği kullanılarak bir adet dominant DNA polimorfizmi belirlenmiştir. Aday MFLP markır jelden izole edilmiş ve tekrar PCR yardımıyla çoğaltılmış, klonlanmış, dizilenmiş ve basit dizi spesifik ve PCR temelli markıra çevrilmiştir. Bu markır 2H kromozomunun kısa kolunda yer almaktadır ve çinko noksanlığı yaşanan çevre koşullarında, arpanın besinsel kalitesi ve üretim miktarını geliştirmek için kullanışlı olabilir. Ancak tohumdaki yüksek Zn içeriği tek başına Zn gübrelemesinin yerini alamaz (Sadeghzadeh, ve ark., 2010).

Buğday tohumdaki Zn içeriği için genotipik varyasyonlar değişik araştırıcılar tarafından rapor edilmiştir (Graham ve ark., 1999; Gregorio ve ark., 2000; Mantovi ve ark., 2003; Moraghan ve Grafton 1999; Raboy ve ark., 1984; Uauy ve ark., 2006). Tüketilen ürünlerde Zn miktarının artırılması insanların Zn ihtiyaçlarının

karşılanmasına katkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda mikroelement içeriği yüksek tohumlar daha yüksek fide gücüne ve daha güçlü kök gelişimine sahip olmaktadırlar (Wissuwa ve ark., 2006). Ayrıca ekimden önce tohumlara mikroelemet uygulaması verimde artışa olanak sağlamaktadır (Welch, 1999). Zn-yoğun tohum elde edilmesi için seleksiyon yapılması, çoğu ıslah programlarıında etkili yöntemlerden bir tanesidir. Fakat mineral-yoğun tohumun geliştirilmesindeki ilerleme hala iş gücü gereksinimi yüksek ve zaman alıcı olmasına rağmen klasik bitki ıslahı yaklaşımlarına bağlı olarak yürütülmektedir (Bouis, 2007; Cakmak, 2002; Ghandilyan ve ark., 2006; Poletti ve ark., 2004; Welch ve Graham, 2004). Moleküler markırların kullanımıyla ticari-mineral yoğun tohumlu bitkilerin geliştirilmesi en etkili yaklaşımlardan birisi olabilir (Zimmerman ve Hurrel, 2002). Moleküler markırlar; Arabidopsis (Filatov ve ark., 2007; Vreugdenhil ve ark., 2004) ve fasülye (Guzman- Maldonado ve ark., 2003)' de tohum Zn içeriğinin bulunduğu genetik bölgenin tanımlanmasında kullanılmıştır. Arpada 2H kromozomunun kısa kolunda tohum Zn içeriğinin artışında etkili olan bir adet QTL belirlenmiştir (Lonergan, 2001).

Bitkilerden ilk defa *Arabidopsis thaliana*' da Zn trasporter genleri klonlanmıştır. Bu genler *Arabidopsis thaliana ZIP1*, *ZIP2*, ve *ZIP3* genleridir. *ZIP1* ve *ZIP3* genleri Zn noksanlığına tepki için bitki köklerinde ekspres olduğu ve topraktan bitki dokularına taşındığı beyan edilmektedir. *ZIP2* geninin ekspresyonu tanımlanmamasına rağmen, dördüncü ilişkili *Arabidopsis* geni (*ZIP4)* genom dizilimi sayesinde Zn noksanlığı yaşayan bitkilerin köklerinde ve sürgünlerinde tanımlanmıştır. Böylece ZIP4 geni Zn' yi bitki dokuları arasında veya hücreler arasında taşıyabilmektedir (Natasha ve ark., 1998).

Shi ve ark., (2008) buğdayda moleküler markırların kullanılarak yüksek dane Zn yoğunluğuna sahip buğday genotipleri ıslah etmek ve dane Zn yoğunluğunun genetik kontrolünü anlamak amacıyla yürütmüş oldukları çalışmada, Hanxuan 10 ve Lumai 14 buğday genotiplerinin melezlemesiyle elde edilmiş dihaploid populasyonunu buğday dane Zn konsantrasyonu ve içeriği için QTL belirlemek amacıyla kullanmışlardır. Ayrıca buğday danelerinde fosfor (P) konsantrasyonu ve içeriğini, bu iki element arasında interaksiyon olup olmadığını belirlemek amacıyla incelenmişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları buğday daneleri tarla denemesinde

normal koşullarda yetiştirilen bitkilerden hasat edilmiştir. Dihaploid populasyonunun Zn konsantrasyonun 25,9 ila 50,5 mg/kg arasında, Zn içeriğinin ise 0,90-2,21 mikro gram/tohum arasında değiştiği beyan edilmiştir. Dihaploid populasyonun dane P konsantrasyonu 0.258-0.429 mg/kg ve P kapsamı 0.083-0.186 mg/tohum arasında değişmiştir. Bu denemede Zn ve P yoğunluğu arasında önemli düzeyde pozitif korelasyon elde edilmiştir. Bu elde edilen sonuçlar Zn ve P yoğunluğunun birden çok genle kontrol edildiğini göstermiştir. Zn konsantrasyonu 4 ve Zn kapsamı için 7 adet QTL belirlenmiştir. Zn konsantrasyonu için belirlenen 4 adet QTL, Zn kapsamı için belirlenen QTL' ler ile aynı yerde bulunmuşlardır. Bu durumun Zn konsantrasyonunun Zn kapsamı ile birlikte geliştirilmesine olanak sağlayabileceği bildirilmiştir. Diğer taraftan P konsantrasyonu için 4 ve P kapsamı için 6 adet QTL belirlenmiştir. Dane Zn konsantrasyonu için 2 adet QTL, P konsantrasyonu için olan QTL' ler ile birlikte kromozom 4A ve 4D' de yer almışlardır. Dane Zn kapsamı için bulunan 4 adet QTL, kromozom 2D, 3A ve 4A' da P kapsamı için tespit edilen QTL' ler ile birlikte yer almışlardır. Bu durum dane Zn ve P yoğunluğunu arasındaki pozitif korelasyonu yansıtmaktadır.

Çeltik ıslahcıları için çinko noksanlığı toleransını belirleyebilmek ve en etkili değerlendirme metodlarının belirlenmesi amacıyla IR74 (hassas) ile Jalmagna (tölerant) melezlemesi ile elde edilmiş populasyon ile arazi koşullarında Zn noksanlığına tolerans için QTL haritalama denemesi yürütülmüştür. Söz konusu çalışma ile aynı zamanda Zn noksanlığı toleransı ile ilişkili QTL' lerin haritalanması amaçlanmıştır. Çinko noksan besin solüsyonu ve Zn noksan arazi koşullarında yapılan taramalarda açılım gösteren hatlardan oluşan populasyondan benzer sonuçlar elde edilememiştir. Arazideki en şiddetli simptom, bitkilerin yüksek ölüm oranına sahip olması olarak beyan edilmiştir. Yaprak kahverengileşmesinin ortaya çıkması duyarlılığın işareti olarak kabul edilmektedir. Fakat yüksek bitki ölümlerinde kahverengileşmenin her zaman görülmesi gerekli değildir. Çünkü her iki özelliğinde bağımsız genetik kontrol altında olduğu bildirilmiştir. Bitki ölümü ile ilişikili dört adet QTL tanımlanmış ve bunlardan yalnızca bir tanesinin yaprak kahverengileşmesi ile ilişkili olan dört QTL' den birisi ile aynı yerde bulunduğu tespit edilmiştir. Bitki ölümü için en önemli iki QTL 2. ve 12. kromozomda belirlenmiştir ve varyasyon

sırası ile %16.6 ve %24.2 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca tölerant ebeveyn Jalmagna'nın allelleri bitki ölümlerini %16.6 ve %24.2 oranında azaltmıştır. Bitki ölümleri için QTL'ler eklemeli davranış sergilerken, yaprak kahverengileşmesi için epistatik interaksiyonlar önemli olmuştur (Wissuwa ve ark., 2006).

Kaba pirinç danelerindeki Zn ve Fe konsantrasyonu için QTL haritalamada Madhukar x Swarna melezinden geliştirilmiş 168 adet F7 RIL populasyonu kullanılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre Zn içeriği 0,4-104 ppm arasında değişirken, Fe içeriği 0,2-224 ppm arasında değişmiştir. 101 adet SSR ve 9 adet gen spesifik markır kullanılarak yapılan genom haritalamada 1., 3., 5., 7. ve 12.kromozomlarda Zn ve Fe'ye önemli derecede bağlı 5 adet QTL belirlenmiştir. Söz konusu iki özellik için toplam 14 adet QTL belirlenmiştir. Demir için belirlenen QTL'ler 7. ve 12. kromozomda çinko için belirlenen QTL'lerle birlikte yer almışlardır. 10 adet aday gen 14 adet QTL'in 12'sine, diğer 6 adet aday gen 3., 5., ve 7. kromozomlarındaki QTL'lere yakın bulunmuşlardır (Anuradha ve ark., 2012).

Kolombiya'da 3 farklı alanda yetiştirilen kuru fasülye (Mesoamerican gen havuzu-Mesoamerican recombinant inbred line-RIL) populasyonunda, tohumların demir ve çinko konsantrasyonu ve içeriğinin kalıtımının değerlendirilmesi ve her mineral için QTL'lerin belirlenmesi amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Populasyon yüksek tohum Zn ve Fe içeriğine sahip fasülye genotipi (G14519) ile düşük Fe ve Zn tohum içeriğine sahip fasülye genotipinin (G4825) melezlenmesi ile elde edilen 110 hat ile geliştirilmiştir. QTL analizleri için genetik harita kuru fasülye genomunu ait 11 kromozomu kapsayan SSR ve RAPD markırlarından oluşturulmuştur. Bu çalışmada b06 bağlantı grubunda Fe ve Zn ile ilişkili QTL tespit edilmiş ve mineral alımı-taşınması ile ilgili önemli bir lokus olabileceği rapor edilmiştir. Mineral konsantrasyonu ve içeriği için diğer QTL'ler b02, b03, b04, b07, b08 ve b11 bağlanı gruplarında yer almışlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen lokuslarla karşılaştırıldığında b06 bağlantı grubunda yer alan lokusun önemi daha fazla ortaya çıkmıştır. Tohum Fe ve Zn konsantrasyonu için önemli bir lokusun keşfi özellikle Mesoamerikan gen havuzu içerisinde yüksek mineral içeriğine sahip genotiplerin kullanılmasıyla yeni çeşitlerin geliştirilmesine imkan sağlayabilecektir (Blair ve ark., 2010).

Cichy ve ark., (2005) tarafından fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) yapılan bir çalışmada tohum Zn içeriğinin tek dominant bir gen tarfından kontrol edildiği bildirilmiştir.

Brown ve ark., (2011) tarafından patatesin Zn içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada en düşük ve en yüksek Zn içeriğine sahip genotipler arasındaki fark %50 (12 ve 18 µg/g kuru madde) ve geniş anlamda kalıtım derecesi 0,61 olarak belirtilmiştir.

Courtney ve ark., (2008) tatlı patateste Zn içeriğinin genotipler arasında altı (6) kat fark ettiğini belirtmiş ve Zn içeriğini kontrol eden genlerin geniş anlamda kalıtım derecesini H^2=0,82 olarak hesaplamışlardır.

DaRosa ve ark., (2010) fasulye tohumunda Zn içeriğini kontrol eden genlerin kalıtımını ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında F1, F2, GM1P1 ve GM1P2 populasyonlarını kullanmış ve analizleri AAS ile yapmışlardır. Çalışma sonuçları Zn içeriğinin 21.76 mg/kg– 53.48 mg/kg arasında değiştiğini ve dar anlamda kalıtım derecesinin %57.5 ile %77.84 arasında değiştiğini göstermiştir.

Elbendary ve ark., (1993) yüksek ve düşük yaprak Zn içeriğine sahip arpa genotiplerinin hibritlerinde yaptıkları çalışmalarında yüksek Zn içeriğine sahip hatların genel kombinasyon yeteneğinin daha yüksek olduğunu ve yaprak Zn seviyesini en az dört genle kontrol edildiğini belirtmişlerdir.

Gelin ve ark., (2007) fasulye tohumunda Zn birikimini kontrol eden bir lokus (bir gen) olduğunu belirtmiştir.

Genc ve ark., (2003) yüksek ve düşük Zn etkinliğine sahip iki arpa genotipinden oluşturulan F2 ve F3 populasyonlarını kullanarak, Zn etkinliğini belirleyen karakterin kalıtımının dominant olmayan tek gen tarafından kontrol edildiğini belirtmişlerdir.

Hartwig ve ark., (1991) Zn etkinliği düşük ve yüksek iki soya fasulyesi çeşidini düşük Zn içeren alanda F3 populasyonları ile birlikte yetiştirmiş ve yaprakları Zn analizine tabi tutmuşlardır. Düşük Zn içeren alanda verimi düşük olan yani Zn etkinliği düşük çeşidin üst yapraklarında 18-25 µg/g Zn ve verimi yüksek yani Zn etkinliği yüksek çeşidin üst yapraklarında 48-56 µg/g Zn tespit edilmiştir.

Aynı alanda (Zn içeriği yetersiz) yetiştirilen F3 populasyonundan elde edilen sonuçlar, Zn alım etkinliğini belirleyen en fazla 2-3 gen olduğuna işaret etmiştir.

Quijano-Guerta ve ark., (2002) çeltikte son 25 yılda Zn ile ilgili çalışmaları derlemişlerdir. Bu derleme çalışmasında; Zn toleransı ile verim arasında verimi olumsuz etkileyen bir durum olmadığı ve düşük Zn içeren topraklardaki Zn eksikliğine tolerant genotiplerin çoğunlukla tuzluluk ve fosfor eksikliğine karşı da tolerant oldukları, Zn toleransının Zn noksanlığı olan alanlarda bitki gelişmesinin erken dönemlerinde görsel skorlama ile tatmin edici bir doğrulukta belirlenebileceği belirtilmiştir.

Richard ve ark., (2011) *Arabidopsis thaliana*' daki doğal Zn toleransı ve birikimini incelemişlerdir. Farklı Zn konsantrasyonlarında yetiştirilen bitkilerin kök ve sürgün büyümesi ile Zn içeriklerinin geniş anlamda kalıtım derecesinin 0.36 ile 0.91 arasında değişmiştir. Bu çalışma ile ilk defa Zn' nin lateral kök gelişmesi için gerekli olduğu ortaya konulmuştur. Genotiplerin Zn toleransı seviyesinin kök veya sürgün Zn içeriği ile ilişkili olmadığı beyan edilmiştir. Köklerden sürgünlere Zn translokasyonu, bitkilerin sahip olduğu Zn toleransının sadece bir kısmını açıklamaktadır.

Riseman ve ark., (2005) *Exatum L.* bitkisinde Zn etkinliğini kök katyon değişim kapasitesi ve tüm bitki Zn alımı ile test ettikleri çalışmalarında, Zn etkinliği yüksek ve düşük genotipler arasında katyon değişim kapasitesini (27.2 ve 16.9 cmol/kg kuru kök ağırlığı) ve tüm bitki Zn alım oranını (0.048 ve 0.026 µM) belirlemişlerdir. Araştırmacılar Mg x Zn interaksiyonunun Zn etkinliğine katkı yapabileceğini öngörmüşlerdir.

Soya fasulyesinde 9 adet genotip kullanılarak oluşturulan 81 adet diallel melezlerde yapılan çalışmada, Zn alımının daha çok eklemeli genlerin kontrolünde olduğu bildirilmiştir (Spehar, 1995).

Yüksek ve düşük minaral içeriğine sahip (DOR364 x G19833) kuru fasülye genotiplerinin melezlenmesinden elde edilen rekombinant inbred hatlarında tohumlardaki çinko ve demir taşınmasının kalıtımını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, QTL haritalama yaklaşımı kullanılmıştır. İki farklı deneme alanında yürütülen çalışmada, hasat zamanında tohumlardaki çinko ve demir konsantrasyonu

ICP ve AAS cihazları ile belirlenmiştir. Hatlar arasındaki tohum mineral konsantrasyonundaki varyasyon demir için (40.0-84.6 ppm) çinkodan (17.7-42.4 ppm) daha yüksek bulunmuştur. Denemeler ve analizde kullanılan metodlar arasında yüksek korelasyonlar tespit edilmiştir. (r=0,715). Mineral x deneme x metod kombinasyonları için 26 adet QTL belirlenmiştir. Zn ve Fe için belirlenen QTL' lerin çoğu B11 bağlantı grubunda yer almış ve bu durum fenotipik varyasyonun %47.9' una kadar açıklanmıştır. Bu lokusun markır yardımlı seleksiyon için kullanışlı olduğu beyan edilmiştir. Diğer QTL' ler ise çinko için B3, B6, B7 ve B9 bağlantı gruplarında; demir için ise B4, B6, B7 ve B8 bağlantı gruplarında belirlenmiştir. Tohum Zn konsantrasyonu için B11 bağlantı grubundaki QTL oldukça önemli olmuş ve en yüksek LOD değerini (2.42-8.31) vermiştir. Ancak bu değer Fe için daha yüksek olarak belirlenmiştir Transgeresif açılım hem düşük hemde yüksek mineral hareketi için en önemli kanıt olarak bildirilmiştir. Mineral analizler için ICP ve AAS metodlarından her ikisinden de güvenilir ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu iki metod arasında önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Blair ve ark., 2009). Wu ve ark., (2008) tarafından lahanada (***Brassica napus***) yapılan bir çalışmada ise yaprakların mineral alımında farklı konsantrasyonlardaki çinko çözeltilerinde çok sayıda küçük etkili QTL' ler bulunmuştur.

Guzman-Mandonado ve ark., (2003) yabani x kültür genotiplerinin melezlenmesiyle elde edilen populasyonda tohum Fe içeriğinin %25' ini açıklayan 2 adet QTL belirlemişler ve kalıtımın çoklu genle kontrol edildiğini beyan etmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada tohum Zn içeriğinin %15' ini açıklayan 1 adet QTL tespit edilmiştir. Aynı Forster ve ark., (2002) ve Cihcy ve ark., (2005) tohum Zn taşınımının tek genle kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Gelin ve ark., (2007) ise Chicy ve ark., (2005)' in kullanmış olduğu populasyonu kullanarak yapmış oldukları haritalama çalışmalarında, tohum Zn konsantrasyonunun %17.8' ini açıklayan 1 adet QTL belirlemişlerdir. Fe için ise hiçbir QTL belirleyememişlerdir. Bunun sebebinin ise sınırlı harita kapsamından kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. B11 bağlantı grubunda belirlenen QTL her iki element için ve her iki metoda göre benzer ve önemli bir QTL olarak belirlenmiştir. Bu QTL benzer markıra yakın AN034D,

V104D ve K126G, Bng1 aralığında yer almış ve söz konusu QTL' in her iki elementi kontrol edebileceği rapor edilmiştir.

Fe ve Zn konsantrasyonun, kalıtımı yüksek mineral içeriğine sahip ebeveyn G19833' nin eklemeli gen etkiyle pozitif allellerle katkı sağladığı beyan edilmiştir. Buna ilave olarak trangeresif açılımın düşük olduğu, eklemeli ve yüksek mineral allellerinin baskın olarak G19833 genotipinden kaynaklandığı beyan edilmiştir. Tüm bu sonuçlar, tohum Fe ve Zn içeriğinin birden çok gen tarafından kontrol edildiğini, benzer genlerin her iki elementin hareketini etkilediğini göstermiştir (Blair ve ark., 2009). *Arabidopsis halleri* Zn toleransı için doğal seleksiyondan geçirilmiş bir türdür. Bu nedenle bu özellikle ilişkili QTL' in izolasyonu, bu özellik için oluşacak adaptasyondan sorumlu ana genlerin tanımlanması için oldukça umut vaat etmektedir. Türler arası melezleme ile elde edilen populasyon kullanılarak *Arobidobsis halleri* × *Arobidobsis lyrata petraea* bağlantı haritası oluşturulmuş ve *A. halleri*' de Zn toleransında etkili olan 3 adet ana QTL haritalanmıştır (Willems ve ark., 2007). Bu çalışma *A. halleri*×*A. l. petraea* bağlantı haritasının *A. thaliana* genom dizileri ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu amaç için 23 tanesi metal hemostasiste yer aldığı bilinen 81 adet *A. thaliana* markırı ile genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Çalışma ile *A. thaliana* ve onun en yakın akrabası olan *A. halleri* arasındaki ayrım için kromozal tekrar düzenlemelerde geniş bir bakış açısı sağlamıştır. Ayrıca bu çalışma boyunca deneysel olarak sentetik ilişkinin temeli değerlendirilmiştir. Benzer bölgelerde yer alan bütün genlerin değerlendirilmesine olanak sağlayan *A. thaliana* fiziksel haritasında, Zn töleransı için QTL güven aralıkları belirlenmiştir. Çalışma ile elde edilen önemli bulgulardan bir tanesi ise metal hemostasiste görev alan 23 adet genin üçte birinin Zn toleransı için en önemli aday olduğu düşünülen QTL bölgesinde yer aldığı tekrar tespit edilmiştir (Nancy ve ark., 2008).

Topraklarda ve bitkilerde düşük Zn varlığı dünyada diyete bağlı Zn alımını etkilemektedir. *Brassica oleracea* L.' da yapılan bir çalışmada yapraklı sebzelerde çeşit geliştirmek için sürgün Zn konsantrasyonununda yeterli varysayonun olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır. Çok sayıda (n=376) materyal içeren ve hemen hemen tüm dünyadaki yaygın allelik varyasyonu temsil eden, ayrıca 74 adet

ticari çeşidi (çoğunlukla F1) kapsayan *Brassica oleracea* L. gen havuzunda örnekleme yapılmıştır. Genotipler, arazi ve cam serada düşük ve yüksek P koşullarında ve aynı zamanda cam serada Zn noksan toprakta yetiştirilmişlerdir. Genotipler arasında sürgün Zn içeriğinde farklılık olmasına rağmen, sürgün Zn içeriğine çevrenin etkisi oldukça büyük olmuştur. Sürgün Zn içeriğinin kalıtımı önemli, ancak bir haritalama populasyonunu oluşturan 90 adet dihaploid (DH) hat arasında göreceli olarak düşük olarak tespit edilmiştir. Kromozom C2, C3, C5, C7 ve C9' da sürgün Zn' si ile ilişkili birkaç QTL bulunmuş olmasına rağmen, bunlar zayıf ve büyüme koşullarından etkilenmiştir. Bu nedenle ***B. oleracea***' da sürgün Zn' si için ıslahın zor olduğu beyan edilmiştir. Ayrıca bütün genotiplerde sürgün P konsantrasyonu düşük Zn içeren toprak koşullarında düzenli bir artış gösterirken, düşük toprak P düzeyinde sadece bir genotipin sürgün Zn' sinin artış gösterdiği bildirilmiştir (Broadley ve ark., 2010).

Mercimekte (*Lens culinaris Medikus subsp. culinaris*) Zn ve Fe birikim potansiyelinin ortaya konulması amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Kanada' da (Saskatchewan) 2 yıl süre ile 8 adet lokasyonda yetiştirilen 19 adet mercimek genotipinin toplam Fe ve Zn konsantrasyonları analiz edilmiştir. Test edilen mercimek hatları arasında Fe ve Zn konsantrasyonu bakımından varyasyonun olduğu tespit edilmiştir. Toplam Fe ve Zn konsantrasyonları 73-90 mg Fe kg^{-1} ve 44-54 mg Zn kg^{-1} olarak değişmiştir. 100 g kuru mercimekte hesaplanan değer tavsiye edilen günlük ihtiyaca uygun değerler içinde yer almıştır. Mercimek tohumlarındaki Fe ve Zn konsantrasyonu için tahmin edilen geniş anlamda kalıtım sırasıyla %64 ve%68 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar, mercimeklerin Fe ve Zn noksanlığından kaynaklanan besin noksanlığının giderilmesinde ümitvar olabileceğini göstermiştir (Thavarajah ve ark., 2009).

Gizli açlık olarak adlandırılan mikro element noksanlığı dünya çapında çok fazla sayıda insanı etkilemektedir. Gıdalar ile daha fazla çinkonun sağlanması teorik olarak seleksiyon ıslahı metodları ile mümkün gözükmektedir. Dihaploid arpa (*Hordeum vulgare*) populasyonunda, arpa genomunun ilgili bölgesinde mineral element birikimi özelliğinin belirlenmeye çalışıldığı araştırmada deneme büyümeden olgunluğa kadar olan süreçte yürütlmüş ve bulgular MAPMANAGER QTX ve

QGENE 4.0. programları kullanılarak değerlendirilmiştir. Populasyonda açılım gösteren 9 adet lokus, ölçülen özelliklerle ilişkili bulunmuştur. Bunlardan 5 tanesi dane Zn içeriğine katkıda bulunmuştur 3 adet allel dane Zn içeriği ve konsantrasyonunu ortalama %53 ve %75' e kadar arttırmıştır. Bu sonuçlar, major gıda kaynağı olan buğdayda (*Triticum aestivum*), Zn yoğunluğunu arttırmak için yapılan ıslah proğramlarına markır yardımlı seleksiyon yöntemi kullanarak yardımcı olma konusunda bilgi üretmiştir (Lonergan ve ark., 2009).

Peleg ve ark., (2009) tarafından yürütülen bir başka çalışmada, makarnalık buğday (Langdon çeşidi) ve yabani esmer buğday (*Triticum dicoccum*-(G18-16) çeşitlerinin melezlenmesi ile elde edilmiş 152 adet RIL tetraploid buğday populasyonunda; protein, mikroelementler (Zn, Fe, Cu ve Mn) ve makroelementlerin (Ca, Mg, K, P ve S) konsantrasyonunun genetik ve fizyolojik temeli araştırılmıştır. RIL populasyonunda, tüm dane mineral konsantrasyonu bakımından oldukça önemli transgresif etki ile geniş genetik varyasyon elde edilmiştir. 10 adet mineral için 3.2–16.7 LOD skor oranı ile toplam 82 adet QTL haritalanmıştır. Çoğu QTL' ler (50 QTL) yabani allellerde yer almıştır. Aynı özellik için olan 14 adet QTL A ve B genomları arasında homolog pozisyonda haritalanmıştır. Dane protein konsantrasyonu, Zn, Fe ve Cu ile söz konusu özellikler için belirlenen QTL' ler arasında önemli pozitif korelasyonlar tespit edilmiştir. Bu belirlenen QTL' ler; özellikle protein, Zn, ve Fe kapsamının artırılması için yabani allellerin kullanımıyla elit buğday genotiplerinin besinsel kalitesinin geliştirilmesine olanak sağlayabilecektir. Dane Zn konsantrasyonu ile ilişkili %1-23' ünü açıklayan toplam 6 adet QTL (LOD skoru 3.7 ve 16.4 arasında değişen) belirlenmiştir. Yüksek Zn kapsamı G18-16 genotipine ait allellerde 5 lokusta (2A, 5A, 6B, 7A ve 7B) LDN (kültür buğdayı) genotipine ait allelde 1 lokusta(2A) yer almıştır. 3 adet QTL önemli derecede Genetik x Çevre interaksiyonu göstermiş ve bunlardan 2 tanesi (5A, 6B) çevreler arasında benzerlik gösterirken 1 tanesi (7B) sadece bir çevre koşulu altında bulunmuştur.

Görsel Zn noksanlık simptomları kullanılarak yapılan bir çalışmada ise kuru fasülyedeki Zn noksanlığı toleransının tek bir dominant genle kontrol edildiği rapor edilmiştir (Singh ve Westermann, 2002). Yine arpada görsel noksanlık

simptomlarının kullanımıyla Zn etkinliğinin kalıtımını belirlemek için yürütülen bir çalışmada ise fide aşamasındaki Zn noksanlığına toleransın dominant olmayan tek bir gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Genc ve ark., 2003).

2.9. Çinko ve Diğer Mikrobesin Elementleri Etkinliği İçin Moleküler Markırların Geliştirilmesi

Son 20 yıldan bu yana moleküler metodlar geniş oranda bitki türlerinde genlerin izolasyonu, haritalanması ve tanımlanmasına kullanılmaktadır. Moleküler markırlar, bitki türlerinde detaylı fiziksel ve genetik kromozom haritalarının oluşturulmasında kolaylık sağlamaktadır. Moleküler markırların diğer önemli kullanım alanı, klasik bitki ıslahının etkinliğinin arttırılması için kantitatif özellik lokusları (QTL) ile ilişkili moleküler markırların dolaylı seleksiyon amacıyla kullanılmasıdır. Moleküler markır uygulamaları, biyotik ve abiyotik strese karşı bitkinin tepkisini kontrol eden fizyolojik parametreleri anlamamıza yardımcı olmaktadır. Moleküler markırların temel olarak çevreden etkilenmeme ve bitki gelişiminin her aşamasında bilgi verebilmesi gibi çok sayıda avantajı bulunmaktadır.

Moleküler markırlar genel olarak 3 grupta sınıflandırılabilir: RFLP' ler gibi hibridizasyona dayanan markırlar, SNP' ler gibi DNA çip ve dizilemeye dayal markırlar, son olarak da RAPD, SSR, STS, AFLP, MFLP ve SRAP gibi PCR' a dayanan markırlar (Sadeghzadeh, 2008).

Konvansiyonel bitki ıslahında önemli agronomik özelliklerin seçiminde zorluklar ile karşı karşıya gelinmekte ve bu özellikler çevreden etkilenmektedir. Ayrıca test metotları zor, güvenilmez, hatta abiyotik stresleride içine alan hedef özelliğin doğasından veya hedef çevre nedeniyle pahalıdırlar. Örneğin açılım populasyonlarından mikroelement etkin hatların seçimi arzu edilmektedir. Ancak bunu arazi koşullarında, serada veya büyütme odalarında yapmak çok zor olmaktadır. Çünkü tohum besin içeriği, özelliğin teşhisi, sıcaklık ve toprağın nem içeriği gibi faktörler yüzünden söz konusu özelliklerin ifade edilmesindeki varyasyon önemli derecede etkilenmektedir (Genc ve ark., 2000; Khabaz-Saberi ve ark., 2000; Webb ve Loneragan, 1988; Longnecker ve ark., 1991).

Erken generasyonların melezlenmesi ile elde edilen populasyonda mikrobesin etkin genotiplerin tanımlanması imkansızdır. Çünkü her bitki farklı bir genotipi temsil eder. Oysa her genotip, besin etkinliğinde etkili olan bağımsız genlerin açılımı nedeniyle ortaya çıkan genetik varyasyonun ortaya konulabilmesi için düşük ve yeterli mikroelement koşullarında test edilmelidir. Bu nedenle, özellikle uygun olmayan koşullarda yapılan moleküler markırlarla seleksiyon en etkili ıslah aracı olarak görülmektedir (Cakmak ve Braun, 2001).

Genetik ilişki haritası geliştirmeden ve moleküler markırlar tanımlanmadan önce hedefteki bir özellik için açılım gösterecek büyük haritalama populasyonları elde edilmelidir. Geniş melezlemeler, oldukça yüksek polimorfizmin elde edilebilceği açılım populasyonlarına sahip olmaya olanak sağlamaktadır (Staub ve Serquen, 1996).

Bir özelliği genetik olarak incelemek ve haritalamak için en yaygın olarak kullanılan bitki materyalleri, bir özellik bakımından açılım gösteren iki genotipin melezlemesi ile elde edilmiş açılım populasyonlarıdır. Haritalama için en uygun populasyonlar ise F_2 populasyonlarıdır. Ancak bir özellik birden çok genle kontrol ediliyorsa, bu özellik üzerinde etkili olan çevre etkisini en aza indirmek için daha fazla ilerletilmiş (advanced) generasyonlara ihtiyaç bulunmaktadırç Komple ilişki haritası geliştirmek için kendileme ile birkaç generasyon ilerletilmiş genetik olarak stabil populasyonlar gerekmektedir. Dihaploid ve rekombinant kendilenmiş hatlar (RILs) kalıcı haritalama kaynaklarıdır. Bunlara ek olarak, dihaploid ve rekombinant kendilenmiş hatlar (RILs) F_2 populasyonlarında testlemede, tek bitki kullanımının dezavantajının aksine birden çok bitkinin test edilmesi bakımından avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle F_2 populasyonundan daha az sayıda populasyon sayısına ihtiyaç duyulmaktadır (Young, 2000). Ayrıca dihaploid ve RIL hatları özellikle kantitatif analizler için daha uygundur.

Polimorfik moleküler markırlar, bağlantı haritalarının geliştirilmesinde bir açılım populasyonun genotiplemesi için kullanılmaktadır. İstatistiksel olarak önceki çalışmalardan elde edilen farklı markır allelleri arasındaki ilişkiler ve açılım gösteren markır allelleri değerlendirilir. Genomda markır lokasyonları bilindiği zaman kromozomlar üzerinde bağlantı grupları belirlenebilir. Bitki türlerinin genomları

markırlarla yeterince doyurulmuşsa genomlarda haploid kromozom sayısını karşılayacak bağlantı grubu sayısı elde edilebilir. Bir bağlantı haritası oluşturmak kantitatif özellikleri kontrol eden genleri tanımlamak için gerekli olmasına rağmen, hedef özellik major genler tarafından kontrol edildiği zaman genleri tanımlamak ve onlarla markırları ilişkilendirmede gerekli değildir (Ribaut ve ark., 2001).

Bağlantı haritasının oluşturulmasından sonraki aşama ise, Zn taşınımı gibi açılım gösteren bir DNA markırının bulunması ve bunu takiben bu markırın genetik lokusunun kromozomlardaki yerini belirlemektir. Teorik olarak sıkı sıkıya bağlantılı DNA markırları ıslah aşamalarını hızlandırabilir. Çünkü ıslahçılar daha pahalı ve zaman alıcı tarla testlerinden ziyade DNA markırları ile seleksiyonu tercih edebilirler.

Etkili haritalama çalışmaları iki tip veriye bağlıdır. Bunlar açılım gösteren özelliğin arazi veya sera verileri ve markör açılımından elde edilen laboratuvar verileridir. Fenotipik verilerin kaitesi, gen/QTL analizlerinin başarısı için oldukça kritiktir. Çünkü bir populasyonun içerisindeki markır açılımının laboratuar verileri QTL' leri belirlemek için arazi ve sera verileri ile paralel olmak zorundadır. Bu nedenle denemeler fenotipik değerlendirme hatalarını azaltmak için yeterli tekerrürle kurulmalı ve dikkatli planlanmalıdır (Ribaut ve ark., 2001). Çeşitli araştırma gruplarınca yapılan bağlantı haritası sayısındaki artışlar, besinsel karakterlerin haritalanmasının yaygın olacağına işaret etmektedir. Arpada F_2 populasyonunda yapılan saksı testlemeleri ve bulk segregant analizleri ile Mn etkinliği için bir lokusa bağlantılı RFLP markırları belirlenmiştir. Bu Mn etkinliği lokusu ***MelI*** olarak dizayn edilmiştir (Palootta ve ark., 2000). Makarnalık buğdaya ait F_2 populasyonunda ***MelI***-bağlantılı RFLP markır ***xCDO583a*** Mn etkinliği ile yakın bağlantılı ve bu özellik için toplam varyasyonun %42' sini açıklamaktadır (Khabaz-Saberi ve ark., 2002).

Al-tolerant ve Al duyarlı çeltik çeşitleri arasında yapılan melezlemeden elde edilen F_3 populasyonunun 8 adet adet kromozomunda 9 adet farklı genomik bölgenin aliminyum stresi altında kök ve sürgün gelişiminin genetik kontrolü ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda Al toleransında en büyük etkinin ***WG110*** RFLP markırı ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (Nguyen ve ark., 2001). Kuru fasülyede ise Zn konsantrasyonu ile ilişkili bağlantı grubu IV' te yer alan ve fasülye danesi Zn

içeriğindeki varyasyonun %15' ini açıklayan bir QTL belirlenmiştir (Guzman-Maldonado ve ark., 2003).

Arpada 2H kromozomunun kısa kolunda *Xbad175* lokusunda Sahara allellinin varlığının tohum Zn konsantrasyonunda %20 ve içeriğinde ise %26' lık artış sağladığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda 4H kromozomunun uzun kolunda yer alan WG464 markörünün antesis aşamasında yüksek vejetatif Zn konsantrasyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sürgün Zn konsantrasyonu ve birikiminin markır analizleri, 4H kromozomunun uzun kolunda bu genlerin her ikisiyle ilişkili olarak belirlenmiştir (Lonergan, 2001).

Önümüzdeki birkaç yıl içerisinnde istenilen Zn etkinliği gen veya genlerinin belirlenmesi için moleküler markırların kullanımında önemli gelişmeler olabilecektir. Bu markırlar bitkilerin çeşitli büyüme dönemlerinde çevreden bağımsız olarak Zn etkinliği için seleksiyona olanak sağlayabilecektir. Eğer markırlar gene yeterli derecede yakınsa, bu markırlar direk olarak markır yardımlı seleksiyonda kullanılabilirler. Ancak seleksiyon için kullanılan markır, istenilen genden uzakta ise markır ve gen arasında oluşan krossover yüzünden sorunlar çıkmaktadır. Bu durum tarama sürecinde hatalı sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Mohan ve ark., 1997). Bu nedenle mevcut doyurulmamış genetik haritaların markır yoğunluğu ve kesinliği arttırılmalı ve genlerin belirlenmesi,MAS kullanımı için ek markırlar belirlenmelidir. ALFP, SSR ve MLFP gibi PCR' a dayalı markırlar, harita doygunluğu seviyesini ve harita üzerindeki lokus sayısını arttırabilmek için kullanılabilir (Karakousis ve ark., 2003b). Yüksek Zn birikimi lokusunun genomik pozisyonu, daha fazla doyurulmuş haritaların kullanımı ile mevcut genetik haritalardan daha kesin olarak belirlenebilir.

Zn-yoğun tohumlara sahip major bitkiler, düşük çinko içeriğine sahip topraklarda yüksek verime bağlı olarak yüksek gelir getirmeleri nedeniyle üreticiler için ilgi çekici olabilirler. Arazi ve büyüme odası taramaları çalışmaları, arpada Zn etkinliği için önemli derecede genetik varyasyon göstermiştir. Ancak arazi ve büyüme odası taramalarında, varyasyonun kalıtımı için yürütülen çalışmalarda bazı tutarsız sonuçlar elde edilmiştir. Etkinlik için hızlı ve güvenilir metotların geliştirilmesindeki zorluklar veya onların arazi taramalarındaki elde edilen sonuçları

doğru şekilde yansıtmasındaki sıkıntılar nedeniyle Zn etkinliği için moleküler markörlerin kullanımı, biber ıslah programlarındaki başarı için çok önemli bir araç olarak düşünülebilir. Zn etkinliğinin teşhisi için DNA markırlarının belirlenmesi, düşük Zn içeriğine sahip topraklarda verimliliğini devam ettirebilen çeşitlerin geliştirilmesini hızlandırabilir ve Zn noksanlığına bitkilerin tepkisindeki farklılıklardan sorumlu spesifik genlerin tanımlanması için başlangıç teşkil edebilir.

2.10. Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) ile İlgili Çalışmalar

SRAP markır sistemi ilk defa lahanada uygulanan (Li ve Quiros, 2001). basit, güvenilir, yeterli oranda ve kolay elde edilir bandlar veren PCR' a dayalı moleküler markır sistemidir. 17 ve 18 bp uzunluğunda ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerinden meydana gelmektedir. Forward primerleri 13 yada 14 bp uzunluğundaki bir ana dizilimden meydana gelmektedir ve CCGG dizilimi tarafından takip edilmektedir. 3' ucunda 3 adet seçici (ayıran) nükleotid içermektedir. Reverse primerleri de forward primerleri ile benzer yapıda olup, CCGG dizilimi yerine AATT dizilimini içermektedir. AATT dizilimini de primerin sonunda 3' ucunda eklemeli üç seçici nükleotid bulunmaktadır. SRAP markırları, RAPD i markırlarına göre daha yüksek oranda tutarlı sonuçlar ortaya koymakta ve AFLP markırlarına göre ise daha ucuz ve daha az işçilik gerektirmektedir (Li ve Quiros, 2001).

SRAP markırlarının son yıllarda birçok türde genetik çeşitlilik çalışmalarında başarıyla kullanıldığına dair çok sayıda rapor mevcuttur. Bu konuda ilk olarak *Brassica oleracea* L.' nin rekombinant ıslah ve dihaploid hatlarında çalışmalar yürütülmüş ve jelden izole edilen bantların %45' inin dizilim analizinden sonra gen bankasındaki bilinen genler ile eşleştiği bildirilmiştir. Ayrıca dizilim analizinden sonra SRAP işaretleyicilerinin %20' sinin ko-dominant işaretleyici olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda SRAP kullanımı ile *Brassica*' da bulunan glucosinolate desaturation geni (BoGLS-ALK) tanımlanmıştır. (Li ve Quiros , 2001).

30 adet şekerkamışı genotipi 31 adet SRAP primer kombinasyonu ile taranmış ve 1364 adet fragmentin 1135 (%83)' inin polimorfik olduğu tespit

edilmiştir. Primer kombinasyonlarından ortalama olarak 44 adet parçacık elde edilmiş ve 119 (%8.7)' unun türe spesifik olduğu bildirilmiştir (Suman ve ark., 2008).

Turpta RAPD, AFLP ve SRAP işaretleyicilerinin kullanımıyla yapılan çalışmada, 11' i Çin , 5' i yabancı kültür ve 1' i yabani olmak üzere toplam 17 adet varyete kullanılmıştır. RAPD işaretleyicisi %93,4' lük bir oranla en fazla polimorfizmi vermiş, ayrıca RAPD ve SRAP' a dayalı dendogram verileri ile morfolojik özelliklere göre sınıflandırma arasında uyum olduğunu bildirilmiştir (Li ve ark., 2007).

Gülşen ve ark., (2007) tarafından SRAP ve fenotipik işaretleyicilerin kullanıldığı ve 23 adet bamya genotipi arasındaki çeşitlilik ve ilişkinin araştırıldığı çalışmada, 39 adet SRAP kombinasyonundan oluşan primerler kullanılmıştır. 21 adet Türk ve 2 adet ABD bamya genotipiin 97 adet skorlanan bandının %50' sinde polimorfizm tespit edilmiştir. 23 adet genotipin 17' si (%74) 0.93 benzerlik ile birbirinden ayırt edilmiştir. Bu çalışma ile SRAP markırlarının bamya genotiplerinde çeşitlilik çalışmalarında kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

SRAP markırları akrabalık ilişkileri belirlemenin yanı sıra pek çok özellikle ilişkili haritaların oluşturulmasında da yaygın kullanılan bir yöntem olmuştur. Hıyarda yapılan bir çalışmada, SRAP ve ISSR markırlarına dayalı genetik haritalama için ' PW0832' ve ' PW0801' iyanhatlarının melezlenmesiyle elde edilmiş 112 adet F2 bitkisi kullanılmıştır. Çalışmada 50 adet ISSR primeri ile 132 adet SRAP primer kombinasyonları denenmiştir. ISSR primerlerinin 13 (%26)' ünde ve SRAP primer çiftlerinin ise 26 (%20)' sında polimorfik band elde edilmiştir. Toplam 109 adet polimorfik işaretleyicilerin 48' i ISSR ve 61' i SRAP olup, ortalama polimorfik bantlar ISSR' da 4 adet ve SRAP' da 2 adet olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlara göre hıyar 7 bağlantı grubuna ayrılmıştır ve bulunan markırlar, markır yardımlı seleksiyon çalışmalarında kullanılabilinir olarak bildirilmiştir (Yeboah ve ark., 2007).

24 adet karpuz çeşidinde RAPD, ISSR, AFLP ve SRAP yöntemleriyle ve 146 adet markır kullanılarak yapılan haritalama çalışmasında farklı bağlantı grupları tespit edilmiştir. 53 adet RAPD primerinin 5' i (%9.4), 15 adet ISSR primerinin 6'sı (%40.0), 37 adet AFLP primerinin 30' u (%81.0) ve 41 adet SRAP primer

kombinasyonunun 33'ünde (%80.5) polimorfizm elde edilmiş ve SRAP markırlarının polimorfizmde en etkili metot olduğu beyan edilmiştir (Levi ve Thomas, 2007).

Diğer taraftan Rahman ve ark., (2007) tarafından *Brassica*'da tohum kabuğu rengi için yapılan çalışmada, Span çeşidi (kahverengi tohumlu) ile Bari-6 (Sarı) çeşidi melezlenerek F1, F2, F3 ve GM1 populasyonları elde edilmiştir. Tohum kabuğu renginde kahverengi, sarı-kahverengi ve parlak sarı şeklinde açılım elde edilmiş ve SRAP markırı ana tohum kabuk rengi Br1/br1 ile bağlantılı bulunmuştur. Bu markır, ıslah çalışmalarında Markır Yardımlı Seleksiyonda kullanabilmek için SNP ve SCAR işaretleyicisine çevrilmiştir.

Brassica napus'un (şalgam) genetik bağlantı haritasını oluşturmak için 142 adet SRAP, 163 adet fonksiyonel markırı, 160 adet SSR ve 117 adet AFLP markırı, SI-1300 ve Eagle melezlenmesi ile elde edilen F2 populasyonundaki 184 adet bireyde kullanılmıştır. Elde edilen harita ortalama 3.53 cM işaretleyici aralığı ile 2054,51 cM'i kapsamıştır (Yuanyuan ve ark., 2007).

Esposito ve ark., (2007) 40 adet bezelye (*Pisum sativum* L.) çeşidinde genetik çesitliliği belirlemek amacıyla morfolojik markırları ve SRAP markırlarını kullanmışlardır. Çalısmada 7 adet primer kombinasyonu kullanılmış, uzunlukları 400– 1200 bp arasında değişen 162 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan çesitler dört ayrı gruba ayrılmıştır. Morfolojik ve SRAP verilerinden elde edilen benzerlik indeksleri arasında 0.70 düzeyinde bir korelasyon tespit edilmiştir. SRAP markırları etkili ve ucuz bir sistem olması nedeniyle bezelyede genetik ilişkilerin açıklanması çalışmalarında kullanılabilecek bir yöntem olarak gösterilmiştir.

Dnan (2008), 24 adet kabak genotipinde SRAP ve ISSR markırlarını kullanarak moleküler karakterizasyon çalışmaları yapmıştır. Çalışmada 8 adet SRAP primer kombinasyonu kullanılmış ve tamamı polimorfik olan toplam 71 adet bant elde edilmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği 1.27, toplam ayırma gücü değeri ise 6.01 olarak bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen veriler NTSYS paket programında analiz edilmiş ve soyağaçları UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) yöntemine göre oluşturulmuştur. SRAP markırları

kullanılarak yapılan çalışmalarda kabak genotipleri arasındaki genetik benzerlik indekslerinin 0.13 ile 1.00 arasında olduğu ortaya konulmuştur.

Wang ve ark., (2008) 35 adet turp (*Raphanus sativus* L.) çeşidinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla; RAPD, ISSR ve SRAP markır sistemlerini kullanmışlardır. Araştırmada 35 adet RAPD, 22 adet ISSR ile 17 adet SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır. RAPD markırlarından uzunlukları 250– 2000 bp arasında değişen toplam 412 adet bant elde edilmiş ve bunların 352 adedi (%85.44) polimorfik bulunmuştur. ISSR markırlarından uzunlukları 200– 2000 bp arasında değişen toplam 250 adet bant elde edilmiş ve 213 (%85.2) tanesi polimorfik olarak tespit edilmiştir. SRAP çalışmalarında ise uzunlukları 200– 800 bp arasında değişen toplam 233 adet bant elde edilmiş ve bunların 199 adedi (% 85.41) polimorfik bulunmuştur. Primer başına ortalama polimorfik bant sayısı en fazla (11.76 adet) SRAP primerlerinden elde edilmiştir. Korelasyon değeri SRAP için r= 0.949, ISSR için r= 0.852 ve RAPD için r= 0.822 olarak tespit edilmiştir. RAPD ve ISSR markırları çeşitleri üç gruba ayırırken, SRAP markırları iki büyük gruba ayırmıştır. Üç markır sisteminden elde edilen veriler birleştirilerek olusturulan dendrogramda, çeşitler üç gruba ayrılmış ve benzerlik indeks değeri 0.73 olarak bulunmuştur. SRAP markırları bu tür çalışmalar için etkili bir yöntem olarak belirtilmiştir.

Yu ve ark., (2008) 19 adet mantar (*Auricularia polytricha*) örneğinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla ISSR ve SRAP markırlarını kullanarak araştırmalar yapmışlardır. Çalışmada 13 adet ISSR primeri ve 14 adet SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır. ISSR çalısmasında 202 adet bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı %99 olarak bulunmuştur. SRAP çalısmalarında ise 459 adet bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı %95.9 olarak tespit edilmiştir. Her iki markır sitemine göre de, mantarlar arasında yüksek düzeyde çeşitlilik tespit edilmiştir. SRAP markırları ISSR markırlarına göre daha fazla bilgi verici özellikte bulunmuştur. Bu markır sistemlerinin genom üzerinde farklı bölgeleri hedef aldıkları belirtilerek, SRAP markırlarının kolay uygulama ve değerlendirme, yüksek düzeyde etkinlik gibi nedenlerden dolayı daha tercih edilebilir bir sistem olduğu üzerinde durulmuştur.

45 adet limon (*Citrus limon* L.) Burm. f.), 5 adet sitron (*Citrus medica* L.), 4 adet kaba limon (*Citrus jambhiri* Lush), ve 2 adet *Citrus volkameriana* genotiplerinin genetik çeşitliliğinini belirlemek amacıyla SRAP ve SSR markörleri kullanılmıştır. Çalışmada 13 adet SSR primeri toplam 26 adet band üretirken, bunların %76'sı polimorfik bulunmuştur. SRAP ve SSR verileri ile yapılan analizlerde genotiplerin benzerlik oranları 0,65-1,00 arasında yer almıştır. Çalışma ile kaba limon ve *C. volkameriana* genotiplerinin oldukça yakın oldukları belirlenmiştir. Limon grubunda hibrit orijinliler birbirinden uzak bulunmuştur. Genotipler birbirinden rahatlıkla ayrılabilmesine rağmen, limon genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin oldukça düşük düzeyde olduğu rapor edilmiştir (Uzun ve ark., 2011).

Kök-ur nematodları (*Meloidogyne spp.)* hıyarda (*Cucumis sativus* L.). önemli zararlılardan birisidir. Kök-ur nematodlarına dayanıklılıkla bağlantılı moleküler markırlar, söz konusu zararlıya dayanıklılığın takibinde kullanılmaktadır. 100 adet AFLP (EcoRI-MseI) ve 112 adet SRAP markırının kullanıldığı bir çalışmada, dayanıklı ve hassas ebeveynler Mj geniyle bağlantılı moleküler markırlar geliştirmek için taranmışlardır. 100 adet AFLP primerinden 92 adet band elde edilmiş ve bunlardan 2 adedi (E-ATT/M-CAA ve E-AAC/M-CTG) aday markırlar olarak belirlenmişlerdir. Bu iki band poliakrilamid jelden kesilmiş ve dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizine göre primer dizayn edilmiş, ancak bu primerlerle ebeveynler arasında polimorfik band elde edilememiştir. SRAP ileri ve geri primer kombinasyonları ile ebeveynler arasında polimorfizm elde edilen 4 adet spesifik primer kullanılmıştır. Mj genine bağlantılı olarak iki adet markır belirlenmiş ve bu markırların söz konusu gene uzaklıklarının 16.3 ve19.3 cM olduğu bildirilmiştir (Devran ve ark., 2011).

Mutlu ve ark., (2008) SRAP, RGA, SRAP-RGA ve RAPD markırlarını kullanarak patlıcanda *Fusarium wilt*'e (FOM) dayanımı sağlayan gene bağlantılı moleküler markır geliştirmek için yürütmüş oldukları çalışmalarında, polimorfizmi belirlemek için F2 ve GM1 populasyonunu kullanarak 2,316 adet primer kombinasyonu ile tarama yapmışlardır. Söz konusu genle bağlantılı ve genden 2,6 cM uzaklıkta 3 adet markır tespit edilmiştir. Bu markırlardan ko-dominant SRAP markırının (Me8/Em5) ve dominant SRAP-RGA markırının (Em12/GLPL2) gene

sıkı sıkıya bağlı olup genden 1.2 cM uzaklıkta olduğu, RAPD markırının (H12) ise 2.6 cM uzakta olduğu beyan edilmiştir. SRAP markırları, dominant SCAR markırla markırlarına çevrilmiştir. Çalışma ile bu SCAR markırlarının patlıcanda *Fusarium wilt*' e dayanıklılığın takibinde kullanılabileceği rapor edilmiştir.

2.11. Basit Tekrarlı Dizi (Simple Sequence Repeats SSR) Markırları ile İlgili Çalışmalar

Canlı genomunda çok sıklıkla tekrarlanan DNA dizileri bulunmaktadır. Bu diziler belirli sayılarda tekrarlanmaktadır. Dizilerin genomun neresinde bulunduğu ve kaç defa tekrarlandığı türden türe değişiklik göstermektedir. Aynı tür içindeki fertler arasında da bu dizilerin bulunup bulunmamasına dayalı olarak SSR tekniği geliştirilmiştir. Tekrarlanan bölgelere özgü spesifik primerler geliştirilmekte ve bu primerler ile PCR yapılmaktadır. (Rangwen ve ark., 1995; Ridout ve Donini, 1999).

SSR markırları diğer markır sistemleri ile karşılaştırıldığında çok sayıda, polimorfik bandlara sahip, daha fazla bilgi üretebilen, ko-dominant(eş baskın), teknik olarak basit ve göreceli olarak ucuz bir teknik olması bakımından üstün bir markır sistemidir. Bunların yanında gen-zengin genom bölgelerinde sıklıkla yer almasından dolayı allel-özellik ilşkilerininin tanımlanması çalışmalarında QTL' lerin belirlenmesinde oldukça yüksek potansiyele sahiptir. SSR markırları mısır, çeltik ve domates gibi bitki türlerinde genetik yoğunluk çalışmalarında kullanılmaktadır (Reif ve ark., 2006; Vigouroux ve ark., 2005; Warburton ve ark., 2005; Olsen ve ark., 2006; Caicedo ve ark., 2007; Bredemeijer ve ark., 2002). Aynı zamanda sebze türlerinden *Brassica*' da yine SSR markırları genetik akrabalık çalışmalarında kullanılmıştır (Fu ve Gugel, 2010). Diğer taraftan Avusturalya kanola çeşitleri arasında genetik akrabalık çalışmasında 18 SSR primer çifti ile 112 polimorfik gen bölgesi tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2009).

Cunmin ve. ark., (2012) *Brasica napus* genomunu taşıyan 90 adet saf hatta genetik çeşitlilik ve tohum pigmenti ile tohum kabuğu gibi özellikler arasındaki korelasyonu belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada SSR primeriyle 62 adet lokus belirlemişler. SSR kümeleme(clusturing) analizleri özelliklerle SSR primerleri ile

belirlenen lokuslarla bağlantıların olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlarda SSR analizlerinin sözü edilen özelliklerle SSR lokusları arasındaki bağlantının ve genetik çeşitliliğin belirlenmesinde etkili bir yöntem olduğu rapor edilmiştir.

Yine SSR (Simple sequence repeat) analizleri Tayland' ta 25 adet soya fasülyesi (*Glycine max* L.) Merr.) genotipi arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. 11 adet SSR primeri ile bütün genotiplerde polimorfik band elde edilmiştir. Toplam 53 allel belirlenmiştir. Bu 11 SSR primeri 25 genotipten 23' ünü kolayca ayırabilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda SSR markırlarının soya fasülyesi genotipleri arasındaki genetik çeşitlilikle akrabalık derecesinin belirlenmesinde oldukça kullanışlı olduğunu göstermiştir (Tantasawat ve. ark., 2011). Başka bir çalışmada ise 6 adet elit Şili biberi arasından en farklı olanı belirlemek için 58 SSR markırı kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada toplam 83 adet allel belirlenmiştir. Polimorfik bilgi içeriği(PIC) 0.21- 0.84 arasında değişmiştir. Polimorfik bilgi içeriği(PIC) değerlerine göre CAMS-072 primer çifti en fazla bilgi üreten primer olarak belirlenmiş ve bazı bandların biber çeşitlerine özel olabileceği ve bunların çeşitlerin ayrımında kullanılabileceği beyan edilmiştir. Ayrıca bu markırların ayırma gücünün saflık testi ve elit gen havuzunun kayıt altına alınmasına yardımcı olabileceği rapor edilmiştir (Dhaliwal ve ark.2013).

Lu ve ark. (2011) iki adet kırmızı biberin (*Capsicum annuum*) olgun meyvelerinde ilk kapsamlı transkriptom karakterizasyon çalışmasında, 454 Genome Sequencer (GS)-FLX Titanium Systemi ile YCM334 and Taean biber genotiplerini kullanmışlardır. Bu çalışmada YCM334 için 1265 adet polimorfik SSR ve Taean için ise 1436 adet SSR belirlemişlerdir. Elde edilen bilginin biberde önemli özelliklerin karakterizasyonunda ve özellikle patojenlere dayanıklılığın moleküler mekanizmasının tanımlanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Le ve. ark. (2011) *Capsicum annuum* ' F68' ve *C. chinense* ' Habanero' a melezinden elde edilmiş 93 adet F2 poülasyonu ile genetik harita oluşturmuşlardır. Harita oluşturmada toplam 912 moleküler markır [356 rRAMP, 190 WRKY, 305 AFLP, and 61 simple sequence repeats (SSR) kullanmışlardır. Bu çalışmada kullanılan 61 adet SSR markırı bu çalışmada geliştirilmiştir. rRAMP ve WRKY markırları biber genonumundaki boşlukların doldurulması bakımından AFLP ve SSR

markırlarından daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bu markır sistemleri ile elde elden bilgiler biber araştırmalarında harita bilgisi ve QTL' lerin belirlenmesinde temel bilgilerden birisi olabileceği beyan edilmiştir.

Sugita ve. ark. (2013) biberde (*Capsicum annuum*), Markır Yardımlı Seleksiyon (MAS) Islahı ve genetik analizi kolaylaştırmak için *C. annuum* genomik kütüphanesi ve *C. annuum* cDNA diziliminden 2 ve 3 bazlık simple sequence repeat (SSR) markırı geliştirmişlerdir. Geliştirmiş oldukları markırlar 6,528 klondan ve 13,003 diziden 1,736 genomik SSR markırı ve 1,344 cDNA SSR markırıdır. Aynı zamanda araştırıcılar *C. annuum* (K9-11×MZC-180) melezinden elde edilen double haploid populasyonunu kullanarak 265 adeti kendileri tarafından geliştirilen SSR markırları olmak üzere 597 markırla harita oluşturmuşlardır. Haritada 12 bağlantı grubu oluşmuş ve genetik uzaklık 2,028 cM olarak belirlenmiştir.

2.12. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA, Randomly Amplified Polimorphic DNAs) Markırları ile İlgili Çalışmalar

RFLP metodundaki zorlukları aşmak ve PCR tekniğinin getirdiği avantajlardan yararlanmak amacıyla RAPD tekniği geliştirilmiştir (Williams ve ark.1990). Sistemin temeli, dayanıklı ve duyarlı bitkiler rastgele üretilmiş 6-10 baz uzunluğundaki RAPD primerleriyle PCR yapılması ve bireyler arasında farklılığın belirlenmesidir. PCR esnasında primerler tesadüfi olarak genoma bağlanmakta ve bağlanılan bölgeler çoğaltılmaktadır. RAPD analizi temelde basittir ve tekniği kullanmak için dizilim (sekans) bilgisine gerek yoktur. Uygulanması hızlı ve kolaydır.

RAPD markır sistemi avantajları nedeniyle prokaryotik ve ökaryotik türler gibi pek çok farklı yapının genotipinin belirlenmesi, genom yapısının araştırılması, çeşitli taksonomik çalışmalar, evrimsel sorunlar, popülasyon biyolojisi, bireysel, kültür ve ırk belirlenmesinde, ebeveyn belirleme, genetik varyasyonun belirlenmesi, bağlantı haritalarının oluşturulması, özgün bir gen lokusunun belirlenmesi, adli tıp, klinikal teşhis, prenatal tanı, salgınlar ve ekoloji alanlarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır(Öz Aydın, 2004).

Biberde (*Capsicum*), RAPD markır sistemleri ile çok sayıda çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmalar genellikle agronomik özellikleri belirleyen genlerin tanımlanması, bağlantı haritalarının oluşturulması, genetik çeşitlilik ve filogenetik şeklindedir(Prince ve ark. 1995, Vazquez ve ark. 1996, Livingstone ve ark. 1999, Rodriguez ve ark. 1999, Engle ve ark. 2001, Ilbi 2003).

Rêgo ve ark. (2010) 29 adet acı biber genotipi arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 10 adet RAPD primeri ile analiz etmişlerdir. Sekiz primer (UBC-135, UBC-146, UBC-155, UBC-168, UBC-228, UBC-247, UBC-253, ve UBC-296) ile polimorfik bantlar elde edilmiştir. Biber genotipleri 10 adet farklı gruba ayrılmışlar ve genotipler arasındaki minumum mesafe 0.09 olarak belirlenmiştir. Söz konusu çalışmadan elde edilen sonuçlar RAPD markır sisteminin acı biber genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmede etkili bir sistem olduğunu göstermiştir.

Islah proğramlarında kullanılacak genotiplerin tanımlanması ve değerlendirilmesi oldukça önemlidir. 70 adet *Capsicum* genotipi arasında genetik çeşitliliğin belirlenmeye çalışıldığı çalışmada RAPD markırları ile duplikasyonlar ve genotiplerin asıl özellikleri teyit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar tür içi ve türler arasında genetik çeşitliliğin olduğunu ve bu çeşitliliğin botanik ve morfolojik sınıflamalarla paralel olduğunu göstermiştir. 53 adet genotipin(16 adet *C. annuum*, 7 adet *C. frutescens*, 14 adet *C. baccatum* ve 16 adet *C. chinense*) adına doğruluğu teyit edilmiştir. (Costa ve ark. 2005).

2.13. Biberde Yürütülen Moleküler Çalışmalar

İlgilenilen geni bulabilmek amacıyla harita temelli klonlama, markır yardımlı seleksiyon (MAS), markır yardımlı ıslah (MAB) için yüksek polimorfizm veren markırlarla elde edilmiş iyi bir genetik haritaya ihtiyaç bulunmaktadır. Haritanın oluşturulması için, tek kopya PCR-temelli markırlar ve harita birleştirme işlemi gerekmektedir. Biberde yapılan bir çalışmada, 132 adet tek kopya tipi PCR-temelli markır (BAC-son dizilimlerinden 57 adet STS, RFLP' den 13 adet STS ve 62 adet SSR) geliştirilmiştir. Bu markırlar daha önce geliştirilmiş olan 1830 adet markırla

birlikte kullanılmış ve JOINMAP 3.0 programı ile birleştirilerek harita oluşturulmuştur. Bu harita; 12 kromozomda 169 adet SSR, 354 adet RFLP, 23 adet STS BAC-son dizilimlerinden, RFLP' den 13 adet STS, 152 adet AFLP, 51 adet WRKY, ve 99 adet rRAMP markırdan oluşturulmuştur. Bu birleştirilmiş harita 2 adet türlerarası ve 2 adet tür içi biber populasyonundan olmak üzere 4 adet genetik haritayı kapsamaktadır. Aynı zamanda bu harita türlerarası populasyonda 1858 cM harita uzunluğuna sahip 805 adet markırı ve tür içi populasyonda 1892 cM harita uzunluğuna sahip 745 adet markırı içermektedir (Lee ve ark., 2008).

Biberde bakteriyel bir patojen olan *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*' ya dayanıklılığı sağlayan *Bs2* geninin ilk adım olarak yakın-izogenik hatlar analizi ile sıkıca bağlı RAPD ve AFLP' den izole edilmesi amaçlanmış ve bu amaca yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmalarla markırla bağlantılı lokus tanımlanmış ve bölgenin yüksek çözünürlüklü bağlantı haritası geliştirilmiştir. Bu lokusla birlikte açılım gösteren bir AFLP markırı (A2) bulunmuştur. Diğer iki markır (F1 ve B3) ise 0,6 cM içinde bu lokusa komşu olarak yer almışlardır. A2 ve F1 markırlarının fiziksel haritası, bu markırların birbirinin 150 kb içinde olabileceğine işaret etmektedir. Elde edilen sonuçlar *Bs2* bölgesinin kromozom yürüyüşü ile klonlanabileceğine işaret etmiştir (Tai ve ark., 1999).

Biberde (*Capsicum annuum*) *Bs3* geni *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*' ya dayanım sağlamaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, AFLP markırları ve dayanıklı-hassas bitkilerden elde edilen DNA' lar bulk yapılarak kullanılmış (BSA) ve *Bs3* geniyle ilişkili markır belirlenmiştir. Bu markırın hedef genden 2.1 cM uzaklıkta olduğu tespit edilmiştir. *Bs3* geniyle ilişkili AFLP markırı klonlanmış ve izole edildikten sonra PCR ile istenen markırla doğrulanmıştır. Bu gene yekın AFLP markırı lokus-spesifik PCR temelli markıra çevrilmiştir. Bu markır *Bs3* geniyle açılım gösteren 790 adet bitkide test edilmiştir. Bu testten elde edilen sonuçlar söz konusu markırın hedef genden 0.13 cM uzaklıkta olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu genle ilişkili markır domatesin 2. kromozomunda da benzer aralıkta yer almıştır (Pierre ve ark., 2000).

Stoplazmik erkek kısırlığının (CMS) acı biber (*Capsicum annuum*) hibrit tohum üretiminde kullanımı hızla artmaktadır. İki adet CMS spesifik SCAR

(sequenced characterized amplified regions, atp6607 ve coxII708) geliştirilerek CMS temelli biber hibrit ıslahı programlarında kullanılmaktadır. Kumar ve ark., (2009) tarafından yürütülen bir çalışmada, 8 adet idame ve restorer hat 4 adet CMS hattı ile melezlenmiştir. 32 adet F1' in fertility/idame reaksiyonuna dayanan ve her iki S-stoplazmasında iki SCAR markırının varlığına dayanan sonuçlara göre, izole edilmiş stoplazma ile ticari olarak kullanılan stoplazma birbirinden bağımsız olarak kullanılıyor olmasına rağmen, genetik olarak birbirinin aynısı yada benzeri olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Kök-ur nematodları (*Meloidogyne spp.*) dünya biber üretimini sınırlayan önemli bir zararlı olarak bilinmektedir. Nematoda dayanıklılığı sağlayan N geni ile ilişkili markır geliştirmek amacıyla yürütülen bir çalışmada, kök-ur nematoduna dayanıklılığına sahip (N geni ile) tatlı biber hattının kök-ur nematoduna hassas (' 20080-5-29) biber hattı ile melezlenmesinden elde edilen 320 adet F2 bitkisi materyal olarak kullanılmıştır. Hassas ve dayanıklı ebebeynler ile F1 ve F2 populasyonları kök-ur nematodu (*Meloidogyne incognita*) ile inoküle edilmiş ve aynı zamanda 512 adet AFLP primeri ile Bulk Segregant Analizi(BSA) metodu kullanımıyla analizlenmişlerdir. F2 populasyonunun dayanıklılık-duyarlılık bakımından ve AFLP markır polimorfizimi bakımından değerlendirilmesine dayanan bulgulara göre, N geni ve ALFP markırı arasındaki mesafe tahmin edilmiştir. Bir adet AFLP markırı (E39/M41-339) elde edilmiş ve söz konusu markır SCAR markırına çevrilmiştir. Bu elde edilen SCAR markırı ile 315 bç' inde N dayanıklılık alleline ait bant elde edilirken, 331 bç' inde hassas band elde edilmiştir. Bu markır ile N geni arasındaki uzaklık 6.3 cM olarak hesaplanmıştır (Wang ve ark., 2009).

Phytophthora capsici biberinde dahil olduğu bir çok bitki türünde çok büyük kayıplara neden olmaktadır. Biberin bu hastalığa dayanımı genetik ve fizyolojik olarak oldukça komplekstir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, *C. annuum* ve *C. chinense* türlerine ait dayanıklı, hassas, orta düzeyde dayanıklı ya da tölerant genotipler, söz konusu patojene tepkisi bakımından RAPD markırı ile test edilmişlerdir. Bir adet RAPD markırı (OpD04), yüksek seviyede dayanım gösteren *C. annuum* ve *C. chinense* türlerine ait dayanıklı genotiplerde tek band göstermiştir. Söz konusu markırla elde edilen banda ait PCR ürünü klonlanmış ve SCAR

markırına çevirilmiştir. Bu markır biberin 5. kromozomunda *Phyto.5.2* lokusu ile ilişkili altı adet QTL' den birisi olarak belirlenmiştir (Quirin ve ark., 2009).

Biber bitkilerinde *Tobamovirus* patojenine dayanımı sağlayan L4 lokusuyla ilişkili markır geliştirmek için 512 adet AFLP primer kombinasyonu, *Pepper mild mottle* virüsünün *1.2* patotipine karşı hassas ve dayanıklı olan bitkilere ait DNA karışımı ile test edilmiştir. Her karışım (bulk), L4 lokusu için geliştirilen GM4F2' den oluşan T10 populasyonundan 5 adet homozigot bireyin DNA'sından oluşturulmuştur. Dayanıklı bireylerde toplam 19 adet primer çifti skorlanabilir band üretmiştir. Bir sonraki tarama için T10 populasyonunun geriye melezlenmesi ile oluşturulan GM10F2 populasyonundan karışım (bulk) oluşturulmuş ve daha önce kullanılan primerlerle tarama yapılmıştır. Buradan üç adet ALFP markırı seçilerek L4-a, L4-b ve L4-c. L4-a ve L4-c olarak dizayn edilmiştir. Bunlar içerisinde L4-b' de bulk' u oluşturan 20 adet bireyde hiç rekombinasyon görülmezken, diğerlerinde bir rekombinasyona rastlanmıştır. 112 adet F2 T102 bireyinde bu markırların bağlantı analizleri, bu markırların L4 lokusuna 2.5 cM uzaklıkta olduğunu göstermiştir. L4-b, 340 bç' inde basit bir SCAR markırına (L4SC340) çevrilmiştir. Bu markır L4 lokusundan T102 populasyonunda 1,8 cM, GM10F2 populasyonunda ise 0,9 cM uzaklıkta olmuştur (Kim ve ark., 2008).

Yeam ve ark., (2005) biber ıslahında kullanılmak üzere 3 adet resesif (çekinik) viral dayanıklılık alleli (*pvr1*, *pvr11*, ve *pvr12*) için CAPS markırı belirlemişlerdir. Bu markırlar 3. kromozomda *pvr1* lokusunu kodlayan SNP (tek nükleotid polimorfizmi) temellidirler. Aynı zamanda bu üç markır, *Capsicum*' da genomik dizilime dayalı olarak *potyvirüs* dayanımı için dolaylı seleksiyon sistemini tanımlamaktadır. Bu markırların iki *Capsicum* türünü temsil eden gen havuzundaki bireylerde ticari olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Yeam ve ark., 2005).

Minamiyama ve ark., (2005) biberde çekinik tek bir gen tarafından kontrol edilen acılıkla ilişkili markır geliştirmişlerdir. Çalışmalarında acı ve acı olmayan biber genotiplerinin melezlenmesi ile elde edilmiş 2 adet açılım gösteren F2 populasyonunu (TM2 ve TF2) kullanmışlardır. RAPD markırlarının BSA ile kombinasyonundan iki adet markır (OPD20-800 ve OPY09- 800) elde edilmiştir. Bu markırlardan OPY09-800, söz konusu lokusa daha yakın olup bir eş-baskın (co-

dominant) CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) markırına başarıyla çevrilmiştir. Bu CAPS markırı, C lokusuyla ilişkili olup lokustan TF2 popülasyonunda 3.6 cM uzaklıkta yer almıştır. Çalışma ile bu markırın klasik ıslah programlarında C geninin seleksiyonu için yardımcı olabileceği beyan edilmiştir.

Biberde *Pvr4* dayanıklılık geni, patates Y virüsünün üç patotipine ve *biber benek virüsü* (PepMoV)' e tam dayanım sağlamaktadır. Bu genin MAS (markır yardımlı seleksiyon)' da kullanımı ve aynı çeşitlerde birçok potyvirüse dayanıklılık genlerinin bir araya getirilmesi (pyramiding) için genle bağlantılı AFLP markırları elde edilmiştir. Sekiz adet bağlantılı AFLP markırı söz konusu lokusun 2.1 ± 0.8 ve 13.8 ± 2.9 cM uzaklığında haritalanmıştır. En yakın AFLP markırı eş baskın (co-dominant) CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) markırına çevrilmiştir (Caranta ve ark., 1999).

Dianese ve ark., (2010) markır yardımlı seleksiyon için *Tospovirus*' e dayanıklılığı sağlayan *Tsw* genine bağlı lokus spesifik ko-dominant SCAR markırı geliştirmişlerdir. Bu çalışmada, *Tsw* bölgesinde yer alan genomik bölgede 5 adet primer ile tarama yapılmış ve bir adet primer dayanıklı ve hassas hatlar arasında tek ve ko-dominant polimorfizm üretmiştir. Bu elde eden ürünlerin dizi analizleri, bu polimorfizmin Sw-5 lokusuna spesifik olduğunu göstermiştir. Çalışma sonuçları bu primerin markır yardımlı seleksiyonda rahatlıkla kullanılabileceğini göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırma, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu (ABKAİ) Müdürlüğü, Erdemli, Mersin' de ait cam serada yürütülmüştür. Çalışmada ebeveyn olarak, ABKAİ tarafından yürütülen Biber Islah Programlarında kullanılan Alata 21A numaralı sivri tipe sahip saf biber hattı ile AVRDC (Dünya Sebze Merkezi)' den temin edilen PI 281420 numaralı *C. frutenscens* genotipi kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ebeveynler ve bu ebeveynlerin melezlenmesi ile elde edilen F1 bitkilerine ait meyvelerden bir görünüm

Çinko noksanlığı simptomunun kalıtımının hesaplanması için:

1. Alata 21A hattı
2. PI 181420 genotipi

C. annuum Alata 21A x *C. frutenscens* PI 281420 melezlemesi ile elde edilen;

3. F1 bitkileri (21AxPI 281420)- (PI 281420x21A)
4. F2 popülasyonu (Alata 21AxPI 281420 kendilenmesi ile 206+455 adet bitki)

5. GM1P1 (*C. annuum*' a geriye melez popülasyonu-[Alata 21A x(Alata 21A x PI 281420)) 154 adet bitki)

6. GM1P2 (*C. frutescens*' e geriye melez popülasyonu-[(PI 281420 x (Alata 21AxPI 281420))] 174 adet bitki)

Genetik haritalama için:

1-Alata 21A hattı

2. PI 181420 genotipi

C. annum Alata 21A x *C.frutenscens* PI 281420 melezlemesi ile elde edilen;

3. F1 bitkileri (Alata21AxPI 281420)-(PI 281420xAlata21A)

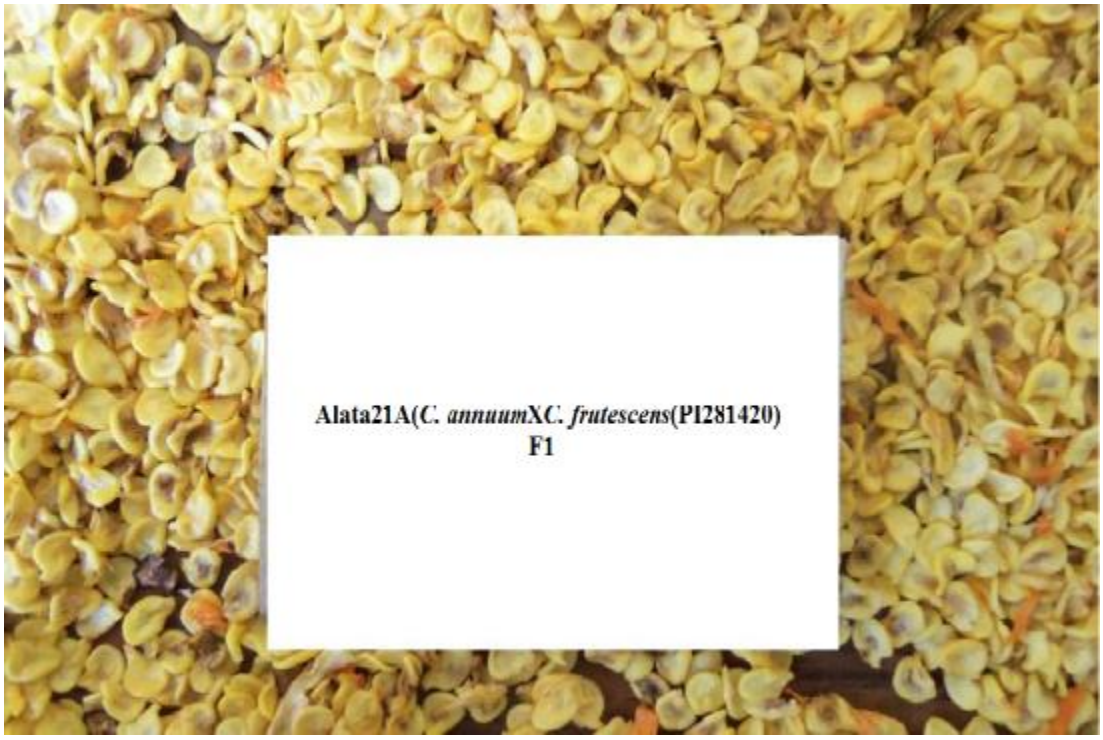
4. F2 popülasyonu-(21AxPI 281420 kendilenmesi ile 138 adet bitki)

5. F3 Populasyonu (Her F2 bitkisinin kendilenmesi ile elde edilen 12 adet bitki) materyal olarak kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Populasyonların Geliştirilmesi

Alata 21A x PI 281420 melezinden tohum elde edilmesine rağmen, embriyo aborsiyonundan dolayı F1 bitkisi elde edilememiştir (Şekil 3.2). Bu yüzden embriyo kurtarma yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 3.2. *C. annuum* Alata 21A x *C.frutenscens* PI 281420 melezlenmesinden elde edilen tohumlara ait bir görünüm

3.2.2. Embriyo Kurtarma

Melezlemeden 21 sonra 3 gün aralıklarla olgunlaşmamış meyveleler hasat edilerek doku kültürü laboratuvarına getirilmişlerdir. Laboratuvara getirilen biber meyveleri steril kabin içerisinde önce %90' ık etil alkol ve sonrasında % 15' lik NaClO ile 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutulmuşlardır. Ardından 3 defa steril saf su ile durulandıktan sonra meyveler kesilerek içerisindeki tohumlar çıkarılmıştır. Tohumlar steril pens ve bistüri yardımı ile açılarak bileşimi Çizelge 3.1' de verilen besin ortamına (kasein hydrolysate (CH), maya ekstraktı (YE) ve hindistan cevizi suyu (CW) hariç) yerleştirilmişlerdir (Hossain ve ark., 2003). Embriyoların bitkiye dönüşümleri düzenli olarak takip edilmiştir (Şekil 3.3). Elde edilen bitkiler 2:1 oranında torf-perlit karışımı içeren viyollere aktarılmış ve 24°C sıcaklık ve ışık ortamında büyümeye bırakılmışlardır. Yeterli büyüklüğe gelen bitkiler araziye aktarılmıştır. Elde edilen veriler, COSTAT istatistik paket programı kullanılarak Duncan testine göre analiz edilmiştir.

Çizelge 3.1. Embriyo kurtarma çalışmasında kullanılan besin ortamının içeriği

	Bileşenler	**1 litre**
1	MS (Murashige and Skoog, 1962) Sigma M5519	4.3 g
2	Agar	8 g
3	Sakkaroz	30 g
4	Aktif Kömür	2.5 g
5	Gümüş Nitrat ($AgNO_3$)	15 mg
6	Giberillik Asit (GA_3)	0.05 mg
7	Naftalin Asetik Asit (NAA)	0.05 mg
8	Myoinositol	0.1 g

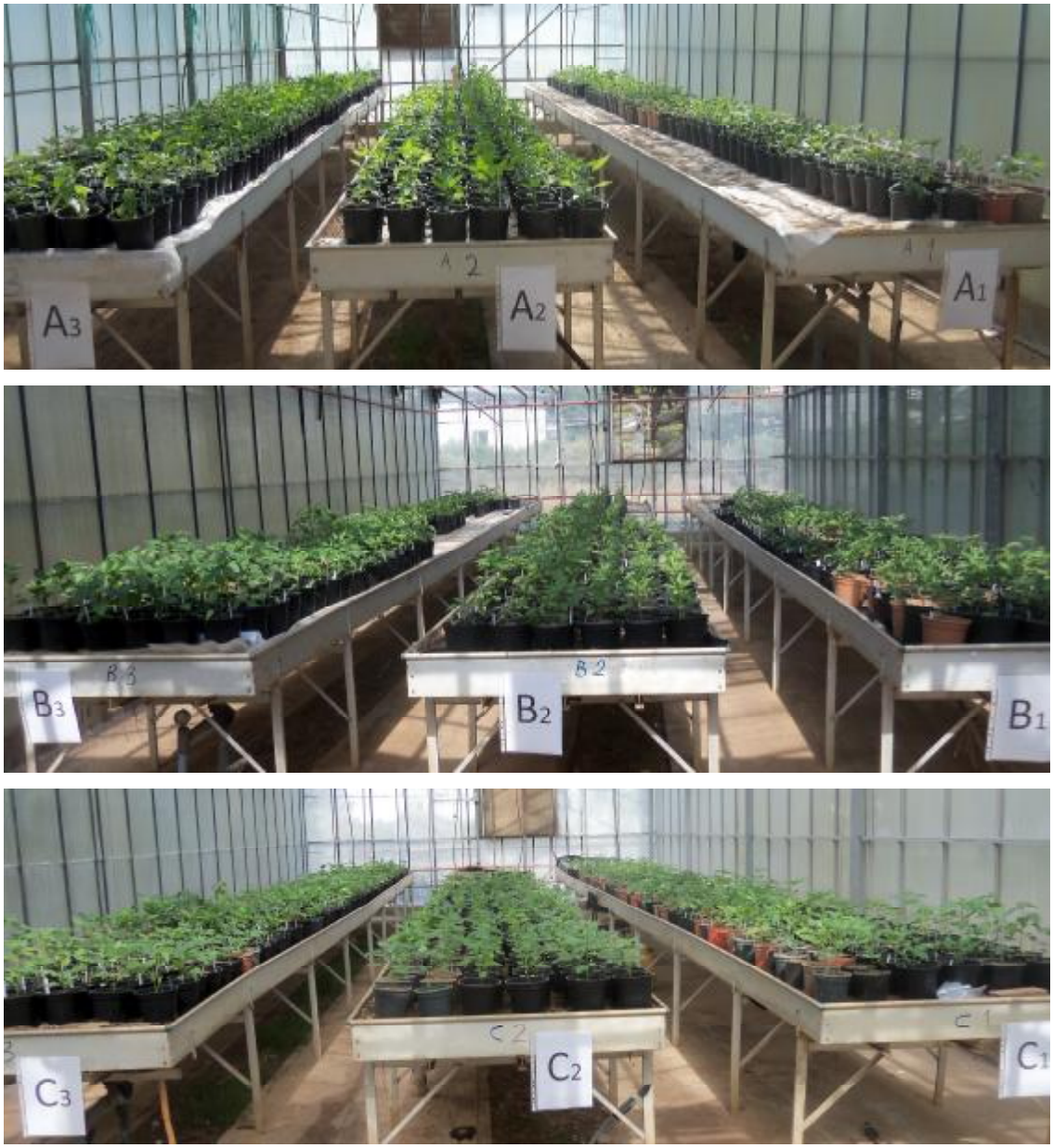


Şekil 3.3. Embriyo kurtarma yöntemi ile elde edilen biber bitkileri

3.2.3. Bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan biber bitkileri Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu cam seralarında Eken (2007) tarafından belirtildiği gibi yetiştirilmiştir. Bitkilerin yetiştirilmesinde ortam olarak, Eskişehir-Sultanönü bölgesindeki alüvyal ana materyal üzerinde oluşan ve çinko bakımından oldukça fakir olan toprak tipi

kullanılmıştır (Eken, 2007). Denemede kullanılan bu toprağın bitkilerce alınabilir Zn konsantrasyonu (DTPA ile ekstrakte edilebilir Zn) 0.14 mg kg^{-1}, pH' ı 7.6, bünyesi killi tın, kireç içeriği % 20 ve organik madde içeriği ise % 0.96 olarak belirlenmiştir. Fideler 2 hacim torf ve 1 hacim perlit içeren viyoller içerisinde yetiştirilmiş, 2-3 gerçek yapraklı aşamada Eskişehir' den temin edilen ve çinko bakımından fakir olan toprakla doldurulmuş olan saksılara (her bir saksı 2000 g toprak içermiştir) aktarılmışlardır. Deneme çinko uygulaması yapılmış (+Zn) ve çinko uygulaması yapılmamış (-Zn) olarak planlanmış ve çinko uygulaması yapılanlarda Zn, 7,5 mg kg^{-1} olacak şekilde $ZnSO_4.7H_2O$ formunda uygulanmıştır. Deneme saksılarına temel gübreleme amacıyla $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ formunda 200 mg kg^{-1}N, KH_2PO_4 formunda 100 mg kg^{-1} P (125 mg kg^{-1} K) ve FeEDTA formunda 2.5 mg kg^{-1} Fe dikim öncesinde çözelti şeklinde uygulanmıştır. Deneme, ebeveynler ve F1 bitkileri için tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her saksıya bir fide dikilmiştir. Genetik olarak üniform olan ebeveynler ve F1 bitkileri her tekerrüre eşit miktarda tesadüfi olarak dağıtılarak tekerrürler arası varyasyonlar tespit edilmiştir. Deneme topraklarına tarla kapasitesindeki suyun %70' ine denk gelecek şekilde günlük gereksinim duyulan su miktarı verilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Deneme alanından genel bir görünüm

Kalıtım değerlerinin hesaplanması amacıyla melez popülasyonunun elde edildiği ebeveynlerden ve bunların melezlenmesinden elde edilen F1 bitkilerinden 40' ar adet dikilmiş, bunlardan 30' ar adedi çinko eksikliği olan toprakta, diğer 10 adeti de kontrol amaçlı çinko-destekli toprakta büyütülmüştür. F2, GM1P1 (*C. annuum*' a geriye melez popülasyonu-[(Alata21A x Alata21A x PI281420)) 154 adet bitki), GM1P2 (*C. frutescens*' e geriye melez popülasyonu [(PI281420 x (Alata21A x PI281420)] popülasyonlarına ait bitkiler, çinko noksanlığı olan toprakta (yukarda

belirtildiği gibi) yetiştirilmiştir. Bitkilerin çiçeklenme başlangıcında (çiçeklenme öncesi 3' er gün arayla ve toplamda 6 defa olmak üzere skorlama ve ölçümler yapılmıştır) deneme sonlandırılmadan önce 1-5 skalasına göre (aşağıda belirtildiği gibi) çinko noksanlık simptomları kaydedilmiştir (Şekil 3.5). Ölçümlerden sonra toprak seviyesinden 1 cm yukarıdan olacak şekilde hasat edilmişlerdir. Skorlamayla birlikte her 3 günde bir bitki boyları ölçülmüştür. Toprak altında kalan kök kısmı da topraktan ayrılmış ve çeşme suyu ile yıkanmıştır. Ardından saf su ile yıkandıktan sonra 48 saat süresince 65°C' de kurutulmuştur. Kurutulan bitkilerin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıkları (g/bitki) belirlenerek, kuru madde verimleri tespit edilmiştir. Ayrıca bitki boyları da (cm/bitki) ölçülmüştür. Ardından çinko noksanlığı simptomuna bağlı kalıtım hesaplanmıştır.

Çiçeklenme başlangıcına kadar bitkiler gözlemlenmiş ve Zn noksanlık simptomları aşağıda belirtilen 1-5 skalasına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.5).

1: Çok az veya simptomsuz (çinko etkinliği yüksek ebeyvene benzer)
2: Hafif şiddetli
3: Orta şiddetli
4: Şiddetli
5: Çok şiddetli (çinko etkinliği düşük ebeveyne benzer)



Şekil 3.5. Zn noksanlığı skorlamasında kullanılan skala görünümü

3.2.4. Çinko Noksanlığı Simptomunun Kalıtımının Hesaplanması

Çinko noksanlığı simptomunun kalıtımının hesaplanması 2 farklı F2 popülasyonu kullanılmıştır. Birinci hesaplamada 206 adet F2 bitkisi, 174 adet GMP1,

ve 154 adet GM1P2 bitkisi kullanılmıştır. İkinci hesaplamada ise haritalamada kullanmak üzere tekrar 455 adet F2 bitkisi yetiştirilmiş ve Zn noksanlığını simptomunun kalıtımı hesaplanmıştır.

Çinko noksanlığı simptomunun kalıtımı iki farklı formüle göre hesaplanmıştır:

1. Wright (1968)' a göre;

$k= (P_1-P_2)^2 / 8(s^2_{F2}-V_E)$

Bu formülde P_1 ve P_2 iki ebeveynin ortalama skor değerlerini, s^2_{F2} F_2 popülasyonuna ait varyasyonu, V_E çevresel varyansı (V_E genetik olarak üniform olan P_1, P_2, ve F_1 bitkilerinin varyansının ortalaması alınarak bulunmuştur) ifade etmektedir.

2. Wright (1952) ve Falconer (1989)' a göre;

$n=(m_1-m_2)^2/8(V_{F2}-V_{F1})$

m_1= *C. frutenscens* PI 281420 simptom ortalaması,

m_2= *C. annuum* Alata 21 simptom ortalaması,

V_{F2}= F2' lerin varyansları,

V_{F1}= F1' lerin varyansları,

Geniş (h^2_b), ve dar (h^2_n) anlamda kalıtım dereceleri Allard (1960) tarafından belirtildiği gibi hesaplanmıştır.

V_P (fenotipik varyans) = V_{F2} (F_2 popülasyonundaki toplam varyans)

V_E (çevresel varyans)=$(P_1+P_2+F_1)/3$

V_G (genetik varyans)= V_{F2}- V_E

(V_{GM1P1} ve V_{GM1P2}: *C. frutescens*' e geriye melez popülasyonu ve *C. annuum*' a geriye melez popülasyonu ait toplam varyanslar)

V_A (eklemeli gen varyansı)= 2 (V_{F2})-V_{GM1P1}-V_{GM1P2}

V_D (dominans gen varyansı)= V_{GM1P1}+V_{GM1P2}- V_{F2}- V_E

$h^2_b= (V_A+V_D) / V_{F2}$

$h^2_n=V_A / V_{F2}$

3.3. Melez Popülasyonların Oluşturulması ve Genetik Haritalama

Haritalama amacıyla 10' ar adet ebeveyn ve F1 bitkilerine ilaveten 455 adet F2 bitkisi yetiştirilmiştir. Kullanılan ebeveynler, F1, F2 ve bunların F3 bitkileri için çinko etkinliği belirlenmiştir. F2 bitkilerinin yetiştirilmesinde farklı uygulamalar yapılmıştır. Haritalama amacıyla kullanılan F2 bitkileri ilk önce çinko noksanlığı olan ortamda yukarıda belirtildiği gibi yetiştirilmiştir. Çiçeklenme başlangıcında bitkiler 1-5 skalasına göre yine yukarıda belirtildiği gibi değerlendirilmiştir. Bitkiler bu aşamada hasat edilmeyip normal gübreleme rejimine geçilmiş ve bu bitkilerden kendilenmiş F3 tohumları hasat edilmiştir. Ayrıca, F2 bitkilerinden normal gübreleme rejiminde sağlıklı büyüme gösterdikleri dönemde DNA ekstraksiyonları için yaprak örnekleri alınmıştır. Her bitkiden alınan iki örnekten birisi DNA izolasyonu için kullanılmış ve diğer örnek -80°C' de saklanmıştır.

Test edilen 455 adet F_2 bitkisi içerisinden haritalamada kullanılmak üzere 138 adet genotip seçici genotipleme (selective genotyping) ile seçilmiştir. İlk once 455 adet F2 bitkisi içerisinden çinko noksanlığına en şiddetli tepkiyi veren (en hassas) 80 adet bitki ile çinko eksikliğinden en az etkilenen (en yüksek çinko randımanı gösteren) 100 adet bitki seçilmiştir. Bu bitkilerin kendilenmiş F3 tohumları ve ebevenler detaylı çinko analizi ve kuru madde ölçümleri için yetiştirilmiştir. Her seçilen F2 bitkisini temsil eden 12 adet F3 bitkisi ve ebeveynler yukarıda belirtildiği gibi çinko-noksan toprakta yetiştirilmişlerdir. Buna ilaveten yine seçilen F2 bitkisini temsil eden 12 adet F3 bitkisi ve ebeveynleri normal gübreleme rejimi koşullarında da yetiştirilmiştir. Böylece çinko noksanlığı dışında fizyolojik veya genetik bir sebepten büyüme ve gelişme sorunu gösteren F3 hatları tespit edilmiş ve haritalama popülasyonundan çıkarılmıştır. Bunların içinden herhangi bir fizyolojik bozukluk göstermeyen 69 adet çinko eksikliğine en hassas ve 69 adet çinko eksikliğine en dayanıklı F2 bitkisi (F2 DNA' sı ve F3 ortalamaları) genetik haritalama çalışmaları için kullanılmıştır.

Her uygulama için F2 bitkisini temsil eden 12 adet F3 bitkisinden yaprak, gövde ve kök örnekleri alınmıştır. F3 bitkilerinden elde edilen değerlerin ortalaması F2 bitkilerinin fenotipik ortalaması olarak haritalama amacıyla kullanılmıştır.

Örneğin 1 numaralı F2 bitkisinin kendilenmiş 12 adet F3 bitkisinden alınan kök örnekleri ayrı ayrı hasat edilerek tartılmış ve yukarıda belirtildiği şekilde kurutulup çinko analizine hazır hale getirilmiştir. Bu 12 adet F3 bitkisinin analize hazır örnekleri eşit miktarda karıştırılarak bir örnek haline getirilmiş ve ICP ile çinko değeri ölçülmüştür. Elde edilen bu değer, F3 bitkilerinin elde edildiği F2 bitkisinin fenotipik ortalaması olarak genetik haritalama için kullanılmıştır. Bu ölçümler yaprak ve gövde örnekleri içinde aynı şekilde yapılmıştır.

12 adet F3 bitkisinden elde edilen ortalama skala değerleri, çinko etkinliği (efficiency), kuru madde miktarları, kök, gövde ve yaprak çinko içerik değerleri genetik haritalamada kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, karakteri kontrol eden genlerin haritalanmasında bitkinin çinko eksikliğindeki genel büyüme azalmasını kontrol eden genlerin QTL' leri barındıran kromozom bölgelerini ortaya çıkarabilmesi amacıyla değerlendirilmiştir.

Haritalama amacıyla F2 bitkilerini temsilen kendilenmiş F3 bitkilerinin ortalama 1-5 skala değerleri, çinko etkinliği, kuru ağırlıkları, kök, gövde ve yaprakların çinko içerik değerleri (ICP çinko içeriği ölçümleri her bitki grubu için üç defa tekrarlanmış ve bu üç değerin ortalaması değerlendirilmiştir) fenotipik veriler olarak kullanılmıştır.

Çalışmada ilk önce aşağıda listesi verilen *C. frutescens* x *C. annuum* entegre haritasını oluşturan ko-dominant markır listesinden her kromozomu (bağlantı grubu) temsil edecek şekilde ebeveynler arasında polimorfik olan beş adet SSR markırı seçilmiştir. Seçici genotipleme yöntemiyle belirlenen 138 adet F2 bireyinde önce bu markırlar (12 kromozoma denk gelecek şekilde) test edilmiş ve polimorfik olan 24 adet markırla ve haritada oluşan boşlukların doldurarak daha doygun hale getirmek için SRAP ve RAPD markırları ile haritalanmıştır.

3.3.1. Çinko Etkinliğinin Belirlenmesi

Saksı denemelerindeki F3 hatlarının Zn etkinliğini belirlemede ' ' Zn-efficiency' ' indeksi kullanılmıştır (Graham, 1984). F3 hattının Zn etkinliği saptanırken aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır.

Zn etkinliği (efficiency) = Zn noksanlığı altında yetiştirilen 12 adet F3 bitkisinin kuru madde ağırlığı (-Zn)/Çinko destekli ortamda yetiştirilen 12 adet F3 bitkisinin kuru madde ağırlığı (+Zn)

Ayrıca;

a) Yaprak kuru madde ağırlığı,
b) F2 Zn noksanlığı skor ortalaması,
c) F3 Zn noksanlığı skor ortalaması,
d) Bitki boyu,
e) Toplam kuru madde miktarındaki Zn konsantrasyonu,
f) Yaprak Zn konsantrasyonu,
g) Toplam kuru madde miktarındaki Zn içeriği,
h) Yaprak Zn içeriği,
i) Kök/Sürgün oranı açısından Zn etkinliği hesaplanmıştır.

3.3.2. Çinko Konsantrasyonunun ve İçeriğinin Belirlenmesi

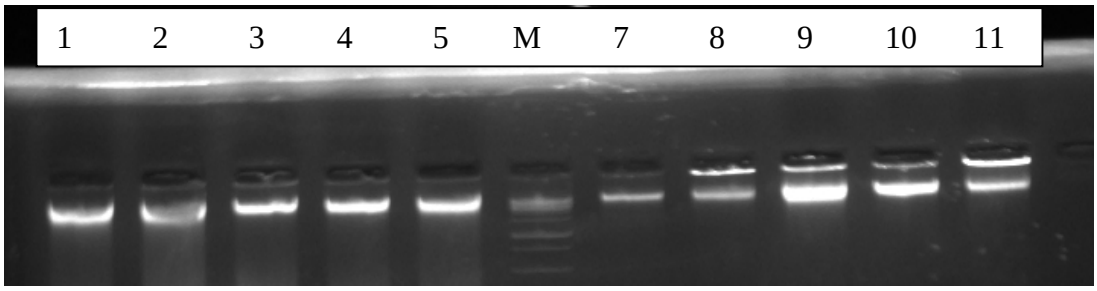
Kurutulan yaprak, kök ve gövde örnekleri daha sonra ayrı ayrı agat değirmende öğütülmüştür. Öğütülen bitki örnekleri kül fırınında yakıldıktan sonra çinko analizine hazır hale getirilmiştir. Elde edilen örneklerde Zn ölçümleri Varian marka " Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP)" cihazile yapılmıştır. Zn 213.857 dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen konsantrasyon bitki başına elde edilen kuru madde miktarı (g/bitki) ile çarpılarak bitki başına çinko içeriği hesaplanmıştır.

Bu işlemi takiben skala değerleri, kuru madde miktarları ve yaprak çinko içerikleri kalıtımın hesaplanmasında kullanılmıştır.

3.3.3. DNA İzolasyonu

Haritalama amacıyla toplam 138 adet F2 popülasyonuna ait bitkiler ile bu populasyona oluşturan 2 adet ebebeyne ait bitkilerin gelişmesini tamamlamış en geç

yapraklarından DNA izolasyonu CTAB metoduna göre yapılmıştır (Doyle ve Doyle, 1989). Elde edilen DNA' ların konsantrasyonları % 1' lik agaroz jel elektroforezinde belirlenmiş ve 5 mM olacak şekilde seyreltilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Alata 21A ve PI 281420 genotiplerine ait genomik DNA örnekleri (1-5 arası Alata 21A, M: DNA ladder, (7-11 arası) PI281420).

3.3.4. SSR Markır Analizleri

3.3.4.1. SSR PCR Çalışmaları

Solgenomics.net' te sekansları ve harita bilgileri verilen Wu ve ark., (2009) tarafından bildirilen ve *C. annuum* x *C. frutescens* türler arası melez popülasyonunda entegre biber haritasını oluşturan markırlar, kromozom (bağlantı grupları), markır türü, kromozom üzerindeki yerlerine dair bilgilerle verilmiştir (Çizelge 3.4). Burada bilgileri yer alan 60 adet primer çifti ebebeylerde test edilmiş ve bunlardan polimorfizm elde edilen 24 adet markırla F2 populasyonunda bulunan " çinko etkinliği en yüksek altmış dokuz birey" ve " çinko etkinliği en düşük altmış dokuz bireyden" oluşan 138 adet F2 populasyonda tarama yapılmıştır. SSR-PCR reaksiyonu Çizelge 3.2' de belirtilen oranlara göre hazırlanmış ve PCR döngüsü ise Çizelge 3.3' de sunulan şekilde uygulanmıştır.

Çizelge 3.2. SSR analizleri için PCR bileşenleri

Bileşenler	Miktar
DNA	2 µl
10xPCR Buffer	1,5 µl
Taq DNA polymerase (5u/µL)	0,2 µl
dNTP (2.5 mM)	1 µl
MgCl2 (25 mM)	1.5 µl
10mM SSR primer (Fw)	2 µl
10mM SSR primer (Rw)	2 µl
H20	4.8 µl
Toplam	15 µl

Çizelge 3.3. SSR analizlerinde kullanılan PCR Döngüsü

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
95^{o}C	30 sn	
95^{o}C	15 sn	35 döngü
55-57^{o}C	30 sn	35 döngü
72^{o}C	30 sn	35 döngü
72^{o}C	3 dk	
4^{o}C	∞	

Çizelge 3.4. Biber genetik haritasını temsil eden ve kromozom bölgeleri bilinen Alata 21A ve PI 281420 arasında polimorfik bulunan SSR markırları

No	**Primer***	**Krm**	**Baz**		**Dizilim (5' -3')**
1	CP10081	2	263	M13**+F	AGGGCTAAGCCGTCTAAA
				R	CTCTTCATGTCCACCCTG
2	HpmshpMADS	8	210	M13+F	TGCTTTCAAAACAATTTGCATGG
				R	VGCGTCTAATGCAAAACACACATTAC
3	GP20117*	11	214	M13+F	TGACAGCTACCGAAAATGA
				R	CCTCTAATGCTGACGTGAA
4	Hpms1155*	8	207	M13+F	ACGAGGCCCAAGCTGTTATGTC
				R	TTGTCCCGACTCTCCATTGACC
5	CP10023	12	177	M13+F	CACCATGTAGCATCTGGG

Çizelge 3.4. Devamı

				R	GATGGATGGATCGACAGA
6	Hpms162*	8	186	M13+F	CATGAGGTCTCGCATGATTTCAC
				R	GGAGAAGGACCATGTACTGCAGAG
7	CA514272*	2	259	M13+F	ATCTATTTTCCTCCGGCGAC
				R	CGGTAAGCTGCCTTGATCTC
8	Hpms13*	9	223	M13+F	TGGGAAATAGGATGCGCTAAACC
				R	AACTTTAAGACTCAAAATCCATAACC
9	Hpms1117*	9	189	M13+F	ACCCAAATTTGCCTTGTTGAT
				R	AATCCATAACCTTATCCCATAAA
10	GPMS171*	9	250	M13+F	TCCACCACAATATTTCGAAGG
				R	TGGCTGTCCAACACTGTGAG
11	CA525390	11	196	M13+F	GGAAACTAAACACACTTTCTCTCTC
				R	ACTGGACGCCAGTTTGATTC
12	CA516439*	10	158	M13+F	GACAGTCTTTCAAGAACTAGAGAGAG
				R	TGGAGCAAACACAGCAGAAC
13	GP20068*	10	118	M13+F	TTCCCTGTGAAAACACTG
				R	TGTTCAACTGCTCTGAGAC
14	C2At1g44760*	6	250	M13+F	ACGAGGCGCCCTCTCTC
				R	GAGTCCAAACTGAAGCTGCC
15	GP20036*	11	98	M13+F	TTTGGACCCTTTCCCTAC
				R	GGATCAAGTAGGCGTTGA
16	Hpms245*	5	148	M13+F	CGAAAGGTAGTTTTGGGCCTTTG
				R	TGGGCCCAATATGCTTAAGAGC
17	At1g14810*	8	250	M13+F	GCATTAGTGGTGTTGGAC
				R	GACAGGCAAGGCTATGTC
18	BM59622*	3	90	M13+F	CGTCTTTCACTTGTCTTTTGTTC
				R	AGTGGGTTCACTGACTTGGG
19	Hpms141*	1-8	192	M13+F	GGGTATCATCCGTTGAAAGTTAGG
				R	CAAGAGGTATCACAACATGAGAGG
20	CAeMS060*	6	250	M13+F	ATCAAGACAACAACATCA
				R	GTTTCGCCTATCAACAATC
21	Hpms143	8	154	M13+F	AACCAGCAATCCCATGAAAACC
				R	GGGCTTTGGGGAGAATAGTGTG

Çizelge 3.4. Devamı

22	CA847460*	8	178	M13+F	ACGAGGCGCCCTCTCTC
				R	GAGTCCAAACTGAAGCTGCC
23	GP20095*	1-8	207	M13+F	GGTTATTAATCCGGTTTCG
				R	TGTTGTTAGGAGAAATTAAGA
24	CP10060	1	214	M13+F	TCTCTCGTTTCTTTTCCG
				R	CCGAACTTGTAGTGCCTG

*Haritalamada kullanılan Primerler
**M13 Primeri: GGAAACAGCTATGACCAT

3.3.5. SRAP Analizi

3.3.5.1. SRAP PCR Çalışmaları

SRAP analizi çalışmalarında 13 adet ileri (Me-1' den Me-13' e kadar) ve 16 adet geri (Em-1' den Em-16' ya kadar) olmak üzere 208 adet SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır (Çizelge 3.5). PCR amplifikasyon koşulları Li ve Quiros (2001) tarafından bildirildiği gibi uygulanmıştır (Çizelge 3.5). 208 adet SRAP primerleri ile önce ebeveynler arasındaki polimorfizmler tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda iyi sonuç veren 31 adet polimorfik markırlar (Çizelge 3.7) ile ebeveynlere ilaveten seçici genotiplemede F2 popülasyonunda ortaya çıkan çinko etkinliği en yüksek olan altmış dokuz birey ve çinko etkinliği en düşük olan altmış dokuz bireyden oluşan 138 adet F2 populasyonda tarama yapılmış ve dominant markır (0-1; a,c 1-0; b,d) olarak skorlanmıştır.

3.3.5.2. PCR Bilesenleri ve PCR Döngüsü

PCR bileşenleri ve koşulları Gülsen ve ark. (2005)'ın kullandığı yöntemin modifiye edilmesiyle oluşturulmuş ve Çizelge 3.5 ile Çizelge 3.6' de sunulmuştur: Ayrıca PCR çalışmalarında kullanılan SRAP primerlerinin baz dizilimleri Çizelge 3.7' de ve primer test çalışmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerde çalışan SRAP primer kombinasyonları Çizelge 3.8' de verilmiştir.

Çizelge 3.5 SRAP analizi için PCR bileşenleri

Bileşenler	Miktar
DNA(20 ng)	2 µl
10xPCR Buffer	1,5 µl
Taq DNA polymerase (5u/µL)	0,2 µl
dNTP (2.5 mM)	1 µl
MgCl2 (25 mM)	1.5 µl
10mM SRAP primer (Fw)	2 µl
10mM SRAP primer (Rw)	2 µl
H20	4.8 µl
Toplam	15 µl

Çizelge 3.6. SRAP çalışmalarında kullanılan PCR koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
94^{o}C	2 dk	
94^{o}C	1 dk	5 döngü
35^{o}C	1 dk	5 döngü
72^{o}C	1 dk	5 döngü
94^{o}C	1 dk	35 döngü
50^{o}C	1 dk	35 döngü
72^{o}C	1 dk	35 döngü
4^{o}C	∞	

Çizelge 3.7. PCR çalışmalarında kullanılan SRAP primerlerinin baz dizilimleri

Primer	**İleri (5’ -3’)**	**Primer**	**Geri (5’ -3’)**
Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA
Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC
Me6	TGAGTCCAAACCGGACA	Em6	GACTGCGTACGAATTGCA
Me7	TGAGTCCAAACCGGACG	Em7	GACTGCGTACGAATTCAA
Me8	TGAGTCCAAACCGGACT	Em8	GACTGCGTACGAATTCAC
Me9	TGAGTCCAAACCGGAGG	Em9	GACTGCGTACGAATTCAG
Me10	TGAGTCCAAACCGGAAA	Em10	GACTGCGTACGAATTCAT
Me11	TGAGTCCAAACCG GAAC	Em11	GACTGCGTACGAATTCTA
Me12	TGAGTCCAAACCGGAGA	Em12	GACTGCGTACGAATTCTC
Me13	TGAGTCCAAACCGGAAG	Em13	GACTGCGTACGAATTCTG
		Em14	GACTGCGTACGAATTCTT
		Em15	GACTGCGTACGAATTGAT
		Em16	GACTGCGTACGAATTGTC

Çizelge 3.8. SRAP primer test çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerde çalışan primer kombinasyonları

No	Primer Çifti	No	Primer Çifti
1	EM11 ME11	17	EM10 ME16
2	EM6 ME13	18	EM13 ME5
3	EM16 ME3	19	EM4 ME9
4	EM14 ME1	20	EM5 ME12
5	EM6 ME1	21	EM11 ME12
6	EM15 ME3	22	EM4 ME13
7	EM10 ME5	23	EM10 ME11
8	EM13 ME5	24	EM5 ME11
9	EM7 ME6	25	EM5 ME13
10	EM10 ME6	26	EM16 ME4
11	EM3 ME6	27	EM9 ME1
12	EM3 ME10	28	EM16 ME13
13	EM5 ME8	29	EM11 ME8
14	EM6 ME6	30	EM16 ME8
15	EM1 ME2	31	EM12 ME10
16	EM8 ME7		TOPLAM

3.3.6. RAPD PCR Çalışmaları

13 adet 10-mer RAPD primeri (Gene Link, NY) kullanılmıştır. PCR amplifikasyon koşulları daha önce Williams ve ark. (2001) tarafından bildirildiği gibi yapılmıştır (Çizelge 3.9 ve 3.10). 150 adet RAPD primeri ile önce ebeveynler arasındaki polimorfizmler tespit edilmiştir. Bu çalısmalarda iyi sonuç veren 13 adet polimorfik olan markırlar (Çizelge 3.11) ile ebeveynlere ilaveten seçici genotiplemede F2 popülasyonunda ortaya çıkan çinko etkinliği en yüksek altmış dokuz (69) birey ve çinko etkinliği en düşük altmış dokuz (69) bireyden oluşan 138 adet F2 populasyonda tarama yapılmış ve SRAP primerlerinde olduğu gibi dominant markır (0-1; a,c 1-0; b,d) skorlanmıştır.

3.3.6.1. PCR Bilesenleri ve PCR Döngüsü

PCR bileşenleri ve programı Gülsen ve ark., (2005)'m kullandığı yöntemin modifiye edilmesiyle oluşturulmuş ve Çizelge 3.9 ve Çizelge 3.10' da sunulmuştur:

Çizelge 3.9. RAPD çalışmalarında kullanılan PCR bileşenleri

Bileşenler	Miktar
DNA(20 ng)	2 µl
10xPCR Buffer	1,5 µl
Taq DNA polymerase (5u/µL)	0,2 µl
dNTP (2.5 mM)	1 µl
MgCl2 (25 mM)	1.5 µl
10mM RAPD primer	2 µl
H20	6.8 µl
Toplam	15 µl

Çizelge 3.10. RAPD çalışmalarında kullanılan PCR koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
94°C	3 dk	
94°C	1 dk	35 döngü
38°C	45 sn	35 döngü
72°C	2 dk	35 döngü
72°C	10 dk	
4°C	∞	

Çizelge 3.11. RAPD primer test çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerde çalışan primerler (Operon® RAPD primerleri)

No	Markır	**Dizilim (5' -3')**
1	OP108	TTTGCCGGT
2	OPAC10	AGCAGCGAGG
3	OPAH2	GGCAGTTCTC
4	OPB01	GTTTCGCTCC
5	OPB20	CCTTGACGCA
6	OPM19	CCTTCAGGCA
7	OPM10	TCTGGCGCAC
8	OPM11	GTCCACTGTG
9	OPL04	GACTGCACAC
10	OPI03	CAGAAGCCCA
11	TIB17	GTTCGCTCCC
12	TIBMBB04	ACCAGGTCAC

3.3.7. Elektroforez ve Jel Görüntüleme Çalışmaları

PCR çalısmalarından elde edilen PCR ürünlerine 3 µl yükleme bufferi (20 ml gliserol (% 40), 30 ml steril su, 0.05 g bromofenol blue) eklenmiştir. Elde edilen karışım SRAP ve RAPD için % 2' lik agaroz jele yüklenerek 115 V elektrik akımı altında 3.5 saat süreyle koşturulmuştur. SSR PCR ürünleri için ise % 3' lük yüksek çözünürlükte agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jelin hazırlanmasında 1XTBE bufferi (89 mM Tris, 89 mM Borik Asit, 2 mM EDTA) kullanılmış ve içerisine 25 µl (10 mg/ml) etidium bromid çözeltisi eklenmiştir. Elektroforez tankı (Scie-Plas Co. Ltd, Southam, Warwickshire, UK) 0,5X TAE bufferi ile doldurulmuş ve agaroz jel tankın içerisine yerlestirilmiştir. Bütün elektroforez işlemlerinde agaroz jele standart olarak 5 µl 100 bp DNA Ladder (Biorun, Nantes, Fransa) yüklenmiştir. Elektroforez işleminden sonra jeller bilgisayara bağlı olan jel görüntüleme ünitesine (Kodak Gel Logic 200, Eastman Kodak Company, USA) alınarak kaydedilmişlerdir.

3.3.8. Bağlantı Gruplarının Oluşturulması ve QTL Haritalama

SSR, SRAP ve RAPD markırları ile elde edilen jel görüntüleri SRAP ve RAPD için band dominant markır şeklinde skorlanırken, SSR jel görüntüleri A, B ve H şeklinde ko-dominant markır olarak skorlanmıştır. Skorlamayı takiben ölçülen değerleri belirleyen genlerin kromozom lokasyonlarını tespit etmek için JOINMAP 4.1 programında bağlantı grupları ve MapQTL programında ' Krukal Wallis (KW)' , ' interval mapping (IM)' analizleri, MQM ve ' composite interval mapping (rMQM)' analizleri yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Popülasyon Oluşturulması için Ebriyo Kurtarma Yönteminin Uygulanması

Çinko noksanlığına toleransı belirleyen özelliklerin kalıtımının belirlenmesi ve bu özelliklerle ilişkili moleküler markırların geliştirilmesinde kullanılan popülasyonların oluşturulması aşamasında direk melezlemele ile sağlıklı çimlenebilen tohum elde edilememiştir. Bu nedenle embriyo kurtarma yöntemi uygulanmıştır. *C. annuum L.* (Alata 21A) x *C. frutescens L.* (PI 281420) melezi ile yürütülen bu çalışmada elde edilen veriler Çizelge 4.1' de verilmiştir. Melezlemeden 21 gün sonra yapılan embriyo kurtarma çalışmasında 21. günden 33. güne kadar açılan tohumlardan embriyolar aktarılmasına rağmen bitkiye dönüşüm sağlanamamıştır. 33. günden sonra bitkiye dönüşüm sağlanmış ve en yüksek bitkiye dönüşüm 39. gün ile 51. gün arasında elde edilmiştir. 21. gün izole edilen embriyolarda çok yumuşak dokuların olduğu gözlemlenmiş, 54. günden sonra izole edilen embriyolarda ise kararmaların başladığı farkedilmiştir. Farklı tarihlerde yapılan embriyo kurtarma çalışmalarında açılan tohumlardan bitkiye dönüşüm ile aktarılan embriyolardan bitkiye dönüşümün istatistiki olarak önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı tarihlerde yapılan embriyo kurtarmadan elde edilen veriler

	ZAMAN	**ATS**	**AES**	**AE %**	**AEBDS**	**AEBY%**	**ATBD%**
1	21. GÜN	48.7 d	15.3 b	32.6 abc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
2	24. GÜN	49.0 d	11.0 b	21.8 bc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
3	27. GÜN	56.0 bcd	14.3 b	25.1 abc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
4	30. GÜN	64.7 a-d	16.3 ab	25.2 abc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
5	33. GÜN	54.3 bcd	26.0 ab	47.0 a	2.0 ef	9.8 de	3.7 ef
6	36. GÜN	53.3 cd	8.30 b	15.0 c	3.0 def	37.8 ab	5.5 de
7	39. GÜN	62.3 a-d	25.3 ab	40.2 ab	8.7 ab	36.2 ab	13.9 b
8	42. GÜN	66.3 ad	23.3 ab	36.3 abc	5.7 cd	25.1 c	8.7 cd
9	45. GÜN	59.7 ad	21.3 ab	35.4 abc	7.7 bc	35.2 b	12.6 bc
10	48. GÜN	61.3 ad	24.7 ab	40.6 ab	11.3 a	45.9 a	18.6 a
11	51. GÜN	71.0 ad	33.3 a	45.7 a	3.7 de	15.7 cd	6.6 de
12	54. GÜN	84.3 a	25.3 ab	30.5 abc	2.7 f	10.6 de	3.2 ef
13	57. GÜN	76.3 abc	14.3 b	18.6 bc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
14	60. GÜN	79.3 ab	25.7 ab	32.4 abc	0.0 f	0.0 e	0.0 f
	LSD(0.05)	22.03	15.40	19.38	2.75	9.83	4.44

ATS: Bir meyvede açılan tohum sayısı**, AES:** Aktarılan embriyo sayısı, **AE %:** Açılan tohumdan aktarılan embriyo yüzdesi, **AEBDS:** Bir meyveden açılan tohumdan aktarılan embriyodan elde edilen bitkiye dönüşüm sayısı, **AEBDY %:** Aktarılan embriyodan elde edilen bitkiye dönüşüm yüzdesi, **ATBD % :** Açılan tohumdan bitkiye dönüşüm yüzdesi

Capsicum annuum' un ana ebeveyn olarak kullanıldığı biberde türler arası melezleme ile yapılan bu çalışmada melezlemeden sonra 39. gün ile 51. günler arası en uygun embriyo kurtarma zamanı olarak belirlenmiştir. Hossain ve ark. (2003) tarafından yine *C. annuum* x *C. frutescens* meleziyle yürütülen çalışmada en uygun embriyo kurtarma zamanının melezlemeden sonra 28.gün ile 33. günler arasında olduğu rapor edilmiştir. Yoon ve ark. (2006) tarafından yürütülen çalışmada ise *C. annuum* x *C. baccatum* melezlemesinde yapılan embriyo kurtarma çalışmasında en fazla bitkiye dönüşümün melezlemeden sonra 35. ve 40. günler arasında torpedo veya erken kotiledon aşamasında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ise daha geç dönemde alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu farklılık her iki çalışmada kullanılan biber genotiplerin farklı olmasından veya bu çalışmada embriyo kurtarma işleminin sonbaharda yapılmasından kaynaklanmış olabilir.

Solanaceae familyası içerisinde yer alan domates patates ve tütünde olduğu gibi biber türleri arasında da bazı önemli karakterleri kültür çeşitlerine aktarabilmek için melezlemeler yapılmaktadır. Bu türler arası melezleme önemli hastalıklara dayanıklılıkların yanında besinsel kalite, verim ve streslere töleransın arttılması bakımından önemlidir. Örnegin *C. frutescens'*ten *C. annuum'*a TMV (Tütün Mozaik Virüsü)' ye dayanıklılık aktarılmıştır (Holmes, 1937). Bunun yanında yine meyve şekli *C. futescens'*ten (Khambonando, 1950) çoklu çiçeklenme ise *C. chinence*' den (Subramanya 1983) *C. annuum'*a aktarılmıştır. Fakat bu türler arası melezlemelerde uyuşmazlık tozlanma sonrası embriyo ve/veya endosperm aborsiyonu hibrit zayıflığı ve sterillik gibi genetik bariyerler meydana gelmektedir (Pickergill, 1997).

Bu sorunun üstesinden gelmek için tozlanmayı takip eden erken dönemlerde olgunlaşmamış embriyoların kurtarılarak bitkiye dönüşümlerinin sağlanması gerekmektedir. Söz konusu sorun *C. annuum* x *C. frutescens* melezinde de yaşanmaktadır. Bu konu ile ilgili olarak Hossain ve ark. (2003) tarafından yürütülen *C. annuum* ve *C. frutescens* melezinden elde edilen hibritlerde başarılı embriyo kurtarma ve bitkiye dönüşüme ortam bileşenlerinin ve zamanın etkisini inceledikleri çalışmada kasein hydrolysate (CH) ve maya ekstraktı (YE) 500 mgl^{-1}, Hindistan cevizi suyu (CW) 150 ml^{-1}, giberellik asit (GA3) 0.5 mgl^{-1} and naphthaleneacetic acid (NAA) 0.05 mgl^{-1} içeren modifiye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) ortamı

bitkiye dönüşümde en iyi ortam olarak belirlenmiştir. Ayrıca hibrit bitkilerden ancak melezlemeden sonra 28. ve 33. günler arasında embriyo elde edilebildiği rapor edilmiştir. Bunun yanında bitkiye dönüşüm oranı embriyo çimlenmesinden daha az bulunmuştur. Bunun sebebinin de zigot oluşumundan sonra meydana gelen bazı uyuşmazlık bariyeri nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir.

Ayrıca bu çalışmada *C. annuum* x *C. frutescens* melezinden elde edilen olgunlaşmış tohumlardan direk torf:perlit ortamında çok düşük oranda (yaklaşık %1) bitki elde edilebilmiştir. Söz konusu türler arası melezlede *C. frutescens*' in tozlayıcı olarak kullanıldığı durumlarda erken dönemde embriyo kurtarmanın yapılmasının zorunlu olabileceği, *C. annuum*' un tozlayıcı olarak kullanıldığı durumda ise ya direk embriyo kurtarma yapılarak bitki eldesinin sağlanması yada direk olgunlaşmış tohumdan bitkiye dönüşümün sağlanabilmesi için daha fazla miktarda tohumun kullanılması önerilebilir.

4.2. Biberde Çinko Noksanlığına Karşı Testlemenin yapılması ve Noksanlığa Karşı Oluşan Simptomun Kalıtmının Belirlenmesi

4.2.1. Biberde Çinko Noksanlığına Karşı Testlemenin Yapılması

Biberde çinko noksanlığına karşı testlemenin yapılması ve noksanlığa karşı oluşan simptomun kalıtımının belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada bitki materyali olarak Zn noksanlığına dayanıklı *C. annuum* (Alata 21A), hassas *C. frutescens* (PI 281420), bunların melezlenmesi ile elde edilen F1 bitkileri, F1 bitkilerinin kendilenmesi ile elde edilen F2 bitkileri ve ayrıca her iki ebeveyne yapılan geri melezden elde edilen geriye melez popülasyonları(GM1P1 ve GM1P2) kullanılmıştır. Oluşturulan bu popülasyonlarla birlikte ebeveynler (PI 281420 ve Alata 21A) Zn noksanlığı doğrulanan ortam ile yarı iklim kontrollü cam seralarda saksılarda çinko destekli (+Zn) ve çinko desteksiz ortamda (-Zn) Zn noksalığına dayanıklılığın belirlenmesi amacıyla test edilmiştir. Görsel skorlamanın yapılmasının ardından 45. günde bitkiler hasat edilerek gövde (toprak üstü aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, kök (toprak altı aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, toplam bitki yaş ve kuru

ağırlıkları ortalamaları belirlenmiştir(Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3) Ebeveynler ise dayanımda kırılmanın olup olmadığını anlayıncaya kadar (90. gün) kadar testlemeye devam edilmiştir. Diğer taraftan ebeveynlerde uzun süre testlemeye devam edildiğinden dolayı PI 281420 numaralı hassas ebeveyn yine noksanlıktan etkilenmeye devam etmiş ve Alata 21A ise 75. günden sonra noksanlıktan etkilenmeye başlamış ve 90. günde ise PI 281420' ye göre daha dayanıklı görünmesine rağmen büyümede azalmalar meydana gelmiş fakat noksanlık simptomu çok az (1,1) göstermiştir(Çizelge 4.5).

Çizelge 4.2. Ebeveynler (PI 281420 ve Alata 21A) çinko destekli (+Zn) ve çinko desteksiz ortamda (-Zn), ve bitki boyları, gövde (toprak üstü aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, kök (toprak altı aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, toplam bitki yaş ve kuru ağırlıkları ortalamaları

Genotip	**PI 281420**	
Ölçüm	**+Zn**	**– Zn**
Bitki boyu(cm/bitki)	7,38±1,14	4,0±1,08
Gövde Yaş Ağr.(g)	4,29±1,13	1,38±0,48
Gövde Kuru Ağr.(g)	0,92±0,19	0,29±0,10
Kök Yaş Ağr.(g)	3,53±1,16	1,03±0,42
Kök Kuru Ağr. (g)	0,44±0,08	0,13±0,04
Toplam Kuru Ağr. (g)	1,36±0,23	0,42±0,12
Toplam Yaş Ağr. (g)	7,83±1,18	2,41±0,78
Genotip	**Alata 21A**	
Ölçüm	**+ Zn**	**– Zn**
Bitki boyu(cm/bitki)	27,4±3,28	17,96±2,84
Gövde Yaş Ağr.(g)	15,6±4,3	6,64±1,44
Gövde Kuru Ağr.(g)	2,9±0,76	1,44±0,38
Kök Yaş Ağr.(g)	7,6±1,93	4,32±1,60
Kök Kuru Ağr. (g)	1,1±0,35	0,61±0,17
Toplam Kuru Ağr. (g)	3,98±0,85	2,05±0,49
Toplam Yaş Ağr. (g)	23,15±4,96	10,96±2,3

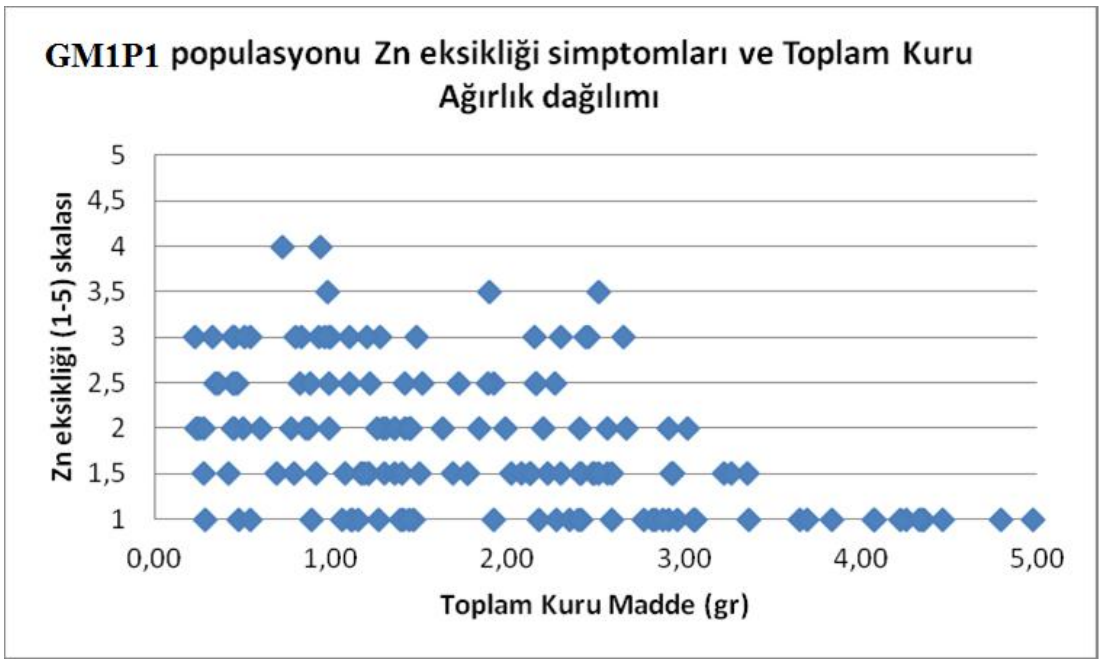
Çizelge 4.3 incelendiği zaman ise – Zn koşullarında testlenen F2 popülasyonunda bitki boyu 4-28 cm/bitki arasında, gövde yaş ağırlığı 1,25-9,37 g/bitki, gövde kuru ağırlığı 0,26-1,96 g/bitki, kök yaş ağırlığı 0,43-7,73 g/bitki, kök kuru ağırlığı 0,1-0,99 g/bitki, toplam kuru ağırlık 0,39-2,8 g/bitki ve toplam yaş

ağırlık ise 2,34-17,1 g/ bitki arasında değişmiştir. GM1P1 populasyonunda bitki boyu 4-34 cm/bitki, gövde yaş ağırlığı 0,19-20,33 g/bitki, gövde kuru ağırlığı 0,13-3,81 g/bitki kök yaş ağırlığı 0,36-11,78 g/bitki kök kuru ağırlığı 0,08-1,5 g/bitki toplam kuru ağırlık 0,23-5,14 g/bitki ve toplam yaş ağırlık ise 1,37-30,38 g/bitki arasında değişmiştir. GM1P2 populasyonunda ise bitki boyu 3-19 cm/bitki, gövde yaş ağırlığı 0,56-8,59 g/bitki, gövde kuru ağırlığı 0,09-1,69 g/bitki, kök yaş ağırlığı 0,11-6 g/bitki kök kuru ağırlığı 0,06-2,08 g/bitki toplam kuru ağırlık 0,15-2,71 g/bitki ve toplam yaş ağırlık ise 0,92-12,77 g/bitki olarak gerçekleşmiştir. Elde edilen bu bulgular incelenen tüm özellikler bakımından her 3 populasyondada geniş bir varyasyonun olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3 Çinko desteksiz ortamda (-Zn), GM1P1, GM1P2 ve F2 melez populasyonlarının bitki boyları, gövde (toprak üstü aksam) yaş ve kuru ağırlıkları, kök yaş ve kuru ağırlıkları, toplam bitki yaş ve kuru ağırlıkları

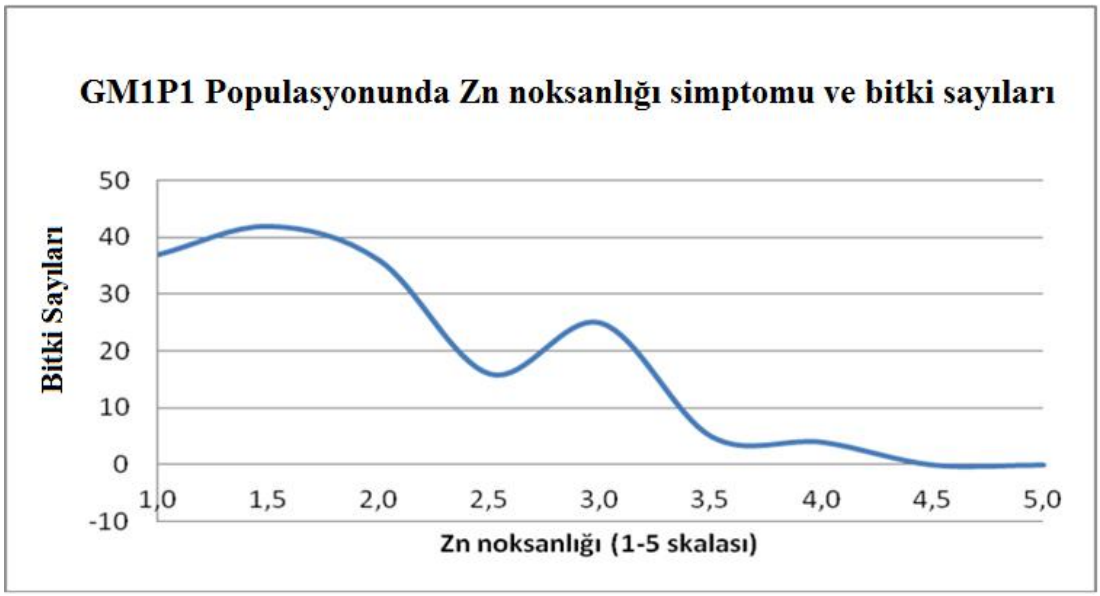
Popülasyon	Ölçüm	Ortalama	Min./Maksimum
F2 – Zn	Bitki boyu(cm/bitki)	12,54±3,87	4-28
F2 – Zn	Gövde Yaş Ağr.(g)	3,53±1,45	1,25-9,37
F2 – Zn	Gövde Kuru Ağr.(g)	0,71±0,31	0,26-1,96
F2 – Zn	Kök Yaş Ağr.(g)	2,63±1,19	0,43-7,73
F2 – Zn	Kök Kuru Ağr. (g)	0,37±0,17	0,12-0,99
F2 – Zn	Toplam Kuru Ağr. (g)	1,08±0,46	0,39-2,8
F2 – Zn	Toplam Yaş Ağr. (g)	6,20±2,46	2,34-17,1
GM1P1– Zn	Bitki boyu(g)	17,23±6,44	4-34
GM1P1– Zn	Gövde Yaş Ağr. (g)	6,48±3,82	0,19-20,33
GM1P1– Zn	Gövde Kuru Ağr. (g)	1,28±0,81	0,13-3,81
GM1P1– Zn	Kök Yaş Ağr. (g)	4,44±2,56	0,36-11,78
GM1P1– Zn	Kök Kuru Ağr. (g)	0,57±0,36	0,08-1,50
GM1P1– Zn	Toplam Kuru Ağr. (g)	1,84±1,15	0,23-5,14
GM1P1– Zn	Toplam Yaş Ağr. (g)	10,92±6,28	1,37-30,38
GM1P2– Zn	Bitki boyu(cm/bitki)	7,3±2,66	3-19
GM1P2– Zn	Gövde Yaş Ağr. (g)	2,12±1,23	0,56-8,59
GM1P2– Zn	Gövde Kuru Ağr. (g)	0,42±0,25	0,09-1,69
GM1P2– Zn	Kök Yaş Ağr. (g)	1,29±1,09	0,11-6
GM1P2– Zn	Kök Kuru Ağr. (g)	0,25±0,20	0,06-2,08
GM1P2– Zn	Toplam Kuru Ağr. (g)	0,68±0,40	0,15-2,71
GM1P2– Zn	Toplam Yaş Ağr. (g)	3,42±2,11	0,92-12,77

Diğer taraftan Şekil 4.1' de GM1P1 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomu bakımından dağılım incelenmiş ve skala değerlerine göre simptom arttıkça kuru madde ağırlığında azalış gözlemlenmiştir Ayrıca Zn noksanlığı simptomu ile toplam kuru ağırlık (%47) ve gövde kuru ağırlığı yüksek korelasyon (%48) elde edilmiştir (Çizelde 4.4).



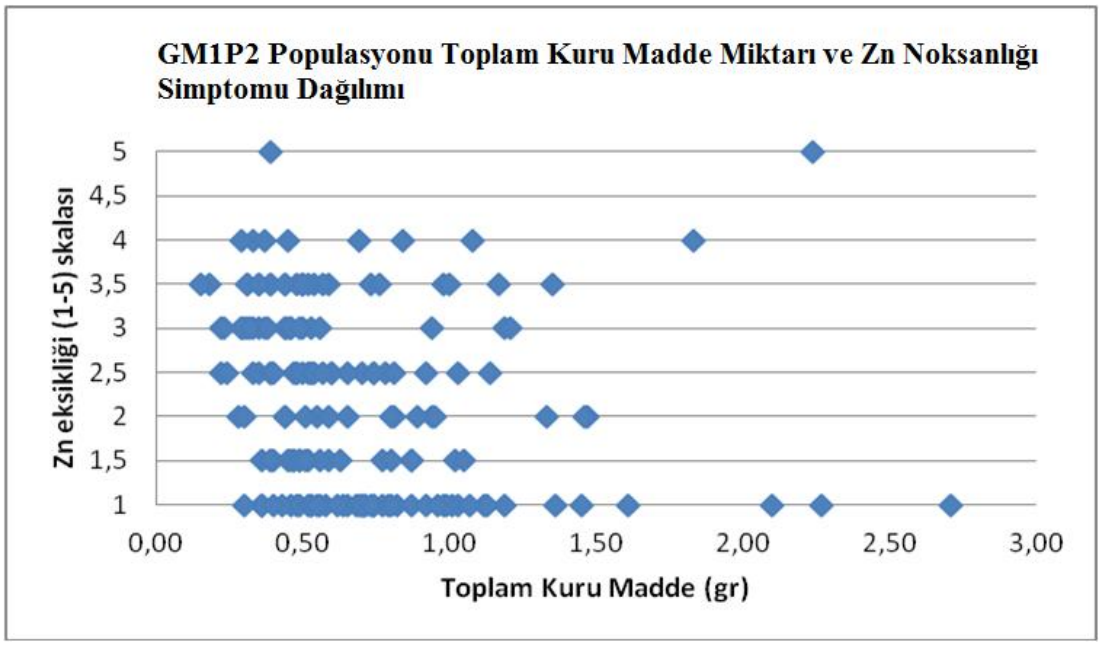
Şekil 4.1. GM1P1 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları bakımından dağılım.

Düşük çinko içeriğine sahip saksı toprağında testlenen GM1P1 populasyonunda denemenin sonunda Zn noksanlığı simptomu bakımından skorlama yapılmış ve skorlanan bitkilere ait veriler Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Şekil 4.2' den görüleceği üzere Alata 21A stoplazmasının kullanıldığı GM1P1 populasyonunda 1 değerine doğru yığılma gözükmektedir. Bunun nedeni söz konusu özellik bakımından bir dominansın olması olabilir.



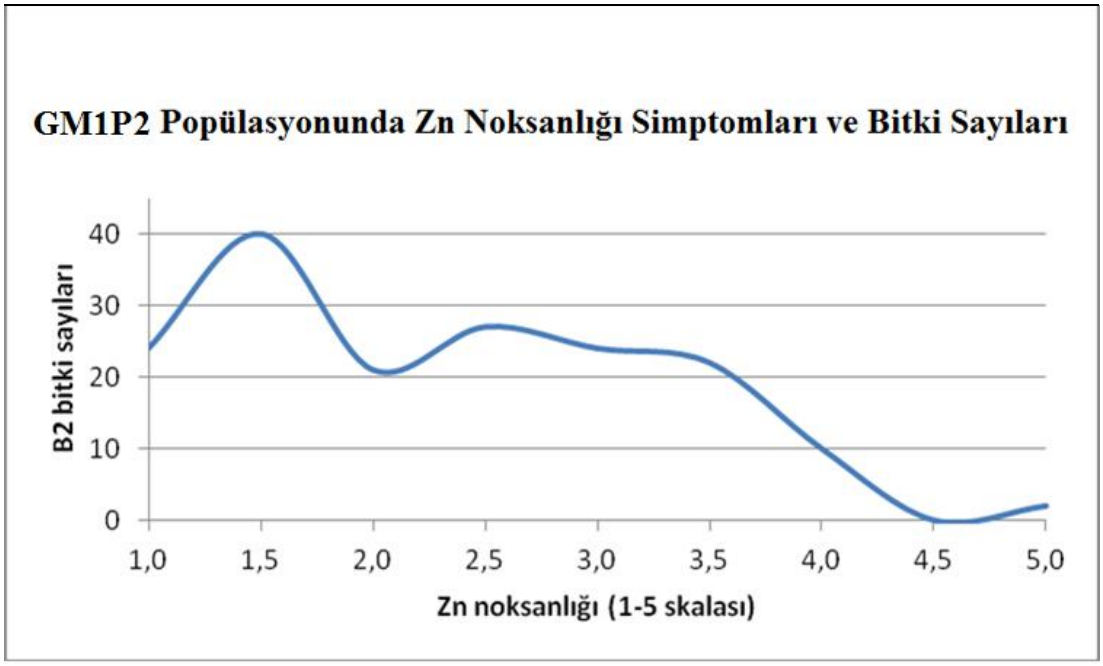
Şekil 4.2. GMP1 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı.

GM1P2 populasyonua ait Zn noksanlığı simptomu skor değerleri ile toplam kuru madde miktarı arasındaki dağılım Şekil 4.3' de verilmiştir. Şekil 4.3 incelendiği zaman Zn noksanlık simptomu artarken kuru madde miktarında çok fazla artış meydana gelmemiştir. Toplam kuru ağırlık ile Zn noksanlığı simptomu arasındaki korelasyon oldukça düşük (%19) olmuştur (Çizelge 4.4). Bu durum Zn noksanlığı simtomu ile kuru madde birikimi özelliklerinin bağımsız genler tarafından kontrol edildiğine işaret olabilir.



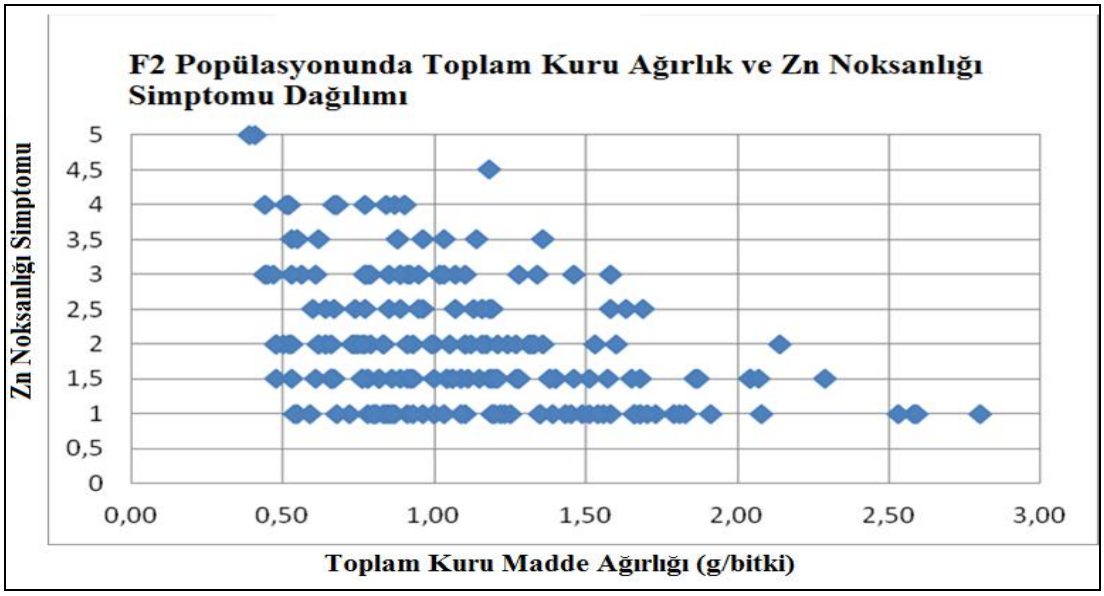
Şekil 4.3. GM1P2 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları bakımından dağılım.

Şekil 4.4' te ise *C. frutescens* (PI 281420) stoplazmasını taşıyan ebeveyne ait GM1P2 popülasyonunda belirlenen Zn noksanlığı skoru ile bitki sayıları gösterilmiştir. Yine GM1P1 populasyonunda olduğu gibi GM1P2 populasyonunda da 1-5 skalasına göre 1 değerine yani dayanıklılığa doğru bir yığılma olmuştur. Aynı şekilde bu durum dominant bir etkinin varlığını göstermektedir.



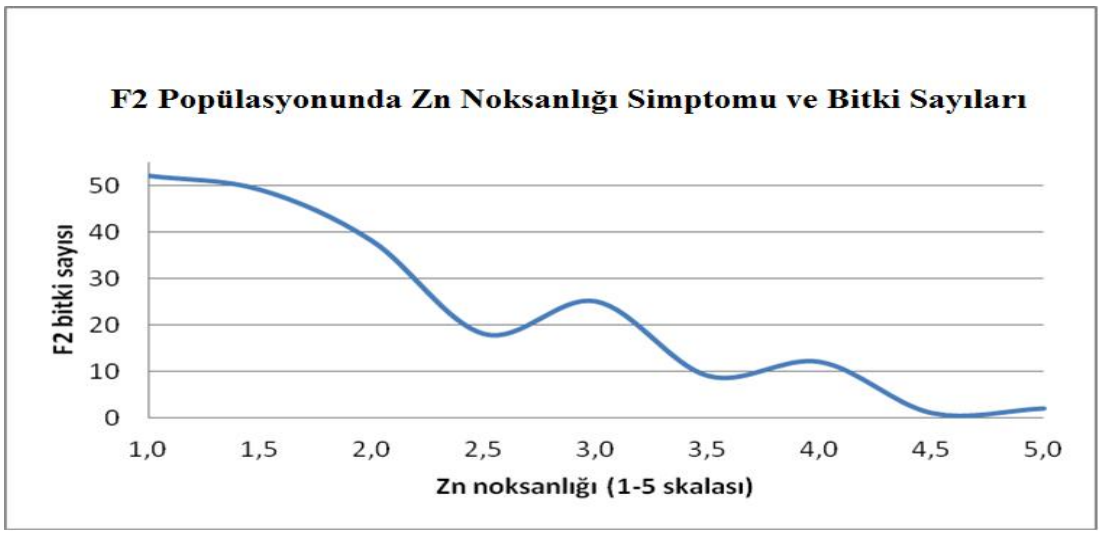
Şekil 4.4. GM1P2 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı

Zn noksanlığı simptomu kalıtımının hesaplanması amacıyla GM1P1 ve GM1P2 populasyonları ile birlikte F2 popülasyonuda – Zn koşullarında testlenmiş ve toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları arasında bitki sayıları bakımından dağılım Şekil 4.5' te verilmiştir. GM1P1 ve GM1P2 popülasyonlarından elde edilen verilerde olduğu gibi noksanlık simptomu arttıkça toplam kuru madde miktarında azalma gözükmesine rağmen toplam kuru madde ağırlığı ile Zn noksanlık simptomu arasındaki korelasyon düşük (%41)bulunmuştur(Çizelge 4.4)



Şekil 4.5. F2 populasyonunda toplam kuru madde (gr) ile Zn noksanlığı simptomları arasında bitki sayıları bakımından dağılım.

Diğer taraftan F2 popülasyonundan elde edilen Zn noksanlığı simptomu ile bitki sayıları arasındaki dağılım incelenmiş ve genel dağılım Şekil 4.6' da verilmiştir. GM1P1 ve GM1P2 popülasyonlarında olduğu gibi F2 popülasyonundada 1(hiç simptom yok) değerine doğru bir yığılma görülmektedir. Yine bu durum diğer populasyonlardaki verilerle birlikte değerlendirildiğinde dayanıklıdan yana dominant bir etkinin olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 4.6. F2 populasyonuna ait bitkilerin Zn noksanlığı simptomları (1-5 skalası) bakımından dağılımı.

Çizelge 4.4' te ise F2, GM1P1, ve GM1P2 populasyonlarında Zn eksikliği simptompları (1-5 skalası) ile bitki boyu, gövde yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam yaş ve toplam kuru ağırlık arasındaki korelasyonlar (%) verilmiştir. Zn noksanlığı simptomunda 1-5 skalasına göre ' 1' değer alan (Zn noksanlığına en dayanıklı grup) içerisinde toplam kuru madde miktarı en düşükten en yükseğe kadar bitkiler yer almaktadır. Çizelde 4.4' ten anlaşılacağı üzere Zn noksanlığı simptomu ile en yüksek korelasyonu toplam kuru ağırlık (%47), gövde yaş ağırlığı (%47) ve gövde kuru ağırlığı (%48) vermiştir. En düşük korelasyon ise GM1P1 populasyonunda Zn noksanlığı simptomu ile kök kuru madde ağırlığı arasında elde edilmiştir (%5). Elde edilen bulgulara göre Zn noksanlığı ile açıklanamayan %50' nin üzerinde bir ' kuru madde miktarını belirleyen genetik faktörün olduğu gözükmektedir. Bu nedenle F3 populasyonunda Zn destekli ve Zn desteksiz ortamda yapılan testlemeler toplam kuru madde ve kök, gövde, yaprak (ve toplam) bitki çinko içeriklerinin oransal değerini (iki ortam arasındaki Zn noksanlığından kaynaklanan gerçek farkı) verdiğinden önemlidir. Her üç populasyonda da (F2, GM1P1, ve GM1P2) Zn noksanlığı skoru ile bitki kütlesi arasındaki korelasyon %50' yi bulmamıştır.

Çizelge 4.4. F2, GM1P1, ve GM1P2 populasyonlarında Zn eksikliği simptompları (1-5 skalası) ile bitki boyu (BB), gövde yaş ağırlığı (GYA), gövde kuru ağırlığı (GKA), kök yaş ağırlığı (KYA), kök kuru ağırlığı (KKA), toplam yaş (TYA) ve toplam kuru ağırlık (TKA) arasındaki korelasyon (%)

Populsyon	BB	GYA	GKA	KYA	KKA	TYA	TKA
GM1P1	41	47	48	42	44	46	47
GM1P2	39	24	25	17	5	23	19
F2	21	37	40	30	37	32	41
Ortalama	34	36	38	30	29	34	36

4.2.2. Biberde Çinko Noksanlığı Simptomunun Kalıtımı;

Zn noksanlığı Simptomu Kalıtımının Hesaplanmasında kullanılan ebeveynler ve GM1P1, GM1P2 ve F2 popülasyonlarına ait skor değerleri Çizelge 4.6' da verilmiş ve dar (h^2_n) ve geniş (h^2_b) anlamda kalıtım dereceleri Allard (1960)' da belirtildiği gibi hesaplanmıştır;

V_P (fenotipik varyans) = V_{F2} (F_2 popülasyonundaki toplam varyans)

V_E (çevresel varyans)=$(P_1+P_2+F_1)/3$

V_G (genetik varyans)= V_{F2}- V_E

V_{GM1P1} ve $V_{GM1P2:}$ *C.frutescens*' e geriye melez popülasyonu ve*C. annuum*' a geriye melez popülasyonu ait toplam varyanslar)

V_A (eklemeli gen varyansı)= 2 (V_{F2})-V_{GM1P1}-V_{GM1P2}

V_D(dominans gen varyansı)= V_{GM1P1}+V_{GM1P2}- V_{F2}- V_E

h^2_b= (V_A+V_D) / V_{F2} : Geniş anlamda kalıtım derecesi

h^2_n=V_A / V_{F2} : Dar anlamda kalıtım derecesi

Çevre varyansı;

Ve=(P1+P2)/2 = 0,090327

GM1P1 populasyonu ([(Alata21A x (Alata 21A x PI 281420)])

Varyans : 0,668

Ortalama : 1,983

Standart Sapma : 0,817

GM1P2 populasyonu ([(PI 281420) x (Alata21A x PI 281420)])

Varyans : 0,920

Ortalama : 2,300

F2 populasyonu [(Alata 21A x PI 281420) x (Alata 21A x PI 281420)]

Varyans : 0,908

Ortalama : 2,017

Standart Sapma : 0,953

Genetik varyans; Vg=VF2-Ve=0,908-0,09=0,818

Additive (eklemeli) varyans;Va=2(V_{F2})-V_{GM1P1}-V_{GM1P2}=2(0,908)-0,67-0,92=0,226

Dominant varyans;Vd=V_{GM1P1}+V_{GM1P2}-V_{F2}-Ve=0,67+0,92-0,908-0,09=0,592

Geniş anlamda Kalıtım derecesi;

$h^2_b = (V_A+V_D) / V_{F2} = (0,226+0,597)/0,908=0,906$

Dar anlamda Kalıtım derecesi;

$h^2_n = V_A / V_{F2} = 0,226/0,908=0,249$

Muhtemel Genetik yapı;

Çizelge 4.5. Biberde çinko noksanlığına karşı testlenen F_2 bitkilerinden elde edilen simptomların X^2 test sonuçları

Model	Gözlenen	Beklenen	Sapma	X^2 değeri
12:3:1	157 (Dayanıklı)	154,5	2,5	0,04
	34 (Orta)	38,625	-4,62	0,55
	15 (Hassas)	12,875	2,125	0,35
			Toplam	0,94
			p-değeri:0,625	

1; 1,5; 2,0; ve 2,5 = dayanıklı; 3,0 ve 3,5 = orta dayanıklı; 4,0; 4,5 ve 5,0 = hassas

4.3. Çinko (Zn) noksanlığı Simptomunu Kontrol Eden Toplam Gen Sayısının Hesaplanması

1. Wright (1968)' a göre;

$k = (P_1-P_2)^2 / 8(s^2_{F2}-V_E)$

Bu formülde P_1 ve P_2 iki ebeveynin ortalama değerleri, s^2_{F2} ise F_2 popülasyonuna ait varyasyon, V_E; çevresel varyans V_E; genetik olarak üniform olan P_1, P_2, ve F_1 bitkilerinin varyansının ortalaması alınarak bulunmuştur.

$k = (P_1-P_2)^2 / 8(s^2_{F2}-V_E)$(Kalıtımın hesaplanmasında kullanılan 206 F2 bitkisi için)

k=(4,07-1,07)2

8(0,908-0,09)

k=9,0/6,544

***k*=1,375** gen olarak hesaplanmıştır.

$k = (P_1-P_2)^2 / 8(s^2_{F2}-V_E)$(Haritalamada kullanılan 455 F2 bitkisi için)

k=$(4,5-1,0)^2$ / 8(1,17-0,216)

k=12,25 / 7,632 = 1,61

***k*=1,61** gen olarak hesaplanmıştır.

2. Wright (1952) ve Falconer, (1989)' a göre;

$n=(m_1-m_2)^2/8(V_{F2}-V_{F1})$

m_1= *C. frutescens* PI 281420 simptom ortalaması,

m_2= *C. annuum* Alata 21A simptom ortalaması,

V_{F2}= F2' lerin varyansları,

V_{F1}= F1' lerin varyansları,

$n= (m_1-m_2)^2/8(V_{F2}-V_{F1})$ (Kalıtımın hesaplanmasında kullanılan 206 adet F2 bitkisi için)

$n=(4,3-1,05)^2/8*(0,91-0,07)$

n=1.571 gen olarak hesaplanmıştır.

$n= (m_1-m_2)^2/8(V_{F2}-V_{F1})$ (Haritalamada kullanılan 455 adet F2 bitkisi için)

$n=(4,83-1,17)^2/8*(1,176-0,07)$

n=1.514 gen olarak hesaplanmıştır.

Biber gibi türlerin Zn noksanlığının sebep olduğu gizli verim kaybından fazlasıyla etkilendiği düşünülmektedir. Graham ve Welch (1996), Zn eksikliği olan topraklarda optimum ürün yetiştiriciliği için Zn içerikli gübrelerin kullanılması yanında Zn noksanlığına tolerant çeşitlerin de kullanılmasını önermiştir. Fakat biberde Zn noksanlığına tolerant çeşit veya hatların geliştirilmesi hem karakteri kontrol eden genlerin genetik yapısının bilinmemesi hemde seleksiyon için yaygın kullanılabilir metodun olmamasından dolayı gecikmiştir. Zn noksanlığına toleransı çalışan araştırmacılar çeltikte (Mahadevappa ve ark. 1981), soya fasulyesinde (Hartwig ve ark. 1991), ve çavdarda (Cakmak ve ark. 1997) çok genle kontrol edilen bir genetik yapıya işaret etmişlerdir. Bunun yanında Sing ve Westermann (2002) kuru fasulyede tek dominant genin Zn noksanlığına toleransı kontrol ettiğini bildirmiştir.

Çizelge 4.6. Zn noksanlığı simptomu kalıtımının hesaplanmasında kullanılan ebeveynler ve GM1P1, GM1P2 ve F2 popülasyonlarına ait skor değerleri

Genotip	Skor Ortalaması(1-5 skalası)
PI 281420	4,1±0,41
21A	1,1±0
GM1P1	1,9
GM1P2	2,3
F2	2,0

Zn noksanlığı olan toprağa şaşırtıldıktan 15 gün sonra PI 281420 genotipi yaprak ucu ve kenarlarından sararmalar göstermeye başlamıştır. Takip eden günlerde ileri derecede yaprak damar arası sararmalar ve bronzlaşmalar, boğumlar arası mesafenin kısalması, ve bitkide bodurlaşma gözlenmiştir. Dayanıklı genotip Alata 21A şaşırtmadan sonraki 45. güne kadar fark edilir Zn noksanlığı simptomu göstermemiştir. Görsel Zn noksanlığı (1-5 skalasına gore; 1: Zn noksanlığı simptomu yok; 5: ileri derecede kloroz ve bronzlaşma var) ortalaması PI 281420 için 4,1; Alata 21A için 1,1; GM1P1 için 1,9; GM1P2 için 2,3; ve F2 için 2,0 olarak belirlenmiştir(Çizelge 4.6). " Alata 21A" (*C. annuum*) x " PI 281420" (*C. frutescens*) melezlemesinden gelen 206 adet F2 bitkisinin Zn noksanlığı simptomlarını kullanarak Wright (1968)' e göre Zn noksanlığına dayanımı kontrol eden minimum gen sayısı 1,375 olarak hesaplanmıştır. Karakter üzerindeki çevre varyansı toplam varyansın yaklaşık %10' u olarak hesaplanmıştır. Bu durum karakterin kuvvetli bir genetik kontrol altında olduğuna işaret etmektedir. Toplam genetik varyans içinde eklemeli gen etkisinin %28, dominant gen etkisinin %72 olduğu hesaplanmıştır. Dar anlamda kalıtım derecesi geniş anlmada kalıtım derecesinden 2.5 kat daha küçük bulunmuştur. Karakter kuvvetli bir dominant gen etkisinde gözükmektedir.

Yine bu çalışmada biberde çinko noksanlığına karşı testlenen F_2 bitkilerinden elde edilen simptomların X^2 test sonuçları Çizelge 4.5' te verilmiştir. X^2 analizi 12:3:1 genetik oranının (X^2 =0.94, P=0.625, N=206) en uygun model olduğunu göstermektedir. Bu oran dominant epistatisiye işaret etmektedir. Görsel çinko noksanlığı dağılımı her üç populasyonda da dayanıklıya doğru eğim göstermiştir. Bu

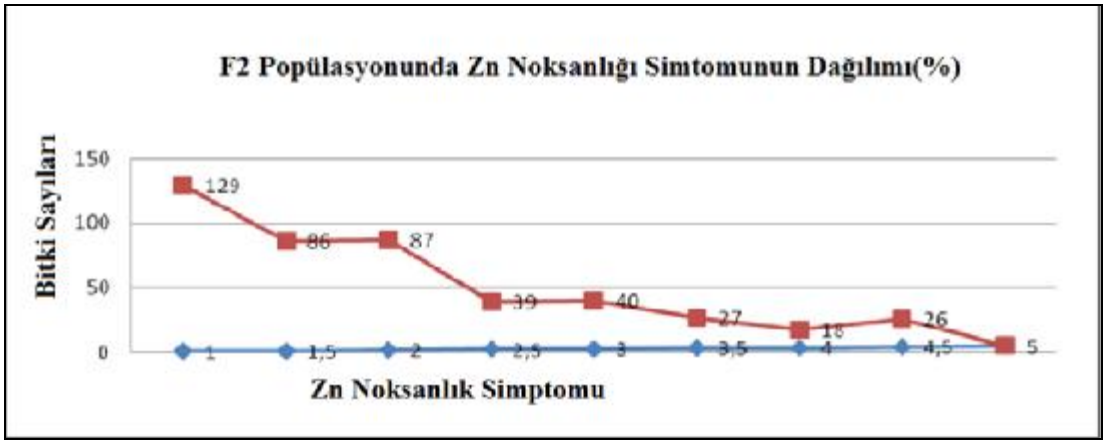
durum Zn noksanlığına karşı dayanıklılığın kuvvetli bir dominant gen ve bazı modifiye edici genlerin etkisinde olduğunu göstermektedir.

Dominant epistasis; A alleli B ve b allellerine epistatik. Bir lokustaki dominant allel (‘ A’ gibi) farklı bir lokustaki her iki allelin (‘ B’ ve ‘ b’ gibi) ekspresyonunu engelleyebilir. Farzedelim ‘ A’ alleli ‘ a’ alleline dominant ve ‘ B’ ve ‘ b’ allelerine epistatik. O zaman F2 populasyonunda ’ A_B_ (9/16) + A_bb (3/16)’ genetik yapıdaki bireyler Çinko noksanlığına karşı ortak fenotip gösterecekler; aaB_ (3/16) genotipi ekinci bir fenotip gösterecek; ve ‘ aabb (1/16)’ genotipi üçüncü bir fenotip gösterecektir.

Sonuçlar Alata 21A genotipindeki toprak Zn noksanlığına direncin bir major dominant lokus ve bu lokusa epistatik olan ikinci modifiye edici bir lokusun etkisinde olduğuna işaret etmektedir. Karakterin geriye melezleme ve kendileme ile düşük Zn içeren topraklarda gizli verim kaybına uğrayan biber genotiplerine aktarılması mümkün görünmektedir. Bu lokuslara yakın moleküler markırların geliştirilmesi karakter için seleksiyonu hızlandıracaktır.

4.4. Haritalama Popülasyonunda Çinko (Zn) Noksanlığı Simptomu Kalıtımının Belirlenmesi

Zn etkinliğini haritalama amacıyla seçici genotipleme yapılan 455 F2 bitkisi – Zn koşullarında; ebeveynler ve F1 bitkileride hem – Zn hemde +Zn koşullarında yetiştirilmiştir. Bitkiler saksılara aktarıldıktan 30 gün sonra 1-5 skalasına göre Zn noksanlık simptomları kayıt edilmeye başlanmış ve 77. günde bitkilerin çinko noksanlık simptom değerleri değerlendirmeye alınmıştır. Zn noksanlığına en hassas bitkiler (4,5-5 değer alanlar) ölmeden önce testleme sonlandırılmıştır. 455 F2 bitkisinden elde edilen skor değerleri ile kaydedilmiştir.



Şekil 4.7. Zn etkinliğini haritalama amacıyla seçici genotipleme yapılan F2 bitkilerinin Zn noksanlık simptomlarının 1-5 skalasına göre skor edilmesi ile elde edilen dağılım.

455 F2 bitkisine ait Zn noksanlığı simptomu (1-5 skalası) Şekil 4.7' de görülen dağılımı oluşturmuştur. Ayrıca ebeveynler ve F1' lere ait skor değerleri Çizelge 4.7' de verilmiştir. Zn noksanlığı simptomu dağılımı incelendiğinde PI 281420 ebeveyninden daha şiddetli simptom gösteren F2 bitkilerine rastlanmış, fakat Alata 21A çok tolerant olduğundan daha tolerant F2 bitkileri varsa bile bu aşamada tespit edilememiştir. Dağılım, Zn noksanlığı simptom oluşumunun yüksek oranda dominant (fakat %100 dominant değil), birden fazla gen tarafından kontrol edildiğini işaret etmektedir.

455 bireyden oluşan bu F2 populasyonunda skor edilen Zn noksanlığı simptomu verilerini kullanarak bir önceki kalıtım hesabında kullanılan F2, GM1P1, ve GM1P2 populasyonlarını kullanarak tekrar test edilmiştir.

Çizelge 4.7. Haritalamada kullanılan ebeveynler ve F1' lere ait skor değerleri

Genotip	Skor(1-5 skalası)
PI 281420	4,58±0,49
21A	1±0
F1 (21AxPI281420)	1,16±0,26
F1 (PI 281420x21A)	1,25±0,34

F2 populasyonu

N: 455(F2 populasyonundaki bitki sayısı)

Standart hata: 1,08

Varyans : 1,17

Ortalama : 2,1

Çevre varyansı;

Ve=(P1+P2+F1) / 3

=(0,11+0,2+ 0,337) / 3

Ve=0,216

Genetik varyans; Vg=Vf2-Ve=1,17-0,216=0,954

Vg=0,954

Çizelge 4.8. Biberde çinko noksanlığına karşı testlenen F_2 bitkilerinden elde edilen simptomların X_2 test sonuçları

Model	Gözlenen	Beklenen	Sapma	X^2 değeri
12 : 3 : 1	341 (Dayanıklı)	341,25	0,25	0,00
	85 (Orta	85,31	0,31	0,40
	31 (Hassas)	28,44	2,56	1,294
			Toplam	1,694
			p-değeri:0,79	

1; 1,5; 2,0; ve 2,5 = dayanıklı; 3,0 ve 3,5 = orta dayanıklı; 4,0; 4,5 ve 5,0 = hassas

Çizelge 4.8' deki X^2 analizinde ' 12:3:1 dominant epistasis' hipotezi analiz edilmiştir. Bu hipoteze göre; A alleli B ve b allellerine epistatiktir. Bir lokustaki dominant allel (A) farklı bir lokustaki her iki allelin (B ve b) ekspresyonunu engelleyebilir.

Fakat F2 populasyonundaki dağılım incelendiğinde fenotipik sınıfların çok keskin biçimde birbirinden ayrılmadığı görülmektedir. Bunun sebepleri şunlar olabilir; 1. Dominant epistasis modelinde " A" alleli " a" alleline ve " B" alleli " b" alleline tam (%100) dominant olmayabilir. F1 bitkilerininin ortalama skorları (1,16 ve 1,25) bunu kısmen doğrulamaktadır(Çizelge 4.7). Her iki dominant allelin resesif

allelerine kısmi dominant olması F2 populasyonunda beklenen fenotipik sınıf sayısını üçten (12:3:1) beşe çıkaracaktır (2n+1= 2x2+1=5), 2. Genotip x Çevre interaksiyonunun " A" ve " B" alleleri üzerinde farklı olması fenotipik sınıflar arasındaki geçişleri daha az belirgin yapabilir (daha yüksek " background noise" sebep olabilir), 3. İki lokusa ilaveten minör etkili modifiye edici üçüncü bir lokus / QTL' de etki ediyor olabilir.

455 F2 bitkisinden elde edilen Zn noksanlığı simptomu skorları ve ebeveynlerden elde edilen skorlama değerleri kullanılarak yukarıda tekrar hesaplanan ' karakteri kontrol eden toplam gen sayısı 1,61 bulunmuştur. Bu testlemede F1 bitkileride ebeveynlerle birlikte çevre varyansı hesabına katıldığından karakterin üzerindeki çevre etkisi daha doğru hesaplanmıştır.

4.5. Ebeveynlerin ve F1 bitkilerinin Çinko etkinlik değerleri [(-Zn toplam kuru ağırlık / +Zn toplam kuru ağırlık) x 100] ve sitoplazmik etki

Çizelge 4.9. – Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen Alata 21A, PI 281420 ve *C. annuum* sitoplazması taşıyan F1 (21AxPI 281420) genotiplerine ait gövde (toprak üstü aksam) ve kök (toprak altı aksam) kuru ağırlıkları; Zn noksanlığı simptomu skala değerleri (1-5) ve Zn etkinliği değerleri.

	Ortalama±Std Sapma				
Genotip	G.K.A.	K.K.A.	Skala	B.S.	Zn etkinliği
PI 281420 +Zn	2,92±0,42	1,94±0,2	1,08±0,2	6	%47
PI 281420 -Zn	1,20±0,19	1,1±0,16	4,58±0,49	6	
Alata 21A+Zn	5,63±6	2,42±0,24	1±0	6	%85
Alata 21A-Zn	4,76±0,49	2,05±0,1	1±0	5	
F1 (21A x PI 281420)+Zn	5,48±0,52	2,48±0,08	1±0	6	%89
F1 (21A x PI 281420)-Zn	4,78±0,67	2,33±16	1,16±0,26	6	

GKA: Gövde Kuru Ağırlığı(g); KKA: Kök Kuru Ağırlığı(g), BS: Bitki Sayısı, Skala(1-5)

Çizelge 4.10. – Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen Alata 21A, PI281420 ve *C. frutescens* sitoplazması taşıyan F1 (PI 281420x21A genotiplerine ait gövde (toprak üstü aksam) ve kök (toprak altı aksam) kuru ağırlıkları; Zn noksanlığı simptomu skala değerleri (1-5) ve Zn etkinliği değerleri.

	Ortalama±Std. Sapma				
	GKA	KKA.	Skala	BS	Zn etkinliği
PI 281420 +Zn	2,15±0,88	1,33±0,53	1±0	6	%49
PI 281420 -Zn	1,28±0,42	0,77±0,15	4,5±0,29	7	
Alata 21A+Zn	2,33±0,49	0,9±0,12	1±0	6	%91
Alata 21A-Zn	2,15±0,35	0,78±0,16	1±0	7	
F1 (PI 281420 x 21A) +Zn	2,91±0,66	1,26±0,4	1±0	11	%95
F1 (PI 281420 x 21A) -Zn	2,87±0,69	1,1±0,33	1,25±0,34	12	

GKA: Gövde Kuru Ağırlığı(g); KKA: Kök Kuru Ağırlığı(g), BS: Bitki Sayısı, Skala(1-5)

Çizelge 4.9 ve 4.10' da özetlenen sonuçlara konu olan bitkiler sırasıyla Şubat-Haziran ve Mart-Temmuz 2012 döneminde Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu cam seralarında çinko destekli ve desteksiz (+Zn ve – Zn) olarak eş zamanlı yetiştirilmiştir. Her saksıda tek bitki olacak şekilde yetiştirilen bitkiler, düşük Zn içeren toprakta şiddetli kloroz oluşturan ve Zn etkinliği düşük *C. frutescens* PI 281420 ebeveyni Zn desteksiz ortamda şiddetli Zn noksanlığı simptomu (4,5-5) oluşturana kadar yetiştirilmiştir. Bu aşamadan sonra PI 281420 ebeveyni yaprak dökmeye başlamadan tüm bitkiler hasat edilmiştir. Kök ve toprak üstü aksamı yaş ve kuru ağırlıkları belirlenen bitkilerin Zn içerik analizleri ICP (Inductively Coupled Plasma Spectrometry) ile yapılmıştır.

Ebeveynler ve F1 bitkileri bir miktar çevre varyansı göstermelerine rağmen kuvvetli bir genetik kontrol gözlemlenmiştir.

Sitoplazmik etkiye gelince; *C. annuum* Alata 21A sitoplazması taşıyan F1 bitkilerinin Zn etkinliği %89 ile yüksek Zn etkinliğine sahip Alata 21A ebeveyninden %4,7 daha yüksek Zn etkinliği göstermiştir. *C. frutescens* sitoplazması taşıyan F1 bitkilerinin Zn etkinliği %95 ve yüksek Zn etkinliğine sahip Alata 21A ebeveyninden %4,3 daha yüksek Zn etkinliği göstermiştir. Bu sonuçlar *C. annuum* veya *C.*

frutescens sitoplazması taşıyan hibritlerin birbirlerine yakın Zn etkinliğine sahip olduğunu ve Zn etkinliği üzerine sitoplazmanın ölçülebilir bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Görsel olarak skor edilen Zn noksanlığı bakımından sitoplazmik etki incelenecek olursa; *C. annuum* Alata 21A sitoplazması taşıyan F1 bitkilerinin Zn noksanlığı skoru 1,16 ve Zn noksanlığına yüksek toleransa sahip Alata 21A ebeveyninden azda olsa daha hassas olmuştur (Çizelge 4.7). *C. frutescens* sitoplazması taşıyan F1 bitkilerinin Zn noksanlığı skoru 1,25 ve yine Zn noksanlığına yüksek tolerans gösteren Alata 21A ebeveyninden daha fazla Zn noksanlığı simptomu göstermiştir (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar *C. annuum* veya *C. frutescens* sitoplazması taşıyan hibritlerin birbirine benzer Zn noksanlığı gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum Zn noksanlığı simptomunun da sitoplazmik etkiden ölçülebilir miktarda etkilenmediğini göstermiştir. F1 hibritler Zn noksanlığına tolerant ebeveynden daha yüksek Zn noksanlık simptomu oluşturmuşlardır. Bu sonuç da Zn noksanlığı simptomlarının oluşumunu kontrol eden genlerin tam (%100) dominant olmadığını (eksik dominansi) ve F1 hibritlerde overdominant özellik gösteren Zn etkinliği ile Zn noksanlık simptomu oluşturan genlerin tamamının aynı genler olmayabileceğini ve her iki özelliğe spesifik ayrı genlerin de varlığına işaret etmektedir.

Çizelge 4.11. Çinko destekli (+Zn) ve desteksiz ortamda (-Zn) yetiştirilen) 21A, PI281420 ve F1 (PI 281420x21A) genotiplerine ait yaprak, gövde ve kök Zn içerikleri (gr/kg) değerleri.

	Zn içeriği mg/kg		
	Yaprak	Gövde	Kök
PI 281420 +Zn	40,6±1,52	7,22±0,21	11,57±0,32
PI 281420 -Zn	31,6±1,28	6,85±1,05	9,32±0,24
Alata 21A+Zn	42,8±4,17	6,6±0,4	12,56±1,69
Alata 21A-Zn	37±2,38	5,23±1,29	10,86±0,63
F1 (PI 281420 x 21A) +Zn	48,9±1,72	8,48±0,24	16,4±1,74
F1 (PI 281420 x 21A) -Zn	31,6±2,93	5,51±0,28	13,9±0,29

Yukarıda Çizelge 4.11' den de görülecği gibi Zn noksanlığına tolerant ve hassas (Alata 21A ve PI281420) genotiplerinin yaprak, gövde ve kök Zn içerikleri Zn destekli ortamda birbirlerine benzer bulunmuş, Zn desteksiz ortamda ise Alata 21A genotipi %10 daha yüksek Zn içeriğine sahip olmuştur. Zn destekli ortamda F1 bitkileri Zn içeriği bakımından da heterosis göstermiştir ve yaklaşık %15 daha yüksek Zn içermiştir. Zn desteksiz ortamda ise F1 bitkileri Alata 21A genotipine daha yakın Zn içeriği taşımıştır.



Şekil 4.8. Zn destekli (+Zn) ve Zn desteksiz (-Zn) ortamda yetiştirilen 21A, PI281420 (1844), ve F1 (PI281420x21A) bitkilerden bir kısmının hasat edilmeden önce genel görünümleri.

Cichy ve ark. (2005) fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) tohum Zn içeriğinin tek dominant bir gen tarfından kontrol edildiğini göstermiştir. Blair ve ark. (2009) yine fasulyede tohum Zn içeriğini belirleyen gen/QTL leri haritalamışlardır. Zn içeriğinin yaklaşık yarısını bir majör QTL ve diğer yarısını dört minör QTL' in kontrol ettiği ortaya konulmuştur.

Brown ve ark. (2011) patates yumrularındaki Zn içeriğini belirlemişler ve en düşük ve en yüksek Zn içeriğine sahip olan genotipler arasındaki farkı %50 (12 ve 18

µg/g kuru madde) ve geniş anlamda kalıtım derecesini 0,61 olarak bildirmişlerdir. Courtney ve ark (2008) tatlı patateste Zn içeriğinin genotipler arasında altı (6) kat fark ettiğini belirtmiş ve Zn içeriğinin kontrol eden genlerin geniş anlamda kalıtım derecesini H^2=0,82 olarak hesaplamıştır. Da Rosa ve ark (2010) fasulye tohumunda Zn içeriğini kontrol eden genlerin kalıtımını ortaya koymuşlardır. F1, F2, GM1P1, ve GM1P2 populasyonlarını kullanarak Zn içeriğinin 21,76 mg/kg - 53,48 mg/kg arasında değiştiğini ve dar anlamda kalıtım derecesinin 0,58 ile 0,78 arasında değiştiğini göstermiştir.

Elbendary ve ark. (1993) yüksek ve düşük yaprak Zn içeriğine sahip genotiplerin hibritlerinde yapılan çalışmada yüksek Zn içeriğine sahip hatların genel kombinasyon yeteneğinin daha yüksek olduğu ve yaprak Zn seviyesini en az dört (4) gen kontrol ettiğini belirtmiştir. Gelin ve ark. (2007) fasulye tohumunda Zn birikimini kontrol eden bir lokus (bir gen) olduğunu belirtmiştir.

Genc ve ark. (2003) yüksek ve düşük Zn etkinliğine sahip iki arpa genotipinden oluşturulan F2 ve F3 populasyonlarını kullanarak Zn etkinliğini belirleyen karakterin kalıtımının dominant olmayan tek gen olduğunu belirtmiştir.

Hartwig ve ark. (1991) Zn etkinliği düşük ve yüksek iki soya fasulyesi çeşidi düşük Zn içeren alanda F3 populasyonları ile birlikte yetiştirilmiş ve yaprak Zn analizine tabi tutulmuştur. Zn eksik alanda düşük verim veren (Zn etkinliği düşük çeşit) üst yapraklarında 18-25 µg/g Zn ve yüksek verim veren (Zn etkinliği yüksek çeşit) 48-56 µg/g Zn tespit edilmiştir. Aynı alanda (Zn içeriği yetersiz) yetiştirilen F3 populasyonundan elde edilen sonuçlar Zn alım etkinliğini belirleyen en fazla 2-3 gen olduğuna işaret etmektedir.

Quijano-Guerta ve ark. (2002) çeltikte Zn toleransı ile verim arasında verimi olumsuz etkileyen bir durum olmadığını ve düşük Zn içeren topraklardaki Zn eksikliğine tolerant genotiplerin çoğunlukla tuzluluk ve fosfor eksikliğine karşı da tolerant olduklarını; Zn toleransının Zn noksanlığı olan alanlarda bitki gelişmesinin erken dönemlerinde görsel skorlama ile tatmin edici bir doğrulukta belirlenebildiğini belirtmişlerdir.

Richard ve ark. (2011) *Arabidopsis thaliana*' daki doğal Zn toleransı ve Zn birikimini incelemiştir. Bu çalışmada farklı Zn konstantrasyonlarında yetiştirilen

bitkilerin kök ve sürgün büyümesi ve Zn içeriklerinin geniş anlamda kalıtım derecesi 0,36 ile 0,91 arasında değişmiştir. İlk defa Zn lateral kök gelişmesi için gerekli olduğu ortaya konulmuştur. Genotiplerin Zn toleransı seviyesi kök veya sürgün Zn içeriği ile ilişkili olmadığını ve köklerden sürgünlere Zn taşınması bitkilerin sahip olduğu Zn toleransının sadece bir kısmını açıklayabildiğini bildirmişlerdir.

Riseman ve ark. (2005) tarafından *Exatum* L. Zn etkinliğini kök katyon değişim kapasitesi ve tüm bitki Zn alımı ile test edilen çalışmada Zn etkinliği yüksek ve düşük genotipler arasında katyon değişim kapasitesi (27,2 ve 16,9 cmol/kg kuru kök ağırlığı), tüm bitki Zn alım oranı (0,048 ve 0,026 µM) belirlenmiştir. Araştırmacılar Mg x Zn interaksiyonunun Zn etkinliğine katkı yapabileceğini öngörmüştür. Spehar (1995) soya fasulyesinde 9x9 diallel melezlerde Zn alımının daha çok eklemeli genlerin kontrolünde olduğunu göstermiştir.

Streeter ve ark (2001) tarafından yürütülen başka bir çalışmada *Medicago* türlerinde Zn etkinliği yüksek olan genotipler daha az sürgün azalması, daha yüksek kök ağırlığı, sürgünlerde daha yüksek Zn konsantrasyonu ve bitki başına toplam Zn, ve daha dengeli sürgün/kök oranı göstermiştir. Tohum Zn içeriği, Zn etkinlik sıralamasını etkilememesine rağmen toplam verimi etkilemiştir.

Torun ve ark. (2000) 164 adet ekmeklik buğday genotipini Zn destekli ve Zn eksik ortamda test etmiştir. Zn etkinliği Zn eksik ve Zn destekli ortamda yetiştirilen bitkilerin toprak üstü kuru ağırlıklarının oranı olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre genotiplerin Zn etkinliği 0,33 ile 0,77 arasında değişmiştir. Zn eksikliğine tolerans sürgün Zn konsantrasyonundan bağımsız fakat her sürgündeki toplam Zn miktarı (içeriği) ile yakından ilişkili bulunmuştur. Zn eksik ortamda, Zn etkinliği yüksek genotiplerin sürgün kuru ağırlığı Zn etkinliği düşük genotiplerden 1,6 kat daha olduğu rapor edilmiştir.

Biberde Zn noksanlığı simptomunun kalıtımının belirlenmesi amacıyla yürütülen bu çalışmada Zn noksanlığı simptomunun muhtemel 2 gen tarafından kontrol edildiğine işaret etmektedir. Diğer taraftan Zn noksanlığı simptomunun dar anlamda kalıtım derecesi 0,246 ve geniş anlamda kalıtım derecesi 0,906 olarak belirlenmiştir. Mercimekte Zn konsantrasyonu için tahmin edilen geniş anlamda kalıtım sırasıyla %68 olarak (Thavarajah ve ark. 2009), *Arabidopsis thaliana*' daki

bitkilerin kök ve sürgün büyümesi ve Zn içeriklerinin geniş anlamda kalıtım derecesi % 36 ile % 91 olarak (Richard ve ark., 2011), fasulye tohumunda Zn içeriğini dar anlamda kalıtım derecesinin 0,56 ile %78 arasında (Da Rosa ve ark, 2010) belirlenmiştir. Dolayısıyla daha önce çeşitli bitki tür ve çeşitlerinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi söz konusu özelliğin yüksek kalıtıma sahip ve tek gen değilde çoklu genle kotrol edilen bir karakter olduğu görülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular diğer çalışmalarla doğrudan paralellik göstermektedir. Ayrıca bu çalışma biberde yürütülen ilk çalışma olması bakımından bundan sonraki biberde yürütülecek benzer çalışmalara ışık tutacağı beklenmektedir.

4.6. Genetik Haritalama

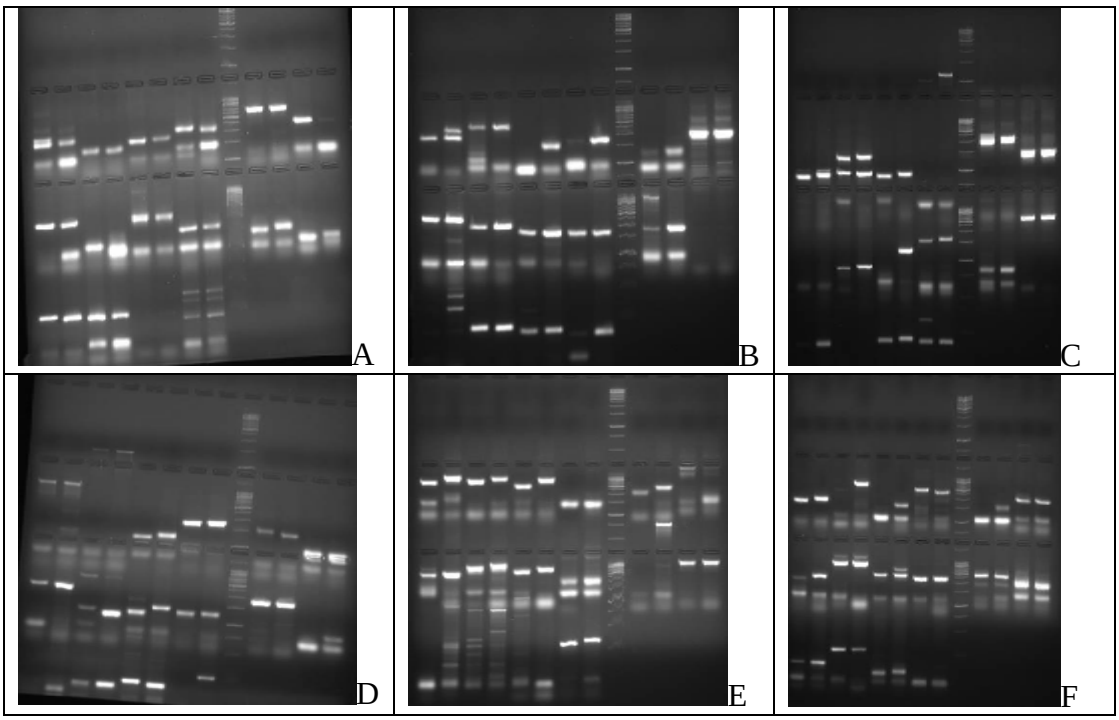
4.6.1. Haritalama populasyonunun oluşturulması

Zn etkinliğini haritalamak amacıyla seçici genotipleme yapılan 455 F2 bitkisi – Zn koşullarında; ve ebeveynler ve F1 bitkileride hem – Zn hemde +Zn koşullarında yetiştirilmiştir. Bitkiler saksılara aktarıldıktan 30 gün sonra Zn noksanlık simptomları kayıt edilmeye başlanmış ve 7 hafta boyunca haftalık olarak veri alınmıştır. Bitkilerin çinko noksanlık simptom değerleri 1-5 skalasına göre kayıt edilmiştir. Zn noksanlığına en hassas bitkiler ölmeden önce testleme sonlandırılmıştır. Her saksıda bir (1) bitki yetiştirilmiştir. -Zn koşullarında yetiştirilen (F2, ebeveynler, F1) bitkiler Zn hariç gerekli gübreleme (NPK) yapılmıştır. +Zn şartlarında yetiştirilen ebeveynler ve F1 bitkilerine ilaveten Zn verilmiştir.

Görsel skorlamada 1 (bir) değeri alan Zn noksanlığına en tolerant gruptan 100 adet ve 3,5-4,0-4,5-5,0 değeri alan 80 adet F2 bitkisinin tamamı F3 tohumları elde edilmesi için seraya dikilmiş ve kendilemeler yapılmıştır. Haritalama amacıyla kullanılan en hassas gruba ait 57 ve en tölerant gruba ait 69 F2:3 populasyonu kendilemeleri yapılan ve yeterli sayıda F3 tohumu oluşturan bitkiler arasından belirlenmiştir (12 adet en hassas gruba ait F2 bitkisinden yeterince tohum alınamamıştır).

4.6.2. Moleküler Çalışmalar

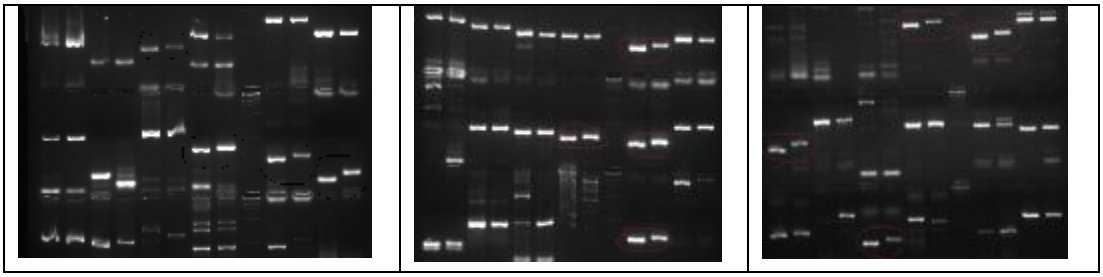
İlk önce ebebeynlere ait DNA' lar ile SSR markırları optimize edilmiştir (Şekil 4.9). Ardından SRAP primer kombinasyonları ile testleme yapılmış ve polimorfik SRAP markır kombinasyonları belirlenmiş ve Çizelge 4.12' de verilmiştir. İlk aşamada her kromozomdan mümkün olduğunca o kromozomu temsil edecek 5 SSR markır lokusu test edilmiştir.



Şekil 4.9. SSR primer setlerinin ilk 48 adedine ait PCR optimizasyon çalışması.

Şekil 4.9' da görülen PCR optimizasyon çalışması dahilinde 60 adet SSR lokusuna ait primerlerin bağlanma sıcaklıklar (*Tm*) ve polimorfizm durumları (%2' lik agaroz) tespit edilmiştir. Tek band veren primer kombinasyonları kullanıma hazır durumdadır. Birden fazla band veren lokusların çoğunda *Tm* (primer yapışma sıcaklığı) arttırılarak primer sadece ait olduğu lokusu çoğaltması (yani tek band vermesi) sağlanmıştır. Hiç band oluşturmayan primer kombinasyonları için *Tm* yüksek geldiğinden daha düşük *Tm* de optimize edilmiştir. Her bağlantı grubuna (kromozom) ait bir ile 4 arasında polimorfik SSR lokusu tespit edilmiştir. Geri kalan SSR markır polimorfizmi ilk önce %3' lük yüksek çözünürlüklü (high resolution)

agaroz jelde kontrol edilmiş ve burda polimorfizm verenler tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Her kromozoma (linkaj grubuna) ait polimorfik bulunan ve QTL ve/veya genleri barındıran kromozom(lar)da (linkaj gruplarında) bilinen SSR markırları linkaj haritası oluştururken ‘ anchor’ (kromozom-linkaj grubu) belirleyici olarak kullanılmıştır. Anchor markırlara ilaveten oluşturulan SRAP ve RAPD markırları ile ilk önce bir bağlantı haritası oluşturulmuş ve araştırmaya konu olan Zn etkinliğini belirleyen genleri/QTL leri barındıran kromozomlar belirlenmiştir. Böylece karakterlere yakın markırlar tespit edilmiştir.

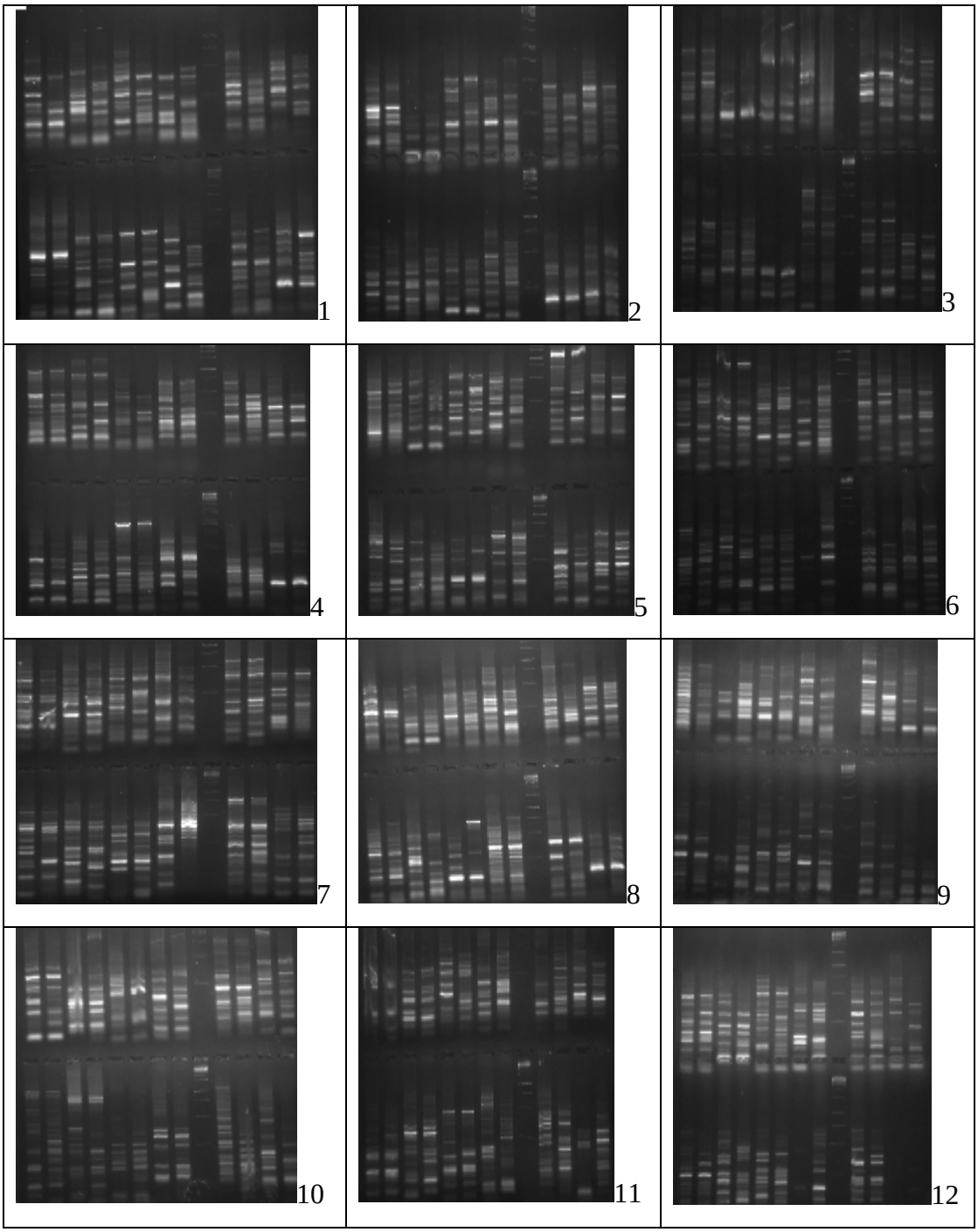


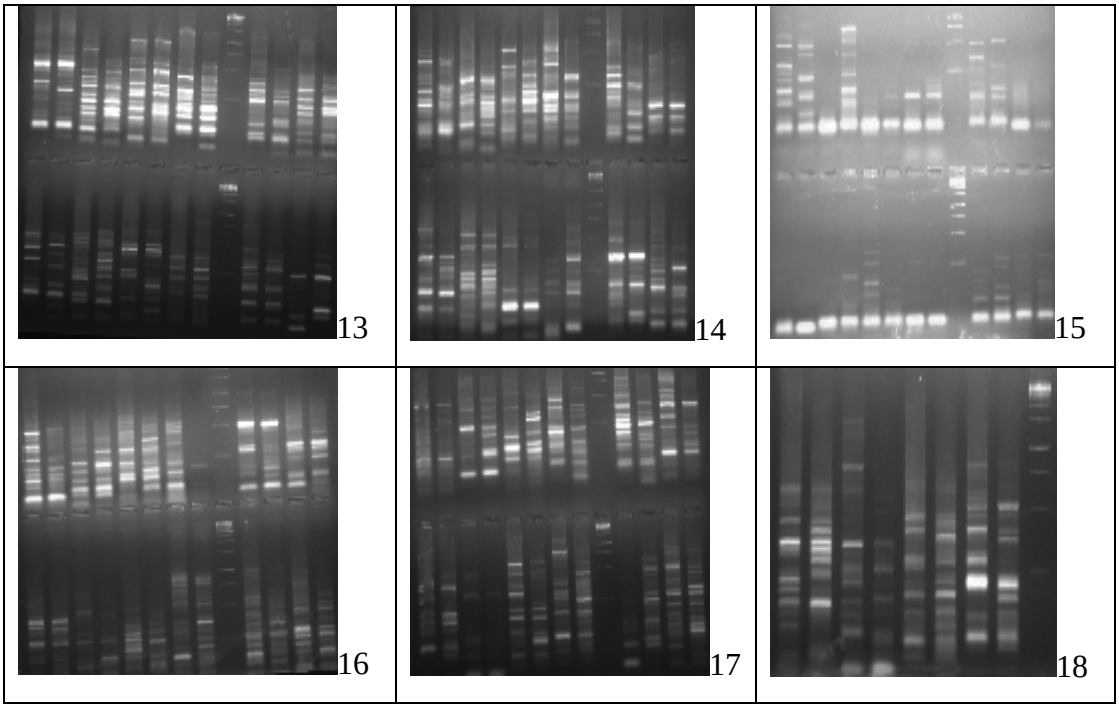
Şekil 4.10. SSR lokuslarına ait PCR ürünleri %3’ lük agaroz jeldeki görüntüleri

Çizelge 4.12. PI 281420 ve Alata 21A biber ebeveyenleri arasındaki SRAP polimorfizmi,

	Me1	Me2	Me3	Me4	Me5	Me6	Me7	Me8	Me9	Me10	Me11	Me12	Me13
Em1	2	4	3	3	2	1	1	4	2	2	2	2	3
Em2	0	0	3	2	3	5	3	2	2	1	1	1	2
Em3	2	1	0	1	4	4	0	2	2	4	0	2	4
Em4	1	3	2	3	2	2	1	2	5	1	1	0	5
Em5	4	2	3	4	2	2	4	5	3	2	5	5	5
Em6	5	3	5	5	4	4	2	0	4	4	3	3	6
Em7	4	3	4	3	4	5	0	2	5	2	4	4	5
Em8	2	2	3	3	3	4	4	2	4	1	1	1	1
Em9	5	2	2	3	2	1	3	4	5	2	2	0	3
Em10	5	2	0	2	5	5	1	0	4	4	5	4	3
Em11	0	4	4	4	4	3	2	5	5	4	6	5	4
Em12	2	1	5	4	0	4	4	1	3	4	3	0	2
Em13	4	0	5	3	5	2	0	2	3	2	2	3	3
Em14	6	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	2	2
Em15	2	4	5	1	4	2	3	2	0	1	2	4	4
Em16	2	5	6	5	3	2	3	4	3	3	4	3	5

Ebeveynlerle yapılan testlemede 208 adet SRAP primer kombinasyonları ile toplam 569 polimorfik band elde edilmiş, ve her primer çiftine düşen ortalama polimorfik markır sayısı 2,7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.11).





Şekil 4.11. PI 281420 ve 21A biber ebeveyenleri arasındaki Em (1-16) ileri ve Me (1-13) geri SRAP primer çifti kombinasyonları (208 adet) ile SRAP markır polimorfizmleri.

Ardından Şekil 4.11' de yer alan en çok ve en doğru şekilde skor edilebilen 31 adet SRAP primer kombinasyonları ile 138 adet F2 bitkisinde toplam 93 adet polimorfik band skor edilmiştir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14). Daha sonra daha iyi bağlantı grupları oluşturmak amacıyla 12 adet RAPD primeri kullanılarak toplam 46 adet polimorfik band haritalama çalışmasına ilave edilmiştir (Çizelge 4.15).

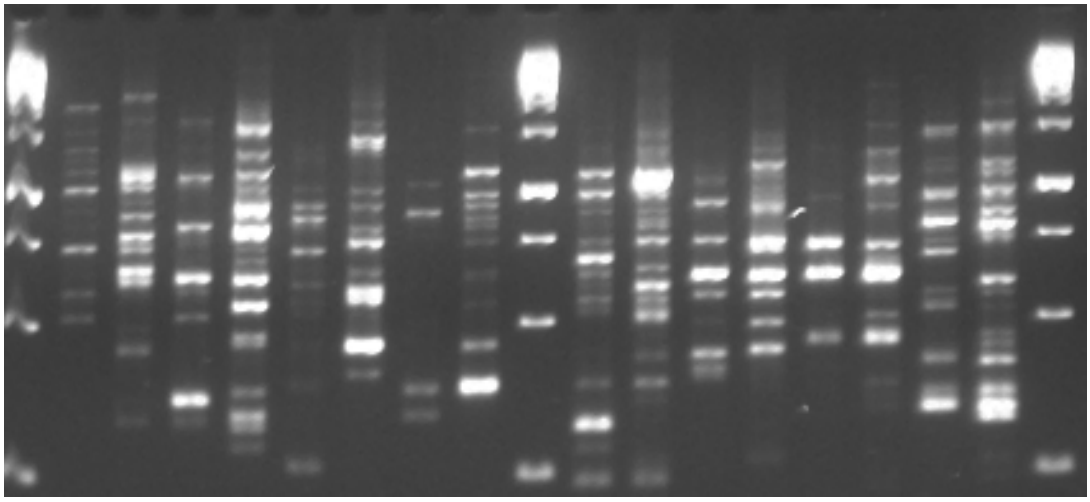
Devamında biber genetik haritasını temsil eden Solgenomics.net' te sekanslar ve harita bilgileri verilen Wu ve ark. (2009) tarafından bildirilen ve *C. annuum* x *C. frutescens* türler arası melez populasyonunda entegre biber haritasını oluşturan markırlar, kromozom (bağlantı grupları), markır türü, kromozom üzerindeki yerleri bilinen 24 adet SSR markırı(Çizelge 3.4) ile haritalama populasyonu ve ebeveynler taranmış ve skorlanmıştır.

Çizelge 4.13. Şekil 4.12' de verilen SRAP jel resimlerine ait jel numaraları ve ilgili jellere ait primer kombinasyonları.

Jel No	Primer çifti	Jel No	Primer çifti
1	Em1-(Me1-Me12)	10	Em10-(Me1-Me12)
2	Em2(Me1-Me12)	11	Em11-(Me1-Me12)
3	Em3-(Me1-Me12)	12	Em12-(Me1-Me12)
4	Em4-(Me1-Me12)	13	Me13 -(Em1-Em16)
5	Em5-(Me1-Me12)	14	Em13-(Me1-Me12)
6	Em6-(Me1-Me12)	15	Em14-(Me1-Me12)
7	Em7-(Me1-Me12)	16	Em15-(Me1-Me12)
8	Em8-(Me1-Me12)	17	Em16-(Me1-Me12)
9	Em9-(Me1-Me12)	18	Me13-(Em13-Em16)

Çizelge 4.14. SRAP primer çalısmalarında tüm örneklerin çalışıldığı primer kombinasyonları

No	Primer Çifti	Polimorfik Band	No	Primer Çifti	Polimorfik Band
1	Em11 Me11	6	17	Em10 Me16	4
2	Em6 Me13	2	18	Em13 Me5	4
3	Em16 Me3	2	19	Em4 Me9	1
4	Em14 Me1	2	20	Em5 Me12	3
5	Em6 Me1	2	21	Em11 Me12	3
6	Em15 Me3	1	22	Em4 Me13	2
7	Em10 Me5	3	23	Em10 Me11	2
8	Em13 Me5	1	24	Em5 Me11	11
9	Em7 Me6	3	25	Em5 Me13	5
10	EM10 Me6	3	26	EM16 Me4	3
11	EM3 Me6	1	27	EM9 Me1	1
12	EM3 Me10	4	28	EM16 Me13	1
13	EM5 Me8	3	29	EM11 Me8	4
14	EM6 Me6	3	30	EM16 Me8	2
15	EM1 Me2	4	31	EM12 Me10	3
16	EM8 ME7	4		TOPLAM	93



Şekil 4.12. RAPD primerleri ile ebeveynlerin testlenmesi sonucu elde edilen jel görüntüsü.

Çizelge 4.15. RAPD primer çalısmalarında en fazla polimorfizm veren ve tüm örneklerin çalışıldığı primerler

No	Markır	Polimorfik Band Sayısı
1	OP108	6
2	OPAC10	4
3	OPAH2	4
4	OPB01	4
5	OPB20	1
6	OPM19	4
7	OPM10	2
8	OPM11	7
9	OPL04	3
10	OPI03	2
11	TIB17	2
12	TIBMBB04	7
	Toplam	46

Çizelge 4.16 Bağlantı gruplarının oluşturulması ile elde edilen veriler

Kromozom	KR1	KR2	KR3	KR5	KR6	KR8	Toplam
Toplam	5	3	3	7	5	8	31
SSR	2	2	1	1	1	5	12
SRAP	3	-	2	5	3	3	16
RAPD	-	1	-	1	1	-	3
Uzunluk(cM	95,4	21,1	83,7	113,5	59,3	95,5	468,5
İki Markır Arası Ortalaama Mesafe	19,1	7,03	27,6	16,2	11,9	11,9	
Kromozom	KR9	KR10	KR11	KRX	KRXX	KRXXX	Toplam
Toplam	7	7	5	4	5	3	31
SSR	3	2	2	-	-	-	7
SRAP	3	4	1	3	4	1	15
RAPD	1	1	2	1	1	2	8
Uzunluk(cM	114,4	104,9	94,3	88,5	39,3	19,7	461,1
İki Markır Arası Ortalaama Mesafe(cM)	16,3	14,9	18,9	22,1	7,86	6,6	14,99

4.6.3. Genetik Haritanın Oluşturulması

JoinMap 4.1 proğramı kullanarak toplam 163 poimorfik markır ile 12 adet bağlantı grubu oluşturulmuştur. Bağlantı grubu oluşturulurken Ki-kare testine uymayanlar elemine edilmiş ve en uygun 62 adet markır bağlantı grubu oluşturmada kullanılmıştır. Bağlantı grupları oluşturmada 31 adet SRAP, 19 SSR ve 11 adet RAPD primerinden elde edilen polimorfik bandlar kullanılmıştır (Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15). Toplam 62 adet polimorfik band ile 12 bağlantı grubu olacak şekilde 929,6 cM uzunluğunda bir harita elde edilmiştir. Aynı haritada her bir bağlantı grubuna ait uzunluk Çizelge 4.16' da verilmiştir. Haritada iki markır arasındaki ortalama mesafe 14,99 cM olarak belirlenmiştir. Gruplar oluşturulurken biber genetik haritasını temsil eden Solgenomics.net' te sekansları ve harita bilgileri verilen Wu ve ark. (2009) tarafından bildirilen ve *C. annum* x *C. frutescens* türler arası melez populasyonunda entegre biber haritasını oluşturan kromozom üzerindeki yerleri bilinen 24 adet SSR markırları dikkate alınarak hangi bağlantı grubunun hangi kromozoma karşılık geldiği belirlenmiş ve kromozom numaraları verilmiştir. Ancak 3 adet bağlantı grubu içerisine giren herhangi bir SSR markırı tespit edilemediği için muhtemel 4., 7. ve 12. Kromozomlara karşılık gelebilecek bağlantı gruplarına X, XX ve XXX şeklinde semboller verilmiştir.

Biberde 132 adet tek kopya tipi PCR-temelli markör (BAC-son dizilimlerinden 57 adet STS, RFLP' den 13 adet STS ve 62 adet SSR) geliştirilmiştir. Bu markırlar daha önce geliştirilmiş olan 1830 adet markırla birlikte kullanılmış ve JOINMAP 3.0 programı ile birleştirilerek harita oluşturulmuştur. Bu harita 12 kromozomda 169 adet SSR, 354 adet RFLP, 23 adet STS BAC-son dizilimlerinden, RFLP' den 13 adet STS, 152 adet AFLP, 51 adet WRKY, ve 99 adet rRAMP markırdan oluşturulmuştur. Bu birleştirilmiş harita 2 adet türlerarası ve 2 adet türiçi biber populasyonundan olmak üzere 4 adet genetik haritayı kapsamaktadır. Aynı zamanda bu harita türlerarası populasyonda 1858 cM harita uzunluğuna sahip 805 adet markırı ve tür içi populasyonda 1892 cM harita uzunluğuna sahip 745 adet markırı içermektedir (Lee ve ark., 2008).

Biberde şimdiye kadar türler arası (Livingstone ve ark., 1999; Rao ve ark., 2003; Yi ve ark., 2006) ve tür içi (Barchi ve ark., 2007; Ben Chaim ve ark., 2001; Lefebvre ve ark., 1995) farklı genetik kaynaklarla ve amaçlarla birçok genetik harita oluşturulmuştur. Birçok harita AFLP) ve RAPD gibi çoklu markırlı sistemler kullanılarak oluşturulmuştur. SSR markırları ile *C.annuum x C. frutescens* türler arası melez popülasyonu (Portis ve ark., 2006; Ben-Chaim ve ark., 2006) ve *C annuum x C. chinense* popülasyonları (Yi ve ark., 2006; Lee ve ark., 2009) haritalanmıştır. Diğer taraftan *C. annuum* cv. NuMex RNaky x *C. frutescens* var. BG 2814-6 F2 popülasyonu kullanılarak SSR, COSII, CAPS, dCAPS, ve SCAR markırlarından oluşan biber entegre haritası yayınlanmıştır (Wu ve ark., 2009). Bu harita (solgenomics.net' de Pepper-FAO3 ve Pepper-COSII) biberde yayınlanan ilk tam haritadır. Yani 12 biber kromozomuna denk gelen 12 bağlantı grubu belirtilmiştir. Bu entegre biber haritası toplam 1613 cM uzunluğunda, ve 271 COSII markırı (CAPS, dCAPS,SCAR), 25 domates ve biberden elde edilmiş PCR temelli markır, 22 domates RFLP markırlarından elde edilen PCR temelli markır, 63 biber SSR markırları olmak üzere toplam 381 markırdan oluşmaktadır. Bunlara ilaveten Portis ve ark. (2006) tarafından bildirilen 47 SSR markırı da *C. annum* x *C. frutescens* melez popülasyonunda kullanılabilir niteliktedir. Bu çalışmada da SRAP ve RAPD markır sistemlerinin yanında (Wu ve ark., 2009).tarafından geliştirilen SSR markırları kullanılarak daha önce yapılan çalışmalarla bağlantı kurulmuştur. Dolayısıyla bu çalışmadan elde edilen sonuçlar daha anlaşılır olabilecektir.

4.7. QTL Analizinin Yapılması

JoinMap 4.1 proğramında bağlantı haritası oluşturulduktan sonra Kantitatif özellikler MapQTL.6 programında analiz edilmiştir (Van Ooijen, 2011). Bu programda F2 bitkilerine ait DNA örneklerinden elde edilen moleküler veriler ile aynı F2' lerin kendilenmesi ile elde edilmiş F3 bitkilerine ait Zn Etkinliğini belirleyen özelliklere ait veriler kullanılmıştır. Programda Kruskal Wallis ve İnternal Mapping analizleri yapılmıştır. Sözü edilen analizlerde Kantitatif Karakter Lokusları (QTL) ve belirtilen kromozom bölgesinde bu QTL' lerin bulunma ihtimallerini LOD değerleri

ile birlikte verilmektedir. Analiz sonucunda 9 özelliğe ait toplam 41 adet QTL belirlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla;

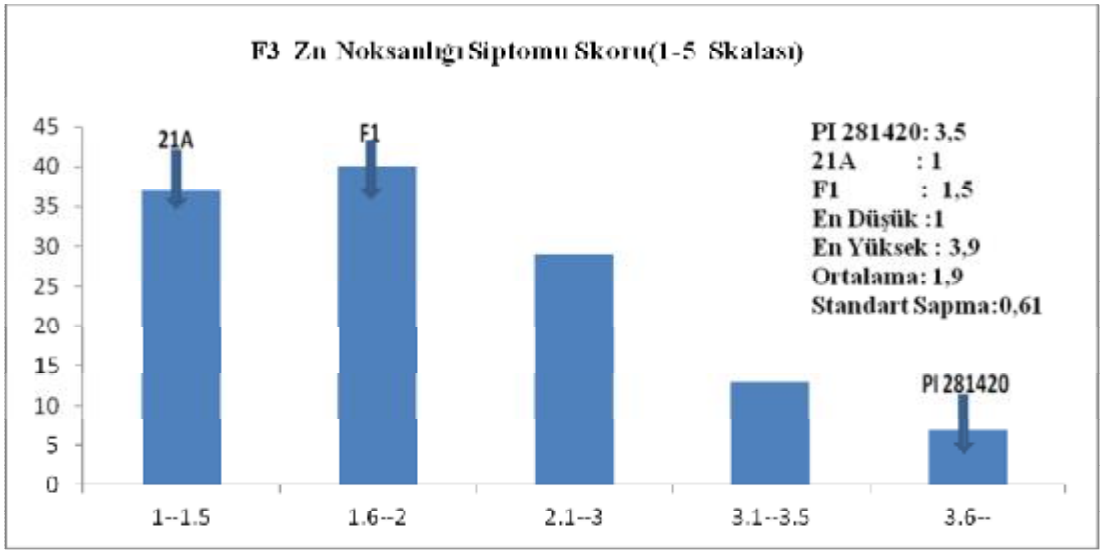
4.7.1. F3 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık Simptomlarına Ait Skor

Genotiplerin Zn eksikliği yapraklarda şiddeti görülebilir eksiklik gibi fenotipik ifadelere dayanarak belirlenebilir. Zn noksanlığının görülür semptomları genotipler arasında kaydadeğer olarak değişebilir ve belirgin olarak verim ve Zn eksikliğiyle ilişkilidir (Genc ve ark., 2002b).

Bu çalışmada QTL haritalamada kullanılan 126 adet F2 bitkisinin kendilenmesi ile elde edilen F3 popülasyonunda 42. günden başlayarak (çiçeklenme başlangıcı) 1 hafta arayla 6 defa Zn noksanlığı simptomu için skor yapılmıştır (1-5 skalası). Skorlama işlemi 77. günde sona erdirilmiş ve en son yapılan skor QTL haritalamada kullanılmıştır. Şekil 4.13' te gösterildiği gibi F3 popülasyonu Zn noksanlığı simptomu bakımından geniş bir varyasyon göstermiştir. Dayanıklı ebeveyn Alata 21A hiç simptom göstermeyen grup içerisinde yer alırken hassas ebeveyn PI281420 beklenildiği gibi en hassas grup içerisinde yer almıştır. F2 popplasyonunda yapılan Zn noksanlığı simptomu skorunda da benzer dağılım elde edilmiştir. Söz konusu Zn noksanlığına bağlı olarak ortaya çıkan simptom dayanıklı ebeveyn olan Alata 21A tarafına doğru yoğunlaşmıştır. Bu dağılım ise bu özelliğin dominant olduğuna işaret etmektedir. GM1P1, GM1P2 ve F2 populasyonları kullanılarak hesaplanan Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden minumum gen sayısı 1,61 olarak belirlenmiş ve X^2 analizine göre 12:3:1 modeline uygun olmuştur. Bu sonuçlar ise dominant epistasi işaret etmiştir. Dolayısıyla F3 populasyonundaki dağılım da buna işaret etmektedir.

Diğer taraftan F3 popülasyonunda elde edilen skor değerleri ile toplam kuru madde ağırlığına bağlı olarak hesaplanan Zn etkinliği ile negatif fakat oldukça yüksek (r=-0,77) korelasyon elde edilirken toplam çinko içeriği Zn etkinliği ile yine negatif fakat yüksek (r=0,64), yaprak Zn içeriği Zn etkinliği ile düşük (r=0,46) korelasyon elde edilmiştir (Çizelge 4.17).

126 adet F2:F3 populasyonunda her bir genotipe ait 12 adet bitkinin skor ortalaması MapQTL programında analiz edilmiş ve bu özellik üzerinde en büyük etkiye sahip olan en az 4 adet QTL 1., X, 8., ve 10. kromozomlarda haritalanmıştır. Söz konusu özellik için en önemli markırlar EM8ME7.270, OPAH2.290, EM14ME1.480 ve EM5ME13.350 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17). Aynı zamanda bu belirlenen QTL' ler F3 Zn noksanlığı simptomunun %15,4' ünü açıklamıştır (Çizelge 4.17).



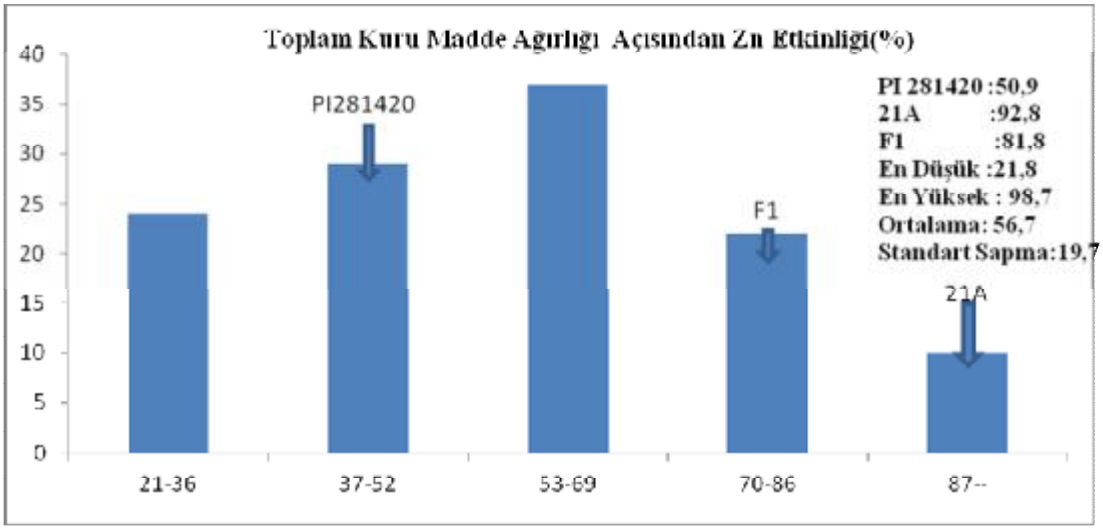
Şekil 4.13. F3 popülasyonu Zn noksanlığı simptom skoru dağılımı

4.7.2. Toplam Kuru Madde Ağırlığı Açısından Zn Etkinliği

126 adet F2 bitkisinin kendilenmesinden elde edilen ve +Zn koşulunda 12 adet, -Zn koşulunda ise 12 adet olmak üzere toplam 24 adet F3 bitkisinin toplam kuru madde (yaprak+gövde+kök) ağırlığı(g) bakımından çinko etkinliği materyal ve metod bölümünde belirtildiği gibi hesaplanmıştır. Şekil 4.14' te görüldüğü gibi Zn noksanlığına dayanıklı olan ebeveyn olan Alata 21A en yüksek çinko etkinliğine sahip F3 ailesi içerisinde yer alırken hassas ebeveyn olan PI281420 ise %50,9 ile düşük F3 ailesi içerisinde yer almıştır. hassas x dayanıklı melezinden elde edilen F1 bitkileri ortalaması ise %81' lik Zn etkinliği ile hassas ve dayanıklı ebeveynler arasında yer almıştır. F1 bitkileri daha çok ebeveyn ortalamalarını (%71,85) geçerek

dayanıklı ebevene doğru yaklaşmıştır. Bu durum ise dayanıklılığın kısmen dominant olduğunu göstermektedir.

İncelenen diğer özellikler ile toplam kuru madde ağırlığına bağlı hesaplanan Zn etkinliği ile Toplam Zn içeriği arasında korelasyon pozitif (r=0,83), yaprak Zn içeriği arasında pozitif (r=0,62), F3 popülasyonunda Zn Noksanlığı için yapılan Zn noksanlık simptom skoru arasında ise negatif (r=-0,77) korelasyon elde edilmiştir (Çizelge 4.17). Bu durum ise Zn noksanlığının tespitinde yalnız başına yaprak Zn içeriğinin yeterli gelmediğini göstermesi bakımından önemlidir.



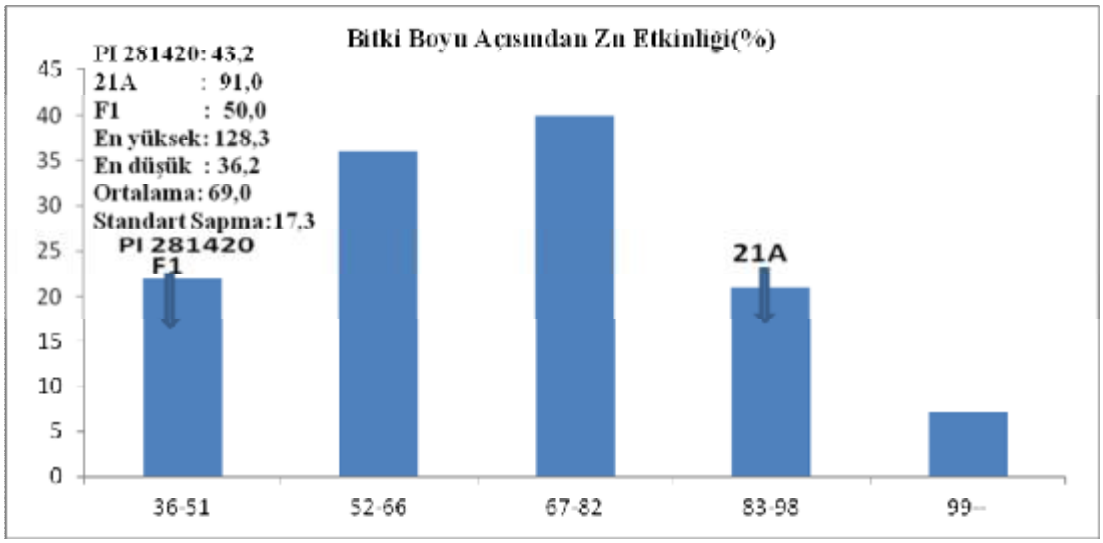
Şekil 4.14. Toplam kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği dağılımı

Zn noksanlığında noksanlık simptomu oluşmasa dahi bitki kuru maddesinde önemli oranda azalış meydana gelmektedir. Bu çalışmada kullanılan ebebeynler ve ebebeynlerin melezlenmesi ile elde edilen F1 bitkileri ve bu bitkilerin kendilenmesi ile elde edilen 126 adet F2 bitkisi, ardından bunlarında kendilenmesi ile elde edilen F3 ailesinin Zn noksan toprakta testlenmesi ile geniş bir varyasyon elde edilmiştir. Bu varyasyonun oluşmasında ekili olan en az 4 adet QTL haritalanmıştır. Bu QTL' ler 3., 8., 11 ve X kromozomlarında yer almaktadırlar. Söz konusu QTL' lerden bir tanesi 8. kromozomda F3 popülasyonunda yapılan skorlara ait QTL' le birlikte aynı yerde yer almıştır. Zaten her iki özelliğin arasındaki korelasyon incelendiğinde negatif fakat oldukça yüksek (r=0,77) olduğu görülebilecektir (Çizelge 4.17). Bu yüzden QTL' lerden en az birisinin ortak olması bu yüzden olabilir. Diğer taraftan söz

konusu özellik için belirlenen 4 adet QTL bu özelliğin ancak %23' ünü açıklayabilmiştir (Çizelge 4.17).

4.7.3. Bitki Boyu açısından Zn Etkinliği

Zn noksanlığının neden olduğu fizyolojik etkilerden biriside bitki boyunda azalma yapraklarda rozetleşme şeklinde küçülmeler ve boğumlar arasının kısalmasıdır. Bu çalışmada +Zn ve – Zn koşullarında test edilen F3 biber bitkilerinin bitki boyu bakımından Zn etkinliği belirlenmiş ve elde edilen değerler Şekil 4.15' te gösterilmiştir. Bitki boyu bakımından geniş bir varyasyon belirlenmiş ve dayanıklı ebeveyn olan Alata 21A' ya doğru bir eğilimin olduğu gözükmektedir. Diğer özelliklerde olduğu gibi Alata 21A yine en yüksek etkinlik değerleri arasında yer alırken hassas ebeveyn olan PI 281420 orta-düşük değerler arasında yer almıştır. Her iki ebeveynden de düşük ve yüksek değerler elde edilmiş ve elde edilen bu veriler trangeresif açılımın olduğunu göstermektedir. Ayrıca bitki boyuna bağlı Zn etkinliği ile toplam kuru madde Zn etkinliği arasındaki oldukça yüksek korelasyon elde edilmiştir (r=0,85).



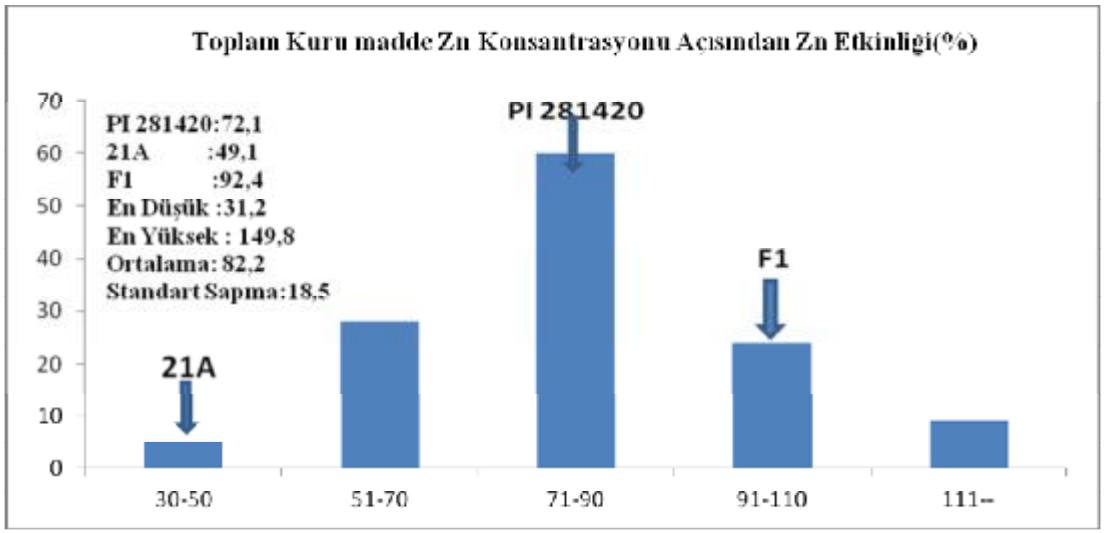
Şekil 4.15. Bitki boyu açısından Zn etkinliği dağılımı

Zn noksanlığı bitkilerde biyokimyasal faaliyetlerin çoğuna zarar verebilir, yapraklarda damarlar arası kloroz, küçük ve biçimsiz yaprak gibi görülebilir

simptomlar ortaya çıkarabilir ve boğum aralarını kısaltabilir (Marschner, 1995). Biberde, görülebilir Zn eksiklik semptomları yapraklarda beyaz noktalar ve yaprak ortasında çökme, nekroz, yapraklarda kloratik bölgeler ve büyümesi engellenmiş yaprak ve bitkilerdir (kişisel gözlem). Dolayısıyla boğum aralarının kısalmasıyla birlikte bitki boyunda da önemli derecede azalış meydana gelmektedir. Bu çalışmada 126 adet F2 popülasyonuna ait F3 bitkileri bitki boyu bakımından incelenmiş ve elde edilen veriler QTL analizine tabi tutulmuştur. Analiz sonucuna göre bitki boyuna etki eden 3., X, 5., 6., 8., 9 ve 11. kromozomda olmak üzere toplam 7 adet QTL haritalanmıştır. Bu QTL' lerden 4 adeti (3., 8., X ve 11.) toplam kuru madde ağırlığına göre hesaplanan Zn etkinliği QTL' leri ile aynı QTL' leri paylaşmışlardır (Çizelge 4.18). Yapılan korelasyon analizinde de toplam kuru madde Zn etkinliği ile bitki boyu Zn etkinliği arasındaki korelasyon yüksek (r=0,85) bulunmuştur(Çizelge 4.16). Dolayısıyla her iki özelliğe ait ortak QTL' lerin olması bu şekilde açıklanabilir. Diğer özelliklerden farklı olarak bitki boyu için belirlenen QTL' ler en yüksek söz konusu özelliği açıklama oranına(%39,4) sahip olmuştur (Çizelge 4.17)

4.7.4. Toplam Kuru Madde Zn Konsantrasyonu Açısından Zn Etkinliği

Dokulardaki kritik Zn konsantrasyonu (genellikle maksimum verim %90 olarak belirlenir) bitki türü, çeşidi, bitki yaşı, bitki parçası ve çevreye göre değişebilmektedir. Bütün sürgün, kök, genç yapraklar ve taneler Zn teşhisi için kullanılabilmektedir. Bitki besin durumu için alınan en uygun örneğin yaprak olduğu düşünülmektedir (Dang ve ark., 1993; Huang ve ark., 1996). Genel olarak kritik yaprak besin değerleri buğdayda 20 mg Zn/kg, çeltikte 15mg Zn/kg, mısır ve yerfıstığında 22 mg Zn/kg arasında değişir. Bütün genç yapraklar için değerler; sorgumda 8 mg Zn/kg, çeltikte 22 mg Zn/kg, buğday ve nohutta 25 mg Zn/kg olarak kaydedilmiştir. Ancak farklılıklar farklı çeşitlerin bu ürünleri arasında meydana gelebilir (Alloway, 2001).



Şekil 4.16. Toplam kuru madde Zn konsantrasyonu açısından Zn etkinliği(%) dağılımı

+Zn ve – Zn koşullarında test edilen F3 bitkilerinin toplam kuru maddesinde analiz edilen Zn konsantrasyonuna (ppm) göre hesaplanan çinko etkinliği ile ilgili bulgular şekil 4.16' da gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre toplam kuru madde ağırlığının tersine dayanıklı ebeveyn olan Alata 21A en düşük değerler arasında yer alırken hassas ebeveyn kuru madde ağırlığına benzer olarak düşük ve orta değerler arasında yer almıştır. F1 ise iki ebevenden daha yüksek değerler arasında yer almıştır. F3 ailesi içerisinde F1 ve ebevenlerden daha yüksek değerlere sahip bitkiler elde edilmiştir. Bu durum şu şekilde izah edilebilir. Alata 21A diğer ebeveyne göre daha hızlı gelişmekte ve yaprak sayısı ve alanındaki artışla beraber köklerdeki artış bitki bünyesindeki mevcut Zn' nin seyrelmesine neden olmakta ve toplam kuru maddedeki Zn konsantrasyonunda düşüşe sebeb olabilir. Oysa PI281420 nolu genotip ise yavaş büyümekte ve bünyesinde daha fazla ve istikrarlı Zn birikimi sağlamış olabilir. F1 bitkileri ise her iki ebeveynin özelliğinide taşıyabileceğinden hem hızlı gelişme hemde birim alanda Zn birikimini sağlayarak iki ebeveyn ortalamasının üzerinde değer elde edebilmiştir. Toplam kuru madde ağırlığı ile toplam Zn konsantrasyonu arasında oldukça düşük(r=-0,09) korelasyon elde edilmiştir (Çizelge 4.17). Bunun nedeni büyümeye bağlı oluşan seyrelme etkisiyle dokulardaki Zn konsantrasyonundaki düşüş ile ilgili olabilir. Bunların yanında toplam kuru madde Zn konsantrasyonuna bağlı olarak hesaplanan Zn etkinliği F3

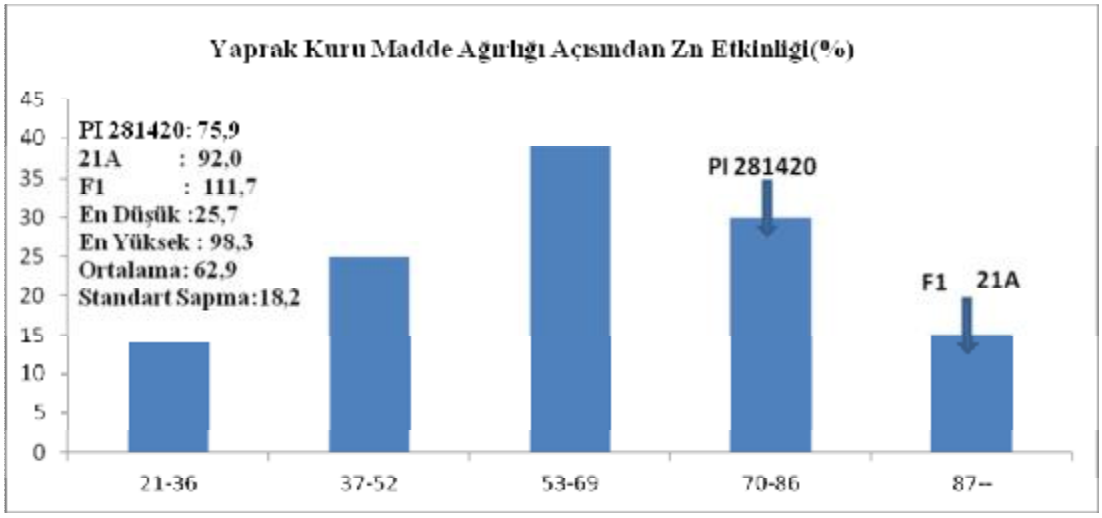
populasyonuna ait genotiplerin bir çoğunda ebeveynlerden düşük ve yüksek değerler alarak transgresif açılım göstermiştir. Bu Sadeghzadeh ve ark.(2010)' m arpada yürütmüş oldukları çalışmada elde ettikleri tohum Zn içeriği ve konsantrasyonuna benzer olarak özelliğin çoklu genle kontrol edilen bir yapı gösterdiğine işaret etmektedir.

Bu çalışmaya konu olan F2 popülasyonu genetik harita oluşturmada kullanılırken F2 popülasyonunun kendilenmesi ile elde edilen F3 popülasyonunda ICP cihazı ile kök, gövde ve yapraklara ait dokularda belirlenen toplam Zn konsantrasyonuna ait veriler QTL analizinde kullanılmıştır. Söz konusu özellik için toplam 6 adet QTL belirlenmiştir. Bu QTL' ler 3., 6., 8., 9 ve XXX. kromozomlarda haritalanmıştır. 3. ve 8. kromozomlarda yer alanlar QTL' ler toplam kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği ve bitki boyu açısından Zn etkinliğine ait özelliklere ait 2 adet QTL ile birlikte aynı yerde yer almışlardır (Çizelge 4.18). Toplam kuru madde zn konsantrasyonu açısından Zn etkinliğini için belirlenen 5 adet QTL bu özelliğin toplam %28,2' sini açıklayabilmiştir (Çizelge 4.17).

4.7.5. Yaprak Kuru Madde Ağırlığı Açısından Zn Etkinliği

Alata 21A ve PI281420 melezinden elde edilen F3 populasyonu bitkilerine ait yaprak, gövde ve kök ayrı ayrı hasat edilerek ölçüm ve analizler yapılmıştır. Şekil 4.17' de yaprak kuru madde ğırlığına göre hesaplanan Zn etkinliğine ait dağılım verilmiştir. Şekil 4.17' de hassas ebeveynden daha düşük Zn etkinliğine sahip genotipler gözükürken dayanıklı ebeveynden daha yüksek etkinliğe sahip genotipler gözükmemiştir. F1 bitkileri dayanıklı ebeveyne yakın bir değer almıştır. F1 bitkilerinin bu aralıkta yer alması yaprak kuru madde ağırlığı bakımından eksik dominans etkinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca yaprak kuru madde ağırlığı bakımından hesaplanan Zn etkinliği toplam kuru madde ağırlığı bakımından hesaplanan Zn etkinliğine benzerlik göstermektedir. Zaten yaprak kuru madde ağırlığı ile toplam kuru madde ağırlığı bakımından hesaplanan Zn etkinliği arasındaki korelasyon oldukça yüksek (r=0,952) bulunmuştur (Çizelge 4.17). Ayrıca yaprak kuru madde ağırlığı Zn etkinliği ile yaprak Zn içeriği etkinliği arasında

korelasyonda yüksek bulunmuştur (r=0,68). Elde edilen bu sonuç ise çinko etkinliğinin hesaplanmasında yalnızca yaprakların değerlendirmeye alınması ile istenen sonuca ulaşılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.17. Yaprak kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği dağılımı

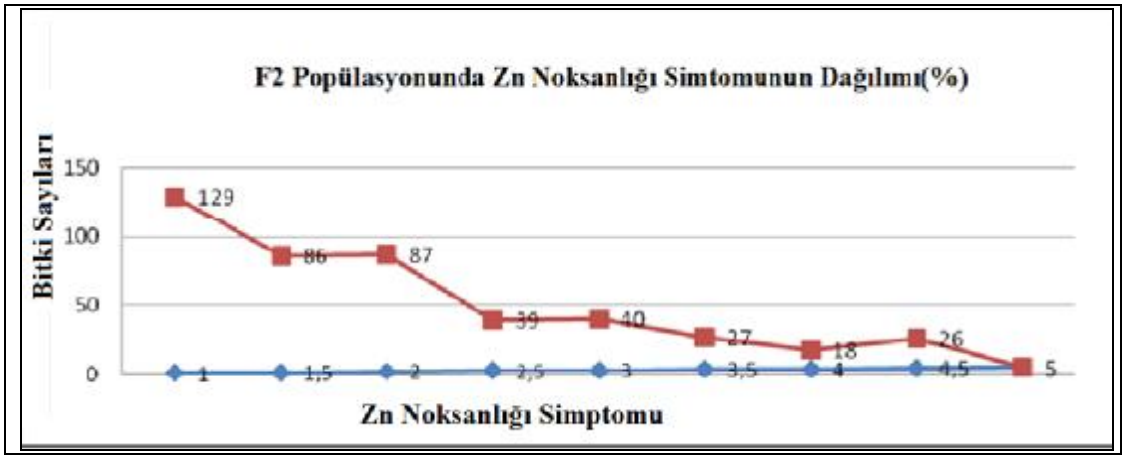
-Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen 126 adet F2 popülasyonuna ait F3 ailesinde yaprak kuru madde ağırlığına bağlı Zn etkinliği özelliği için 3 adet (3., 8 ve 11. kromozomlarda) en önemli QTL haritalanmıştır (Şekil 4.22 ve Çizelge 4.18). Bu QTL' lerin 3' üde hem bitki boyu hemde toplam kuru maddeağırlığı açısından Zn etkinliğine ait 3 QTL' le aynı bölgede yer almışlardır. Bu durum bu üç özelliğin Zn etkinliğinde önemli rol oynadığını açıklamaktadır. Yine bu özellik için belirlenen 3 adet QTL bu özelliğin %15,3' ünü açıklamaktadır (Çizelge 4.17).

4.7.6. F2 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık Simptomlarına Ait Skor

Biberde, görülebilir Zn eksiklik semptomları yapraklarda beyaz noktalar ve yaprak ortasında çökme, nekroz, yapraklarda kloratik bölgeler ve büyümesi engellenmiş yaprak ve bitkilerdir (kişisel gözlem). Buğdayda Zn eksiklik belirtileri genellikle genç sürgünlerde sonra yer yer beyazımsı- kahverengi olarak sonuçlanan ve daha sonra ince uzun yapraklarda nekrotik lezyonlar olarak gözlenmektedir (Cakmak ve Braun, 2001; Rengel ve Graham, 1995c). Semptomların görünüşü diğer

besinlerin temini gibi büyüklük, noksanlık aşaması, bitki yaşı ve çevre şartlarıyla değişebilir (Brennan ve ark., 1993).

Zn etkinliğini haritalama amacıyla yetiştirilen 455 F2 bitkisine ait Zn noksanlığı simptomu için yapılan skordan elde edilen veriler Şekil 4.18' de görülen dağılımı oluşturmuştur. Zn noksanlığı simptomu dağılımı incelendiğinde PI 281420 ebeveyninden daha şiddetli simptom veren F2 bitkilerine rastlanmış, fakat Alata 21A çok tolerant olduğundan daha tolerant F2 bitkileri varsa bile tespit edilememiştir. Dağılım, Zn noksanlığı symptom oluşumunun yüksek oranda dominant (fakat %100 dominant değil), birden fazla gen tarafından kontrol edildiğini işaret etmektedir.



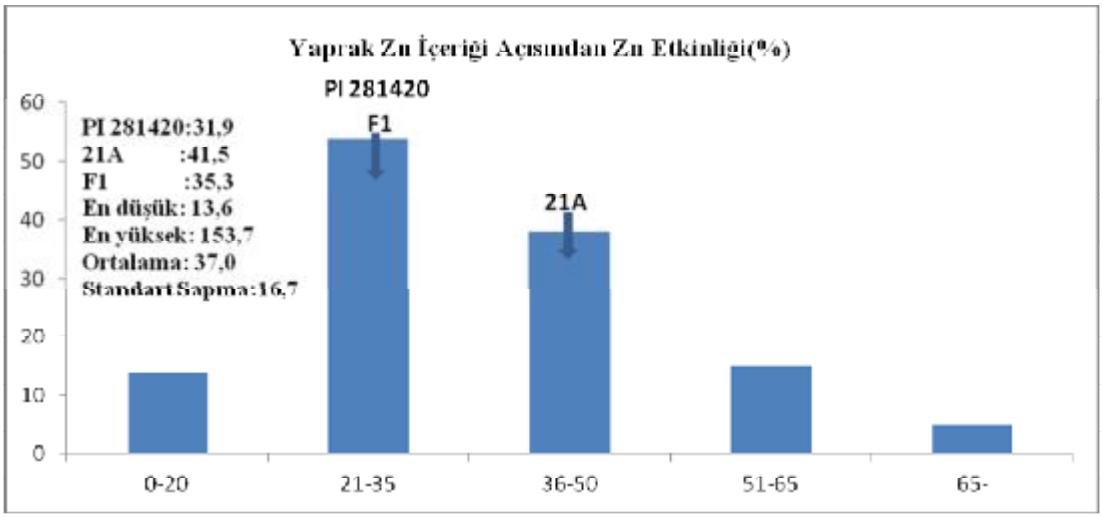
Şekil 4.18. Zn etkinliğinin haritalanması amacıyla test edilen F2 bitkilerinin Zn noksanlık simptomlarının dağılımı

Söz konusu özelliğin kalıtımı hesaplandıktan sonra aynı veriler QTL analizde kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre F2 popülasyonda ortaya çıkan noksanlık simptomunda etkili olan 8. kromozomda 2 adet, 10. kromozomda 1 adet olmak üzere 3 QTL haritalanmıştır. 8. ve 10. kromozomda yer alan QTL' ler F3 skorlamasında haritalanan QTL' lerin yakınında yer almışlardır. F3 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık simptomu skorunda 4 adet QTL belirlenirken F2 popülasyonu Zn noksanlık simptomu için 3 adet QTL belirlenmiştir(Şekil 4.22 ve Çizelge 4.18). Bunun nedeni türler arası melezlemeden oluşturulan popülasyonda heterozigotluğun F3 popülasyonunda hala devam ediyor olmasından ayrıca F2 poülasyonunda tek bitkide yapılan skorlamadaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Ayrıca F2

popülasyonda Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden gen sayısı Wright (1968)' a göre 1.61, Wright (1952) ve Falconer, (1989)' a göre 1.54 olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamaya göre söz konusu özelliği 2 adet genin kontrol ettiği görülmektedir. 8. ve 10. kromozomlarda yer alan QTL' ler özelliği kontrol eden gen sayısını teyit eder niteliktedir. Bunların yanında 8. kromozomda yer alan QTL diğer incelenen bütün özelliklerin yer aldığı bölgede haritalanmıştır. Bu ise F2 popülasyonda ortaya çıkan Zn noksanlık simptomunu kontrol eden en az 1 adet QTL diğer özelliklerle ortak hareket ettiğini göstermektedir. F2 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık simptomu için belirlenen 3 adet QTL bu özelliğin %17.9' unu açıklamıştır (Çizelge 4.17).

4.7.7. Yaprak Zn İçeriği Açısından Zn Etkinliği

Yaprakların kuru madde ağırlığı Zn içeriği bakımından hesaplanan yaprak Zn etkinliğine ilişkin veriler şekil 4.19' da verilmiştir. Şekil 4.19' da görüldüğü gibi ebeveynler ve F1 bitkileri arasında varyasyon çok yüksek olmamasına rağmen F3 bitkileri arasındaki varyasyon oldukça yüksek bulunmuştur. Dayanıklı ebeveyn Alata 21A yüksek-orta değerler arasında yer alırken hassas ebeveyn ve F1 bitkileri düşük-orta değerler arasında yer almışlardır. Diğer taraftan F1 bitkileri hassas ebeveyne daha yakın gözükmesine rağmen ortada bir değer almıştır. Bu durum yukarıda bahsedilen büyümeye bağlı olarak yapraklardaki Zn konsatrasyonundaki seyrelmeyi teyit etmektedir. Çünkü Zn konsatrasyonuna bağlı olarak yapılan hesaplamaya göre Alata 21A en düşük değerler arasında yer alırken yaprak kuru maddesideki toplam çinko içeriğine göre en yüksek değerler arasında yer almıştır. Yani yapraklara taşınan Zn bitki büyümesine katkı sağlayarak (kullanılarak) kuru madde miktarını arttırmaktadır.



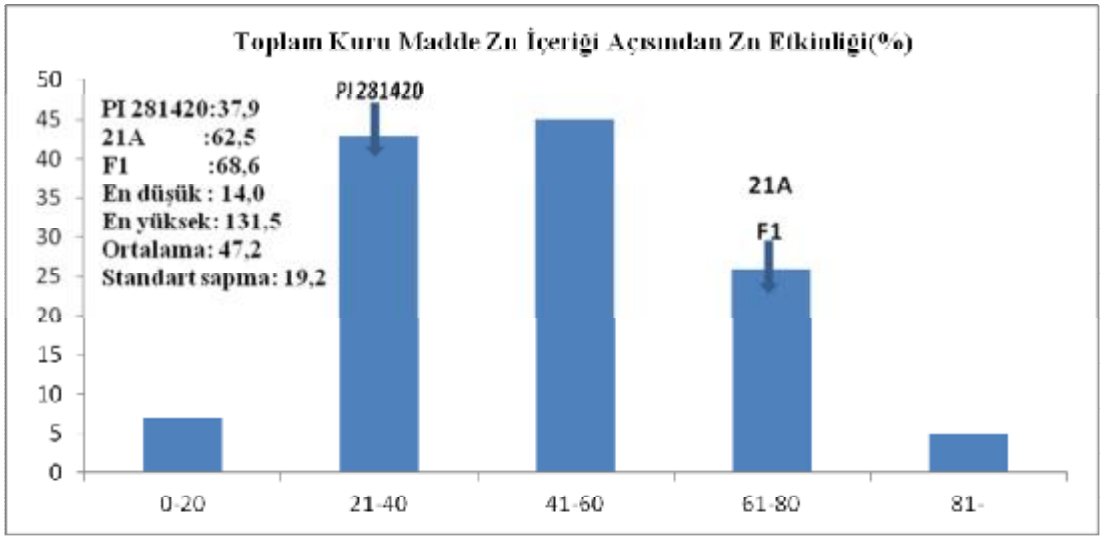
Şekil 4.19. Yaprak Zn içeriği açısından Zn Etkinliği (%) dağılımı

Diğer elementlerde olduğu gibi noksanlıkların belirlenmesinde bitki yaprakları en yaygın kullanılan bitki dokularıdır. Bitki yapraklarında Zn konsantrasyonu analiz edilerek noksanlıklar tespit edilmektedir. Fakat dokulardaki Zn konsantrasyonu tam olarak yansıtamamaktadır. Çünkü gelişmeye bağlı olarak yapraklardaki Zn' nun seyrelmesinden dolayı toplam kuru maddedeki Zn içeriğini belirlemek daha isabetli olabilecektir. Bu çalışmada Zn noksanlığı için yapılan skorlamadan sonra bitkiler hasat edilmiş ve yaprak kuru madde ağırlığı tespit edilmiştir. Ardından yapraklardaki Zn içeriği belirlenmiş ve QTL analizi yapılmıştır. 6., 8. ve 11. kromozomlarda olmak üzere 3 adet QTL haritalanmıştır. Yine bu 8. ve 11. kromozomlarda yer alan QTL' ler diğer özelliklere ait olan QTL' lere yakın yerde yer almışlardır. Yaprak Zn içeriği açısından Zn etkinliği için belirlenen 3 adet QTL söz konusu özelliğin %14,8' ini açıklamıştır (Şekil 4.22 ve Çizelge 4.18).

4.7.8. Toplam Kuru Madde Zn İçeriği Açısından Zn Etkinliği

Şekil 4.20' de kök, gövde ve yapraklardan oluşan toplam kuru maddedeki Zn içeriği bakımından hesaplanan Zn etkinliği verilmiştir. İncelenen diğer özelliklerde olduğu gibi toplam kuru madde Zn içeriğinden elde edilen Zn etkinliği bakımından da oldukça geniş bir varyasyon elde edilmiştir(%14,0-89,7). Aynı zamanda toplam kuru madde ağırlığından elde edilen etkinlikle toplam kuru maddedeki Zn içeriği

arasındaki korelasyon oldukça yüksek(r=0,83) bulunmuştur (Çizelge 4.17). Diğer taraftan hassas ebeveyn PI 281420 orta-düşük değerler arasında yer alırken Alata 21A orta-yüksek değerler arasında yer almıştır. F1 bitkileri ise her iki ebeveynden daha yüksek bir değer almıştır. Yine burada da söz konusu özellik bakımından heterosisden bahsedilebilir. Bunların yanında F1 bitkileri toplam, gövde ve kök kuru madde Zn içeriği bakımından hesaplanan Zn etkinliğinde ebeveynlerden yüksek değer alırken sadece yaprak Zn içeriğinde hassas ebeveyne yakın değer almıştır. Bu durum şu şekilde izah edilebilir. Kök ve gövde de dayanıklı ebeveyn Alata 21A genotipinin etkisi gözükürken gövdeden yapraklara taşınan Zn miktarına hassas ebeveyn etkisi daha yüksek olabilir.



Şekil 4.20. Toplam kuru madde Zn içeriği açısından Zn etkinliği (%) dağılımı

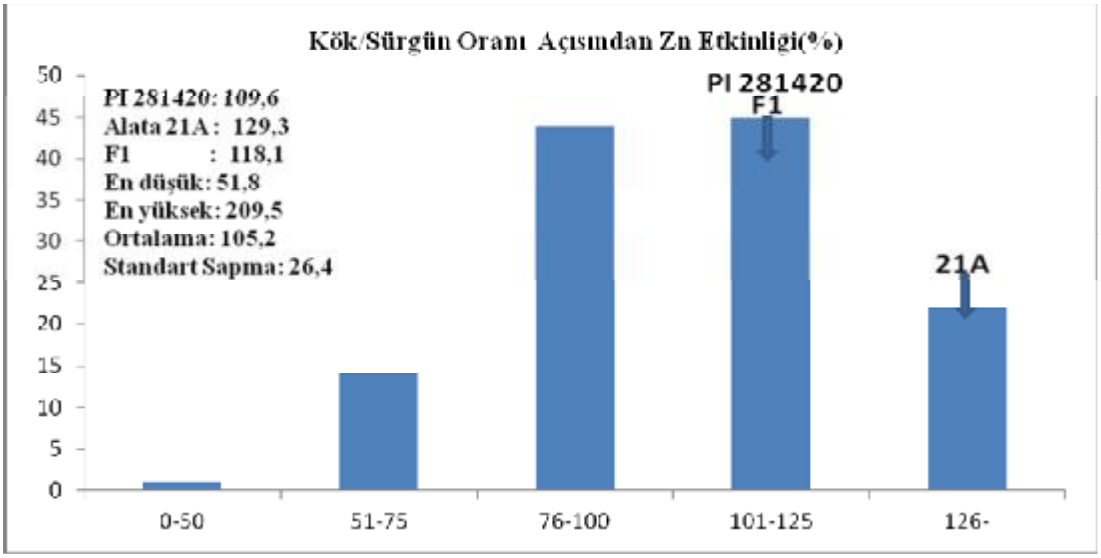
Yine bu çalışmada yaprak kuru madde Zn içeriğine benzer şekilde kök, gövde ve yapraklardan oluşan toplam kuru madde ağırlığı Zn içeriği Zn etkinliği verileri QTL analizine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre söz konusu özellikte etkili olan 6 adet QTL haritalanmıştır. Bu QTL' lerin 2 adet X. kromozomda, 2 adet 8. kromozomda, 1 adet 9. ve 1 adeti ise 11. kromozomda yer almışlardır. Yaprak kuru madde Zn içeriğinde etkili olan 3 adet QTL olmasına rağmen toplam Zn içeriğinde 6 adet QTL belirlenmiştir. Bu QTL' lerin 8. ve 11. kromozomda yer alanları birbirine yakın bulunurken diğer QTL' ler farklı kromozomlarda yer almışlardır. Bunun sebebi yaprak Zn içeriğinin haricinde kök ve gövde Zn

içeriklerinin söz konusu özelliğe olan etkisi olabilir. 6 adet QTL toplam kuru madde zn içeriği açısından zn etkinliğinin ancak % 33,2' sini açıklayabilmiştir (Şekil 4.22 ve Çizelge 4.18).

4.7.9. Kök/Sürgün Oranı Açısından Zn Etkinliği

Zn noksanlığı koşullarındaki kök gelişimi; Zn etkinliğinin ifade edilmesinde etkili olan en önemli özellik olarak düşünülmektedir. Fakat kök kuru madde üretimi bakımından Zn etkinliği farklı olan buğday genotipleri, Zn noksan koşullarda fark bulunamamıştır. Zn etkinliği türler arasında farklı kök morfolojisi sebebiyle değişebilir (Dong ve ark., 1995). Daha uzun ve daha ince köklerle kök yüzey alanının artmasıyla Zn, Cu, Mn ve Fe gibi diğer besinlerin kullanılabilirliği değişebilir (Rengel ve Graham, 1995c).

Kök/Sürgün oranı bitki büyümesinde en önemli parametrelerden birisidir. Kök oranı arttıkça su ve besin elementlerinin alımında artışlar beklenmektedir. Toprak çinkosu noksanlığında kök miktarındaki artışa paralel olarak kök yüzey alanımın genişlemesiyle birlikte Zn alımıda artabilecektir. Bu çalışmada kuru madde miktarına bağlı olarak hesaplanan kök/sürgün oranı etkinliğine ait değerlere ait veriler Şekil 4.21' de verilmiştir. Söz konusu çalışmada kullanılan F3 populasyonunda oldukça geniş bir varyasyon elde edilmiştir. F3 populasyonunun elde edildiği ebeveynlerin durumu incelendiğinde ise Alata 21A en yüksek değerler arasında yer alırken hassas ebeveyn PI281420 ve F1 bitkileri orta-yüksek değerler arasında yer almışlardır. F1 bitkilerinin hassas ebeveyn gibi davranmasının nedeni Zn' nin topraktan kökler aradığıyla alınıp sürgünlere taşınmasında dayanıklı ebeven olan Alata 21A' m katkısında yüksek etkinliği belirleyen genin resesif karakterde olmasından kaynaklanabilir.



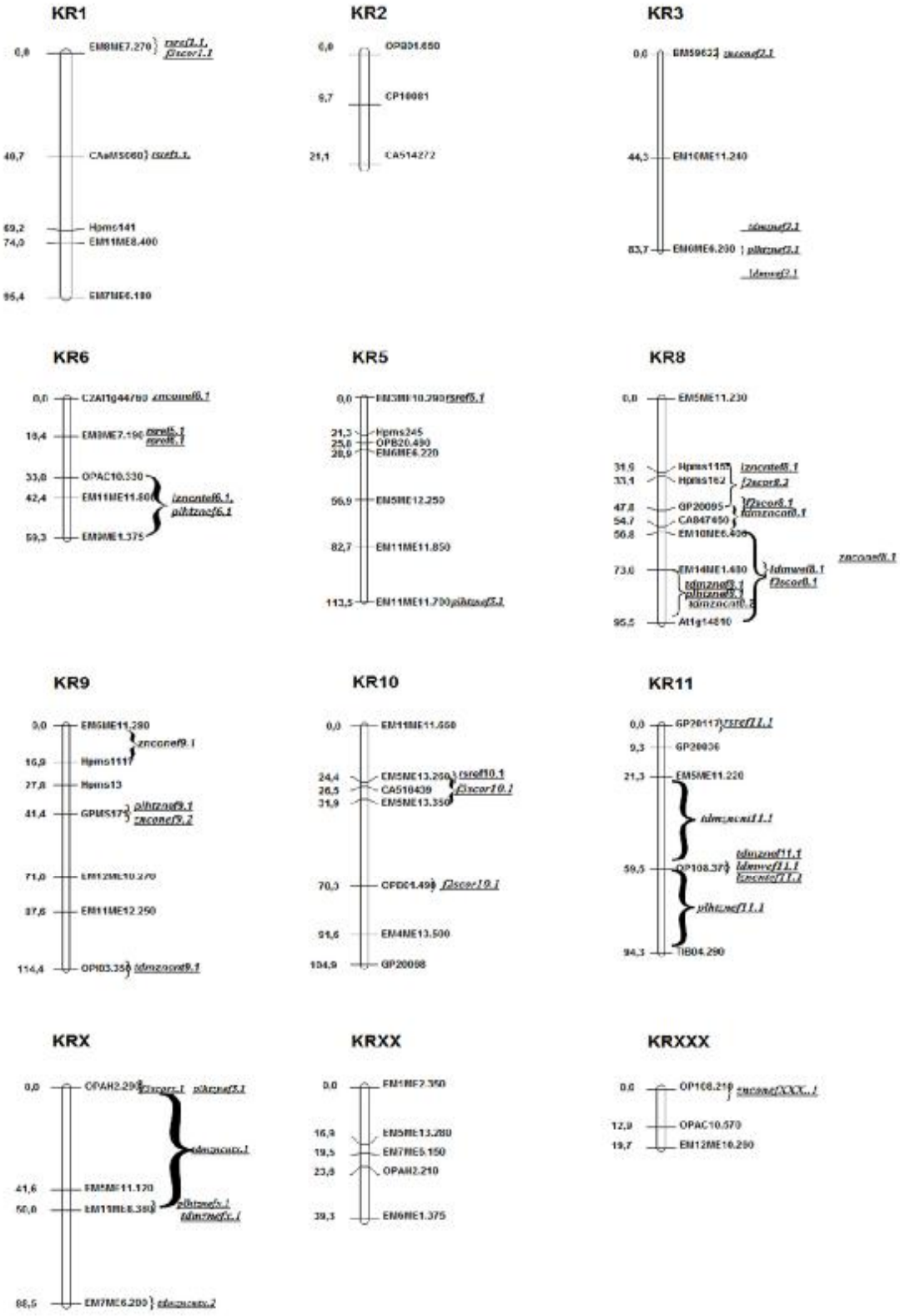
Şekil 4.21. Kök/sürgün oranı açısından Zn etkinliği(%) dağılımı

Diğer taraftan Zn etkinliğinin tespitinde kök/sürgün oranının değerlendirilmesi Zn' yi etkin kullanım bakımından değerlendirilebilir. Çünkü yapılan uygulamalar kök yüzey alanını arttırarak Zn noksan koşullarda topraktan Zn ve diğer besin elementleri sürgünlere taşıyabilecek ve dolayısıyla toplam kuru madde ağırlığında artışa neden olabilecektir. Bu çalışmada ise 126 adet F2 biber popülasyonuna ait 12 F3 bitkisi Zn noksanlığı simptomu skoru yapıldıktan sonra kök ve sürgünler ayrı ayrı hasat edilerek kuru madde ağırlıkları hesaplanmıştır. – Zn ve +Zn koşullarında yetiştirilen bitkilerden elde edilen verilerle kök/sürgün oranına bağlı Zn etkinliği hesaplanmıştır.

Hesaplanan kök/sürgün oranına bağlı Zn etkinliği verileri QTL analizine tabi tutulmuşmuş ve söz konusu özellikte etkili olan 5 adet QTL haritalanmıştır. Bu QTL' ler 1., 5., 6., 10. ve 11. kromozomlarda yer almışlardır. 11. kromozomda yer alan QTL diğer bir çok özellikte olduğu gibi benzer yerde yer almıştır. Bu 5 adet QTL bu özelliğin %20,6' sını açıklamaktadır (Şekil 4.22 ve Çizelge 4.18).

Çizelge 4.17. QTL haritalamada kullanılan özellikler arasındaki korelasyonlar

Özellik	Kök Hariç Zn Etkinliği	Bitki Boyu	Zn Etkinliği (Yaprak Kuru Madde Ağırlığı)	Zn Etkinliği(Toplam Zn içeriği)	Zn Etkinliği(Yaprak Zn içeriği)	F3 Skor	Yaprak Çinko içeriği(-Zn	Yaprak Zn Konsantrasyonu(+Zn)
Kök dahil Zn Etkinliği	0,98	-	-	-	-	-	-	-
Zn Etkinliği(Yaprak Kuru Madde Ağırlığı)	-	-	-	-	0,68		-	-
Zn Etkinliği(Toplam kuru madde)	-	0,85	0,95	0,83	0,62	-0,77	-	-
Zn Etkinliği(Toplam Zn içeriği)	-	-	-	-	-	-0,64	-	-
Yaprak Zn Konsantrasyonu(-Zn)	-	-	-	-	-	-	0,54	-
Zn Etkinliği(Yaprak Zn içeriği)	-	-	-	-	-	0,46	-	0,62
Yaprak Zn Konsantrasyonu(+Zn)	-	-	-	-	-	-	-	-



Şekil 4.22. Biberde Zn etkinliği için oluşturulan genom haritası ve belirlenen QTL' ler

Çizelge 4.18. Biberde Zn etkinliği ile ilgili belirlenen QTL listesi

No	Karakter İsmi	QTL Sembolü	Kromozom	En Önemli Markır	QTL pozisyonu(cM)	% Ekspl	Özellik Kaynağı
QTL1	F3 Skor	*f3scor1.1*	1	EM8ME7.270	0.00	2.3	PI281420
		f3scorx.1	X	OPAH2.290	0.00	2.0	PI281420
		f3scor8.1	8	EM14ME1.480	73.02	7.9	PI281420
		f3scor10.1	10	EM5ME13.350	31.89	3.2	PI281420
QTL2	Toplam Kuru Madde Ağırlığı Açısından Zn Etkinliği	*tdmznef3.1*	3	EM6ME6.260	83.67	4.7	PI281420
		tdmznef8.1	8	EM14ME1.480	73.02	6.9	PI281420
		tdmznef11.1	11	OP108.370	59.53	6.4	PI281420
		tdmznefx.1	X	EM11ME8.380	50.04	5.1	PI281420
QTL3	Bitki Boyu Açısından Zn Etkinliği	*plhtznef3.1*	3	EM6ME6.260	83.68	6.2	PI281420
		plhtznefx.1	X	EM11ME8.380	50.04	9.2	PI281420
		plhtznef5.1	5	OPAH2.290	0.00	2.5	PI281420
		plhtznef6.1	6	OPAC10.330	33.78	3.2	PI281420
		plhtznef8.1	8	At1G14810	95.53	5.6	-
		plhtznef9.1	9	GPMS171	41.41	6.0	-
		plhtznef11.1	11	OP108.370	59.53	6.7	PI281420
QTL4	Toplam Kuru Madde Zn Konsantrasyonu Açısından Zn Etkinliği	*zncnef3.1*	3	BM59622	0.00	5.8	-
		zncnef6.1	6	C2At1g44760	0.00	4.0	-
		zncnef8.1	8	GP20095	47.79	5.1	-
		zncnef9.1	9	EM5ME11.280	0.00	5.1	PI281420
		zncnef9.2	9	GPMS171	41.41	5.0	-
		zncnefXXX.1	XXX	OP108.210	0.00	3.2	Alata21A

Çizelge 4.18.'in devamı

Son yıllarda moleküler markırlarla Arabidopsis ve fasülye' nin de dahil olduğu bitkilerde tohumlarda Zn içeriğini kontrol eden genetik bölgelerin tanımlanması ile ilgili çalışmalar yürütülmüştür (Filatov ve ark. 2007; Vreugdenhil ve ark., 2004; Guzman-Maldonado ve ark. 2003). Bunlardan birisi olan arpada 2H kromozomunun kısa kolunda tohum Zn içeriğini arttırılmasında etkili olan bir adet QTL belirlenmiştir (Lonergan, 2001). Diğer taraftan yine arpada 2H kromozomunun kısa ve uzun kolunda tohum Zn konsantrasyonu ve içeriği ile ilgili 2 genetik bölge haritalanmıştır (Sadeghzadeh ve ark. 2008). Biberde yürütülen bu çalışmada ise toplam kuru madde Zn konsantrasyonu açısından 5 adet QTL Zn içeriği açısından ise 6 adet QTL, yaprak Zn içeriği için 3 QTL belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Arpada yürütülen çalışamada tohumdaki Zn konsantrasyonu ve içeriği ile daha az sayıda QTL bulunmuş olması farklı dokulardaki Zn birikimi ve taşınımının farklı olmasından kaynaklanabilir. Çünkü biberde sadece yaprak Zn içeriği bakımından 3 adet QTL' lin belirlenmesi dokulardaki farklılığı gösterir niteliktedir.

Sebzelerde çok az olmakla beraber özellikle biber bitkisinde Zn etkinliğinin genetik mekanizması ile ilgili hiç çalışma yürütülmemiştir. Bu tür çalışmalar özellikle tahıllarda yoğunlaşmıştır. Yine de elde edilen bulgular tahıllardan elde edilen bulgulardan çok farklı olmamıştır. Bu çalışmada incelenen bütün özelliklerin tahıllarda olduğu gibi birden çok QTL' in etkisinde olduğu tespit edilmiştir.

Örneğin çinko alımını kontrol eden genlerin haritalandığı az sayıdaki çalışmalardan birisinde (Lonergan ve ark., 2009) arpada dokuz QTL' in çinko alımını etkilediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada en önemli dört QTL' den birisinin çinkonun kökler tarafından alınmasını veya kökten sürgünlere taşınmasını kontrol ettiği, iki QTL' in bitkide çinko translokasyonunu kontrol ettiği, dördüncü QTL' in de olgunluk döneminde gövdedeki çinko içeriğini kontrol ettiği belirtilmiştir. Üç pozitif QTL' in birlikte olmasının bitki çinko konsantrasyonunu %53, çinko içeriğini de %75 oranında arttırdığı görülmüştür. Bu çalışma ile ilk defa en önemli üç QTL' e bağlı moleküler markırlar kullanılarak yüksek çinko randımanlı arpa çeşitlerinin yetiştirilmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir. Ayrıca diploid bir buğdayda tohum çinko içeriğinin %18.8' ini açıklayan bir QTL bildirilmiştir (Vijay ve ark., 2008). Benzer bir çalışmada (Peleg ve ark., 2009), buğday dane protein konsantrasyonu ile

dane çinko miktarı arasında önemli pozitif korelasyon bildirilmiş ve dane protein konsantrasyonunu belirleyen 10 QTL' den üçünün çinko içeriğini kontrol eden altı QTL' den üçü ile aynı olduğu görülmüştür. Buğday dane çinko ve fosfor içeriği ile ilgili bir moleküler çalışmada (Shi ve ark., 2007), çinko ve fosfor içeriğini kontrol eden dört QTL' in aynı olduğu ve bu iki besin elementinin buğdayda birlikte arttırılabileceği belirtilmiştir. Buğdayda çinko etkinliğinin ve dane çinko içeriğinin çalışıldığı farklı bir çalışmada (Genç ve ark., 2008), bitki kuru madde miktarı ile çinko miktarı arasında kuvvetli negatif korelasyon olduğu ve iki QTL' in düşük çinko içeren topraklarda bitkilerin sağlıklı büyümesini teşvik eden (çinko etkinliği sağlayan) bir özellik gösterdiği ve bu iki QTL için moleküler markırlar geliştirilmesi gerektiğini belirtilmiştir. Ayrıca Gomez-Becerra ve ark., (2010) tarafından genotip x çevre interaksiyonunun buğday dane çinko içeriğine etkisinin %16' dan az olduğu ve geniş anlamda kalıtımının %72 olduğu rapor edilmiştir.

Yine buğdayda sürgün bioması, doku ve dane Zn konsantrasyonu çok sayıda gen ile birkaç minor gen tarafından kontrol edildiği beyan edilmiştir. Özelliklere bağlı olarak %12-81' lik genetik varyasyon için QTL hesaplanmıştır. QTL' lerin çoğu Zn noksanlığında fide gelişimi ile ilişkili ve Zn ve Fe konsantrasyonları yüksek fide biomasına bağlı olarak bitki boyu genleri ile ilişkili bulunmuştur. Zn noksanlığının şiddeti, sürgün Zn konsantrasyonu ve dane ağırlığı ile ilişkili bir QTL 4. kromozomda belirlenmiştir. Ayrıca dane Zn konsantrasyonu ile ilişkili dört QTL belirlenmiştir. Bu QTL' ler 3D, 4B,6B ve 7A kromozomlarında yer almış ve %92' lik genetik varyasyonu açıklamıştır. Her QTL dane Zn konsantrasyonu üzerine göreceli olarak küçük etkiye sahip olmaktadır. Fakat dört QTL bir araya getirildiğinde dane Zn kapsamında %23' e kadar artışa neden olmaktadır. Bu durum ise dane Zn kapsamını geliştirmek için genlerin bir araya getirilmesi (prymiding) için potansiyel olduğuna, dane Zn konsantrasyonundaki artış için gerekli daha etkili bireysel QTL' lerin belirlenebileceğine işaret etmektedir (Genc ve ark., 2009). Biberde yapılan bu çalışmada ise yaprak, toplam kuru madde ağırlığı ve bitki boyu açısından sırasıyla 3, 4 ve 7 adet QTL belirlenmiştir. Bu özelliklere ait QTL' lerin 3. 8. ve 11. kromozomlarda aynı bölgede yer almışlardır. Bu durum ise bu özelliklerin birlikte akatarılmasına olanak sağlayabileceğini göstermektedir.

Buğdayda dane Zn konsantrasyonu için 4 ve Zn kapsamı için 7 QTL belirlenmiştir. Zn konsantrasyonu için belirlenen 4 QTL Zn kapsamı için belirlenen QTL' ler ile aynı yerde yer almışlardır. Bu durum ise hem Zn konsantrasyonu hemde Zn kapsamının birlikte geliştirilmesine olanak sağlayabilecektir (Shi ve ark., 2008).

Çeltikte çinko noksanlığı toleransını belirleyebilmek amacıyla IR74 (hassas) ile Jalmagna (tolerant) melezlemesi ile elde edilmiş populasyon ile QTL haritalama denemesi yürütülmüştür. Söz konusu çalışmada bitki ölümü ile ilişikili dört QTL tanımlanmış ve yalnızca bunlardan bir tanesi yaprak kahverengileşmesi ile ilişkili olan dört QTL' den birisi ile aynı yerde yer almıştır. Bitki ölümü için en önemli iki QTL 2. ve 12. kromozomda belirlenmiştir. Bu iki QTL varyasyonu %16.6 ve %24.2 olarak açıklamıştır. Ayrıca tölerant ebeveyn Jalmagna allelleri bitki ölümlerini %16.6 ve %24.2 oranında azaltmıştır. Bitki ölümleri için QTL' ler eklemeli davranış sergilerken yaprak kahverengileşmesi için epistatik interaksiyonlar önemli olmuştur (Wissuwa ve ark., 2006). Biberde ise Zn noksanlığı simptomu ile ilgili olarak F2 populasyonunda yapılan skorlamaya göre 3 QTL, F3 popülasyonunda yapılan skorlamaya göre ise 4 adet QTL belirlenmiştir. Her iki popülasyonda belirlenen QTL' ler 8. ve 10. kromozomlarda aynı bölgelerde yer almışlardır. Dolayısıyla yukarıda bahsedilen çalışmalarda söz konusu özellikler için benzer QTL sayılarının olmaması bitki türü ve popülasyon tiplerindeki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

Yine çeltik danelerindeki Zn ve Fe konsantrasyonu için yapılan QTL haritalamada 1., 3., 5., 7. ve 12. kromozomlarda Zn ve Fe' ye önemli derecede bağlı 5 adet QTL belirlenmiştir. Söz konusu iki özellik için toplam 14 QTL belirlenmiştir. Fe için belirlenen QTL' ler 7. ve 12. kromozomda çinko için belirlenen QTL' lerle birlikte yer almışlardır. 10 adet aday gen 14 QTL' in 12' sinde demir ve çinko için, diğer aday 6 gen 3., 5., ve 7. kromozomlarındaki QTL' lere yakın bulunmuştur (Anuradha ve ark., 2012).

Fasulyede ise tohum Zn içeriğini belirleyen gen/QTL leri haritalanmış ve Zn içeriğinin yaklaşık yarısını bir majör QTL ve diğer yarısını dört minör QTL' in kontrol ettiği ortaya konulmuştur (Blair ve ark., 2009). Gelin ve ark., (2007) ise fasulye tohumunda Zn birikimini kontrol eden bir lokus (bir gen) olduğunu

belirtmiştir. Diğer yandan fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) tohum Zn içeriğinin tek dominant bir gen tarfından kontrol edildiğini bildirmiştir (Cichy ve ark., 2005).

Elbendary ve ark., (1993) yüksek ve düşük yaprak Zn içeriğine sahip genotiplerin hibritlerinde yapılan çalışmada yüksek Zn içeriğine sahip hatların genel kombinasyon yeteneğinin daha yüksek olduğu ve yaprak Zn seviyesini en az dört (4) gen kontrol ettiğini belirtmiştir. Yine Hartwig ve ark., (1991) Zn etkinliği düşük ve yüksek iki soya fasulyesi çeşidi düşük Zn içeren alanda F3 populasyonları ile birlikte yetiştirilmiş ve yaprak Zn analizine tabi tutulmuştur. F3 populasyonundan elde edilen sonuçlar Zn alım etkinliğini belirleyen en fazla 2-3 gen olduğuna işaret ettiğini bildirmişlerdir. Biberde yürütülen bu çalışmada ise yaprak Zn içeriği için 3 QTL ve toplam kuru madde Zn içeriği için 6 adet QTL' lin belirlenmiş olması çalışmalarda paralelliği göstermesi bakımından anlamlıdır.

Genc ve ark., (2003) yüksek ve düşük Zn etkinliğine sahip iki arpa genotipinden oluşturulan F2 ve F3 populasyonlarını kullanarak Zn etkinliğini belirleyen karakterin kalıtımının dominant olmayan tek gen olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada ise Zn etkinliğini kontrol eden birden çok QTL belirlenmiş olması yine yukarıda bahsedildiği gibi kullanılan bitki türü, haritalama popülasyonu ve incelenen karakterlerdeki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

Yüksek ve düşük minaral kapsamına sahip (DOR364 x G19833) kuru fasülye genotiplerin melezlenmesinden elde edilen rekombinant inbred hatlarında tohumdaki çinko ve demir taşınmasının kalıtımını belirlemek için yürütülen çalışmada mineral x deneme x metod kombinasyonları için 26 QTL belirlenmiştir. Zn ve Fe için belirlenen QTL' lerin çoğu B11 bağlantı grubunda yer almış ve bu durum fenotipik varyasyonun %47,9' na kadar açıklamaktadır (Blair ve ark.,2009).

Wu ve ark., (2008) tarafından en son yürütülen başka bir çalışmada lahana (*Brassica napus*) yapraklarında mineral alımında farklı konsantrasyonlardaki çinko çözeltilerinde çok sayıda küçük etkili QTL bulunmuştur.

Guzman-Mandonado ve ark.(2003) yabani x kültür genotipi melezinden elde edilen populasyonda tohum çinko kapsamını %15 açıklayan 1 QTL tespit edilmiştir. Aynı zamanda Forster ve ark. (2002) ve Cihcy ve ark. (2005) tohum çinko taşınımının tek genle kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Gelin ve ark.(2007) ise Chicy

ve ark.(2005)' in kullanmış olduğu populasyonu kullanarak yapmış oldukları parçalı haritalama çalışmasında tohum çinko konsantrasyonunu %17.8 açıklayan 1 adet QTL belirlemişlerdir.

Brassica oleracea L.' de sürgün Zn konsantrasyonununda yeterli varyasyonun olup olmadığını ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Genotipler arasında sürgün Zn kapsamında farklılık olmasına rağmen sürgün Zn kapsamına çevrenin etkisi oldukça büyük olmuştur. Sürgün Zn kapsamının kalıtımı önemli fakat bir haritalama populasyonunu oluşturan 90 adet doubled-haploid (DH) hat arasında göreceli olarak düşük olarak tespit edilmiştir. Kromozom C2, C3, C5, C7, ve C9' te sürgün Zn' si ile ilişkili birkaç QTL olmasına rağmen bunlar zayıf ve genellikle büyüme koşullarından etkilenmekte olup *B. Oleracea*' da sürgün Zn' si için ıslah bu yüzden zor olduğunu beyan edilmiştir (Broadley ve ark., 2010).

Gizli açlık olarak adlandırılan mikro element noksanlığı dünya çapında çok fazla sayıda insanı etkilemektedir. Daha fazla çinkonun gıdalar ile sağlanması teorik olarak seleksiyon ıslahı metodları ile mümkün gözükmektedir. Moleküler markırları kullanmak gıda olarak tüketilen bitkilerde mineral yoğun tohumlar geliştirmek için en iyi yaklaşım olabilir (Zimmerman and Hurrel, 2002). Doubled haploid arpa (*Hordeum vulgare*) populasyonunda arpa genomunun ilgili bölgesinde mineral element birikimi özelliğinin belirlenmeye çalışıldığı çalışmada populasyonda açılım gösteren 9 adet lokus ölçülen özelliklerle ilişkili bulunmuştur. Bunlardan 5 tanesi dane Zn kapsamına katkıda bulunmaktadır. 3 adet en önemli allel dane Zn kapsamı ve konsantrasyonunu ortalama %53 ve 75' e kadar arttırmıştır (Lonergan ve ark., 2009).

Makarnalık (Langdon çeşidi) ve yabani emer (*Triticum dicoccum*) (G18-16) melezlenmesi ile elde edilmiş 152 adet RIL tetraploid buğday populasyonunda protein, mikroelementler (Zn, Fe, Cu ve Mn) ve makroelementlerin (Ca, Mg, K, P ve S) konsantrasyonunun genetik ve fizyolojik temeli araştırılmıştır. RIL populasyonunda tüm dane mineral konsantrasyonu bakımından oldukça önemli transgresif etki ile geniş genetik varyasyon elde edilmiştir. 10 mineral için 3.2– 16.7 LOD skor oranı ile toplam 82 QTL haritalanmıştır. Çoğu QTL' ler (50 QTL) yabani allellerde yer almaktadır. Aynı özellik için olan 14 QTL A ve B genomları arasında

homolog pozisyonda haritalanmıştır. Dane Zn konsantrasyonu ile ilişkili %1-23' ünü açıklayan toplam 6 QTL (LOD skoru 3.7 ve 16.4 arasında değişen) belirlenmiştir. 3 QTL önemli derecede Genetik x Çevre interaksiyonu göstermiş ve onlardan 2 tanesi (5A, 6B) çevreler arasında benzer trend gösterirken 1 tanesi(7B) sadece bir çevre koşulu altında bulunmuştur (Peleg ve ark.2009).

Görsel Zn noksanlık simptomları kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise kuru fasülyedeki Zn noksanlığı töleransının tek bir dominant genle kontrol edildiği rapor edilmiştir (Singh ve Westermann, 2002). Yine arpada görsel noksanlık simptomları kullanarak Zn etkinliğinin kalıtımını belirlemek için yürütülen başka bir çalışmada ise fide aşamasındaki Zn noksanlığına toleransın dominant olmayan tek bir gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Genc ve ark., 2003).

Tüm elde edilen sonuçlar ile önceki çalışmalarda elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığı zaman bu çalışmada toplam kuru madde ağırlığı, yaprak kuru madde ağırlığı, yaprak ve toplam kuru madde Zn içeriği ve konsatrasyonu, bitki boyu, F2 ve F3 popülasyonundaki Zn noksanlık simptomu ile çok sayıda QTL belirlenmiş ve bu karakterlerin poligenik karakterler olduğu tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda genellikle tohum Zn içeriği ve konsantrasyonu üzerine yoğunlaşmakla beraber kuru madde birikimi ve noksanlık simptomu ile ilgili bulgular yer almıştır. Tüm bu özellikler bakımından birkaç çalışma hariç diğerlerinde söz konusu özelliklerin çoklu genle kontrol edildiği beyan edilmiştir. Biberle yürütülen bu çalışma diğer çalışmalarla birlikte kıyaslandığında çoklu gen etkisi bakımından paralellik arz etmektedir. Diğer taraftan Çizelge 4.18' de belirlenen QTL için söz konusu özelliklerdeki varyasyonu açıklayan % değerler verilmiştir. Bu oranlar % 2.0-9.9 gibi düşük oranlarda kalmışlardır. Bunun nedeni ise haritalamada kullanılan markır sayısının azlığı olabilir. Daha fazla markırla oluşturulacak haritalamada bu oranlar yükselebilecektir. Fakat bu çalışma biberde Zn alım etkinliği ile ilgili ilk çalışma olması bakımından ilerletilmiş popülasyonlarda (F6) söz konusu özelliklerin tekerrürlü yapılacak çalışmalarla daha somut sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışma üç aşamada yürütülmüştür. Birinci aşamada biberde Zn noksanlığı simptomunun kalıtımının belirlenmesi ve haritalanması için populasyonun geliştirilmesi, ikinci aşamada Zn noksanlığı simptomu kalıtımının belirlenmesi ve üçüncü aşamada ise Zn noksanlığı simptomu ve Zn etkinliği için QTL' lerin haritalanması hedeflenmiştir. Elde edilen bulgular özet olarak aşağıda sunulmuştur.

- Kalıtımın hesaplanması ve haritalamada kullanılan *Capsicum annuum L.* (Alata 21A) X *Capsicum frutescens L.* (PI 281420) populasyonun geliştirilmesi için ebriyo kurtarma yöntemi uygulanmıştır. Melezleden 21 gün sonra başlanan embriyo kurtarma çalışmalarında 33. günden sonra bitkiye dönüşüm sağlanmış ve en yüksek bitkiye dönüşüm 39. gün ile 51. gün arasında elde edilmiştir. Farklı tarihlerde yapılan embriyo kurtarma çalışmalarında açılan tohumdan bitkiye dönüşüm ile aktarılan embriyodan bitkiye dönüşüm istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Deneme sonuçları ile türler arası melezlemede *C. frutescens*' in tozlayıcı olarak kullanıldığı durumlarda erken dönemde embriyo kurtarmanın yapılmasının zorunlu olabileceği, *C. annuum*' un tozlayıcı olarak kullanıldığı durumda ise ya direk embriyo kurtarma yapılarak bitki eldesinin sağlanması yada direk olgunlaşmış tohumdan bitkiye dönüşümün sağlanabilmesi için daha fazla miktarda tohumun kullanılması önerilebilir.
- Zn noksanlığı simptomunun hesaplanması amacıyla *C. annuum*' a geriye melez popülasyonu-[(Alata 21A x (Alata 21AxPI 281420)], *C.frutescens*' e geriye melez popülasyonu [PI 281420 x (Alata 21A x PI 281420)] ve F2 populasyonu (Alata 21A x PI 281420 kendilenmesi ile) kullanılmıştır. Her üç populasyona ait Zn eksikliği simptompları (1-5 skalası) ile bitki boyu, gövde yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam yaş ve toplam kuru ağırlık arasındaki korelasyon (%) hesaplanmıştır. Zn noksanlığı simptomu ile en yüksek korelasyonu toplam kuru ağırlık (%47) ve gövde kuru ağırlığından (%48)

elde edilmiştir. Bir başka ifade ile Zn noksanlığı ile açıklanamayan %50' nin üzerinde kuru madde miktarını belirleyen bir genetik faktör mevcuttur. Bu sebeple F3 populasyonunda +Zn ve – Zn' li ortamda yapılan testlemeler toplam kuru madde, kök, gövde, yaprak ve toplam bitki çinko içeriklerinin oransal değerini (iki ortam arasındaki Zn noksanlığından kaynaklanan gerçek farkı) verdiğinden önemlidir. Her üç populasyonda da Zn noksanlığı skoru ile bitki kütlesi arasındaki korelasyon %50' yi bulmamıştır.

- Yine üç popülasyon kullanılarak genetik varyans 0,818, additive (eklemeli) varyans 0,226, dominant varyans 0,592, çevre varyansı 0,090, geniş anlamda kalıtım derecesi ($h^2_{b)}$ 0,906 ve dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0,249 olarak hesaplanmıştır. Karakter üzerindeki çevre varyansı toplam varyansın yaklaşık %10' u kadar olmuştur. Bu durum karakterin kuvvetli bir genetik kontrol altında olduğuna işaret etmektedir. Toplam genetik varyans içinde eklemeli gen etkisinin %28, dominant gen etkisinin %72 olduğu hesaplanmıştır. Dar anlamda kalıtım derecesi geniş anlmada kalıtım derecesinden 2.5 kat daha küçük bulunmuştur. Çalışma sonuçları ile söz konusu karakterin kuvvetli bir dominant gen etkisinde olduğu tespit edilmiştir.
- Biberde çinko noksanlığı simptomu kalıtımın hesaplanmasında kullanılan 206 adet F2 bitkilerinden elde edilen simptomlarının muhtemel genetik yapısı X^2 analizinde ' 12:3:1 dominant epistasis' hipotezi ile analiz edilmiştir. Bu hipoteze göre; A alleli B ve b allellerine epistatiktir. Bir lokustaki dominant allel (A), farklı bir lokustaki her iki allelin (B ve b) ekspresyonunu engelleyebilir. X^2 analazi, 12:3:1 genetik oranının (X^2 =0.94, P=0.625, N=206) en uygun model olduğunu göstermektedir. Bu oran dominant epistatise işaret etmektedir. Görsel çinko noksanlığı dağılımı her üç populasyonda da dayanıklıya doğru eğim göstermiştir. Bu durum Zn noksanlığına karşı dayanıklılığın kuvvetli bir dominant gen ve bazı modifiye edici genlerin etkisinde olduğunu göstermektedir. Araştırma sonuçları Alata 21A genotipindeki topraktaki Zn noksanlığına

karşı direncin bir major dominant lokus ve bu lokusa epistatik olan ikinci modifiye edici bir lokusun etkisinde olduğuna işaret etmektedir. Karakterin geriye melezleme ve kendileme ile düşük Zn içeren topraklarda gizli verim kaybına uğrayan biber genotiplerine aktarılması mümkün görünmektedir. Bu lokuslara daha yakın moleküler markırların geliştirilmesi karakter için seleksiyonu hızlandırabilecektir.

- Biberde çinko noksanlığına karşı testlenen ve haritalamada kullanılan 455 adet F2 bitkilerinden elde edilen simptomlarının muhtemel genetik yapısı X^2 analizinde ‘ 12:3:1 dominant epistasis’ hipotezi ile analiz edilmiştir. Kalıtımın hesaplanmasında kullanılan F2 populasyonunda elde edilen Zn noksanlığı skor değerleri ile haritalamada kullanılan ve ikinci defa testlemeye tabi tutulan 455 F2 popülasyonlarında da aynı genetik yapı elde edilmiştir. Bu durum değişik şekillerde açıklanabilir. 1. Dominant epistasis modelinde “ A” alleli “ a” alleline ve “ B” alleli “ b” alleline tam (%100) dominant olmayabilir. F1 bitkilerininin ortalama skorları (1,16 ve 1,25) bunu kısmen doğrulamaktadır. Her iki dominant allelin resesif allelerine kısmi dominant olması, F2 populasyonunda beklenen fenotipik sınıf sayısını üçten (12:3:1) beşe çıkaracaktır (2n+1= 2x2+1=5) 2. Genotip x Çevre interaksiyonunun “ A” ve “ B” alleleri üzerinde farklı olması fenotipik sınıflar arasındaki geçişleri daha az belirgin yapabilir (daha yüksek “ background noise” sebep olabilir), 3İki lokusa ilaveten minör etkili modifiye edici üçüncü bir lokus / QTL’ e etki ediyor olabilir.
- Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden gen sayısı Wright (1968)’ a göre 206 adet F2 bitkisi için 1,375 gen ve 455 adet F2 bitkisi için 1,610 gen olarak hesaplanırken, Wright (1952) ve Falconer, (1989)’ a göre 206 adet F2 bitkisi için 1,571 ve 455 F2 bitkisi için 1,514 gen olarak belirlenmiştir.
- Genetik bağlantı haritasının oluşturulması amacıyla JOINMAP 4.1 programı kullanarak toplam 163 adet poimorfik markır ile 12 adet bağlantı grubu oluşturulmuştur. Bağlantı grubu oluşturulurken X^2 testine uymayanlar (segregation distortion gösterenler) elemine edilmiş ve en uygun 62 adet markır bağlantı grubu oluşturmada kullanılmıştır. 31 adet

SRAP, 19 adet SSR ve 11 adet RAPD primerinden elde edilen polimorfik bandlar bağlantı grupları oluşturmada kullanılmıştır. Toplam 62 adet polimorfik band ile 12 bağlantı grubu olacak şekilde 929,6 cM uzunluğunda bir harita elde edilmiştir. Haritada iki markır arasındaki ortalama mesafe 14,99 cM olarak belirlenmiştir. Gruplar oluşturulurken biber genetik haritasını temsil eden Solgenomics.net' te sekanslar ve harita bilgileri verilen Wu ve ark. (2009) tarafından bildirilen ve *C. annuum* x *C. frutescens* türler arası melez populasyonunda entegre biber haritasını oluşturan kromozom üzerindeki yerleri bilinen 24 adet SSR markırı dikkate alınarak hangi bağlantı grubunun hangi kromozoma karşılık geldiği belirlenmiş ve kromozom numaraları verilmiştir. Ancak 3 adet bağlantı grubu içerisine giren herhangi bir SSR markırı tespit edilemediği için muhtemel 4., 7. ve 12. kromozomlara karşılık gelebilecek bağlantı gruplarına X, XX ve XXX şeklinde semboller verilmiştir.

- QTL analizlerinin yapılması amacıyla kantitatif özellikler MapQTL.6 programında analiz edilmiştir. Bu programda F2 bitkilerine ait DNA örneklerinden elde edilen moleküler veriler ile aynı F2' lerin kendilenmesi ile elde edilmiş F3 bitkilerine ait Zn etkinliğini belirleyen özelliklere ait veriler kullanılmıştır. Bu program ile Kruskal Wallis ve İnternal Mapping analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde Kantitatif Karakter Lokusları (QTL) ve belirtilen kromozom bölgesinde bu QTL' lerin bulunma ihtimalleri LOD değerleri ile birlikte verilmiştir.
- MapQTL.6 programında 9 adet özelliğe ait toplam 41 adet QTL belirlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla; F3 popülasyonunda yapılan Zn noksanlık simptomlarına ait skor için 1., X., 8. ve 10. kromozomlarda 4 QTL, toplam kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği için 3., 8., 11. ve X. kromozomlarda 4 QTL, bitki boyu açısından Zn etkinliği için 3., X., 5., 6., 8., 9. ve 11. kromozomlarda 7 adet QTL, toplam kuru madde Zn konsantrasyonu açısından Zn etkinliği için 3., 6., 8., 9. ve XXX. kromozomlarda toplam 6 QTL, yaprak kuru madde ağırlığı açısından Zn

etkinliği için 3., 8. ve 11. kromozomlarda toplam 3 adet QTL, F2 populasyonunda yapılan Zn noksanlık simptomlarına ait Skor için 8. ve 10. kromozomlarda 3 adet QTL, yaprak Zn içeriği açısından Zn etkinliği için 6., 8. ve 11. kromozomlarda 3 adet QTL, toplam kuru madde Zn içeriği açısından Zn etkinliği için X., 8., 9. ve 11. kromozomlarda 6 adet QTL ve kök/sürgün oranı açısından Zn etkinliği için 1., 5., 6., 10. ve 11. kromozomlarda olmak üzere 5 adet QTL haritalanmıştır.

- QTL analizinde kullanılan özellikler arasındaki korelasyon incelendiğinde ise kök dahil ve hariç kuru madde ağırlıkları arasında oldukça yüksek (r=0,98), yaprak kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği ve yaprak Zn içeriği açısından Zn etkinliği arasında yüksek (r=0,68), toplam kuru madde ağırlığı açısından Zn etkinliği ile bitki boyu arasında r=0,85, yaprak kuru madde ağırlığı arasında r=0,95, toplam Zn içeriği arasında r=0,83, yaprak Zn içeriği arasında r=0,62 ve F3 popülasyonda yapılan Zn noksanlık simptomu skorlaması ile negatif ve yüksek (r=-0,77) korelasyon elde edilmiştir. Diğer yandan toplam Zn içeriği açısından Zn etkinliği ile F3 skorlaması arasında pozitif ve yüksek (r=0,64) korelasyon elde edilirken, noksan Zn koşullarında yaprak Zn konsantrasyonu ile yaprak Zn içeriği arasında ortalama (r=0,54) korelasyon, yaprak Zn içeriği açısından Zn etkinliği ile F3 skoru arasında düşük, yaprak Zn konsantrasyonu ile yüksek (r=0,62) korelasyon elde edilmiştir.

Tüm bu sonuçlar ışığında öneriler şu şekilde sıralanabilir;

- Sebzelerde Zn noksan koşullarda Zn etkinliğinin belirlenmesi, fizyolojik ve genetik karakterizasyonu ile ilgili çalışmaların çok az olması, özellikle biberde neredeyse yok denecek kadar az olması nedeniyle yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgular ileride yapılacak sebze ve özellikle biber türleri ile yapılacak çalışmalara örnek teşkil edecektir. Çalışmada Zn etkinliğinde rol oynayan kuru madde miktarı, Zn konsantrasyonu ve içeriği, Zn noksanlık simptomu gibi özellikler arasında çok güçlü bir korelasyon elde edilmesi nedeniyle biberde Zn noksanlığı için Zn etkin biber hat ve çeşitlerinin geliştirilmesinde rehberlik edebilecektir. Özellikle

Zn noksanlığı simptomunun kalıtımı ile bulgular bu özelliğin ıslah programlarında kullanılmasına ışık tutabilecektir.

- Bu çalışmada sınırlı sayıda moleküler markır ile genetik harita oluşturulmuş ve önemli QTL' lerle ilişkili markırlar belirlenmiştir. Her ne kadar QTL sayısı ve kromozomlar üzerindeki yerleri belirlensede bundan sonra yapılacak çalışmalarda aynı populasyonun ya da bu populasyonunun tek tohum dölü (single seed descent) metodu ile F6 kademesine getirilmesini takiben çok sayıda tekerrürle test edilip daha fazla markırla harita doygunluğunun arttırılarak incelenen özelliklere daha yakın ve Zn etkinliği ıslahında kullanılabilir (5cM' dan daha yakın) markırların elde edilmesine ihtiyaç vardır.
- Ayrıca çalışmada kullanılan Alata 21A ve PI281420 genotipleri biberde Zn etkinliğinde rol oynayan fizyolojik ve genetik faktörlerin tam olarak tespitinde kullanılabilecek niteliktedir.

Ülkemizde biber yetiştiriciliği açık ve örtüaltı olmak üzere iki farklı şekilde yapılmaktadır. Örtüaltı yetiştiricilikte kullanılan alanlar açık alanlara nazaran kısıtlı olmasına rağmen mikro element özellikle Zn noksanlığıyla mücadele oldukça zor olmaktadır. Seralarda yetiştiricilikte ortamının Zn noksanlığından çok Zn alımını etkileyen olumsuz koşullarla mücadele için kullanılan girdi maliyeti artmaktadır. Diğer taraftan açık tarla koşullarında geniş alanlarda Zn noksanlığının hakim olduğu yada olumsuz toprak koşullarının etkisinin fazla olduğu alanlarda Zn gübrelemesi ile sorunları çözmek oldukça zor görünmektedir. Eğer Zn etkin biber çeşitleri ile üretim yapılabilirse hem olumsuz toprak koşulları hemde Zn noksan toprakların olumsuz etkileri elemine edilebilir. Dolayısıyla Zn noksanlığına bağlı verim ve kalite kayıplarının önüne geçileblir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar bu sorunun çözülebileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

AKAY, A., 2005. Bazı Nohut Çeşitlerine Uygulanan Çinkonun Yaprakların Klorofil İçeriği Dane Verimi ve Bazı Verim Unsurlarına Etkisi GAP IV. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, 2. Cilt. 947-954.

AKTAS, H., ABAK, K., OZTURK, L., CAKMAK, I., 2006. The Effect of Zinc on Growth and Shoot Concentrations of Sodium and Potassium in Pepper Plants under Salinity Stress. Turk J. Agric. For., 30: 407-412.

AKTAŞ, H., ABAK,K., SENSOY, S., 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. African J. Biotechnology, 8(18), 4378-4386.

ALLARD, R.,W., 1960. Principles of plant breeding John Wiley & Sons, New York

ALLOWAY, B. J., 2004. Zinc in Soils and Crop Nutrition. International Zinc Association Communications. IZA publications, Brussels.

ALLOWAY, B., J.2009. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans Environ Geochem Health (2009) 31:537– 548

ALLOWAY, B.J., 1995. Heavy metals in soils, 2nd edn. London, UK: Blackie Academic & Professional.

ALLOWAY, B.J., 2001. Zinc the vital micronutrient for healthy, high-value crops. International Zinc Association, Brussels.

ALLOWAY, B.J., 2007. Zinc in Soils and Crop Nutrition. IZA Publications. International Zinc Association, Brussels

ANDREWS, G. K., 2001. Cellular zinc sensors: MTF-1 regulation of gene expression. Biometals 14: 223-237.

ANONYMOUS, 2005. Statistical Database,

ANURADHA, K., AGARWAL, S., Y., RAO V., RAO, K.V., VIRAKTAMATH, B.C., SARLA, N., 2012. Mapping QTLs and candidate genes for iron and zinc concentration in unpolished rice of Madhukar x Swarna RILs http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.07.054

ARUMUGANATHAN, K. and EARLE, E. D., 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. Plant Mol. Biol. Rep. 9:208– 218.

ASKARI, A., SIDDIQUI, I. H., YASMIN, A., QADIRUDDIN, M., JAFRI, R.,ZAIDI, S. A. H., 1995. Studies on the Essential Trace Elements on the Growth and Yield of Two *Solanaceous.* Plants Journal of Islamic Academy of SciencesVolume 8, No:1.

ASSUNCAO, A. G. L., Da Costa Martins, P., De Folter, S., Vooijs, R., Schat, H. and Aarts, M.G.M., 2001. Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens. Plant, Cell and Environment* 24: 217-226.

BANSAL, R.L., SINGH, S.P. and NAYYAR, V.K., 1990. The critical zinc deficiency level and response to zinc application of wheat on Typic Ustochrepts. Experimental Agriculture 26: 303-306.

BANZIGER, M. and LONG, J., 2000. The potential for increasing the iron and zinc density of maize through plant breeding. *Food and Nutrition Bulletin* 21: 397-400.

BARAK, P. and HELMKE, P.A., 1993. The chemistry of zinc. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 1-14.

BARBER, S. A. and SILBERBUSH, M., 1984. Plant root morphology and nutrient uptake. In: Barber, S.A. and Bouldin, R. (Eds) Roots, Nutrients and Water Influx and Plant Growth. American Society of Agronomy Special Publication, 49: 65-88.

BARBER, S.A., 1995. *Soil nutrient bioavailability, 2nd edn*. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.

BARCHİ L, BONNET J, BOUDET C, SİGNORET P, NAGY I, LANTERİ S, PALLOİX A, LEFEBVRE V., 2007. A High-resolution, intraspecific linkage map of pepper (*Capsicum annuum* L.) and selection of reduced recombinant inbred line subsets for fast mapping. Jan;50(1):51-60.

BARROW, N. J., 1993. Mechanisms of reaction of zinc with soil and soil components. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 15-31.

BARROW, N.J., 1987. Reactions with variable charge soil. Fert. Res.14:1– 100.

BATES, T. R., and J. P. LYNCH., 1996. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell and Environment* 19: 529– 538.

BAYRAM, N., DORAN, I., ÇAKIR, I., PIŞIRGEN, T., MÜLAYIM, A.R., GALELI, S., ŞEN, N., ERDEM, S.G., ve BILICI, M., 1984. Yaprak ve Toprak Analizlerine Dayanılarak Doğu Akdeniz Bölgesinde Turunçgillerin Makro ve Mikro Element Durumlarının Saptanması Üzerinde Araştırmalar Projesi. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Sonuç Araştırma Özetleri Kitabı, 2005. Mersin.

BEEBE, S., GONZALEZ, A. and RENGIFO, J., 2000. Research on trace minerals in the common bean. Food and Nutrition Bulletin 21: 387-391.

BELL, R.W., 2000. Temporary nutrient deficiency a difficult case for diagnosis and prognosis by plant analysis. Communications in Soil Science and Plant Analysis 31: 1847-1861.

BELLETTI, P., MARZACHI, C., and LANTERI, S., 1998. Flow cytometric measurement of nuclear DNA content in Capsicum (*Solanaceae*). Plant Syst. Evol. 209:85– 91.

BEN CHAİM, A., PARAN, I., GRUBE, R., JAHN, M., VAN WİJK, R. AND J. PELEMAN., 2001. QTL mapping of fruit related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor. Appl. Genet.* 102: 1016-1028.

BEN-CHAİM, A., BOROVSKY Y, FALİSE M, MAZOUREK M, KANG BC, PARAN, I, JAHN, M, 2006. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. Theor Appl Genet 113:1481– 1490

BERG, J.M. and SHI, Y., 1996. The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc. Science 271: 1081-1085.

BETTGER, W. J. and O'DELL, B. L., 1981. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Science* 28: 1425-1438.

BLAIR, M. W., ASTUDILLO, C., GRUSAK, M. A., GRAHAM, R., BEEBE, S. E., 2009. Inheritance of seed iron and zinc concentration in common bean (*Phaseolus vulgaris L.)* Mol Breeding(2009) 23:197-207

BLAIR, M.W., MEDINA, J. I., CAROLINA, A., RENGIFO, J., BEEBE, S.E., MACHADO, G., GRAHAM, R., 2010. QTL for seed iron and zinc concentration and content in a Mesoamerican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population Theor Appl Genet 121:1059– 1070

BOUIS, H., 1995. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. Administrative Committee on Coordination-Subcommittee on Nutrition of the United Nations. ACC/SCN c/o WHO, Geneva, Switzerland. *SCN News* 12: 15-19.

BREDEMEIJER, G.M.M., COOKE, R.J, GANAL, M.W., PEETERS, R., ISAAC, P., NOORDIJK, Y., RENDELL, S., JACKSON, J., RÖDER, M., WENDEHAKE, K., DIJCKS, M., AMELAINE, M., WICKAERT, V., BERTRAND, L., VOSMAN, B., 2002. Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. Theor. Appl. Genet. 105: 1019-1026.

BRENNAN, R. F., 1996. Availability of previous and current applications of zinc fertilizer using single superphosphate for the grain production of wheat on soils of South Western Australia. Journal of Plant Nutrition 19: 1099-1115.

BRENNAN, R. F., 2000. Zinc. In: Anderson, W.K. and Garlinge, J.R. (Eds) The wheat Book: Principles and Practice, Bulletin 4443. Agriculture Western Australia: South Perth, Australia, pp. 98-99.

BRENNAN, R. F., ARMOUR, J. D. and REUTER, D. J., 1993. Diagnosis of zinc deficiency. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Kluwer Academic, pp. 168-181

BROADLEY, M. R., LOCHLAINN, S. O ., HAMMOND, J. P., BOWEN, H. C., CAKMAK, I., EKER, S., ERDEM, H., KING, G. J., WHITE, P. J., 2010. Shoot zinc (Zn) concentration varies widely within *Brassica oleracea* L. and is affected by soil Zn and phosphorus (P) levels. Journal Of Horticultural Science and Biotechnology Volume: 85 Issue: 5 Pages: 375-380

BROWN, C. R., HAYNES, K. G., MOORE, M., PAVEK, M. J., HANE, D. C., LOVE, S. L., NOVY, R. G., MILLER, J. C., 2011. "Stability and Broad-sense Heritability of Mineral Content in Potato: Zinc." American Journal of Potato Research 88(3): 238-244.

BROWN, P. H., CAKMAK, I. and ZHANG, Q., 1993. Form and function of zinc in plants. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 93-106.

BRÜMMER, G. W., GERTH, J. and TILLER, K. G., 1988. Reaction kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite. I. Adsorption and diffusion of metals. Journal of Soil Science 39: 37-52.

CAICEDO, A. S., WILLIAMSON, R. D., HERNANDEZ, A., BOYKO, A., FLEDEL-ALON, A., YORK, T. L., POLATO, N. R., OLSEN, K. M., NIELSEN, R., MCCOUCH, S. R., BUSTAMANTE, C. D., PURUGGANAN, M. D., 2007. Genome-wide patterns of nucleotide polymorphism in domesticated rice. PLoS Genet. 3: 1745-1756.

CAKMAK I, YILMAZ A, KALAYCI M, EKIZ H, TORUN B, ERENOGLU B, BRAUN HJ., 1996*c*. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. Plant and Soil 180: 165±172.

CAKMAK I., TORUN, B., ERENOGLU, B., OZTURK, L., MARSCHNER, H., KALAYCI, M., EKIZ, H., YILMAZ, A., 1998. Morphological and physiological differences in the response of cereals to zinc deficiency Euphytica 100: 349– 357, 1998. 349

CAKMAK, I. and BRAUN, H.J., 2001. Genotypic variation for zinc efficiency. In: Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, J.I. and McNab, A. (Eds) Application of Physiology in Wheat Breeding. Mexico, D.F. CIMMYT, pp. 183-199.

CAKMAK, I. AND MARSCHNER, H., 1986. Mechanism of phosphorus induced zinc deficiency in cotton. I. Zinc deficiency-enhanced uptake rate of phosphorus. Physiol. Plant. 68, 483-490.

CAKMAK, I. AND MARSCHNER, H., 1987. Mechanism of phosphorus induced zinc deficiency in cotton III. Changes in physiologial availabilityof zinc in plants. Physiol. Plant. 70, 13-20.

CAKMAK, I. and MARSCHNER, H., 1988. Increase in membrane permeability and exudation in roots of zinc deficient plants. Journal of Plant Physiology 132: 356-361.

CAKMAK, I. AND MARSCHNER. H., 1988. Zinc-dependent changes in ESR signals, NADPH oxidase and plasma membrane permeability in cotton roots. Physiol. Plant. 73, 182-186.

ÇAKMAK, İ. AND SCHJOERRİNG , JK., 2008. Special topics in potassium and magnesium research, Willey InterScience.

CAKMAK, I., 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. The New Phytologist 146: 185-205

CAKMAK, I., 2000. Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. New Phytologist 146: 185-205.

CAKMAK, I., 2002. Plant nutrition research: priorities to meet human needs for food in sustainable ways. Plant and Soil 247: 3-24.

CAKMAK, I., 2004. Identification and correction of widespread zinc deficiency in Turkey a success story (a NATO-Science for Stability Project). Proceedings of the International Fertiliser Society 552: 1-26.

CAKMAK, I., 2008: Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? Plant and Soil 302: 1-17.

CAKMAK, I., DERICI, R., TORUN, B., TOLAY, I., BRAUN, H. J. and SCHLEGEL, R., 1997a. Role of rye chromosome in improvement of zinc efficiency in wheat and triticale. Plant and Soil 196: 249-253.

CAKMAK, I., EKIZ, H., YILMAZ, A., TORUN, B., KOLELI, N., GULTEKIN, I., ALKAN, A. and EKER, S., 1997b. Differential response of rye, triticale, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. Plant and Soil 188: 1-10.

CAKMAK, I., ERENOGLU, B., GÜLÜT, K.Y., DERİCİ, R. AND RÖMHELD, V., 1998. Light mediated release of phytosiderophores in wheat and barley under iron or zinc deficiency. Plant and Soil 202: 309-315.

CAKMAK, I., GULUT, K.Y., MARSCHNER, H. and GRAHAM, R.D., 1994. Effect of zinc and iron deficiency on phytosiderophore release in wheat genotypes differing in zinc efficiency. Journal of Plant Nutrition 17: 1-17.

CAKMAK, I., KALAYCI, M., EKIZ, H., BRAUN, H.J., KILINC, Y. and YILMAZ, A., 1999a. Zn deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: a NATO-Science for stability project. Field Crop Research 60: 175-188.

CAKMAK, I., MARSCHNER, H. and BANGERTH, F., 1989. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Experimental Botany 40: 405-412.

CAKMAK, I., OZKAN, H., BRAUN, H.J., WELCH, R.M. and ROMHELD, V., 2000. Zinc and iron concentrations in seeds of wild, primitive and modern wheats. Food and Nutrition Bulletin 21.

CAKMAK, I., OZTÜRK, L. MARSCHNER, H. KARANLIK, S. AND EKİZ, H., 1996. Zinc-efficient wild grasses enhance release of phytosiderophores under zinc deficiency. J. Plant Nutrition, 19, 551-563.

CAKMAK, I., OZTURK, L., EKER, S., TORUN, B., KALFA, H. I. and YILMAZ, A. 1997c. Concentration of zinc and activity of copper/zinc-superoxide dismutase in leaves of rye and wheat cultivars differing in sensitivity to zinc eficiency. Journal of Plant Physiology 151: 91-95.

CAKMAK, I., SARI, N., MARSCHNER, H., EKİZ, H., KALAYCI, M., YILMAZ, A. AND BRAUN, H.J., 1996. Phytosiderophore release in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. Plant and Soil 180, 183-189.

CAKMAK, I., SARI, N., MARSCHNER, H., KALAYCI, M., YILMAZ, A., EKER, S. and GULUT, K. Y., 1996a. Dry matter production and distribution of zinc in bread and durum wheat genotypes differing in Zn efficiency. Plant and Soil 180: 173-181

CAKMAK, I., TOLAY, I., OZDEMIR, A., OZKAN, H. OZTURK, L.. and KLING, C. I., 1999. Differences in Zinc Efficiency among and within Diploid, Tetraploid and Hexaploid Wheats Annals of Botany 84: 163±171, 1999

CAKMAK, I., TORUN, B., ERENOGLU, B., OZTURK, L., MARSCHNER, H., KALAYCI, M., EKIZ, H. and YILMAZ, A., 1998. Morphological and physiological differences in the response of cereals to zinc deficiency. Euphytica 100: 349-357.

CAKMAK, I., WELCH, R.M., ERENOGLU, B., ROMHELD, V., NORVELL, W.A. AND KOCHİAN, L.V., 2000. Influence of varied zinc supply on re-translocation of cadmium (^{109}Cd) and rubidium (^{86}Rb) applied on mature leaf of durum wheat seedlings. Plant and Soil 219: 279-284.

CAKMAK, I., WELCH, R.M., HART, J., NORVELL, W.A., OZTÜRK, L., KOCHİAN, L.V., 2000. Uptake and re-translocation of leaf-applied cadmium (^{109}Cd) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. J. Experimental Botany 51: 221-226.

CAKMAK, I., YILMAZ, A. EKİZ, H. TORUN, B. ERENOGLU, B. AND BRAUN H.J., 1996. Zinc Deficiency as a critical nutritional problem in wheat production in Central Anatolia. Plant and Soil 180, 165-172.

CARANTA, C., THABUIS, A., and PALLOIX, A., 1999. Development of a CAPS marker for the ***Pvr4*** locus: A tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper Genome 42: 1111– 1116

CAULFIELD, L.E., BLACK, R.E., 2004. Zinc deficiency. In: Ezzati, M., Lopez, A.D., Rodgers, A., Murray, C.J.L. (Eds.), Comparative Quantification of Health Risks: Global and Regional Burden of Disease Attribution to Selected Major Risk Factors, vol. I. World Health Organization, Geneva.

ÇAVDAR, A. O. VE ARCASOY, A. 1972. Hematologic and biochemical studies of Turkish children with pica. Clin Pediatrics, 11, 215.

ÇAVDAR, A. O., ARCASOY, A., CİN, S. VE GÜMÜŞ, H. 1980. Zinc deficiency in geophagia in Turkish Children and Response to treatment with zinc sulphate, Hemotologica, 65, 403-512.

ÇAVDAR, A.,O. ARCASOY, A., CİN, Ş., BABACAN, E. VE GÖZDAŞOĞLU, S. 1983. Geophagia in Turkey: Iron and zinc definiency, iron and zinc absorption studies and response to treatment with zinc in geophagia cases. Zinc Deficiency in human Subjects, 71-97.

CHAAB, A., SAVAGHEBI, GH., MOTESHAREZADEH, B., 2010. Zn efficiency and Zn concentration in shoot of different concentration of Maize cultivars grown in a zinc-deficient calcareous soil) Agricultural Segment 1(2) AGS/1521

CHATTERJEE, C. and KHURANA, N., 2007. Zinc stress-induced changes in biochemical parameters and oil content of mustard. Communications in Soil Science and Plant Analysis 38: 751-761.

CHAUDHRY, F. M. and LONERAGAN, J. F., 1972. Zinc absorption by wheat seedlings. II. Inhibitation by hydrogen ions and by micronutrient cations. Soil Science Society of America, Proceedings 36: 327-331.

CHAUDHRY, F.M., SHARIF, M., LATIF, A. and QURESHI, R.H., 1973. Zinc-copper antagonism in the nutrition of rice (*Oryza sativa* L.). Plant and Soil 38: 573-580.

CHESWORTH, W., 1991. Geochemistry of micronutrients. In: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M. and Welch, R.M. (Eds) Micronutrients in Agriculture. 2nd ed. Madison, USA, Soil Science Society of America Inc., pp. 1-30.

CICHY, K.A., FORSTER, S., GRAFTON, K.F. and HOSFIELD, G.L., 2005 Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. Crop Science 45: 864-870.

COSTA, F., R., PEREIRA, T. N. S., VITÓRIA, A. P., DE CAMPOS, K. P., RODRIGUES, R., DA SILVA, D.H., ve PEREIRA, M.G., 2005. Genetic diversity among Capsicum accessions using RAPD markers. Crop Breeding and Applied Biotechnology 6:18-23

COURTNEY, M., 2007. Genotypic Variability and Inheritance of Iron and Zinc in Sweetpotato. Louisiana State Univ., Baton Rouge, MS Thesis.

COURTNEY, M., MCHARO, M., LA BONTE, D., GRUNEBERG, W., 2008. "Heritability estimates for micronutrient composition of sweetpotato storage roots." Hortscience **43**(5): 1382-1384.

DA ROSA, S. S., RIBEIRO, N. D., JOST, E., REINIGER, L. R. S., ROSA, D. P., CERUTTI, T., POSSOBOM, M. T. D., 2010. "Potential for increasing the zinc content in common bean using genetic improvement." Euphytica 175(2): 207-213.

DANG, Y.P., EDWARDS, D.G., DALAL, R.C. and TILLER, K.G., 1993. Identification of an index tissue to predict zinc status of wheat. Plant and Soil 154: 161-167.

DEVRAN, Z., FIRAT, A.F., TOR, M., MUTLU, N., ELEKCIOGLU, I. H., 2011. AFLP and SRAP markers linked to the mj gene for root-knot nematode resistance in cucumber. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), v.68, n.1, p.115-119

DHALIWAL, M. S., JINDAL S. K., SINGH A. K., GAIKWAD 2013. Genetic Diversity Analysis and DNA Fingerprinting of Elite Chilli Pepper Lines Using SSR Markers International Journal of Vegetable Science Volume 19, Issue 3,

DIANESE, E. C., FONSECA ,M. E. N., GOLDBACH R., KORMELINK, R., INOUE-NAGATA, A.K.,RESENDE, R.O., BOITEUX. L.S., 2010. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions Mol Breeding 25:133– 142

DİE, 2008 Devlet İstatistik Enstitüsü Yıllığı

DONG, B., RENGEL, Z. and GRAHAM, R.D., 1995. Root morphology of wheat genotypes differing in zinc efficiency. Journal of Plant Nutrition 18: 2761-2773.

DORAN, I., AYDIN, R., ÇAKIR, I., GÜLER, S., SOFUOĞLU, I., ve PIŞIRGEN, T., 1991. Içel Yöresi Zeytinlerinin Beslenme Durumunun Tespiti Projesi. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Istasyonu Müdürlüğü, Mersin.

EKEN, M., 2007. Farklı Biber (*Capsicum Annuum* L.) Tiplerinde Çinko (Zn) Etkinliğinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 2007. Sayfa:61. Adana

EKIZ, H., BAGCI S. A., KIRAL, S., EKER, S., GULTEKIN, I., ALKAN, A., CAKMAK, I., 1998. Effects of zinc fertilization of various cereals grown in zinc deficient calcareous soils. Journal of Plant Nutrition 21: 2245±2256.

EL-BENDARY, A. A., EL-FOULY, M. M., RAKSA, F. A., OMAR, A. A. and ABOU-YOUSSEF, A. Y., 1993. Mode of inheritance of zinc accumulation in maize. *Journal of Plant Nutrition* 16:2043-2053.

ENGLE, L. M., FAN, M. J., WANG, J. Y., LO, S. F., ve SHU, T. R., 2001. Analysis of genetic diversity of Capsicum spp. (pepper) using random amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Agricultural Researches of China 50: 29-42.

ERDEM, H. 2009. *Triticum Spelta* Buğdayında Tane Çinko Konsantrasyonu Yüksek ve Çinko Eksikliğine Dayanıklı Genotiplerin Belirlenmesi Ve Karakterize Edilmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı. Doktora tezi, 2009 sayfa:148. Adana

ERENOGLU, B., CAKMAK, I., MARSCHNER, H., ROMHELD, V., EKER, S., DAGHAN, H., KALAYCI, M. and EKIZ, H., 1996. Phytosiderophore release does not relate well with zinc efficiency in different bread wheat genotypes. Journal of Plant Nutrition 19: 1569-1580

ERENOGLU, B., CAKMAK, I., ROMHELD, V., DERICI, R. and RENGEL, Z., 1999. Uptake of zinc by rye, bread wheat and durum wheat cultivars differing in zinc efficiency. Plant and Soil 209:245-252.

ERENOGLU, B., EKER, S., CAKMAK, I., DERİCİ, R. AND RÖMHELD, V., 2000. Effect of iron and zinc deficiency on release of phytosiderophores in barley cultivars differing in zinc efficiency. J. Plant Nutrition, 23:1645-1656.

EYUPOGLU G, KURUCU N, TALAZ S, CANISAG U., 1994. Status of plant available micronutrients in Turkish soils (in Turkish). In: Annual Report of Soil and Fertilizer Research Institute. Report No. 118, Ankara-Turkey, 25±31.

EYÜPOĞLU, F., KURUCU, N., TALAZ S., 1998. Türkiye Topraklarının Bitkiye Yarayışlı Çinko Bakımından Genel Durumu I Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık)., 99-106.

FABER, B. A., ZASOSKI, R. J., BURAU, R. G. and URIU, K., 1990. Zinc uptake by corn as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil 129: 121-130.

FAGERIA, N. K., BALIGAR, V. C. and JONES, C. A., 1991. Growth and Mineral Nutrition of Field Crops. New York, Marcel Dekker.

FAGERIA, N.K. and STONE, L. F., 2006. Physical, chemical, and biological changes in the rhizosphere and nutrient availability. Journal of Plant Nutrition 29: 1327-1356.

FALCONER, D. S., 1989 Introduction to Quantitative Genetics, Ed. 3, Longman, New York.

FAOSTAT, 2011. www.faostat.org

FERRİOL, M, PİCO MB, NUEZ, F., 2003. Genetic diversity of some accessions of Cucurbita maxima from Spain using RAPD and SBAP markers. Genetic Resources and Crop Evolution 50, 227-38.

FOSSARD, E., BUCHER, M., MACHLER, F., MOZAFAR, A., and HURRELL, R., 2000. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn, and Ca in plants for human nutrition. J. Sci. Food. Agr. 80: 861-879.

FU, Y. B., GUGEL, R. K., 2010. Genetic diversity of Canadian elite summer rape (*Brassica napus* L.) cultivars from the pre- to post-canola quality era. Can. J. Plant Sci. 90: 23-33.

GAO J., YİNG J., JİANG C., WANG C., J., 2007. Power Sources 166 :255.

GELIN, J. P., FORSTER, S., GRAFTON, K. F., MCCLEAN, P. E., KOOAS-CIFUENTES, G. A., 2007. "Analysis of seed zinc and other minerals in a recombinant inbred population of navy bean (*Phaseolus vulgaris* L.)." Crop Science 47(4): 1361-1366.

GENC Y, VERBYLA AP, TORUN AA, CAKMAK I, WİLLSMORE K, WALLWORK H, MCDONALD, G.K., 2008. Quantitative trait loci analysis of zinc efficiency and grain zinc concentration in wheat using whole genome average interval mapping. Plant soil 310:67– 75

GENC, Y. and MCDONALD, G. K., 2004. The potential of synthetic hexaploid wheats to improve zinc efficiency in modern bread wheat. Plant and Soil 262: 23-32.

GENC, Y., 1999. Screening for zinc efficiency in barley (*Hordeum vulgare* L.). PhD thesis. Faculty of Agriculture and Natural Resource Sciences. Adelaide, The University of Adelaide.

GENC, Y., MCDONALD, G. K. and GRAHAM, R. D., 2000. Effect of seed zinc content on early growth of barley (*Hordeum vulgare* L.) under low and adequate soil zinc supply. Australian Journal of Agricultural Research 51: 37-45.

GENC, Y., MCDONALD, G. K. and GRAHAM, R. D., 2002a. Critical deficiency concentration of zinc in barley genotypes differing in zinc efficiency and its relation to growth responses. Journal of Plant Nutrition 25: 545-560.

GENC, Y., MCDONALD, G. K. and GRAHAM, R. D., 2002b. A soil-based method to screen for zinc efficiency in seedlings and its ability to predict yield responses to zinc efficiency in mature plants. Australian Journal of Agricultural Research 53: 409-421.

GENC, Y., MCDONALD, G. K., RENGEL, Z. and GRAHAM, R. D., 1999. Genotypic variation in the response of barley to zinc deficiency. In: Gissel-Nielsen, G. and Jensen, A. (Eds) Plant Nutrition-Molecular Biology and Genetics. Proceeding of the Sixth International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 205-221.

GENC, Y., SHEPHERD, K.W., MCDONALD, G.K. and GRAHAM, R.D., 2003. Inheritance of tolerance to zinc deficiency in barley. Plant Breeding 122: 283-284.

GENC, Y.. VERBYLA, A. P. TORUN, A. A., CAKMAK, I., WILLSMORE, K.. WALLWORK, H., MCDONALD, G. K., 2009. Quantitative trait loci analysis of zinc efficiency and grain zinc concentration in wheat using whole genome average interval mapping Plant Soil 314:49– 66

GIBSON, T. S. and LEECE, D. R., 1981. Estimation of physiologically active zinc in maize by biochemical assay. Plant and Soil 63: 395-406.

GOMEZ, B., HUGO, F., AND YAZICI, M.A., AND ÖZTÜRK, L. and BUDAK, H. AND PELEG, Z., AND MORGOUNOV, A., AND FAHİMA, T., AND SARANGA, Y., AND ÇAKMAK, I., 2010. Genetic variation and environmental stability of grain mineral nutrient concentrations in Triticum dicoccoides under five environments. Euphytica, 171 (1). pp. 39-52.

GRAHAM R.D., and WELCH, R.M., 1996. Breeding for Staple Food Crops With High Micronutrient Density. Agricultural Strategies for Micronutrients, Working Paper 3, International Food Policy Research Institute, Washington, D.C. Gregorio,

GRAHAM R.D., R.M. WELCH, D.L. GRUNES, E.E. CAREY VE W.A. NORVELL., 1987. Effect of zinc deficiency on the accumulation of boron and other mineral nutrients in barley. Soil Sci. Soc. Ame. J. 51: 652-657

GRAHAM, R. D. and RENGEL, Z., 1993. Genotypic variation in Zn uptake and utilization by plants. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 107-114.

GRAHAM, R. D., WELCH, R. M. and BOUIS, H. E., 2001. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: Principles, perspectives and knowledge gaps. Advances in Agronomy 70: 77-142.

GRAHAM, R., ASCHER, J.S., and HYNES, S.C., 1992. Selection of zinc-efficient cereal genotypes for soil of low zinc status. Plant and Soil, 146: 241-250.

GRAHAM, R.D. AND WEBB, M.J., 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. In: Micronutrients in Agriculture, 2nd ed., SSSA Book Series, No. 4, pp. 329-370.

GRAHAM, R.D. and WELCH, R.M., 1996. Breeding for staple-food crops with high micronutrient density. Working Papers on Agricultural Strategies for Micronutrients, No. 3. Washington, D.C, International Food Policy Research Institute.

GRAHAM, R.D., 1984. Breeding for nutritional characteristics in cereals. Adv. Plant Nutr., 1: 57-102.

GRAHAM, R.D., and RENGEL, Z., 1993. Genotypic variation in zinc uptake and utilization by plants. In: Zinc in Soils and Plants. Ed. A D Robson.pp 107-188. Kluwert Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

GRAHAM, R.D., AND ROVİRA, A.D., 1984. A Role for Manganese in the Resistance of What to Take-All. Plant Soil 78, pp. 441-444

GREGORIO, G. B., 2002. Progress in breeding for trace minerals in staple crops. Journal of Nutrition 132: 500S-502S.

GREGORIO, G. B., SENADHIRA, D., HTUT, T. and GRAHAM, R. D., 2000. Breeding for trace mineral density in rice. Food and Nutrition Bulletin 21: 382-386.

GREWAL, H. S., GRAHAM, R. D. and RENGEL, Z., 1996. Genotypic variation in zinc efficiency and resistance to crown rot disease (*Fusarium graminearum* Schw. Group 1) in wheat. Plant and Soil 186: 219-226.

GRIES, D., BRUNN, S., CROWLEY, D.E. and PARKER, D.R., 1995. Phytosiderophore release in relation to micronutrient metal deficiencies in barley. Plant and Soil 172: 299-308.

GROTZ, N., FOX, T., CONNOLLY, E., PARK, W., GUERINOT, M. L., and EID, D., 1998. Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 95, pp. 7220– 7224, June 1998 Plant Biology

GRUSAK, M. A. and CAKMAK, I., *2005* Methods to improve the crop-delivery of minerals to humans and livestock. *In: Plant Nutritional Genomics (Biological Sciences). Blackwell, pp. 265-286.*

GULSEN, O., KARAGUL, S., ABAK, K., 2007. Diversity and relationships among Turkish okra germplasm by SRAP and phenotypic marker polymorphism. Biologia, 62:1 41– 45.

GULSEN, O., SEVER-MUTLU' S., MUTLU, N., TUNA, M., KARAGUZEL, O., SHEARMAN R.C., RİORDAN, T.P. and TİFFANY M.HENG-MOSS., 2009. Polyploidy creates higher diversity among Cynodon accessions as assessed by molecular markers Theoretical and Applied Genetics

GÜNAY, A., 1981. Serler. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Cilt II Çag Matbaası, Ankara,323s.

GÜNAY, A., 2005. Sebze Yetiştiriciliği. Cilt II, İzmir, Ankara, 351s.

GÜNES, A., İNAL, A., ALPASLAN, M., ÇIKILI, Y., 1999. Effect of Salinity on Phosphorus Induced Zinc Deficiency in Pepper (*Capsicum annuum L.*) Plants. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23: 459-464.

GUZMAN-MALDONADO, S. H., MARTINEZ, O., ACOSTA-GALLEGOS, J. A., GUEVARA-LARA, F. and PAREDES-LOPEZ, O., 2003. Putative quantitative trait loci for physical and chemical components of common bean. *Crop Science* 43: 1029-1035.

HACISALİHOĞLU , G., ÖZTÜRK, L., ÇAKMAK, İ., WELCH, R.M., KOCHIAN, L., 2004. Genotypic Variation in Common Bean in Response to Zinc Deficiency in Calcareous Soil. Plant and Soil, 259: 71-83.

HACISALIHOGLU, G. and KOCHIAN, L.V., 2003. How do some plants tolerate low levels of soil zinc? Mechanisms of zinc efficiency in crop plants. New Phytologist 159: 341-350.

HACISALIHOGLU, G., 2002. Physiological and biochemical mechanisms underlying zinc efficiency in monocot and dicot crop plants. PhD thesis. New York, USA, Cornell University, Ithaca.

HACISALIHOGLU, G., HART, J. J. and KOCHIAN, L. V., 2001. High and low-affinity zinc transport systems and their possible role in zinc efficiency in bread wheat. Plant Physiology 125:456-463.

HACISALIHOGLU, G., HART, J. J., WANG, Y., CAKMAK, I. and KOCHIAN, L. V., 2003a. Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of Cu/Zn superoxide dismutase and carbonic anhydrase in wheat. Plant Physiology 131: 595-602.

HACISALIHOGLU, G., OZTURK, L., CAKMAK, I., WELCH, R.M. and KOCHIAN, L.V., 2003b. Genotypic variation in common bean in response to zinc deficiency in calcareous soil. Plant and Soil 259: 71-83.

HAMBRIDGE, K. M., 2000. Human zinc deficiency. Journal of Nutrition 130, S1344– S1349.

HARTWING, E. E., JONES, W. F. and KILEN, T. C., 1991. Identification and inheritance of inefficient zinc absorption in soybean. Crop Science 31: 61-63.

HARVESTPLUS, 2010. Gelişmekte olan Ülkelerde Hasatalık kontrol Öncelikleri, 2. Baskı, 2006, Tablo 28.1, 28.2, ve 28.3 http://www.harvestplus.org/content/ zinc

HARVESTPLUS.ORG., 2007. http://www.harvestplus.org/.

HOTZ C & BROWN K.M., 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food and Nutrition Bulletin 25, S99– S199.

HUANG, L., YE, Z. and BELL, R. W., 1996. The importance of sampling immature leaves for the diagnosis of boron deficiency in oilseed rape (*Brassica napus* cv. Eureka). Plant and Soil 183: 187-198.

HUANG, T.T., CARLSON, E.J., GILLESPIE, A.M., SHI, Y., EPSTEIN, C.J., 2000. Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 55:B5– B9.

IBPGR, 1983. Genetic resources of Capsicum, IBPGR Secretariat Rome, 49 s

ILBI, H., 2003. RAPD markers assisted varietal identification and genetic purity test in pepper, *Capsicum annuum*. Scientia Horticulturae 97: 211-218.

IMTIAZ, M., ALLOWAY, B. J., MEMON, M. Y., KHAN, P., SIDDIQUI, S. H., ASLAM, M. and SHAH, S. K. H., 2006. Zinc tolerance in wheat cultivars as affected by varying levels of phosphorus. Communications in Soil Science and Plant Analysis 37: 1689-1702.

KALAYCI, M.;TORUN B.;EKER S.;AYDIN M.;OZTURK L.;CAKMAK I., 1999. Grain yield, zinc efficiency and zinc concentration of wheat cultivars grown in a zinc-deficient calcareous soil in field and greenhouse. Field Crops Research, 63: 87-98.

KARAKOUSIS, A., GUSTAFSON, J.P., CHALMERS, K.J., BARR, A.R. and LANGRIDGE, P., 2003b. A consensus map of barley integrating SSR, RFLP, and AFLP markers. Australian Journal of Agricultural Research 54: 1173-1185

KARAMAN, M.R., BROHİ, A. R., INAL, A., TABAN, S., 1998. Kelkit Çayından Siltasyon ile Tarıma Yeni Kazandırılan Topraklarda Demir-Çinko Gübrelemesinin Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkisi' nin Büyüme ve Mineral Besin Elementi Konsantrasyonuna Etkisi I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık), s.191-200.

KARANLIK, S., ERENOĞLU, B., DERICI, M. R., ve ÇAKMAK, I., 1998. Orta Anadolu, Çukurova ve GAP Bölgeleri topraklarının değişik fraksiyonlarındaki mikroelement konsantrasyonlarının belirlenmesi. I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık), 783-786.

KASTRUP, V., STEIGER, S., LUTTGE, U. and FISCHER-SCHLIEBS, E., 1996. Regulatory effects of zinc on corn root plasma membrane H^+-ATPase. New Phytologist 134: 61-73.

KELEŞ, D. 2007., Farklı biber genotiplerinin Karakterizasyonu ve Düşük sıcaklığa Töleransı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi. Sayfa 212, 2007, Adana.

KHABAZ-SABERI, H., GRAHAM, R.D., ASCHER, J.S. and RATHJEN, A.J., 2000. Quantification of the confounding effect of seed Mn content in screening for Mn efficiency in durum wheat. Journal of Plant Nutrition 23: 855-866.

KHABAZ-SABERI, H., GRAHAM, R.D., PALLOTTA, M.A., RATHJEN, A.J. and WILLIAMS, K.J., 2002. Genetic markers for manganese efficiency in durum wheat. Plant Breeding 121: 224-227.

KHAN, H. R., MCDONALD, G. K. and RENGEL, Z., 1998. Chickpea genotypes differ in their sensitivity to Zn deficiency. Plant and Soil 198: 11-18.

KIM, H. J., HAN, J. H., YOO, J. H., CHO, H. J., AND KIM, B. D. 2008. Development of a Sequence Characteristic Amplified Region Marker linked to the L4 Locus Conferring Broad Spectrum Resistance to Tobamoviruses in Pepper Plants Mol. Cells, Vol. 25, No. 2, pp. 205-210

KIM, T., MILLS, H. A., and WETZSTEIN, H. Y., 2002. Studies on the effect of zinc supply on growth and nutrient uptake in pecan. J. Plant Nutr. 25: 1987-2000.

KITAGISHI, K., OBATA, H. and KONDO, T., 1987. Effect of zinc deficiency on 80S ribosome content of meristematic tissues of rice plant. Soil Science and Plant Nutrition 33: 423-429.

KLEINHOFS, A. and HAN, F., 2002. Molecular mapping of the barley genome. In: Slafer, G.A., Molina-Cano, J.L., Savin, R., Araus, J.L. and Romagosa, I. (Eds) Barley Science - Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality. Food Products Press, New York, pp. 31-63.

KLUG, W. S. and CUMMINGS, M. R., 2005. Essentials of genetics. 5th ed. Upper Saddle River, New Jersery. Pearson Education, Inc.

KOCHIAN, L.V., 1991. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. In: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M. and Welch, R.M. (Eds) Micronutrients in Agriculture. 2 ed. Madison, WI, Soil Science Society of America, pp. 229-296.

KOTHARI, S.K., MARSCHNER, H. and ROMHELD, V., 1991. Contribution of VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown calacareous soil. Plant and Soil 131: 177-185.

KUMAR, R., KUMAR, S., DWIVEDI, N., KUMAR, S., RAI, A., SINGH, M., SINGH, D.Y., RAI, M. 2009. Validation of SCAR markers, diversity analysis of male sterile (S-) cytoplasms and isolation of an alloplasmic S-cytoplasm in Capsicum Scientia Horticulturae 120 167– 172

LASAT, M. M., BAKER, A. J. M. and KOCHIAN, L. V., 1996. Physiological characterization of root Zn^{2+} absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of Thlaspi. Plant Physiology 112: 1715-1722.

LEE, H-R., BAE, I-H., PARK, S-W, KIM, H-J, MIN, W-K, HAN, J-H, KIM, K-T., and KIM, B-D. 2008. Construction of an Integrated Pepper Map Using RFLP, SSR, CAPS, AFLP, WRKY, rRAMP, and BAC End Sequences Mol. Cells OT, 21-37

LEE, H-R., KIM, K.-T., KIM, H.-J., HAN, J.-H., KIM, J.-H., YEOM, S.-I. KIM, H.J. KANG, W.-H. SHI, J., PARK, S.-W., BAE, I-H., LEE, S., CHO, J., OH, D., ve KIM, B.-D., 2011. QTL Analysis of Fruit Length Using rRAMP, WRKY, and AFLP Markers in Chili Pepper Hort. Environ. Biotechnol. 52(6):602-613.

LEE, S. CHANOIT G., MCINTOSH R., ZVARA D. A., AND XU, Z., 2009. Molecular mechanism underlying Akt activation in zinc-induced cardioprotection *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297: H569-H575.

LEECE, D. R., 1978. Distribution of physiologically inactive zinc in maize growing in black earth soil. Australian Journal of Agricultural Research 29: 749-758.

LEFEBVRE, V., PALLOIX, A., CARANTA, C. AND POCHARD, E., AND JAHN, M. K., 1998. Genetic mapping of the *pvr1* locus in struction of an intraspecific integrated linkage map of pepper *Capsicum spp*. and evidence that distinct potyvirus resistance loci using molecular markers and doubled haploid progenies. Genome 38: 112– 121.

LI, G., QUIROS, C.F., 2001. Sequence related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. Theor. Appl. Genet. 103: 455-461.

Lİ, Y., SHEN, J.,WANG, T. , CHEN, Q. , ZHANG, X., FU, T., MENG, J. , TU, J. AND MA, C., 2007, QTL analysis of yield-related traits and their association with functional markers in (*Brassica napus* L.), Australian Journal of Agricultural Research, 58(8):759-766.

LINDSAY, W.L. 1972. Zinc in soils and plant nutrition. Adv. Agron. 24:147-186

LINDSAY, W.L., 1991. Inorganic equilibria affecting micronutrients in soils. In: Mordvedt, J.J.,Cox, F.R., Shuman, L.M. and Welch, R.M. (Eds) Micronutrients in Agriculture.Madison, WI, SSSA Book Series No. 4, pp. 89-112.

LIU, A. and TANG, C., 1999. Responses of two genotypes of *Lupinus albus* L. to zinc application on an alkaline soil. Journal of Plant Nutrition 22: 467-477.

LIVINGSTONE, K. D., LACKNEY, V. K., BLAUTH, J. R., VAN, W. R. ve JAHN, M. K., 1999. Genome mapping in *Capsicum* and the evolution of structure in the *Solanaceae*. Genetics 152: 1183-1202.

LOMBNAES, P. and SINGH, B. R., 2003. Varietal tolerance to zinc deficiency in wheat and barley grown in chelator-buffured nutrient solution and its effect on uptake of Cu, Fe, and Mn. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 166: 76-83.

LONERAGAN, J. F. and WEBB, M. J., 1993. Interactions between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 119-134.

LONERAGAN, J.F. AND WEBB, M.J., 1993. Interactions between Zinc and Other Nutrients Affecting the Growth of Plants. Chap 9 in Robson, A.D. (ed) Zinc in Soils and Plants, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp 119 - 134.

LONERGAN, P. F., 2001. Genetic Characterisation and QTL Mapping of Zinc Nutrition in Barley (*Hordeum vulgare*). PhD thesis. Faculty of Agriculture and Natural Resource Sciences. Adelaide, The University of Adelaide.

LONERGAN, P. F., PALLOTTA, M.A., LORIMER, M., PAULL, J. G., BARKER, S. J. and GRAHAM, R. D., 2009. Multiple genetic loci for zinc uptake and distribution in barley (*Hordeum vulgare*) New Phytologist (2009) 184: 168–179

LONGNECKER, N. E., MARCAR, N. E. and GRAHAM, R. D., 1991. Increased manganese content of barley seeds can increase grain yield in manganese-deficient conditions. Australian Journal of Agricultural Research 42: 1065-1074.

LU, F.-H., YOON, M.-Y., CHO, Y.-I. , JONG-WOOK , KI-TAEK, CHEOUL, M.,-,S.-R. CHEONG CHOKIMCHUNG, PARK, Y.-J. 2011. Transcriptome analysis and SNP/SSR marker information of red pepper variety YCM334 and Taean Scientia Horticulturae Volume 129, Issue 1, 25 May 2011, Pages 38– 45

LUCAS, R. E. and DAVIS, J. F., 1961. Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. Soil Science 92: 177-182.

MAJUMDER, N. D., RAKSHIT, S. C. and BORTHAKUR, D. N., 1990. Genetic effects on uptake of selected nutrients in some rice (*Oryza sativa* L.) varieties in phosphorus deficient soil. Plant and Soil 123: 117-120.

MARSCHNER H, and RÖMHELD V., 1996. Root-induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. In: Waisel Y, Eshel A, and Kafkafi U [eds.], Plant roots, the hidden half, 557– 579. Marcel Dekker, Inc., New York 10016, USA

MARSCHNER, H. and CAKMAK, I., 1986. Mechanism of phosphorus induced zinc deficiency in cotton II. Evidence for impaired shoot control of phosphorus uptake and translocation under zinc deficiency. Physiol. Plant. 68, 491-496.

MARSCHNER, H., 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants, 1st ed. San Diego, California, Academic Press.

MARSCHNER, H., 1993. Zinc uptake from soils. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 59-77.

MARSCHNER, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. London, Academic Press.

MARSCHNER, H., KIRKBY, E.A. and CAKMAK, I., 1996. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photo assimilates and cycling of mineral nutrients. J. Experimental Botany 47, 1255-1263.

MCCLAIN, C. J., KASARSKIS, E. J., J. R., and ALLEN, J. J., 1985. Functional consequences of Zinc deficiency. Progress in Food and Nutr. Sci. 9: 185-226.

MENGEL, K. and KIRKBY, E.A., 1987. Principles of Plant Nutrition. Bern, Switzerland, International Potash Institute.

MİCRONUTRİENT INİTİATİVE, 2006. www.micronutrient.org/english/view.asp?x

MINAMIYAMA, K., INABA, Y. S. K., 2005. Development of a cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker linked to pungency in pepper Plant Breeding t24**,** 288—291

MOHAN, M., NAIR, S., BHAGWAT, A., KRISHNA, T. G., YANO, M., BHATIA, C. R. and SASAKI, T., 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop. Molecular Breeding 3: 87-103.

MORAGHAN, J. T. and GRAFTON, K., 1999. Seed-zinc concentration and the zinc-efficiency trait in navy bean. Soil Science Society of America Journal 63: 918-922.

MORAGHAN, J.T. and MASCAGNI JR, H.J., 1991. Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. In: Mordvedt, J.J., Cox, F.R., Shumann, L.M. and Welch, R.M. (Eds) Micronutrients in Agriculture. Madison, WI, Soil Science Society of America, pp. 371-425.

MORTVEDT, J. J. and GILKES, R. J., 1993. Zinc fertilisers. In: Robson, A.D. (Ed) Zinc in Soils and Plants. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 33-44.

MUTLU, N., BOYACI, F. H., GOCMEN M. and ABAK, K. 2008. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD, and SCAR markers linked with a *Fusarium wilt* resistance gene in eggplant. Theoretical and Applied Genetics: International Journal of Plant Breeding Research 117 , pp. 1303– 1312;

NAGARATHNA, T. K., SHANKAR, A. G. and UDAYAKUMAR, M., 2010. Assessment of genetic variation in zinc acquisition and transport to seed in diversified germplasm lines of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Agricultural Technology 6(1): 171-178.

NAYYAR, V. K., TAKKAR, P. N., BANSAL, R. L., SINGH, S. P., KAUR, N. P. and SADANA, U. S., 1990. Micro- nutrients in soils and crops of Punjab. Ludhiana, India, Research Bulletin. Department of Soils, Punjab Agricultural University.

NGUYEN, V. T., BUROW, M. D., NGUYEN, H. T. and LE, B. T., 2001. Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza Sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 102: 1002-1010.

OBATA, H., KAWAMURA, S., SENOO, K. and TANAKA, A., 1999. Changes in the level of protein and activity of Cu/Zn-superoxide dismutase in zinc deficient rice plant, *Oryza sativa* L. Soil Science and Plant Nutrition 45: 891-896.

OLSEN, K. M., CAICEDO, A. L., POLATO, N., MCCLUNG, A., MCCOUCH, S., PURUGGANAN, M. D., 2006. Selection under domestication: evidence for a sweep in the rice Waxy genomic region. Genetic, 173: 975-983.

ORTAS I., 2006. Mycorrhizae inoculated seedling production systems inorganic farming under greenhouse and field conditions. 5th International Conference on Mycorrhizae ICOM5 «Mycorrhiza for Science and Society», 23-27 July, Granada, Spain

ORTIZ-MONASTERIO, J. I. and GRAHAM, R.D., 2000. Breeding for trace minerals in wheat. Food and Nutrition Bulletin 21: 392-396.

ÖZ AYDIN, S., 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimofik Dna) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 6. Sayı (Ekim 2004)

ÖZER, M.S., 1999. Harran Ovası Koşullarında Değişik Mısır Genotiplerinin Çinko Gübrelemesine Reaksiyonları ve Çinko Yetersizliğine Dayanıklı Genotiplerin Seçimi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

ÖZGÜVEN, N., KATKAT A. V., 2001. Artan Miktarlarda Uygulanan Çinkonun Mısır Bitkisinin Verim ve Çinko Alımı Üzerine Etkisi Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg., 15: 85-97.

PALLOTTA, M.A., GRAHAM, R.D., LANGRIDGE, P., SPARROW, D.H.B. and BARKER, S.J., 2000. RFLP mapping of manganese efficiency in barley. Theoretical and Applied Genetics 101:1100-1108.

PEDLER, J. F., PARKER, D. R. and CROWLEY, D. E., 2000. Zinc deficiency-induced phytosiderophore release by the Triticaceae is not consistently expressed in solution culture. Planta 211:120-126.

PELEG, Z., CAKMAK, I., OZTURK, L., YAZICI, A., JUN, Y., BUDAK, H., KOROL, A. B., FAHIMA, T., SARANGA, Y., 2009. Quantitative trait loci conferring grain mineral nutrient concentrations in durum wheat *3* wild emer wheat RIL population Theor Appl Genet 119:353– 369

PELEG, Z.; CAKMAK, I.; YAZICI, A. MUSTAFA; F., TZION; S., YEHOSHUA., 2009. Genomic-Physiological Dissection of Grain Protein and Mineral Nutrient Concentrations in Wild Emmer Wheat Under Contrasting Water Availabilities The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI, Department of Plant Sciences, UC Davis, UC Davis

PENCE, N. S., LARSEN, P. B., EBBS, S. D., LETHAM, D. L. D., LASAT, M. M., GARVIN, D.F., EIDE, D. and KOCHIAN, L. V., 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator Thlaspi caerulescens. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 4956-4960.

PIERRE, M., NOEL, L., LAHAYE, T., BALLVORA, A., VEUSKENS, J., GANAL, M., BONAS, U. 2000. High-resolution genetic mapping of the pepper resistance locus Bs3 governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv vesicatora AvrBs3 protein Theor Appl Genet 101:255– 263

PINTON, R., CAKMAK, I., AND MARSCHNER, H., 1994. Zinc deficiency enhanced NAD(P)H-dependent superoxider radical production in plasma membrane vesicles isolated from roots of bean plants J. Exp. Bot. 45: 45-50

PORTIS, E., NERVO, G., CAVALLANTI, F., BARCHI, L. AND LANTERI, S., 2006. Multivariate Analysis of Genetic Relationships between Italian Pepper Landraces Crop Sci 46:2517-2525

PRASAD, A. S., 1984. Zinc deficiency in sickle cell disease. *Prog. Clin. Biol. Res.*165:49-58.

PRASAD, A. S., HALSTED, J. A. & NADİMİ, M., 1961. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am. J. Med.*31:532.

PRINCE, J.P., LACKNEY, V.K., ANGELES, C., BLAUTH, J.R. ve KYLE, M.M., 1995. A survey of DNA polymorphism within the genus *Capsicum* and the fingerprinting of pepper cultivars. Genome 38: 244-251.

QU, C., FU, F., LIU, L., LU, K., HUANG, J., LIU, X., XIE, J., WANG, L.C., TANG R., Z. ve LI, J., 2012. Simple sequence repeat (SSR) markers analysis of genetic diversity among Brassica napus inbred lines based on correlation between seed quality traits and seed pigments content African Journal of Biotechnology Vol. 11(33), pp. 8202-8211

QUIJANO-GUERTA, C., KIRK, G. J. D., PORTUGAL, A. M., BARTOLOME, V. I., MCLAREN, G. C., 2002. "Tolerance of rice germplasm to zinc deficiency." Field Crops Research 76(2-3): 123-130.

QUIRIN, E. A., OGUNDIWIN, E. A., PRINCE, J. P., MAZOUREK, M., BRIGGS, M. O., CHLANDA, T. S.,KIM, K-T., FALISE, M., KANG, B-C., JAHN, M.M. 2009. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) primers for the detection of Phyto.5.2, a major QTL for resistance to Phytophthora capsici Leon. in pepper Theor Appl Genet 110: 605– 612

RAMESH, S. A., CHOIMES, S. and SCHACHTMAN, D. P., 2004. Over-expression of an *Arabidopsis* zinc transporter in *Hordeum vulgare* increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. Plant Molecular Biology 54: 373-385.

RANGWEN, R., AKKAYA, M. S., BHAGWAR, A. A., LAVI, U., ve CREGAN P. B.. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. Theor. Appl. Genet. 90:43-48.

RAO, G.U., BEN CHAIM, A., BOROVSKY, Y., AND PARAN, I., 2003. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of Capsicum annuum an capsicum frutescens.Theor. Appl. Genet. NMS, 1457-1466.

RASHİD, A., AND RAFİQUE, E., 1998. Micronutrients in Pakistan agriculture: Significance and use. Pakistan Agricultural Research Council, Islamabad, Pakistan. 8 pp.

RÊGO, E. R., REGO, M. M., FARIAS-FILHO, L. P., 2010. Genetıc Diversıty In Pepper (Capsıcum Spp By RAPD Markers ISHS Acta Horticulturae 918: XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): III International Symposium on Plant Genetic Resources

REID, R.J., J.D. BROOKS, M.A. TESTER, AND F.A. SMITH., 1995. The mechanism of zinc uptake in plants. Characterization of the low-affinity system. Planta 1996. 198: 39-45.

REIF, J.C., WARBURTON, M.L., XIA, X.C., HOISINGTON, D.A., CROSSA, J., TABA, S., MUMINOVIC, J., BOHN, M., FRISCH, M., MELCHINGER, A.E., 2006. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. Theor. Appl. Genet. 113: 177-185.

RENGEL, Z. and GRAHAM, R. D., 1995a. Importance of seed Zn content for wheat grown on Zn- deficient soil. I. Vegetative growth. Plant and Soil 173: 259-266.

RENGEL, Z. and GRAHAM, R. D., 1995c. Wheat genotypes differ in zinc efficiency when grown in the chelate-buffered nutrient solution. I. Growth. Plant and Soil 176: 307-316.

RENGEL, Z. and GRAHAM, R., 1996. Uptake of zinc from chelate-buffered nutrient solutions by wheat genotypes differing in zinc efficiency. Journal of Experimental Botany 47: 217-226.

RENGEL, Z. and WHEAL, M. S., 1997b. Kinetic parameters of zinc uptake by wheat are affected by the herbicide chlorsulfuron. Journal of Experimental Botany 48: 935-941.

RENGEL, Z., 1995. Carbonic anhydrase activity in leaves of wheat genotypes differing in zinc efficiency. J. Plant Physiol., 147: 251-256.

RENGEL, Z., 1995b., Sulfhydryl groups in root-cell plasma membranes of wheat genotypes differing in Zn efficiency. Physiologia Plantarum 95: 604-612.

RENGEL, Z., 1999. Physiological mechanisms underlying differential nutrient efficiency of crop genotypes. In Mineral Nutrition of Crops-Fundamental Mechanisms and Implications. Food Products Press, New York, pp 227– 265

RENGEL, Z., 1999a. Physiological mechanisms underlying differential nutrient efficiency of crop genotypes. In: Rengel, Z. (Ed) Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications. New York, Food Products Press, pp. 227-265.

RENGEL, Z., 1999b. Physiological responses of wheat genotypes grown in chelator-buffered nutrient solutions with increasing concentrations of excess HEDTA. Plant and Soil 215:193-202.

RENGEL, Z., 2001. Genotypic differences in micronutrient use efficiency in crops. Communications in Soil Science and Plant Analysis 32: 1163-1186.

RENGEL, Z., ROMHELD, V. and MARSCHNER, H., 1998. Uptake of zinc and iron by wheat genotypes differing in tolerance to zinc deficiency. Journal of Plant Physiology 152: 433-438.

RIBAUT, J.M., WILLIAM, H.M., KHAIRALLAH, M., WORLAND, A.J. and HOISINGTON, D., 2001. Genetic Basis of Physiological Traits. In: Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, J.I. and McNab, A. (Eds) Application of Physiology in Wheat Breeding. Mexico, D.F. CIMMYT, pp. 29-47.

RICHARD, O., PINEAU, C., LOUBET, S., CHALIES, C., VILE, D., MARQUES, L., BERTHOMIEU, P., 2011. "Diversity analysis of the response to Zn within the Arabidopsis thaliana species revealed a low contribution of Zn translocation to Zn tolerance and a new role for Zn in lateral root development." Plant Cell and Environment 34(7): 1065-1078.

RIDOUT, C.R. ve DONINI, P., 1999. Use of AFLP in cereals research. Trends in Plant Science. 4:76-79.

RISEMAN, A., CRAIG, R., LYNCH, J. P., 2005. "Zinc uptake and shoot partitioning between zinc efficient and inefficient exacum genotypes." Journal of the American Society for Horticultural Science 130(5): 674-679.

RODRIGUEZ, J.M., BERKE, T., ENGLE, L. ve NIENHUIS, J., 1999. Variation among and within Capsicum species revealed by RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 99: 147-156.

ROMAGOSA, I., HAN, F., ULLRICH, S.E., HAYES, P. M. and WESENBERG, D.M., 1999. Verification of yield QTL through realized molecular marker-assisted selection responses in barley cross. Molecular Breeding 5: 143-152.

RÖMHELD, V. and MARSCHNER, H., 1991. Function of micronutrients in plants. In: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M. and Welch, R.M. (Eds) Micronutrients in Agriculture. Madison, USA, Soil Science Society of America, Book Series No. 4, pp. 297-328.

RONAGHY, H. A. 1987. The role of Zinc in human nutrition. World Review of Nutr. And Dietetics. 54: 237-254.

ROOSENS, N.H. C. J., WILLEMS, G., GODÉ, C., COURSEAUX, A., LAPRADE, P.S., 2008. The use of comparative genome analysis and syntenic relationships allows extrapolating the position of Zn tolerance QTL regions from *Arabidopsis halleri* into *Arabidopsis thaliana* Plant Soil 306:105– 116

SADEGHZADEH, B., 2008. Mapping of Chromosome Regions Associated with Seed Zinc Accumulation in Barley. The University of Western Austuralia, pHD Thesis, p.134.2008

SADEGHZADEH, B., RENGEL, Z., LI, C., YANG, H., 2010. Molecular marker linked to a chromosome region regulating seed Zn accumulation in barley Mol Breeding 25:167– 177

SAFAYA, N.M., 1976. Phosphorus-zinc interaction in relation to absorption rate of phosphorus, zinc, copper, manganese and iron in corn. Soil Science Society of America Journal 40:719-722.

SALISBURY, F. B. and ROSS, C. W., 1992. Plant Physiology. Belmont, California, Wadsworth Publishing Company.

SANDSTEAD, H. H., 1985. Requirement of Zinc in human subjects. J. Amer. College Nutr. 4:73-82.

SANTA MARIA, G. E. and COGLIATTI, D. H., 1988. Bidirectional Zn-fluxes and compartmentation in wheat seedling roots. Journal of Plant Physiology 132: 312-315.

SATTELMACHER, B., 2001. The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. NewPhytologist 149: 167-192.

SCHACHTMAN D.P. AND BARKER S.J., 1999. Molecular approaches for increasing the micronutrient density in edible portions of food crops. Field Crops Research 60: 81-92.

SCHLEGEL, R. and CAKMAK, I., 1997. Physical mapping of rye genes determining micronutritional efficiency in wheat. In: Ando, T., Fujita, K., Mae, T., Matsumoto, H., Mori, S. and Sekiya, J. (Eds) Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 287-288.

SCHWARTZ, S. M., WELCH, R. M., GRUNES, D. L., CARY, E. E., NORVELL, W. A., GILBERT, M. D., MERIDITH, M. P. and SAUCHIRICO, C. A., 1987. Effect of zinc, phosphorus and root-zone temprature on nutrient uptake by barley. Soil Science Society of America Journal 51: 371-375.

SHARMA, C.P., SHARMA, P.N., BISHT, S.S., and NALTCTYAL, B.D., 1982. Zinc deficiency induces changes in cabbage. in: Scaife, A. (ed.). Proceeding of the Ninth Plant Nutrition Colloquim Commonw. Agric. Bur., Farnham Royal, Bucks, pp. 601-606.

SHARMA, K. C., KRANTZ, B. A., BROWN, A. L. and QUICK, J., 1968. Interaction of Zn and P in top and root of corn and tomato. Agronomy Journal 60: 453-456.

SHI, R., LI, H., TONG, Y. JING, R., ZHANG, F., ZOU, C., 2008. Identification of quantitative trait locus of zinc and phosphorus density in wheat (*Triticum aestivum* L.) grain Plant Soil (2008) 306:95– 104

SILLANPÄÄ, M., 1982. Micronutrients and the nutrient status of soils. A global study. FAO Soils Bulletin, No.48, FAO, Rome, Italy.

SILLANPÄÄ, M., 1990. Micronutrient assessment at the country level: an international study. *FAO* Soils Bulletin No. 63. Rome, Food and Agriculture Organisation of the United Nations.

SIMONE, S.:D., NERINEIA, D. R., EVANDRO, J., 2010. Potantial for Increasing the Zinc Content in Common Bean Using Genetic Improvement Euphytica. 175:207-212

SINGH, B., NATESAN, S. K. A., SINGH, B. K. and USHA, K., 2005. Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. Current Science 88: 36-44.

SINGH, J. P., KARMANOS, R. E. and STEWART, J. W. B., 1988. The mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Canadian Journal of Soil Science 68:345-358.

SINGH, M. V. and ABROL, I. P., 1986. Transformation and movement of zinc in an alkali soil and their influence on the yield and uptake of zinc by rice and wheat crops. Plant and Soil 94: 445-449.

SINGH, S.P. and WESTERMANN, D.T., 2002. A single dominant gene controlling resistance to soil zinc deficiency in common bean. *Crop Science* 42: 1071-1074.

SMITH, F. W., 1986. Interpretation of plant analysis: concepts and principles. In: Reuter, D.J. and Robinson, J.B. (Eds) Plant Analysis An Interpretation Manual. Melbourne, Inkata Press, pp. 1-12.

SOLAIMAN, D. and WU, F. Y. H., 1985. Preparation and characterization of various *Escherichia coli* RNA polymerases containing one or two intrinsic metal ions. Biochemistry 24: 5077-83.

SOLOMONS, N.W., 2003. ZINC/Deficiency. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2nd ed. Ed. 2003. Oxford, England: Elsevier Science Ltd,

SPARROW, D. H. and GRAHAM, R. D., 1988. Susceptibility of zinc-deficient wheat plants to colonization by *Fusarium graminearum* Schw. Group I. Plant and Soil 112: 261-266.

SPEHAR, C. R., 1995. "Diallel Analysis for Mineral Element Absorption in Tropical Adapted Soybeans [Glycine-Max (L) Merrill]." Theoretical and Applied Genetics 90(5): 707-713.

STAUB, J. E. and SERQUEN, F. C., 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. HortScience 31: 729-741.

STEIN, A. J., MEENAKSHI, J. V., QAIM, M., NESTEL, P., SACHDEV, H. P. S., BHUTTA, Z. A., 2005. Analysing health benefits of biofortified staple crops by means of the disability-adjusted life years approach a handbook focusing on iron, zinc and vitamin A. HarvestPlus Technical Monograph No. 4. HarvestPlus, Washington, D.C.

STREETER, T. C., RENGEL, Z., GRAHAM, R. D., 2001. "Genotypic differences in Zn efficiency of Medicago species." Euphytica 120(2): 281-290.

STREETER, T. C., RENGEL, Z., NEATE, S. M. and GRAHAM, R. D., 2001. Zinc fertilisation increases tolerance to *Rhizoctonia solani* (AG 8) in Medicago truncatula. Plant and Soil 228: 233-242.

SUGITA, T., SEMI, Y., SAWADA, H., UTOYAMA, Y., HOSOMI, Y., YOSHIMOTO, E., MAEHATA, Y., FUKUOKA, H., NAGATA, R.,OHYAMA, A., 2013. Development of simple sequence repeat markers and construction of a high-density linkage map of *Capsicum annuum* Molecular Breeding April 2013, Volume 31,Issue 4,pp 909-920

SUMAN, A., KİMBENG, C., EDME, S. J. AND VEREMİS, J. C., 2008, Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) markers for assessing interrelationships and genetic diversity among members of the Saccharum complex, *Diversity Plant Genetic Resources*,6:1-10

TAI, T., DAHLBECK, D., STALL, R.E., PELEMAN, J., STASKAWICZ, B.J. 1999. High-resolution genetic and physical mapping of the region containing the Bs2 resistance gene of pepper Theor Appl Genet (1999) 99:1201– 1206

TAKKAR, P. N., SINGH, S. P., BANSAL, R. L. and NAYYAR, V. K., 1983. Tolerance of barley varieties to Zn deficiency. Indian Journal Agricultural Science 53: 971-979.

TANKSLEY, S. D., WU, F., EANNETTA, N. T., XU, Y., DURRETT, R., MAZOUREK, M., JAHN, M. M., 2009. COSII genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the genus *Capsicum* Theor Appl Genet (2009) 118:1279– 1293

TANTASAWAT, P., TRONGCHUEN, J., PRAJONGJAI, T. JENWEERAWAT, S. and CHAOWISET, W., 2011. SSR analysis of soybean (Glycine max (L.) Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand AJCS 5(3):283-290

TAYANÇ, M. M. 1942. Toprak yeme anemileri. Tıp Dünyası, 15, 5023.

THAVARAJAH, D., THAVARAJAH, P., SARKER, A., VANDENBERG, A., 2009. Lentils (Lens culinaris Medikus Subspecies culinaris): A Whole Food for Increased Iron and Zinc Intake Journal Of Agrıcultural And Food Chemıstry Volume: 57 Issue: 12 Pages: 5413-5419

THONGBAI, P., HANNAM, R. J., GRAHAM, R. D. and WEBB, M. J., 1993. Interaction between zinc nutritional status of cereals and Rhizoctonia root rot severity. I. Field observation. *Plant and Soil* 153: 207-214.

THONGBAI, P., R. D. GRAHAM, S. M. NEATE, M. J. WEBB, 1993. Interaction between zinc nutritional status of cereals and Rhizoctonia root-rot severity. II. Effect of Zn on disease severity of wheat under controlled conditions. Plant and Soil 153, 215– 222.

TILLER, K.G., 1983. Micronutrients. *In: Soils: An Australian Viewpoint.* London, Division of Soils, CSIRO Melbourne, Academic Press, pp. 365-387.

TKACHUK, K. S., SAVCHENKO, N. P. and PIDRYADS'KII, V. G., 1994. Effect of Mg^{2+} and Zn^{2+} on the membrane potential of root cells and the photochemical activity of chloroplasts of winter wheat leaves. FiziologiyaI Biokhimiya Kul'turnykh Rastenii 26: 147-150.

TORUN, B., BOZBAY, G., GULTEKIN, I., BRAUN, H. J., EKIZ, H., CAKMAK, I., 2000. "Differences in shoot growth and zinc concentration of 164 bread wheat genotypes in a zinc-deficient calcareous soil." Journal of Plant Nutrition 23(9): 1251-1265.

TORUN, B., ÇAKMAK, I., EKER, S., YAZICI, A., ÖZKUTLU, F., ERDEM, H., TOLAY, I., ALKAN TORUN, A., ÖZTÜRK, L., KARANLIK DURAN, S., TOZ, S., TEK, A., 2005. Çukurova Bölgesi' ndeki Turunçgil Bahçelerinin Potasyum ve Diğer Mineral Elementler Bakımından Beslenme Durumu. Tarımda Potasyumun Yeri ve Önemi Çalıştayı, 3-4 Ekim 2005, Eskişehir 62-73.

TORUN, B., ÇAKMAK, Ö., ÖZBEK, H., ÇAKMAK, İ., 1998. Çinko Eksikliği Koşullarında Yetiştirilen Değişik Tahıl Türlerinin ve Çeşitlerinin Çinko Eksikliğine Karşı Duyarlılığının Belirlenmesi. I Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık)., 363-369.

UAUY, C., DISTELFELD, A., FAHIMA, T., BLECHL, A. and DUBCOVSKY, J., 2006. A NAC gene regulating senescence, improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. Science 314: 1298-1301.

UNITED NATIONS SYSTEM STANDING COMMITTEE ON NUTRITION (SCN), 2004. Nutrition for improved development outcomes. Fifth Report on the World Nutrition Situation. SCN, Geneva.

UZUN A., YESILOGLU, T., POLAT, I.. AKA-KACAR, Y.,GULSEN, O..YILDIRIM, B., TUZCU, O., TEPE, S.,CANAN, I.,ANIL, S., 2011. Evaluation of Genetic Diversity in Lemons and Some of Their Relatives Based on SRAP and SSR Markers. Plant Mol Biol Rep 29:693– 701

VALLEE, B. L. and FALCHUK, K. H., 1993. The biochemical basis of zinc physiology. Physiological Reviews 73: 79-118.

VAN OOIJEN, J. W., 2011. Multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species. Genet. Res.93:343– 349.

VAZQUEZ, F. J. L. H., JIMÉNEZ, J. M. C. ve VICO, F. R., 1996. RAPD fingerprinting of pepper (*C. annuum* L.) breeding lines I. Capsicum and Eggplant Newsletter 16: 37-40.

VIETS, F.G., 1966. Zinc deficiency in the soil-plant system. In: Prasad, A.S. (Ed) Zn Metabolism. Illinois, USA, Charles C. Thomas, pp. 90-128.

VIGOUROUX, Y., MITCHELL, S., MATSUOKA, Y., HAMBLIN, M., KRESOVICH, S., SMITH, J. S. C., JAQUETH, J., SMITH, O.S., DOEBLEY, J. (2005). An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. Genetic, 169: 1617-1630.

VIJAY K. TIWARI, NIDHI RAWAT, PARVEEN CHHUNEJA, KUMARI NEELAM, RENUKA AGGARWAL, GURSHARN S. RANDHAWA, HARCHARAN, S. DHALIWAL, BEAT KELLER, AND SINGH K., 2009. Mapping of Quantitative Trait Loci for Grain Iron and Zinc Concentration in Diploid A Genome Wheat. J. Hered., 100: 771 – 776.

WAGAR, B. I., STEWART, J. W. B. and HENRY, J. L., 1986. Comparison of single large broadcast and small annual seed-placed phosphorus treatments on yield and phosphorus and zinc contents of wheat on Chernozemic soils. Canadian Journal of Soil Science 66: 237-248.

WANG, J., KAUR S., COGAN, N., DOBROWOLSKI, M.P., SALISBURY, P.A., BURTON, W.A., BAILLIE, R., HAND, M., HOPKINS, C., FORSTER, J.W., SMITH, K.F., SPANGENBERG, G., 2009. Assessment of genetic diversity in Australian canola (*Brassica napus* L.) cultivars using SSR markers. Crop Pasture Sci. 60: 1193-1201.

WANG, P., BI, S., MA, L. and HAN, W., 2006. Aluminum tolerance of two wheat cultivars (Brevor and Atlas66) in relation to their rhizosphere pH and organic acids exuded from roots. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 10033-10039.

WANGA, L.H., GU, X.H., HUA, M.Y., MAO, S.L., ZHANG, Z.H., PENG, D.L., YUN, X.F., B, ZHANG, B.X., 2009. A SCAR marker linked to the N gene for resistance to root knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) in pepper (*Capsicum annuum* L.) Scientia Horticulturae 122 (2009) 318– 322

WARBURTON, M.L., RIBAUT, J.M., FRANCO, J., CROSSA, J., DUBREUIL, P., BETRÁN. F.J., 2005. Genetic characterization of 218 elite CIMMYT inbred maize lines using RFLP markers. Euphytica, 142: 97-106.

WEBB, M.J. and LONERAGAN, J.F., 1988. Effect of zinc deficiency on growth, phosphorus concentration, and phosphorus toxicity of wheat plants. Soil Science Society of America Journal 52: 1676-1680.

WEBB, E.C., 1992. Enzyme Nomenclature: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. New York, USA, Academic Press.

WELCH, R. M. and GRAHAM, R. D., 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. J. Expt. Bot. 55: 353-364.

WELCH, R. M., 1995. Micronutrient nutrition of plants. Critical Reviews in Plant Sciences 14:49-82.

WELCH, R. M., 1999. Importance of seed mineral nutrient reserves in crop growth and development. In: Rengel, Z. (Ed) Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications. New York, Food Products Press, pp. 205-226.

WELCH, R. M., GRAHAM, R. D., 1999. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs. Productive, sustainable, nutritious. Field Crops Research 60, 1– 10.

WELCH, R.M. and GRAHAM, R.D., 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. Journal of Experimental Botany 55: 353-364.

WELCH, R.M., WEBB, M.J. AND LONERAGEN, J.R., 1982. Zinc in membrane function and its role phosphorus toxicity. In: Plant Nutrition 1982, Scaife, A. (Ed.), Proc. 9th International Plant Nutrition coll. Commonw. Agric. Bur. Farnham Royal Bucks, pp. 710-715.

WHITE, M. C., DECKER, A. M. and CHANEY, R. L., 1981. Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato and soybean stem exudate. Plant Physiology 67: 292-300.

WHITE, P. J., WHITING, S. N., BAKER, A. J. M. and BROADLEY, M.R., 2002. Does zinc move apoplastically to the xylem in roots of *Thlaspi caerulescens*? New Phytologist 153: 201-207.

WILLEMS, G., DRAGER, D.B., COURBOT, M., GODE, C., VERBRUGGEN, N., SAUMITOU-LAPRADE, P., 2007 The genetic basis of zinc tolerance in the metallophyte Arabidopsis halleri ssp.halleri (*Brassicaceae*): an analysis of quantitative trait loci.Genetics 176:659– 674

WILLIAMS, J. G. K., KUBELIK, A. R., LIVAK, K. J., RAFALSKI, J. A., and TINGEY, S. V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 18, 6531-6535.

WISSUWA, M., ISMAIL, A.M., AND YANAGIHARA, S., 2006. Effects of Zinc Deficiency on Rice Growth and Genetic Factors Contributing to Tolerance Plant Physiology, October 2006, Vol. 142, pp. 731– 741

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004. Global Health Observatory http://www.who.int/gho/child_health/mortality/causes/en/index.html

WRIGHT S., 1968. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 1. Univ. of Chicago Press, Chicago

WU, F., EANNETTA NT, XU Y, TANKSLEY SD., 2009. A detailed synteny map of the eggplant genome based on conserved ortholog set II (COSII) markers. Theor Appl Genet. doi:10.1007/s00122-008-0590-980.

YAĞMUR, B., CEYLAN, Ş., YOLDAŞ, F., OKTAY, M., 2002. Çinko Katkılı ve Katkısız Kompoze Gübrelerin Sakız Kabağı (*Cucurbita Pepo* cv.) Yetiştiriciliğinde Verim ve Bazı Verim Kriterlerine Etkisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 39(1): 111-117.

YANG, Z. and ROMHELD, V., 1999. " Physiological and genetic aspects of micronutrient uptake by higher plants." Plant Nutrition- molecular biology and menetics. Eds. G. Gissel-Nielsen and A. Jensen. Boston: Kluwer Academic Publishers.

YEAM, I., KANG, B-C., LINDEMAN, W., FRANTZ, J.D., FABER, N., JAHN, M.M. 2005. Allele-specific CAPS markers based on point mutations in resistance alleles at the pvr1 locus encoding eIF4E in *Capsicum* Theor Appl Genet (2005) 112: 178– 186

YEBOAH, M. A., XUEHAO,CHEN., FENG, C. R., LİANG,G. AND GU M., 2007, A genetic linkage map of cucumber (*Cucumis sativus L*) combining SRAP and ISSR markers, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 6 (24), 2784-2791

YI, G., LEE, J.M., LEE, S., CHOI, D., AND KIM, B.D., 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. Theor. Appl. Genet. NNQ, 113-130.

YOUNG, N. D., 2000. Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers. In: Phillips, R.L. and Vasil, J.K. (Eds) DNA-Based Markers in Plants. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, pp. 31-47.

ZHANG, F.S., RÖMHELD, V. and MARSCHNER, H., 1991. Diurnal rhythm of release of phytosiderophores and uptake rate of zinc in iron-deficient wheat. Soil Science and Plant Nutrition 37: 671-678.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimini Adana ili Aladağ ilçesinde tamamladı. 1996 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünden mezun oldu. 1997-2002 yılları arasında Bitlis ilinde sınıf öğretmenliği yaptı. 2002 yılında Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğüne Ziraat Mühendisi olarak atandı. Aralık 2008-Aralık 2009 tarihleri arasında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından sağlanan yurtdışı eğitim programı ile 1 yıl süreyle ABD' de Nebraska Üniversitesi-Lincoln, Biyoteknoloji Merkezinde (Beadle Center) " Herbisidlere Dayanıklılığın Moleküler Tekniklerle Belirlenmesi" konulu eğitim programına katıldı. Halen Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğüne görev yapmaktadır. Evli ve üç çocuk babasıdır.