



EGE ÜNİVERSİTESİ

DOKTORA TEZİ

**MERCİMEK DANESİNDE DEMİR (Fe) BESİN
ELEMENTİ ALINIMINI KONTROL EDEN
GENLERİN HARİTALANMASI VE QTL ANALİZİ**

Seçil ALDEMİR

Tez Danışmanı : Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi :22.11. 2017

Bornova-İZMİR

2017

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**MERCİMEK DANESİNDE DEMİR (Fe) BESİN
ELEMENTİ ALINIMINI KONTROL EDEN
GENLERİN HARİTALANMASI VE QTL ANALİZİ**

Seçil ALDEMİR

Tez Danışmanı : Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi :22.11. 2017

Bornova-İZMİR

2017

Seçil ALDEMİR tarafından doktora tezi olarak sunulan “Mercimek Danesinde Demir (Fe) Besin Elementi Alınımını Kontrol Eden Genlerin Haritalanması ve QTL Analizi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22.11.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof.Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

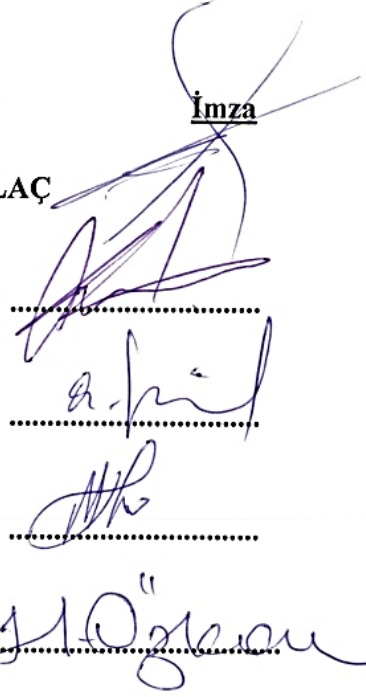
Raportör Üye :Yrd.Doç.Dr. Ozan KARAMAN

Üye : Prof. Dr. Aynur GÜREL

Üye : Prof. Dr. Muzaffer TOSUN

Üye :Prof. Dr. Hakan ÖZKAN

İmza



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Mercimek Danesinde Demir (Fe) Besin Elementi Alınımını Kontrol Eden Genlerin Haritalanması ve QTL Analizi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22 / 11 / 2017



Sevil ALDEMİR

ÖZET**MERCİMEK DANESİNDE DEMİR (Fe) BESİN ELEMENTİ
ALINIMINI KONTROL EDEN GENLERİN HARİTALANMASI VE
QTL ANALİZİ**

ALDEMİR, Seçil

Doktora Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ
Kasım 2017, 63 sayfa

Bu çalışmada mercimek (*Lens culinaris* Medic.) bitkisinde danede Fe konsantrasyonunu kontrol eden genlerle ilişkili QTL(ler)'in kromozomal yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

ILL 8006 ve CDC Milestone ebeveynlerinin melezlenmesiyle oluşturulan 118 bireye sahip LR-11 RIL popülasyonu, 2012 ve 2013 yıllarında 3 lokasyona (İzmir, Adana ve Şanlı Urfa) ekilmiştir. Popülasyona ait bireylerde dane Fe konsantrasyonu değerleri 37,2 ile 175,7 mg/kg arasında bulunmuştur.

Bağlantı haritasının toplam uzunluğu 497,1 cM olup, komşu iki markör arasındaki ortalama uzaklık 0,12 cM' dir. Toplamda 4.177 GBS bazlı SNP markörünün 7 bağlantı grubu üzerinde yer aldığı bulunmuştur. QTL analizi sonucunda 1., 2., 4., 5., 6. ve 7. bağlantı grupları üzerinde lokalize olmuş toplam 21 QTL belirlenmiştir. Bu QTL' ler fenotipik varyasyonun % 5,9-14,0'ını açıklamaktadır. LOD değerleri 3,00-4,45 arasında değişmektedir. Bu genomik bölgelerin belirlenmesi, danede yüksek Fe konsantrasyonuna sahip yeni mercimek çeşitlerinin geliştirilmesini içeren biyofortifikasyon çalışmaları için yararlı olacaktır.

Anahtar sözcükler: GBS, QTL Haritalama, RIL, Demir, Mercimek.

ABSTRACT**MAPPING AND QTL ANALYSIS OF GENES CONTROLLING
IRON (Fe) UPTAKE OF LENTIL**

ALDEMİR, Seçil

Ph.D in Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

November 2017, 63 pages

In this study, it was aimed to determine the chorosomal loci of QTL(s) associated with genes controlling the Fe concentration in seed of lentil (*Lens culinaris* Medic.).

The LR-11 RIL population, which has 118 individuals formed by crossing ILL 8006 and CDC Milestone parents, has been planted in 3 locations (İzmir, Adana ve Sanlı Urfa) in 2012 and 2013. Seed Fe concentrations of the individuals of populations were ranged from 37.2 to 175.7 mg/kg.

The total length of the linkage map is 497.1 cM and the average distance between two adjacent markers is 0.12 cM. It was found that, in total 4,177 GBS based SNP markers are located on 7 linkage groups. As a result of the QTL analysis, a total of 21 QTLs localized on the 1., 2., 4., 5., 6. and 7. linkage groups were determined. These QTLs are accounted for 5.9-14.0% of the phenotypic variation. LOD values were ranged from 3.00 to 4.45. Identification of these genomic regions will be useful for biofortification studies involving the development of new lentil varieties with high Fe concentrations in seed.

Keywords: GBS, QTL Mapping, RIL, Iron, Lentil.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK 111O446 nolu proje tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK' a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarına devam ettiğim süre boyunca bana büyük yardımı, desteği ve katkıları için Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nden Duygu ATEŞ'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu süreçte her türlü desteklerini benden esirgemeyen başta Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr.Ali PEKSÜSLÜ ve Merkez Laboratuvarı Bölüm Başkanı Dr.Ceylan BÜYÜKKİLECI olmak üzere tüm Teknoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Doktora gibi zorlu bir eğitim süresi boyunca beni destekleyen, karşılaştığım güçlüklerde bana yılmamayı öğreten ve bulunduğum yere gelmemde en büyük payın sahipleri olan kıymetli aileme teşekkürlerin en büyüğünü borç bilirim.

Son olarak, eğitim süresi içinde hayatıma giren, bu sayede bana hayatı anlamlı kılan ve her zaman arkamda olan sevgili eşim Mehmet ALDEMİR'e ve beni anne yaparak duyguların en güzelini tattıran biricik kızım Cemre Su ALDEMİR'e en içten sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1 Mercimek Bitkisi (<i>Lens culinaris</i> Medikus subsp. <i>culinaris</i> .)	5
2.2 Mercimekte Fe Elementi Analizi Çalışmaları	6
2.3 Mercimekte Bağlantı Haritalama Üzerine Yapılan Çalışmalar	8
2.4 Diğer Bazı Bitkilerde Fe Alınımı ile İlişkili QTL Saptama Çalışmaları	11
2.5 Dizileme ile Genotiplleme (GBS).....	16
3. MATERYAL VE METOD	20
3.1 Materyal.....	20
3.2 Metod.....	21
3.2.1 Tarla uygulamaları.....	21

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.2 Besin elementi analizleri.....	23
3.2.3 DNA izolasyonu.....	25
3.2.4 Dizileme ile Genotipleme (GBS).....	26
3.2.5 Bağlantı haritası ve QTL analizi	27
3.2.6 Varyans analizi.....	27
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	28
4.1 Toprak Analizi Sonuçları	28
4.2 Danede Besin Elementi Analiz Sonuçları	29
4.3 DNA Saflık ve Miktar Analizi Sonuçları	31
4.4 ILL 8006 x CDC Milestone Popülasyonu Bağlantı Haritası Sonuçları	34
4.5 ILL 8006 x CDC Milestone Popülasyonu QTL Analizi Sonuçları.....	36
4.6 Varyans Analizi Sonuçları	40
5. GENEL SONUÇLAR	42
6. ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR DİZİNİ	44
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. GBS prosedürünün temsili şematik bir diyagramı.....	16
3.1. LR-11'e ait bazı hatların tarlada ekilmiş görüntüsü	22
3.2. Hatların 15-20 cm uzunluğa ulaşmış görüntüleri.....	22
3.3. Popülasyona ait hatlardan DNA izolasyonu amacıyla yaprak örneklerinin toplanması	23
4.1. ILL 8006 x CDC Milestone RIL popülasyonu bireylerinden izole edilen DNA'ların agaroz jel görüntüsü; M:Markör, 1-35, 36-70, 71-105, 106-118: RIL birey etiket numarası	32
4.2. RIL'ların SNP' lere dayalı bağlantı haritası	37
4.3. ILL 8006 x CDC Milestone LR-11 mercimek RIL popülasyonunda 2 yıl (2012 ve 2013) ve 3 lokasyonda ölçülen dane Fe konsantrasyonunun dağılımı	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1	Yayınlanan <i>Lens</i> bağlantı haritaları.....10
3.1	Çalışmada kullanılan LR-11 popülasyonu mercimek genotipleri.....20
4.1	Deneme tarlalarından alınan toprak örneklerinin kimyasal ve yapısal özellikleri28
4.2	2012 ve 2013 yıllarında İzmir, Adana ve Ş.Urfa lokasyonlarında yetiştirilen ebeveynler ve RIL' lara ait dane Fe konsantrasyonlarının (mg/kg) minimum, maksimum ve ortalama değerleri ve kalıtım derecesi29
4.3	ILL 8006 x CDC Milestone popülasyonunda Nanodrop 1000 kullanılarak ölçülen DNA miktarları.....32
4.4	ILL 8006 x CDC Milestone popülasyonu için bağlantı haritalama sonucunda elde edilen veriler34
4.5	Bağlantı haritası üzerinde yer alan SNP markörlerinin sayıları ve karakteristikleri.....34
4.6	2012 ve 2013 yıllarında İzmir, Adana ve Ş.Urfa lokasyonlarında yetiştirilen 118 LR-11 mercimek RIL genotipinde danede Fe konsantrasyonu için belirlenen QTL'ler38
4.7	LR-11 mercimek RIL popülasyonunda dane Fe konsantrasyonu için yapılan varyans analizi sonuçları41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)
BG	Bağlantı Grubu
CIM	Composite Interval Mapping (Bileşik Aralık Haritalama)
cM	Centimorgan (Santimorgan)
DArT	The Diversity Arrays Technology (Çeşitlilik Dizi Teknolojisi)
DH	Double Haploid (Katlanmış Haploid)
GBS	Genotyping by Sequencing (Dizileme ile Genotipleme)
GWAS	Genome Wide Association Study (Genom Çapında İlişkilendirme Çalışması)
IL	Introgression Lines (İntrogresyon Hatları)
IM	Interval Mapping (Aralık Haritalama)
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları Arası)
LOD	Logarithm of the Odds (Göreceli Risk Oranları Logaritması)
MAS	Marker Assisted Selection (Markör Destekli Seleksiyon)
MIM	Multiple Interval Mapping (Çoklu Aralık Haritalama)

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
MQM	Multiple-QTL Mapping (Çoklu-QTL Haritalama)
NGS	Next Generation Sequencing (Yeni Nesil Sekanslama; YNS)
QTL	Quantitative Trait Locus (Kantitatif Özellik Lokusu)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
RE	Restriksiyon Enzimi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RGA	Resistance Gene Analog (Direnç Geni Analogu)
RI	Recombinant Inbred (Rekombinant Kendilenmiş)
RIL	Recombinant Inbred Line (Rekombinant Kendilenmiş Hat)
SIM	Simple Interval Mapping (Basit Aralık Haritalama)
SMA	Single Marker Analysis (Tek Markör Analizi)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
SSR	Sclerotinia Stem Rot (Sclerotinia Kök-Gövde Çürüklüğü)
STS	Sequence-Tagged Sites (Dizisi Etiketlenmiş Bölgeler)

1. GİRİŞ

Mercimek (*Lens culinaris* Medic.), kendine döllen ve diploid ($2n=2x=14$ kromozom) bitki olup tek yıllık önemli bir baklagildir. Genom büyüklüğü 4.063 Mbp'dir (Arumuganathan and Earle, 1991) ve kromozomlarının uzunluğu 3,0-9,2 µm arasında değişmektedir (Kumar et al., 2014). Kültüre alınmış mercimeğin orijini, Yakın Doğu ve Anadolu'dur (Muehlbauer and McPhee, 2005). Mercimek; Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Etiyopya, Hint Yarımadası, Kuzey ve Güney Amerika, Güney Afrika ve Avustralya'nın alt tropikal ve ılıman ekim bölgelerinde yayılış göstermekte ve hem yazlık, hem de kışlık olarak tarımı yapılmaktadır (Ford et al., 2007). Türkiye, mercimek üretiminde, Kanada ve Hindistan'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (FAO, 2014a).

Mercimek proteince zengin (% 20-36) bir bitki olup, aynı zamanda yüksek vitamin, mineral ve besinsel lif ile düşük yağ içeriği açısından insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir baklagildir. Ayrıca mikro besin elementleri yönünden de çeşitlilik göstermektedir (Wang and Daun, 2006; Thavarajah et al., 2007). Mercimeğin danesi insan beslenmesinde, sap ve samanı ise hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (Engin, 1989). Mercimek; amino asitler (protein formunda), kompleks karbohidratlar, temel mineraller ve çeşitli vitaminler gibi birçok diyet öğesini içermektedir (Urbano et al., 2007; Grusak, 2009).

Mikro besin elementleri bitkilerin büyümesi, farklılaşması, döllenmesi ve sonuçta verimi için gerekli olan temel besin maddeleridir. Ancak bunların gereksinim duyulan miktarları makro besin elementlerine göre çok daha düşük düzeydedir. Bitkiler genellikle farklı besin elementlerine ihtiyaç duymakla birlikte, bütün yüksek bitkiler için Fe, çinko (Zn), bakır (Cu), Mangan (Mn), Selenyum (Se), Bor (B), Klor (Cl), Molibden (Mo) ve Nikel (Ni) temel mikro besin elementleridir. Bitkiler; depolama, hücre içi taşınım, bitki içerisinde besin elementlerinin alınımı ve taşınımı için toprakta her bir mikro besin elementinden uygun miktarlarda bulunmasını istemektedir (Yang et al., 2006).

Dünya nüfusunun yarısından fazlası, günlük beslenme rejimindeki Fe, Zn, Se ve iyot (I) gibi mikro besin elementi eksiklikleri nedeniyle birçok sağlık

problemi yaşamaktadır. Bu besin elementlerinin ek gıda olarak temin edilmesi, gıda takviyeleri ve gıda çeşitliliği, insanlarda meydana gelen besin elementi eksikliklerinin giderilmesinde tam olarak başarılı olamamıştır (White and Broadley, 2005). Bu nedenle, Dünya Gıda Bilimcileri tarafından besin değeri arttırılmış gıdalar diğer adı ile “biyofortifikasyon” önerilmektedir (Combs et al., 1997; Pfeiffer and McClafferty, 2007). Biyofortifikasyon gibi bazı yeni yaklaşımlar sayesinde bu tür mikro besin elementlerinin eksikliklerini giderme yolunda önemli gelişmeler sağlanmaktadır. İnsanlar tarafından tüketilen bitki kısımlarında bulunan mineral elementlerin konsantrasyonunu ve/veya biyoyararlanımını arttırmayı hedefleyen biyofortifikasyon (White and Broadley, 2009), gelişmekte olan ülkelerde özellikle kırsal nüfusun mikro besin elementi eksikliğini hafifletmek ve maliyeti düşürmek için oldukça etkili bir yol olarak kabul edilmektedir. Bu strateji, hem sürdürülebilir oluşu, hem de yaygın etkisi nedeni ile son yıllarda önemli destek bulmaktadır. Günlük beslenme diyetlerinde önemli yer tutan mercimek, mikro besin elementlerince zengin bir kaynaktır. Ayrıca besin maddesi içeriği ile ilgili olarak mercimek germplazmında geniş bir genetik varyasyon görülmektedir (Kumar et al., 2016). Bu koşullar göz önüne alındığında mercimek bitkisi, mikro besin elementlerince yüksek içeriğe sahip çeşitlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Bitkiler, normal büyüme ve gelişimlerini sürdürebilmek için 14 temel elemente ihtiyaç duyarlar ve bunların 12 tanesi insan beslenmesinde de temel olan besin elementleridir (Grusak and DellaPenna, 1999). İnsanlar, ihtiyaç duyduğu bu besin elementlerinin çoğunu tahıllar ve baklagillerden sağlamaktadır (Welch and Graham, 2004). Bu besin elementlerinin eksiklikleri veya yoklukları insanda bazı beslenme bozukluklarına ve hastalıklara neden olmaktadır. Bu besin elementleri arasında eksiklikleri duyulan elementlerden biri Fe'dir. Fe eksikliği oldukça yaygındır ve dünyada 3,7 milyar insanı etkilemektedir (Welch, 2002).

Fe, insan beslenmesinde önemli bir mikro besin elementidir. Kanda oksijen taşıyan pigment olan hemoglobinin önemli bir parçası olup akciğerlerden bütün vücut hücrelerine oksijen transferinde rol oynamaktadır. Ayrıca enerji üretimi ve metabolizma için anahtar rol oynayan enzim sistemlerinin bir parçasıdır (Moritz and Hornecker, 2006).

Yetiştiriciliği yapılan kültür bitkilerinin danelerindeki Fe konsantrasyonları; pirinç (*Oryza sativa* L.) (Gregorio et al., 2000), fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) (Islam et al., 2002; Mahajan et al., 2017), mısır (*Zea mays*) (Oikeh et al., 2003), buğday (*Triticum aestivum*) (Garvin et al., 2006), nohut (*Cicer arietinum*) (Zia-Ul-Haq et al., 2007) ve soya fasulyesi (*Soja max*) (Ramamurthy et al., 2014) gibi temel gıda olarak kullanılan bitkilerde belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda mercimek danesindeki Fe konsantrasyonu 73-90 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Thavarajah et al., 2011).

Danede Fe konsantrasyonunu/içeriğini kontrol eden genler ile ilişkili QTL (Quantitative Trait Locus; Kantitatif Özellik Lokusu)' lere yönelik çalışmalar; *Arabidopsis thaliana* (fare kulağı teresi) (Vreugdenhil et al., 2004; Waters and Grusak, 2008), *Brassica rapa* (şalgam) (Wu et al., 2008), *Brassica napus* (kanola) (Ding et al., 2010), *Oryza sativa* (pirinç) (Stangoulis et al., 2007; Lu et al., 2008; Garcia-Oliveira et al., 2009; Norton et al., 2010; Anuradha et al., 2012; Du et al., 2013), *Lotus japonicus* (Klein and Grusak, 2009), *Medicago truncatula* (şufen) (Sankaran et al., 2009), *Phaseolus vulgaris* (fasulye) (Cichy et al., 2009; Blair et al., 2009; Blair et al., 2010; Blair et al., 2011), *Triticum sp.* (buğday) (Peleg et al., 2009; Tiwari et al., 2009; Xu et al., 2012; Pu et al., 2014; Srinivasa et al., 2014; Tiwari et al., 2016; Krishnappa et al., 2017), *Zea mays* (mısır) (Qin et al., 2012; Simic et al., 2012; Jin et al., 2013) ve *Soja max* (soya fasulyesi) (King et al., 2013; Ramamurthy et al., 2014) gibi bazı bitkilerde rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda araştırmacılar danede Fe birikimini kontrol eden genlerle bağlantılı QTL' leri tanımlamışlardır.

SNP (Single Nucleotide Polymorphism; Tek Nükleotid Polimorfizmi) markörleri, tüm genoma yayılmış ve en çok bulunan genetik markörlerdir (Agarwal et al., 2008). Son yıllarda Genotyping by Sequencing (GBS; Dizileme ile Genotipleme) olarak adlandırılan yeni bir yaklaşım, SNP' lerin saptanmasında ve genotiplendirilmesinde kullanılmaktadır (Deschamps et al., 2012; Kujur et al., 2015). GBS; popülasyon ve karakterizasyon çalışmalarında, ıslahta ve çeşitli organizmalara ait önemli özelliklerin haritalanmasında kullanılmaktadır. Bu teknoloji; popülasyondaki her bireye ait genomun, restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu oluşan genomik parçaların yüksek-çıkıtlı Yeni Nesil

Sekanslanmasına (YNS=NGS (Next Generation Sequencing)) dayanmaktadır (Elshire et al., 2011; Kumar et al., 2012). Bu teknolojiye; seçilmiş iki ebeveyninden bir haritalama popülasyonu oluşturulmaktadır. NGS teknolojisi kullanılarak ebeveynlerle birlikte RIL'lar (Recombinant Inbred Line; Rekombinant Kendilenmiş Hat), SNP'leri belirlemek için sekanslanmaktadır. Sekanslamadan elde edilen diziler her bireyde allelik çeşitliliği ortaya koymak için kullanılmaktadır. Ebeveynlerden elde edilen verilere dayalı olarak genotipler saptanmaktadır. Daha sonra ise her bir RIL için rekombinasyon haritası elde edilmektedir (Deschamps et al., 2012). Bazı büyük genomlu bitkilerde genetik haritalama için binlerce SNP markörünün bulunması ve kullanılması, bu teknoloji sayesinde artık çok kolaylaşmıştır (He et al., 2014). Bu türlü yüksek-çıkıtlı genotiplendirme teknolojileri, QTL karakterizasyonunda yüksek-yoğunluklu uygulamaların gelişmesine olanak sağlamaktadır (Deschamps et al., 2012). SNP-bazlı haritalar ve/veya QTL haritaları; mercimek (Sharpe et al., 2013; Gujaria-Verma et al., 2014, Ateş et al., 2016; Bhadauria et al., 2017)), mısır (Chen et al., 2014; Li et al., 2015), mısır-arpa (Elshire et al., 2011), buğday-arpa (Poland et al., 2012), arpa (Mascher et al., 2013; Liu et al., 2014), buğday (Saintenac et al., 2013; Crespo-Herrera et al., 2016), yulaf (Huang et al., 2014), nohut (Jaganathan et al., 2015; Upadhyaya et al., 2016; Wang, 2016), bezelye (Ma et al., 2017) patates (Uitdewilligen et al., 2013), pirinç (Spindel et al., 2013), ahududu (Ward et al., 2013), soya fasulyesi (Sonah et al., 2013; Bastien et al., 2014), kanola (Raman et al. 2014), elma (Gardner et al., 2014), manyok (Rabbi et al., 2014) ve pamuk (Gore et al., 2014) gibi türlerde oluşturulmuştur.

Üç farklı lokasyonda (İzmir, Adana, Ş.Urfa) ve 2 yıl (2012 ve 2013) süre ile yürütülmüş olan bu çalışma ile amaç : (I) rekombinant kendilenmiş mercimek hattında danelerdeki Fe konsantrasyonunun fenotipik varyasyonunu belirlemek (II) GBS teknolojisini kullanarak yüksek yoğunluklu bir bağlantı haritası elde etmek ve (III) mercimek danesindeki Fe konsantrasyonunu kontrol eden genlerle ilişkili QTL(ler)' in kromozomal yerleşimlerini belirlemektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Mercimek Bitkisi (*Lens culinaris* Medikus subsp. *culinaris*.)

Kültürü yapılmakta olan mercimek, baklagiller familyasının (Fabaceae) Papilionaceae alt-familiyasına ait *Lens* cinsine bağlı bir bitkidir. Kültüre alınmış mercimeğin yabani atası *L. orientalis* türüdür (Cubero et al., 2009). Günümüzde polen- pistil karakterleri ve biyokimyasal karakterler gibi karakterlerin yanı sıra tür içi ve türler arası melezlemeler sonucunda elde edilen veriler ışığında, taksonomistler mercimek bitkisine ait 6 tür tanımlamıştır: *L. culinaris* Medik., *L. odemensis*, *L. tomentosus*, *L. nigricans*, *L. ervoides* ve *L. lamottei* (Fratini et al., 2011).

Kültüre alınmış mercimeğin olası orijin merkezi Afganistan, Hindistan ve Türkistan bölgesidir (Fratini et al., 2011). Mercimek, “Verimli Hilal” (Fertile Crescent) olarak adlandırılan Mezapotamya bölgesinde bezelye ve nohutla beraber kültüre alınan ilk bitkilerdendir. Suriye’de bu konu ile ilgili yapılan arkeolojik çalışmalar sonucundaki bulgular 10.000 yıl önceye kadar dayanmaktadır (Mikic, 2011). Kültüre alınan mercimek daha sonra Yunanistan’a, Tuna Nehri boyunca Orta ve Batı Avrupa’ya, Nil Deltasına ve doğuda Hindistan’a yayılmıştır (Cubero et al., 2009).

Mercimek bitkisi; yumuşak tüylü bir yapıda, açık yeşil renkte, ortalama 20-30 cm uzunluğunda, çalimsı ve tek yıllık bir bitkidir (Saxena, 2009). Çiçekleri; beyaz, leylak ya da uçuk mavi renkte olabilir. Her bir meyve, bir ya da iki tohum içermektedir. Tohumları, küçük dairesel-disk şeklindedir ve sarı, kırmızı, siyah, yeşil ve kahverengi gibi birçok renge sahiptir.

Dünya genelinde yıllık ortalama mercimek üretimi 4,9 M tondur ve kişi başı tüketimi nüfus artışından daha hızlı bir şekilde artmaktadır (FAO, 2014b). Türkiye’de mercimek (kırmızı ve yeşil) 2016 yılında 2.522.360 da alanda ekilmiş ve bu alandan 365.000 ton ürün elde edilmiştir (TÜİK, 2016).

Mercimek, toprağın verimliliğinde atmosferik azotu fikse etmesi nedeniyle de çok önemli bir bitkidir. Hayvansal gıda tüketimi yönünden yetersizlikler yaşandığı durumlarda insan için temel olan bütün amino asitleri (Grusak, 2009) içermesinden dolayı protein kaynağı olarak tüketilmektedir. Danesinde; yüksek miktarda sindirilebilir protein, makro ve mikro besinler (Fe, Zn, Se), vitaminler (Niacin, VitaminA, Askorbik Asit, Inositol), lif ve karbohidrat bulunmaktadır (Sarker and Kumar, 2011). Bu nedenle de günlük gıda dengesinde ve global insan diyetinde önemli bir baklagildir (Karaköy et al., 2012). 100 g kuru mercimek tohumu; 391 g kalori (1638 kj), 28 g protein, 67,1 g karbohidrat, 2,5 g yağ, 12,2 g toplam lif ve 2,2 g kül içermektedir (USDA/ARS, 2007).

2.2 Mercimekte Fe Elementi Analizi Çalışmaları

Mikro besin elementleri; hücre içerisinde primer ve sekonder enerji metabolizmalarında, hücre savunma mekanizmasında, gen regülasyonlarında, hormonların algılanmasında, sinyal iletiminde ve hücre çoğalması gibi metabolik fonksiyonlarda görev almaktadır. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlardaki mikro besin elementleri hücre için olumsuz sonuçlar doğuracak olan reaktif oksijen türlerinin artışına neden olabilmektedir (Yang et al., 2006).

Fe, Zn, Kalsiyum (Ca), Mn ve Fosfor (P) gibi mikro besin elementleri insan vücudundaki metabolik yol izleri ve reaksiyonlar için temel elementlerdir. Bu besin elementlerinin günlük yetersiz alınımı, çeşitli sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Garcia- Oliveira et al., 2009). Mikro besin elementleri eksiklikleri en önemli sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Besin elementleri arasında eksiklikleri duyulan en önemli elementlerden birisi de Fe'dir. Fe eksikliği, iş gücü kayıplarına ve yeni doğan bebeklerde komplikasyonlara yol açan “demir eksikliği anemisi”ne neden olmaktadır (Blair et al., 2011). Fe eksikliği, ayrıca hücrelere oksijen taşınımının azalmasına ve yorgunluğa, iş performansında azalmaya, bağışıklık sisteminin çökmesine ve bazen de ölümlere neden olmaktadır (Haas and Brownlie, 2001). Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre, dünya çapında gerçekleşen ölümlerin ortalama % 1,5'u (0,8 milyon) direkt olarak Fe eksikliği ile bağlantılı olarak gerçekleşmektedir (WHO Health Report, 2002).

Fe, hemoglobin (Hb) ve miyoglobin (mb) gibi demir- ve oksijen-bağlayan proteinlerin ayrılmaz bir parçasıdır. Fe, oksijenin akciğerlerden bütün vücut hücrelerine taşınmasında ve kaslara taşınan oksijenin depolanmasında rol oynamaktadır. Aynı zamanda enerji üretimi ve metabolizma için anahtar rol oynayan enzim sistemlerinin önemli bir parçasıdır (Moritz and Hornecker, 2006). Fe-enzimleri; elektron taşıma ve enerji metabolizmasında (sitokrom c oksidaz, sitokromlar, NADH dehidrogenaz ve süksinat dehidrogenaz), bağışıklık sistemi fonksiyonlarında (nitrik oksit sentezi, miyeloperoksidaz, eozinofil peroksidaz ve laktoperoksidaz), antioksidant fonksiyonunda (peroksidazlar ve katalazlar) ve nöral fonksiyonlarda (tirozin peroksidaz, tirozin hidroksilaz, triptofan hidroksilaz ve ksantin oksidaz) yer almaktadır (Beard, 2001; Arrendo and Nunez, 2005; Iannotti et al., 2006; Burckhardt-Herold, 2013). Fe-içeren enzimler ve/veya proteinler, DNA sentezine (ribonükleotid redüktaz) katılmakta olup aynı zamanda hücre büyümesi ve proliferasyon için temel bileşenlerdir (Cazzola et al., 1990; Lieu et al., 2001; Adlerova et al., 2008). Bütün yaş gruplarındaki erkekler ve menopoiz sonrası kadınlar için önerilen günlük alım miktarı 8 mg/gün iken, bu sayı menopoiz öncesindeki kadınlar için 18 mg/gün' dür (Institute of Medicine, 2001).

Birçok uluslararası araştırma grubu, Fe ve Zn' nin depolanması ve biyoyararlılığının artırılması amacıyla bitkilerdeki genetik potansiyelini araştırmaktadırlar. Yapılan araştırmalar, fasulye (White and Broadley, 2005) ve mercimekte (Sarker, 2007) danedeki besin elementlerinin miktarları yönünden büyük varyasyon olduğunu göstermiştir. Ancak mercimek, tahıllar ve soya fasulyesine göre çabuk ve kolay pişirilmesi nedeniyle tercih edilmektedir. Mercimek proteince zengindir (% 20-36) ve mikrobeyin elementleri yönünden de çeşitlilik göstermektedir (Wang and Daun, 2006; Thavarajah et al., 2007).

Mikro besin elementlerince zengin olan ve günlük diyetlerde önemli bir yere sahip mercimekte bu elementlerden en önemlilerinden biri olan Fe'in danedeki konsantrasyonunu belirlemeye yönelik bazı çalışmalar mevcuttur. Thavarajah et al., (2009) 19 mercimek genotipini, 8 lokasyonda, 2 yıl süre ile denedikleri çalışmalarında, danedeki Fe ve Zn konsantrasyonlarını sırasıyla 73-90 mg/kg ve 44-54 mg/kg olarak saptamışlar ve mercimekteki bu miktarların insanın

günlük Fe ve Zn ihtiyacına yakın olduğunu, bu nedenle mercimeğin mikro besin elementi eksikliğini gidermede iyi bir potansiyelinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Thavarajah et al., (2011) iyileştirilmiş insan beslenmesi için mercimeğin Fe ve Zn biyofortifikasyonundaki potansiyelini araştırdıkları çalışmada, Saskatchewan, (Kanada)'da yetiştirdikleri mercimek genotiplerinde Fe konsantrasyonlarının 73-90 mg/kg arasında olduğunu saptamışlardır. 100 g kuru mercimeğin; kadınlar için önerilen günlük Fe alım miktarının %91-113'ünü ve erkekler için önerilen günlük Fe miktarının ise %41-50'sini karşıladığını belirtmişlerdir. Karaköy et al., (2012) farklı mercimek çeşitlerine ait danelerde Fe konsantrasyonunun 49,4 ve 69,9 mg/kg arasında değiştiğini gösterirken, Türk mercimek yerel çeşitlerinde bu aralığı 49,0 ve 81,4 mg/kg olarak rapor etmişlerdir. Kumar et al., (2014) 41 elit mercimek hattını Hindistan' da 3 lokasyonda (New Delhi, Ludhiana and Pantnagar) yetiştirerek danedeki Fe ve Zn konsantrasyonlarının stabilitesini araştırdıkları çalışmada, dane Fe konsantrasyonlarının; Delhi'de 53,73-131,53 mg/kg, Ludhiana 40,13-160,66 mg/kg ve Pantnagar da ise 40,63-141,42 mg/kg arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışma sonucunda dane Fe konsantrasyonu açısından önemli bir varyasyon olduğu ortaya konmuştur. Sen Gupta et al., (2016) yaptıkları çalışmada mercimeğin 4 tür (*L. culinaris*, *L. lamottei*, *L. nigricans* ve *L. ervoides*) ve 3 alttürünü temsil eden 26 mercimek genotipinin danelerinde Fe, Zn, Ca, Cu ve Mg (Magnezyum) elementlerinin konsantrasyonlarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda *Lens culinaris* genotipleri arasında Fe konsantrasyonlarının 26-92 mg/kg arasında değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Diğer 3 tür için bu değerler *L. lamottei*' de 64-80 mg/kg, *L. nigricans*' da 60-70 mg/kg ve *L. ervoides*'de 65 mg/kg olarak bulunmuştur. Bu değerler incelendiğinde Fe konsantrasyonlarının *L.culinaris* için belirlenen aralığın içinde olduğu görülmektedir.

2.3 Mercimekte Bağlantı Haritalama Üzerine Yapılan Çalışmalar

Günümüzde besinsel öneme sahip birçok bitki türünün yanı sıra, mercimek bitkisi için de yapılmış genetik haritalama çalışmaları mevcuttur (Çizelge 2.1). Mercimeğin ilk genetik bağlantı haritası, Havey and Muehlbauer (1989) tarafından RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism; Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi), morfolojik ve izoenzim markörleri kullanılarak

yapılmıştır. Toplam 34 markör 333 cM'lık (Centimorgan; Santimorgan) harita üzerinde yerini almıştır. Sonraki bir diğer çalışmada Ejayıl et al., (1998) interspesifik bir melezlemeden geliştirdikleri 86 bireyden oluşan bir mercimek RIL popülasyonunda yaptıkları bağlantı haritasında 104 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA; Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), 100 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi), 7 RFLP ve 3 morfolojik markörü genetik bağlantı haritası için analiz etmişlerdir. Sonuçta 89 RAPD, 79 AFLP, 6 RFLP ve 3 morfolojik markör olmak üzere toplam 177 markör, 7 Bağlantı Grubu (BG) üzerinde yer almıştır. Bu harita, mercimek genomunun 1.073 cM'lık kısmını kapsamaktadır. İki markör arası ortalama uzaklık ise 6,0 cM olarak bulunmuştur. Rubeena et al., (2003) antraknoza dayanıklılıkları farklı olan 2 mercimek çeşidinin (ILL5588 ve ILL7537) intraspesifik melezlenmesinden geliştirilen 150 bireyden oluşan bir F₂ popülasyonu ve 114 markör (100 RAPD, 11 ISSR (Inter Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları Arası) ve 3 RGA (Resistance Gene Analog; Direnç Geni Analogu) kullanarak mercimeğin ilk intraspesifik bağlantı haritalamasını oluşturmuşlardır. Haritanın toplam uzunluğu 784,1 cM olarak bulunmuştur. Komşu markörler arası ortalama uzaklık 6,9 cM'dır. Üzerindeki markör sayısı 6 ile 18 arasında değişen 9 BG oluşturulmuştur. Duran et al., (2004) *Lens culinaris* ssp. *culinaris* x *L.c.* ssp. *orientalis*' in tek bir hibritinden elde ettikleri 113 F₂ bireyde, morfolojik ve 5 çeşit moleküler markörün ayrılma analizine dayalı bir harita oluşturmuşlardır. Bu F₂ popülasyonunda 71 RAPD, 39 ISSR, 83 AFLP, 2 SSR (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları) ve 5 morfolojik lokus olmak üzere toplam 200 markör kullanmışlardır. 161 markör, toplam uzunlukları 2.172,4 cM olan 10 BG üzerinde yer almıştır. Komşu markörler arası ortalama uzaklığı 15,87 cM olarak tespit edilmiştir. Hamwieh et al., (2005) ILL 5588 ve L 692-16-1 melezlenmesinden geliştirilen 86 RIL' da bağlantı haritalama çalışmasını yürütmüşlerdir. Sonuçta toplam 283 markör haritalanmıştır. Ondört bağlantı grubunun elde edildiği bu haritada markör arası ortalama uzaklık 2,6 cM ve toplam harita uzunluğu ise 751 cM olarak hesaplanmıştır. Tanyolaç et al., (2010) Precoz ve WA8949041 ebeveynlerinin melezlenmesinden elde ettikleri 94 bireyden oluşan mercimek RIL popülasyonunda yaptıkları genetik bağlantı haritası çalışmasında 166 markör (RAPD, ISSR ve AFLP) kullanmışlardır. Uzunlukları 50,9 ile 436,5 cM arasında değişen 11 BG' tan oluşan haritanın

toplam uzunluğu 1.396,3 cM olarak belirlenmiştir. İki markör arası ortalama harita uzaklığı 8,4 cM olarak tespit edilmiştir. Gupta et al., (2012) mercimeğin bağlantı haritasını oluşturmak amacıyla L830 ve ILWL77 ebeveynleri arasında intersubspesifik melezleme yapmış ve sonuçta oluşan 114 F₂ bitkisinde toplam 199 markör (28 SSR, 9 ISSR ve 162 RAPD markörü) kullanarak haritayı elde etmişlerdir. Haritanın toplam uzunluğunun 3.843,4 cM ve iki markör arası ortalama uzaklığın ise 19,3 cM olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettikleri bu haritada uzunlukları 17,3 ile 433,8 cM arasında değişen 11 BG bulunmaktadır. Sharpe et al., (2013) CDC Robin ve 964a-46 melezlemesinden geliştirdikleri LR-18 RIL popülasyonunda gen-bazlı SNP ve SSR markörlerine dayalı bir genetik bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Sonuçta, 6 SSR ve 537 SNP'nin 7 BG üzerinde haritalandığını ve haritanın toplam uzunluğunun 834,7 cM olduğunu saptamışlardır. Bu haritada BG uzunluklarının 58 cM ile 226 cM arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 2.1 Yayınlanan *Lens* bağlantı haritaları

Popülasyon Tipi	Popülasyon Birey Sayısı	Markör Sayısı	Markör Tipi	Uzunluk (cM)	Referans
F ₂	66	34	Morfolojik, izoenzimler ve RFLP	333	Havey and Muehlbauer (1989)
RIL	86	177	RAPD, AFLP, RFLP ve Morfolojik	1.073	Eujayl et al., (1998)
F ₂	150	114	RAPD, ISSR ve RGA	784,1	Rubeena et al., (2003)
F ₂	113	161	RAPD, AFLP, ISSR, SSR ve Morfolojik	2.172,4	Durán et al., (2004)
RIL	86	283	SSR, RAPD, AFLP, RFLP ve Morfolojik	751	Hamwieh et al., (2005)
RIL	94	166	RAPD, ISSR ve AFLP	1.396,3	Tanyolaç et al., (2010)
F ₂	114	199	SSR, ISSR ve RAPD	3.843,4	Gupta et al., (2012)
RIL	147	543	SSR ve SNP	834,7	Sharpe et al., (2013)
RIL	94	543	SNP	741	Bhadauria et al., (2017)

2.4 Diğer Bazı Bitkilerde Fe Alınımı ile İlişkili QTL Saptama Çalışmaları

Besin elementleri insanlar tarafından gıda yoluyla vücuda alınmaktadır. Bu nedenle gıdaların besin değeri içeriklerinin yükseltilmesi, dengeli beslenme ve günlük besin elementi ihtiyacının önerilen miktarda alınması açısından çok önemlidir. Bu amaçla besin elementi değerleri yüksek olan çeşitlerin eldesi büyük önem kazanmaktadır. Bu problemin üstesinden gelebilmek için, tahıllar ve baklagiller gibi belli başlı ürünlerde bu elementlerce zengin ürünlerin elde edilebilmesi amacıyla ıslah programları başlatılmıştır. Günümüze kadar birçok araştırmacı bitkilerde farklı besin elementleri yönünden genetik varyasyonu çalışmışlardır (Arnold and Bauman, 1976; Arnold et al., 1977; Gregorio et al., 2000; Banziger and Long, 2000; Ortiz-Monasterio and Graham, 2000; Çakmak et al., 2000; Balint et al., 2001; Zhang et al., 2004).

Mercimekte mikro besin elementlerinin alınımını kontrol eden genler ile ilişkili QTL' lerin haritalanmasına yönelik genetik çalışmalar yok denecek kadar azdır. Fe alınımını ve danede depolanmasını kontrol eden genler ile ilişkili DNA bölgelerinin saptanmasına yönelik çalışmalar, mercimek haricindeki birçok bitkide mevcuttur. Diğer bitkilerde Fe alınımı ile ilişkili QTL' leri saptama çalışmaları aşağıda özetlenmiştir.

Waters and Grusak (2008), 2 farklı *Arabidopsis thaliana* RIL popülasyonu (CL ve CVL) kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada; Ca, Cu, Fe, potasyum (K), Mg, Mn, P, Zn, sülfür (S) elementlerinin danedeki konsantrasyonunu etkileyen 100' den fazla QTL saptamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda Fe konsantrasyonu ile ilişkili olarak; CL popülasyonunda 3 yıllık deneme (2003, 2005 ve 2007) sonucunda 7 ve CVL popülasyonunda ise 2 yıllık deneme (2003 ve 2006) sonucunda 4 QTL belirlenmiştir. Lu et al., (2008) 2 pirinç çeşidinin (Zhenshan 97 ve Minghui 63) melezlenmesinden tek tohum yöntemiyle geliştirmiş 241 RIL' dan oluşan bir popülasyonda Fe, Cu, Ca, Zn ve Mn olmak üzere 5 mikro besin elementinin danedeki içeriği ile ilişkili QTL' leri saptamışlardır. Pirinç tanesinde 5 mineral içeriği ile ilgili olarak 2., 4., 5., 7., 9. ve 11. kromozomlarda lokalize olmuş toplam 10 QTL tanımlamışlardır. Fe içeriği ile

ilişkili 2 QTL'in (*qFE-1* ve *qFE-9*) fenotipik varyasyonun % 36,92' sini açıkladığını tespit etmişlerdir. Wu et al. (2008) 183 double haploid (DH; Katlanmış Haploid) *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* hattında Mg, P, Fe, Mn, Zn ve diğer bazı mikro besin elementlerinin konsantrasyonları ile ilişkili QTL'leri Interval Mapping (IM; Aralık Haritalama) ve Multiple-QTL Mapping (MQM; Çoklu-QTL Haritalama) analizleri ile saptamışlardır. Fe konsantrasyon varyansının %10,5' ini açıklayan bir QTL'i R08 BG üzerinde tanımlamışlardır. Blair et al. (2009) DOR364 ve G19833 ebeveynlerinin melezlenmesinden geliştirilen ve 87 bireyden oluşan bir fasulye RIL popülasyonu kullanarak yaptıkları çalışmada, danede Fe ve Zn alınımı ile ilişkili toplam 26 QTL'i Composite Interval Mapping (CIM; Bileşik Aralık Haritalama) analizi ile saptamışlardır. Fe ile ilgili 13 QTL'in fasulye genomunda B4, B6, B7, B8 ve B11 BG üzerinde lokalize olduğunu belirlemişlerdir. Garcia-Oliveira et al. (2009), 85 pirinç IL'nı (Introgression Lines; İntogresyon Hatları) içeren çalışmalarında Fe, Zn, Mn, Cu, Ca, Mg, P ve K elementlerinin içeriği ile ilgili olarak toplam 31 putatif QTL saptamışlardır. Fe içeriği için 2005 ve 2006 yıllarında fenotipik varyasyonun %5-7' sini açıklayan ve 2. kromozom üzerinde lokalize olmuş 1 QTL (*qFe2-1*) belirlemişlerdir. Aynı zamanda, 2006 yılında 9. kromozomdaki RM296 markörünün yakınında bir minör QTL (*qFe9-1*) haritalamışlardır. Klein and Grusak (2009), 2 *Lotus japonicus* (Miyakojima MG-20 (Miyakojima) ve Gifu B-129 (Gifu)) çeşidinden geliştirdikleri 114 RIL'ı 2006 yılında, 106 RIL' ı ise 2007 yılında yetiştirerek bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışma kapsamında yaptıkları QTL analizi sonucunda danede Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S ve Zn konsantrasyonu için 34 QTL (2006'da 18 QTL ve 2007'de 16 QTL) ve içeriği için ise 48 QTL (2006'da 22QTL ve 2007'de 26 QTL) olmak üzere toplam 82 QTL saptamışlardır. Danede Fe ile ilgili 1., 4. ve 6. kromozomlarda lokalize olmuş toplam 5 QTL belirlemişlerdir. Bunlardan 3'nün Fe konsantrasyonu ile ilişkili olup 1. ve 4. kromozomlarda yer aldığını ve 2006-2007 yılında görülen fenotipik varyasyonun sırasıyla %16,2 ve 24,8'ini açıkladığını saptamışlardır. Fe içeriği ile ilgili olan diğer 2 QTL'in ise 1. ve 6. kromozomlarda yer aldığını ve sadece 2006 yılında görülen varyasyonun % 23,8'ini açıkladığını belirtmişlerdir. Peleg et al., (2009) durum buğdayı (Langdon) ve yabani gernik buğdayının (G18-16) melezlenmesinden elde ettikleri F₆ kademesindeki 152 buğday RIL hattını kapsayan çalışmalarında 10 mineral için LOD (Logarithm of the Odds; Göreceli

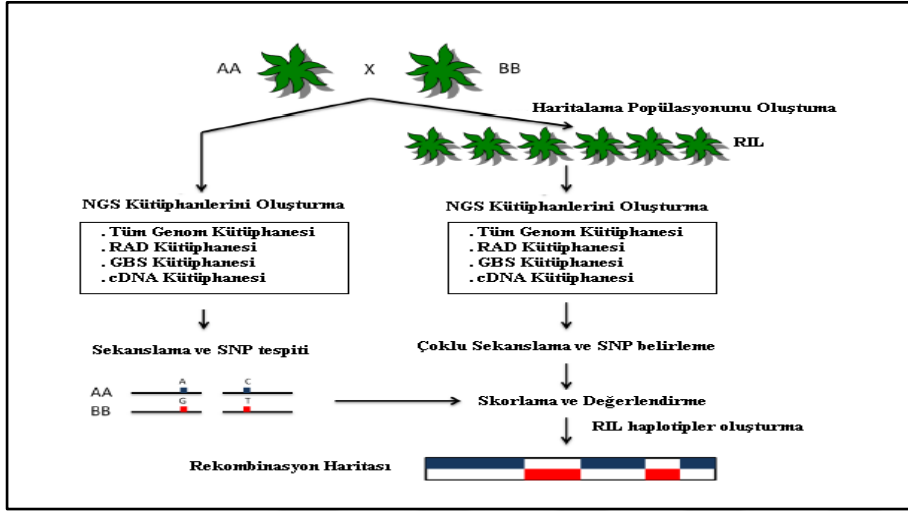
Risk Oranları Logaritması) değerleri 3,2 ile 16,7 arasında değişen toplam 82 QTL'i haritalamışlardır. Fe konsantrasyonu ile ilgili olarak; LOD değerleri 4,6-16,7 olan ve varyasyonun %2-18' ini açıklayan toplam 11 QTL saptamışlardır. Sankaran et al., (2009) bir *Medicago truncatula* RIL popülasyonu (Jemalong-6 x DZA 315.16) kullanarak 2 yıllık (2004 ve 2006) bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. 2004 yılında 93 RIL ve 2006 yılında 169 RIL hattının tohumunu kullanmışlardır. Danede Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P ve Zn konsantrasyonu ve içeriği ile ilişkili QTL' leri CIM analizi ile saptamışlardır. Yapılan analiz sonucunda dane mineral konsantrasyonu için 46 QTL ve dane mineral içeriği için ise 26 QTL tanımlamışlardır. Fe ile ilişkili olarak; 2004 yılında fenotipik varyasyonun %35,5 ni açıklayan ve BG 7 üzerinde yer alan 1 QTL belirlerken, 2006 yılında BG 7 ve BG 8 üzerinde lokalize olmuş 2 QTL belirlemişlerdir. Ding et al., (2010) fosfordan yararlanma miktarları yönünden farklılık gösteren 2 *Brassica napus* ebeveyninin (B104-2 ve Eyou Changjia) melezlenmesinden oluşmuş 124 RIL kullandıkları çalışmalarında danedeki P, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu ve Mn konsantrasyonu ile ilgili olan QTL' leri CIM analizi ile saptamışlardır. Toplam 78 adet putatif QTL'in 17 bağlantı grubuna dağıldığını, elde edilen bu QTL'lerin fenotipik varyasyonun %7,84-18,1'ini açıkladığını belirlemişlerdir. Fe konsantrasyonu ile ilişkili 9 QTL'in 7 kromozom (A3, A5, A6, A9, A10, C6 ve C7) üzerinde lokalize olduğunu tespit etmişlerdir. Norton et al., (2010) Bala ve Azucena ebeveynlerinin melezlenmesinden oluşturdukları 79 pirinç F₆ RIL popülasyonunu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada, Fe ve Se gibi bazı elementler ile ilgili olarak; yapraktaki konsantrasyonlarını kontrol eden toplam 36 QTL ve danedeki konsantrasyonlarını kontrol eden toplam 41 QTL belirlemişlerdir. Yapraktaki Fe konsantrasyonunu etkileyen 3 QTL saptamışlardır. Bu QTL' lerin 1., 3. ve 6.'ı kromozomlar üzerinde lokalize olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra danedeki Fe konsantrasyonunu kontrol eden 4 QTL tanımlamışlardır. Bu QTL' lerden birinin 1. kromozom üzerinde olduğunu ve varyasyonun %16,2' ini açıkladığını, kalan 3 QTL'in ise 3., 4. ve 7. kromozomlar üzerinde yer aldığını ve varyasyonun sırasıyla % 21,4, % 9,7 ve %15,5'ni açıkladığını rapor etmişlerdir. Blair et al., (2011) 100 bireyden oluşan fasulye RIL popülasyonunu 3 farklı lokasyonda yetiştirerek yaptıkları çalışmada danedeki Fe ve Zn konsantrasyonu ile ilişkili QTL' leri saptamak için CIM analizini kullanmışlardır. Analiz sonucunda 6 tanesi Fe ve 3 tanesi Zn ile ilişkili, 5

BG üzerinde yer alan toplam 9 adet QTL tespit etmişlerdir. Anuradha et al., (2012) pirinçte Fe ve Zn alınımları ile ilişkili QTL'leri saptamak için gerçekleştirdikleri çalışmada Madhukar×Swarna melezlemesinden tek tohum metodu ile geliştirdikleri 168 RIL hattı kullanmışlardır. Single Marker Analysis (SMA; Tek Markör Analizi), IM, CIM ve Multiple Interval Mapping (MIM; Çoklu Aralık Haritalama) analizleri ile 1., 3., 5., 7. ve 12. kromozomlar üzerinde lokalize olmuş toplam 5 adet QTL saptamışlardır. Fe ile ilişkili QTL'lerin 7. ve 12. kromozom üzerinde ve Zn ile ilişkili QTL'ler ile beraber bulunduğunu tespit etmişlerdir. Qin et al., (2012) mısırdaki Fe ve Zn konsantrasyonunu arttırmaya yönelik olarak yaptıkları ve biyofortifikasyona teorik ve uygulamalı referans olması için yürüttükleri çalışmalarında Mu6 × SDM (MuS) ve Mo17 × SDM (MoS) melezlemelerinden oluşturulmuş 2 farklı F_{2:3} popülasyonunu 2 farklı lokasyonda (CQ ve YN) denemeye almışlardır. Burada dane ve koçandaki Fe ve Zn konsantrasyonlarını etkileyen gen bölgeleri saptanmıştır. Buna göre her iki popülasyonda oldukça korunmuş ve kromozom 2, 7 ve 9' da lokalize olmuş QTL'ler (16 QTL CQ ve 17 QTL YN lokasyonunda) tek çevre analizi ile tespit edilmiştir. Dane ve koçanda Fe içeriği ile ilgili olan QTL'ler 2. ve 7. kromozomlarda haritalanmıştır. Xu et al., (2012) buğday danesinde Zn, Fe ve protein konsantrasyonu ile ilişkili QTL'leri saptamak için yaptıkları çalışmada 2 farklı çevre koşulunda yetiştirdikleri 182 bireyden oluşan bir RIL popülasyonu kullanmışlardır. Sonuçta kromozom 2A, 2B, 4A, 4D, 5A ve 6A üzerinde lokalize olmuş 9 adet aditif ve 4 adet epistatik QTL belirlemişlerdir. Bu QTL'lerden 2'si aditif ve 1'i epistatik QTL olmak üzere toplam 3 QTL'in Fe konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Du et al., (2013) kahverengi pirinç danesinde mineral birikimi üzerinde çevrenin etkisini görmek için gerçekleştirdikleri çalışmalarını, 2 farklı lokasyonda (Lingshui ve Hangzhou, Çin) bir DH pirinç popülasyonu (Chunjiang 06 ve TN1 melezlemesinden oluşmuş) ile gerçekleştirmişlerdir. Araştırılan 7 mineral (Fe, Ca, K, Mg, Mn, P ve Zn) için toplamda 32 QTL (Lingshui için 23 ve Hangzhou için 9 QTL) saptamışlardır. Fe ile ilgili QTL'leri, K, Mg, Mn, P ve Zn birikiminden sorumlu QTL'lerle birlikte kromozom 8 ve 9 üzerinde haritalamışlardır. Jin et al., (2013) danedeki Fe ve Zn içeriği açısından oldukça farklı olan 2 ebeveynin melezlenmesinden (178 ve P53) oluşan F_{2:3} mısır popülasyonunda (218 birey) Zn içeriği için 4 ve Fe içeriği için ise 1 adet QTL olmak üzere toplam 5 QTL saptamışlardır. Fe ile ilişkili

QTL'in (*qFe5*) 5. kromozom üzerinde lokalize olduğunu ve fenotipik varyasyonun % 16,89' unu açıkladığını bildirmişlerdir. King et al., (2013) soya fasulyesinin dane ve yapraklarındaki Fe ve Zn akümüasyonu ile ilgili olan QTL' leri belirlemek amacıyla yürüttükleri bu çalışmalarında bağlantı haritasını oluşturmak için SSR, RFLP ve BARCSOYSSR markörlerini kullanmışlardır. Yapılan analiz sonucunda varyasyonun %21,5' ini açıklayan ve 20. kromozom üzerinde lokalize olmuş bir majör QTL'in Fe akümüasyonu ile ilgili olduğunu saptamışlardır. Pu et al., (2014) iki farklı buğday RIL popülasyonu (SC ve CC popülasyonları) kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada Fe, Zn, Cu, Mn ve Se konsantrasyonu ile ilişkili toplam 39 adet QTL'i CIM analizi ile saptamışlardır. Yirmi altı adet QTL'in SC popülasyonunda ve kalan 13 adet QTL'in ise CC popülasyonunda bulunduğunu bildirmişlerdir. SC popülasyonunda Fe konsantrasyonu ile ilişkili olarak varyasyonun % 5,4- 9,5'ni açıklayan 4 QTL; CC popülasyonunda ise varyasyonun %9,2-19,1' ni açıklayan ve 4A, 4D, 5A ve 5B kromozomları üzerinde lokalize olmuş 4 QTL tespit etmişlerdir. Ramamurthy et al., (2014) soya fasulyesinde danede mineral, sistein ve metionin konsantrasyonu ile ilişkili yeni QTL'lerin tanımlanmasına yönelik gerçekleştirdikleri çalışmada 3 RIL popülasyonu kullanmışlardır. Danede mineral konsantrasyonu ile ilişkili olan 28 QTL belirlemişlerdir. 1 QTL'in hem Ca hem de kadmiyum (Cd) için haritalandığını bunun yanı sıra 2 QTL'in de Fe, Mg, Mn, Ni ve Se için ortak olduğunu rapor etmişlerdir. Tiwari et al., (2016) buğday danesindeki mikro element konsantrasyonunun genetik temellerini anlamak için 'Berkut' ve 'Krichauff' çeşitlerinden geliştirdikleri 138 DH hat içeren bir popülasyonu kullanarak 2 yıl ve 2 lokasyonu içeren bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Yapılan CIM analizi sonucunda Fe ile ilgili olan 1 majör QTL' i (QFe.bhu-2B) 2B kromozomu üzerinde saptamışlardır. Bu QTL'in fenotipik varyasyonun %14,7-37,7 sini açıkladığını belirtmişlerdir. Krishnappa et al., (2017) 286 RIL buğday popülasyonunda dane protein içeriği, 1000 tane ağırlığı ve danede Fe ve Zn konsantrasyonu ile ilişkili olan genomik bölgeleri bağlantı harita üzerinde tespit etmişlerdir. Polimorfik 136 SSR markörü kullanarak oluşturdukları bu harita, toplam uzunlukları 2.155,3 cM olan 21 kromozomdan meydana gelmiştir. Yapılan QTL analizi sonucunda Fe konsantrasyonu ile ilgili olarak LOD değerleri 2,5-4,1 ve fenotipik varyasyonu % 2,3-6,8 arasında değişen 4 QTL (QGF*e*.iari-2A, QGF*e*.iari-7B, QGF*e*.iari-7A ve QGF*e*.iari-5A) haritalanmıştır.

2.5 Dizileme ile Genotipleme (GBS)

Son yıllarda GBS olarak adlandırılan yeni bir yaklaşım SNP'lerin saptanmasında ve değerlendirilmesinde kullanılmaya başlanmıştır (Deschamps et al., 2012) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. GBS prosedürünün temsili şematik bir diyagramı.

GBS; popülasyon çalışmalarında, karakterizasyonda, ıslahta ve çeşitli organizmalarda özellik haritalamada kullanılmakta ve bir popülasyondaki her bireye ait genomun Restriksiyon Enzimleri (RE) ile kesilmesi sonucu oluşan genomik parçaların yeni nesil sekanslama teknolojisi ile dizileme analizine dayanmaktadır (Elshire et al., 2011; Kumar et al., 2012). Bu tür yüksek-çıkıtlı genotiplendirme teknolojileri, QTL karakterizasyonunda yüksek-yoğunluktaki uygulamaların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Deschamps et al., 2012). Uygun maliyetinden dolayı GBS, yüksek yoğunlukta SNP markörü içeren haritalama popülasyonlarının bağlantı haritalarının oluşturulmasında tercih edilen bir yaklaşım haline gelmiştir (He et al., 2014).

Elshire et al., (2011) 276 mısır RIL popülasyonunu ve 43 DH arpa hattını kullanarak genotiplendirme ve haritalama çalışması gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda mısır için 25.185 bi-allelik SNP belirlenmiştir. Arpa için ise toplamda 24.186 sekans, arpa genetik haritasında yer almıştır. Mascher et al., (2013) "Morex" ve "Barke" ebeveynlerinin melezlenmesinden geliştirdikleri ve

94 bireyden oluşan arpa RIL popülasyonu kullanarak yürüttükleri çalışmada haritalama için toplamda 1.817 markör kullanmışlardır. Bütün markörler, arpanın 7 kromozomuna karşılık gelen 7 BG' dan biri üzerinde lokalize olmuştur. Saintenac et al., (2013) W7984 (Syn) x OpataM85 (Op) ebeveynlerinin melezlenmesinden oluşan SynOpDH buğday popülasyonundan 182 hat kullanarak sekans-bazlı haritalama çalışması gerçekleştirmişlerdir. Referans harita oluşturmak için 2.740 gen-bağlantılı SNP, 118 SSR/STS (Sequence-Tagged Sites; Dizisi Etiketlenmiş Bölgeler), 1351 DArT (The Diversity Arrays Technology; Çeşitlilik Dizi Teknolojisi) ve 416.856 GBS markörü kullanmışlardır. Uitdewilligen et al., (2013) 83 tetraploid patates çeşidinde gerçekleştirdikleri çalışmada autotetraploid patates çeşitlerinde GBS teknolojisinin kesinliğini göstermişlerdir. 12,4 gigabay yüksek-kalite dizi verisi ve 129.156 dizi varyantı tanımlamışlardır. Bu sayede patates referans genomunun 2,1 Mb'lık kısmını haritalamışlardır. Gardner et al., (2014) Golden Delicious x Scarlet Spur popülasyonuna ait 89 elma hattı (87 F₁ birey ve 2 ebeveyn) kullanarak oluşturdukları haritanın toplam uzunluğunu 1.272 cM olarak açıklamışlardır. Bin dokuz yüz doksan dört SNP markörü, uzunlukları 56 cM ve 96 cM arasında değişen 17 BG üzerinde haritalanmıştır. Elma kabuk rengi ile ilişkili ve oldukça önemli bir QTL, 9. BG' un uç kısmında tespit edilmiştir. Gore et al., (2014) tarafından 98 F_{5:7} RIL ve 2 ebeveynden oluşan TM-1×NM24016 RI (Recombinant Inbred; Rekombinant Kendilenmiş) pamuk haritalama popülasyonunda bir bağlantı haritası oluşturulmuştur. Aynı zamanda agronomi ve lif kalitesiyle ilgili 10 özellik için QTL analizi yapılmıştır. Bağlantı haritası, 429 SSR ve 412 GBS-bazlı SNP markörden meydana gelmiştir. Yapılan QTL analizi sonucunda 10 özellikle ilişkili toplam 28 QTL tanımlanmıştır. Bastien et al., (2014) 130 soya fasulyesi hattında Sclerotinia Kök- Gövde Çürüklüğüne (SSR; Sclerotinia Stem Rot) dayanıklılığı kontrol eden QTL' lerin tanımlanmasına yönelik olarak GBS yaklaşımını kullanmışlardır. 7.864 SNP markörünü, 20 soya fasulyesi kromozomu üzerinde haritalamışlardır. En fazla sayıda SNP markörünü 18. (626 SNP) ve 15. (516 SNP) kromozomda saptarken en az sayıda SNP'i 11. (173 SNP) ve 12. (248 SNP) kromozomlarda belirlemişlerdir. Huang et al., (2014) 7 tane bi-parental yulaf haritalama popülasyonu ve çeşitli kendilenmiş hatlar kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında toplam 45.117 GBS markörü saptamışlardır. Toplam uzunluğu 1.713 cM olan ve 35 BG' tan oluşan bir harita

elde etmişlerdir. Li et al., (2015) toplam 538 bireyden oluşan 3 mısır RIL popülasyonunu (HUOBAl, WEIFENG322 ve LV28) 6 farklı lokasyonda yetiştirerek gerçekleştirdikleri çalışmada yaprakla ilişkili özelliklerin genetik mekanizmasını saptamaya yönelik olarak GBS metodu ile genotiplendirme yapmışlardır. Üç popülasyona ait haritaların uzunlukları 1.746,61 cM (HUOBAl), 1.960,57 cM (WEIFENG322) ve 1.761,19 cM (LV28) olarak tespit edilmiştir. Komşu 2 markör arası ortalama uzaklıklar sırasıyla 1,10, 0,99 ve 0,84 cM olarak saptanmıştır. Üç popülasyona ait birleştirilmiş haritada ise toplam uzunluk 1.700,4 cM ve komşu iki markör arası ortalama mesafe 0,34 cM’ dır. Yapılan QTL analizi sonucunda yaprakla ilişkili özellikleri belirleyen 45 QTL tespit edilmiştir. Ateş et al., (2016) 2 yıl süreyle (2012 ve 2013) yürüttükleri bir çalışmada “PI 320937” × “Eston” ebeveynlerinin melezlenmesinden geliştirilen 96 mercimek RIL’ dan oluşan bir popülasyonda danede Se alınımı ile ilişkili toplam 4 QTL bölgesi ve 36 putatif QTL markörü saptamışlardır. Bağlantı haritalama için 1.784 markör (4 SSR, ve 1.780 GBS) kullanarak yaptıkları çalışmada toplam harita uzunluğunu 4.060,6 cM olarak hesaplamışlardır. Toplamda 7 BG elde etmişler ve BG’ lerin uzunluklarının 111,7 ile 1.783,4 cM arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Crespo-Herrera et al., (2016) Seri M82 ve SHW CWI76364 ebeveynlerinin melezlenmesinden oluşturdukları 140 F₆ buğday RIL popülasyonunda danedeki Fe ve Zn konsantrasyonu ile bağlantılı genomik bölgelerin lokalizasyonunu tespit etmişlerdir. Bin üç yüz dokuz GBS markörü kullanılarak elde edilen haritada 4BS, 5BS, 6AL ve 7DS kromozomları üzerinde lokalize olmuş ve toplam fenotipik varyasyonun %9,6- %14,5’ini açıklayan 4 majör etkili QTL saptamışlardır. İlave olarak 2BL, 2DS, 5BL, 6BL ve 6DS kromozomları üzerinde yer alan ve fenotipik varyasyonun %7,2 ve %9,1’ ini ifade eden 6 minör etkili QTL de belirlemişlerdir. Upadhyaya et al., (2016) 277 RIL’ dan oluşan bir nohut haritalama popülasyonunda (ICC 4958 x ICC 8261) 533 GBS- bazlı SNP’i kullanarak yüksek yoğunluklu tür-içi genetik bağlantı haritası elde etmişlerdir. SNP’ler, toplam uzunlukları 831,2 cM olan ve markörler arası ortalama uzaklıkları 1,56 cM olan 8 BG üzerinde haritalanmıştır. Bunun yanında 277 bireye ait fenotiplendirme verilerini de (danede Fe ve Zn konsantrasyonları) saptamışlardır. Fenotipik ve genotipik verilerin ışığında oluşturulan QTL haritasında nohutta dane Fe ve Zn konsantrasyonu ile ilişkili 8 QTL (LOD 6,0–8,8) altında bulunan 8 ana genomik bölge tespit etmişlerdir. Fe konsantrasyonu ile ilişkili olarak LOD değerleri 8,0-

8,8 ve beklenen fenotipik varyasyon değerleri %21,1-23,4 arasında değişen ve 1., 3. ve 4. kromozomlar üzerinde lokalize olmuş 3 QTL (CqFe1.1, CqFe3.1 ve CqFe4.1) tanımlamışlardır. Ma et al., (2017) 158 hat ve 2 ebeveynden (Aragorn ve Kiflica) oluşan bir bezelye RIL popölasyonunda GBS teknolojisini kullanarak hem yüksek çözünürlüklü harita elde etmek hem de 100 tane ağırlığı, mineral içeriği ve konsantrasyonu ile ilişkili QTL' leri tanımlamak için bu çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. 1.609 GBS bazlı SNP, 114 SSR ve 254 SNP kullanarak oluşturdukları haritada; 1.683 markör, (1608 SNP ve daha önce haritalanmış 75 markör) toplam uzunlukları 1.310,1 cM olan 7 BG' na dağılmıştır. Komşu markörler arası uzaklık 10 cM'den az olarak bulunmuştur. Yapılan QTL analizi sonucunda danede mineral konsantrasyonu için 46, mineral içeriği için 37 ve 100 tane ağırlığı için 6 QTL tespit edilmiştir. Fe konsantrasyonu ([Fe]-Ps2.1, [Fe]-Ps2.2, [Fe]-Ps5.1, [Fe]-Ps5.2 ve [Fe]-Ps7.1) ve Fe içeriği (Fe-Ps2.1, Fe-Ps2.2, Fe-Ps3.1, Fe-Ps5.1 ve Fe-Ps6.1) için 5' er QTL saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Çalışmada genetik materyal olarak kullanılan LR-11 mercimek RIL popülasyonu, Saskatchewan Üniversitesi Bitki Bilimleri Bölümü/Ürün Geliştirme Merkezinden (CDC; Crop Development Centre, Saskatoon, Kanada) temin edilmiştir. 118 RIL ve 2 ebeveyn den oluşan bu popülasyon, “ILL 8006” x “CDC Milestone” ebeveynlerinin melezlenmesi sonucu elde edilen ve F₂ den F₇’ye homozigotlaşmaya kadar tek tohum yöntemiyle oluşturulan bir popülasyondur. “ILL 8006”, Barimasur-4 olarak bilinen ve Bangladeş’te piyasaya sürülmüş bir mercimek çeşitidir (Sarker et al., 1999) “CDC Milestone” ise CDC’ de geliştirilmiştir (Vandenberg et al. 2001). İki ebeveyn Fe yönünden polimorfizm göstermektedir. Ebeveynler ve melezlenmeleri sonucu oluşan hatlar kodlama sırasıyla birlikte Çizelge 3.1’de yer almaktadır.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan LR-11 popülasyonu mercimek genotipleri

Genotip No.	Genotip Adı	Genotip No.	Genotip Adı	Genotip No.	Genotip Adı
ANNE	ILL 8006	39	LR11-58	79	LR 11-127
BABA	CDC Milestone	40	LR11-60	80	LR 11-128
1	LR11-2	41	LR11-61	81	LR 11-131
2	LR11-3	42	LR11-62	82	LR 11-132
3	LR11-4	43	LR11-68	83	LR 11-133
4	LR11-5	44	LR11-71	84	LR 11-134
5	LR11-6	45	LR11-72	85	LR 11-136
6	LR11-8	46	LR11-73	86	LR 11-137
7	LR11-9	47	LR11-74	87	LR 11-139
8	LR11-13	48	LR11-78	88	LR 11-140
9	LR11-14	49	LR11-81	89	LR 11-142
10	LR11-15	50	LR11-84	90	LR 11-144
11	LR11-16	51	LR11-86	91	LR 11-145
12	LR11-17	52	LR11-87	92	LR 11-146
13	LR11-18	53	LR11-88	93	LR 11-147
14	LR11-19	54	LR11-89	94	LR 11-148
15	LR11-20	55	LR11-90	95	LR 11-149
16	LR11-22	56	LR11-92	96	LR 11-150
17	LR11-23	57	LR11-93	97	LR 11-152
18	LR11-24	58	LR11-94	98	LR 11-153
19	LR11-25	59	LR11-95	99	LR11-154

Çizelge 3.1 (devamı)

Genotip No.	Genotip Adı	Genotip No.	Genotip Adı	Genotip No.	Genotip Adı
20	LR11-27	60	LR11-97	100	LR11-156
21	LR11-28	61	LR11-100	101	LR11-159
22	LR11-29	62	LR11-102	102	LR11-160
23	LR11-30	63	LR11-103	103	LR11-161
24	LR11-31	64	LR11-105	104	LR11-162
25	LR11-32	65	LR11-106	105	LR11-163
26	LR11-33	66	LR11-108	106	LR11-164
27	LR11-34	67	LR11-110	107	LR11-165
28	LR11-37	68	LR11-111	108	LR11-167
29	LR11-38	69	LR11-113	109	LR11-168
30	LR11-40	70	LR11-114	110	LR11-169
31	LR11-43	71	LR11-115	111	LR11-170
32	LR11-46	72	LR11-117	112	LR11-171
33	LR11-47	73	LR11-118	113	LR11-173
34	LR11-48	74	LR11-119	114	LR11-175
35	LR11-49	75	LR11-122	115	LR11-178
36	LR11-53	76	LR11-123	116	LR11-179
37	LR11-55	77	LR11-124	117	LR11-180
38	LR11-56	78	LR 11-126	118	LR11-182

3.2 Metod

3.2.1 Tarla uygulamaları

Popülasyon ait bireyler (118 RIL ve 2 ebeveyn), 2012 ve 2013 büyüme sezonlarında 3 lokasyonda 3 tekerrürlü olarak ekilmiştir (Ege Üniversitesi /İzmir (27°09' E, 38°25' N), Çukurova Üniversitesi /Adana (35°18' E, 37°01' N) ve Harran Üniversitesi /Şanlı Urfa (38°46' E, 37°08' N)) (Bkz. Şekil 3.1). Tarla denemeleri, tesadüf blokları deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Parsel alanı 1,2 x 2,0 m' dir ve suni gübre kullanılmamıştır. Bütün lokasyonlarda ilk yıl her bir RIL' dan gelen tohumlar çoğaltılmış; çoğaltılan bu tohum kaynağı 2012' de ekilmiş ve 2012' den elde edilen tohumlar ise 2013' de ekilmiştir. Tarlada her bir sıraya ekim sırasında etiketleme yapılmıştır.

Bitkiler 15-20 cm uzunluğa ulaştıktan sonra, bitkilerin en genç yapraklarından alüminyum folyo içerisine yaprak örneği alınarak ve hat numaraları yazılarak tekrar etiketlenmiştir (Bkz. şekil 3.2 ve şekil 3.3). Bu örnekler kuru buz içerisinde laboratuvara taşınmıştır. Örnekler DNA izolasyonu yapılıncaya kadar -86 °C derin dondurucuda bekletilmiştir.



şekil 3.1. LR-11'e ait bazı hatların tarlada ekilmiş görüntüsü.



şekil 3.2. Hatların 15-20 cm uzunluğa ulaşmış görüntüleri.



Şekil 3.3. Popülasyona ait hatlardan DNA izolasyonu amacıyla yaprak örneklerinin toplanması.

3.2.2 Besin elementi analizleri

3.2.2.1 Toprakta besin elementi analizleri

Denemelerin kurulduğu (İzmir, Adana ve Ş. Urfa) tarlalardan 0-30 cm derinliklerden, deneme alanını temsil edecek şekilde karma yüzey toprak örnekleri alınmıştır. Alınan karma yüzey toprak örneği Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü kapalı serasında oda sıcaklığında kurutulup (havada kuru), 2 mm'lik elekten elenerek analize hazır hale getirilmiştir (Jackson, 1967). Toprakların fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek için uygulanan yöntemler aşağıda verilmiştir.

1.pH:Saf su ile sature edilmiş toprak macununda cam elektrotlu Beckman pH metresi ile elektrometrik olarak ölçülmüştür (Black, 1965).

2.Eriyebilir toplam tuz:Saf su ile sature edilmiş toprak macununda EC-metre ile ölçülerek belirlenmiştir (Richards, 1954).

3.CaCO₃:Scheibler kalsimetresi ile volumetrik olarak tayin edilmiştir (Schlichting ve Blume, 1966).

4.Bünve:Toprak örneklerinin bünve özelliklerini belirlemek amacıyla içerdikleri %kum, %mil, %kil fraksiyonları hidrometre metodu ile analiz edilmiş (Bouyoucos, 1955), elde edilen değerler bünve analiz üçgenine uygulanarak örneklerin bünyeleri saptanmıştır (Black, 1965).

5.Organik madde:Toprak örneklerinin organik madde yüzdesinin belirlenmesinde; Reuterberg ve Kremkus yöntemine göre saptanan organik karbon kapsamlarından yararlanılarak bulunan karbon değerleri 1.724 sabiti ile çarpılmış ve örneklerin % organik madde miktarları hesaplanmıştır (Black, 1965).

6.Toplam azot (%N):Toprak örneklerinin toplam azot miktarları Bremner ve Schaw'ın modifiye makro kjeldahl metodu (Bremner,1965) uygulanarak belirlenmiştir.

7.Alınabilir fosfor:Toprak örneklerinin alınabilir fosfor miktarları Bingham (1949) metoduna göre kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.

8.Alınabilir K, Ca, Mg, Na:Toprakların alınabilir K, Ca, Mg ve Na değerleri 1N Amonyum Asetat (NH_4OAC) yöntemine göre elde edilen ekstraktta; K, Ca ve Na değerleri Flame Fotometrede ve Mg değerleri ise Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde okunarak tayin edilmiştir (Pratt, 1965).

9. Mikro elementler:Toprakların alınabilir Fe, Cu, Zn ve Mn miktarları DTPA metoduna göre elde edilen ekstraktların Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrede okunması sonucu tayin edilmiştir (Lindsay ve Norvell, 1978).

3.2.2.2 Danede besin elementi analizleri

Danede besin elementi analizleri, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümünün Bitki Besleme laboratuvarlarında yapılmıştır. 2012 ve 2013 yıllarında her bir lokasyondaki popülasyona ait bitkiler hasat edilmiş ve daha sonra harmanlama makinasında daneler bitkilerden ayrımlanarak ayrı ayrı kese kağıtlarına yerleştirilmiş ve etiketlenmiştir. Elde edilen daneler (her bir örnekten 3 tekerrürlü olmak üzere) önce çeşme suyu, daha sonra saf su ile yıkanıp 65 °C'deki

fırında kurutulduktan sonra analitik bir öğütücüde (IKA, A11, Staufen, Almanya) öğütölüp analize hazır hale getirilmiştir (Kaçar, 1972). Öğütölmlüş tohum örneğinden alınan 1 g, 150 mL erlenmeye konulmuştur. Üzerine asit ilave edilerek (Her 1 gr örnek için 12 mL nitrik:perklorik asit (4:1)) yaş yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaş yakma işleminden sonra örnekler filtrelenerek saf su ile seyreltilmiştir. Analize hazır hale getirilen ekstraktlarda toplam Fe miktarları, Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (AAS) (Varian, SpectrAA 220/ FS, CA, USA) cihazında okunarak saptanmıştır (Kaçar, 1972; Kaçar ve İnal, 2008). Dane Fe konsantrasyonları mg/kg şeklinde rapor edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda Fe solüsyonları hazırlanmış (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 ppm) ve bir kalibrasyon eğrisi oluşturmak (linear; $r^2=0,999$) için AAS' de ölçölmüştür. Kalıtım derecesi ise, Visscher et al., (2008) tarafından geliştirilen protokol kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3 DNA izolasyonu

Bitkiler 4-6 haftalık olgunluğa ulaştıktan sonra, en genç yapraklarından alüminyum folyo içerisine yaprak örneği alınmış ve hat numaraları yazılarak tekrar etiketlenmiştir. Bu örnekler kuru buz içerisinde laboratuara taşınmıştır. Örnekler DNA izolasyonu yapılncaya kadar -86 °C derin dondurucuda bekletilmiştir. Her bir yaprak örneği doku parçalayıcı kullanılarak parçalanmıştır (Technogen Co., İzmir, Türkiye).

Ebeveynlerin ve RIL' ların toplam genomik DNA izolasyonu Fermentas (Thermo Scientific, Inc, Katalog No: #K0792) bitki DNA izolasyon kiti protokolleri izlenerek yapılmıştır. DNA saflığını belirleyebilmek amacıyla örnekler %1'lik agaroz jel ve 1X TAE tamponunda yürütölmüş ve jel görüntöleme sisteminde (G-box, SYNGENE) görüntölenmiştir. DNA'ların miktarını ve kalitesini belirleyebilmek amacıyla Nanodrop 1000 (ND-1000, Thermo Co.) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Ölçömlenen DNA örnekleri GBS analizinde kullanılmak üzere istenen konsantrasyonlarda seyreltilerek, analizler yapılncaya kadar -86 °C derin dondurucuda bekletilmiştir.

3.2.4 Dizileme ile Genotipleme (GBS)

GBS analizi, DArT PLT (Diversity Arrays Technology Pty. Ltd., Canberra, Avustralya)' de Raman et al., (2014) tarafından uygulanan protokole göre gerçekleştirilmiştir. DArTseq™ metodu, DArT metodlarını ve yeni nesil sekanslama platformlarının bir kombinasyonunu içermektedir (Kilian et al., 2012; Courtois et al., 2013; Cruz et al., 2013; Ward et al., 2013). Bununla beraber, DArTseq™; dizilemedeki karmaşıklığı azaltan (Altshuler et al., 2000) ve yeni nesil dizileme platformlarında kullanılan bu konseptteki yeni uygulamalarından biridir (Elshire et al., 2011). DArT metodlarına benzer şekilde bu metod da sıralı hibridizasyona dayanmaktadır. Bu teknoloji; en uygun karmaşıklık azaltma metodunun seçilmesi ile her organizma ve uygulama için optimize edilmiştir. Bu çalışmada, karmaşıklığın indirgenmesi için *PstI-MseI* metodu seçilmiştir. DNA örnekleri, esasen Kilian et al., (2012) tarafından belirtilen şekilde parçalama/bağlama reaksiyonları ile hazırlanmıştır. Yalnız burada; tek bir *PstI*-uyumlu adaptör yerine iki farklı adaptör iki farklı RE çıkıntısı için tercih edilmiştir. Elshire et al. (2011) tarafından daha önce rapor edilen diziye paralel olarak, ilk adaptör *PstI*- uyumlu adaptör şeklinde dizayn edilmiştir. Bu adaptör; primer dizisini, Illumina akış hücresine bağlanma dizisini ve çeşitli uzunluklarda olabilen barkod bölgesini içermektedir. İkinci adaptör için ise bir akış hücresi bağlanma bölgesi ile birlikte *MseI*- uyumlu çıkıntı dizisini içeren bir adaptör seçilmiştir. Adaptör bağlanmış olan fragmentler 30 döngülük bir PCR ile çoğaltılmıştır.

1. 94°C' de 1 dakika

2. 30 döngü;

94°C'de 20 saniye,

58°C' de 30 saniye,

72°C' de 45 saniye

3. 72°C' de 7 dakika

PCR' dan sonra her bir örnekten eşit miktarlarda ampikonlar alınarak bir 96' lık mikrotitre platede bir araya getirilmiş ve köprü PCR (bridge PCR; bPCR) için Illumina C-Bot'a yüklenmiştir. Bütün amplifikasyon ürünleri, HiSeq2500

(Illumina, San Diego, USA) cihazında tek bir akış hücresi üzerinde sekanslanmıştır. Tek bir okuma 77 döngüde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen her bir dizi tavsiye edildiği şekilde DArT analitik sistemleri kullanılarak işlenmiştir. İlk sistem, zayıf kalitedeki sonuçları elemine etmek için fastq dosyaları üzerinde kullanılmıştır. Bu şekilde, “barkot bölünme” basamağı daha sıkı kriterlerin eklenmesi ile daha güvenilir hale gelmiştir. Markör çağırma, her bir barkot/örnek için, yaklaşık 2.000.000 (+/- 7%) dizi kullanılmıştır. Son basamakta ise aynı (özdeş) diziler kullanılarak “fastqcall dosyaları” oluşturulmuş ve bu dosyalar DArT PL patentli SNP and SilicoDArT (gösterimde bölünmüş parçaların varlığı/yokluğu) için ikinci sisteme uygulanmıştır.

3.2.5 Bağlantı haritası ve QTL analizi

Bağlantı haritası, genotip verilerinden JoinMap 4.0 yazılımı (Van Ooijen, 2006) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Programda minimum LOD değeri 3,0-10,0 ve rekombinasyon fraksiyonu 30 cM olarak seçilmiştir. Rekombinasyon frekansları, Kosambi haritalama fonksiyonu (Kosambi, 1943) kullanılarak harita uzunluğuna dönüştürülmüştür. QTL analizleri için MapQTL6 programı (Van Ooijen, 2009) kullanılmıştır. Bu amaçla, QTL analizi için seçeneklerden (option) Simple Interval Mapping (SIM; Basit Aralık Haritalama) (Lander and Botstein, 1989) seçilmiştir. QTL tespiti için LOD eşik (threshold) olasılık değeri, permütasyon testi kullanılarak saptanmıştır (P değeri 0,01 ve 0,05) (Churchill ve Doerge, 1994). Bunun sonucunda bir QTL’ in varlığını göstermek için LOD skoru 3 olarak ayarlanmıştır. Her bir lokusun yada lokusların kombinasyonunun açıkladığı varyasyon miktarı, r^2 değerinin (fenotipik determinasyon katsayısının) 100 ile çarpımından hesaplanmıştır.

3.2.6 Varyans analizi

LR-11 popülasyonunu oluşturan (2 yıl ve 3 lokasyonda yetiştirilen) bireylere ait dane Fe konsantrasyonları arasındaki varyasyonu belirlemek için TOTEMSTAT istatistik paket programı (Açıkgöz vd., 2004) kullanılarak varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Yıl (Y) x Lokasyon (L), Y x Genotip (G), G, L x G ve Y x L x G etkileşimlerinin varyasyonları hesaplanmıştır. İstatistiki yönden farklılıkların tespit edilmesi için $P \leq 0,01$ ve $P \leq 0,05$ seviyelerinde olasılıklar kabul edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Toprak Analizi Sonuçları

İzmir, Adana ve Ş. Urfa lokasyonlarından alınan toprak örneklerinin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir. (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1 Deneme tarlalarından alınan toprak örneklerinin kimyasal ve yapısal özellikleri

Toprak Özellikleri	İzmir	Adana	Şanlı Urfa
pH	7,8	7,7	7,7
Toplam Tuz (%)	0,040	0,031	0,043
Kireç (%)	29,4	48,0	34,5
Organik Madde (%)	1,8	1,2	1,9
Kum (%)	50,2	44,2	44,2
Mil (%)	28,0	26,0	32,0
Kil (%)	21,7	29,7	23,7
Bünye	Tın	Killi tın	Tın
Toplam Azot (%)	0,062	0,056	0,050
Alınabilir P (mg/kg)	3,2	2,6	1,8
Alınabilir K (mg/kg)	417	116	485
Alınabilir Ca (mg/kg)	6.272	6.762	7.252
Alınabilir Mg (mg/kg)	554	170	430
Alınabilir Na (mg/kg)	220	307	20
Alınabilir Fe (mg/kg)	4,9	5,0	6,5
Alınabilir Zn (mg/kg)	0,7	0,4	1,0
Alınabilir Cu (mg/kg)	1,1	0,1	0,6
Alınabilir Mn (mg/kg)	5,3	4,6	8,0

Her 3 lokasyondan elde edilen analiz sonuçlarına göre, tüm lokasyonlarda ki toprak örneklerinin hafif alkali olduğu, tuzluluk yönünden herhangi bir sorun bulunmadığı ve çok fazla kireçli olduğu saptanmıştır. Organik madde içeriğinin yine tüm lokasyonlara ait örneklerde yetersiz olduğu belirlenmiştir. Topraktaki Mn konsantrasyonu tüm lokasyonlarda yetersiz bulunurken, Fe konsantrasyonunun yeterli (4,5 mg/kg<) miktarda olduğu saptanmıştır. Zn konsantrasyonu ise Ş.Urfa'daki toprak örneklerinde yeterli bulunurken, İzmir ve Adana'daki toprak örneklerinde yetersiz konsantrasyonlarda saptanmıştır.

4.2 Danede Besin Elementi Analiz Sonuçları

ILL 8006 x CDC Milestone popülasyonu için İzmir, Adana ve Ş. Urfa lokasyonlarından 2012 yılında elde edilen RIL bireylerinde, danede Fe besin elementi miktarlarının İzmir lokasyonunda 37,2-238,5 mg/kg, Adana lokasyonunda 37,5-144,0 mg/kg, Ş. Urfa lokasyonunda ise 35,5-149,0 mg/kg arasında varyasyon gösterdiği saptanmıştır. 2013 yılında ise bu rakamlar; İzmir lokasyonunda 37,1-146,8 mg/kg, Adana lokasyonunda 39,2-151,9 mg/kg, Ş. Urfa lokasyonunda ise 36,9-223,8 mg/kg aralığında belirlenmiştir. 2012 yılında 3 lokasyonda RIL'lara ait ortalama Fe konsantrasyonu sırasıyla 66,4, 62,5 ve 64,5 mg/kg olarak belirlenirken 2013 yılında ki ortalamlar 62,9 mg/kg, 66,3 mg/kg ve 66,3 mg/kg olarak saptanmıştır. 2 yıl ve 3 lokasyona ait veriler değerlendirildiğinde ebeveynlerin dane Fe konsantrasyon değerlerinin sırasıyla 40,5 mg/kg ve 114,3 mg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. 2012 ve 2013 yıllarına ait kalıtım dereceleri sırasıyla 0,95 ve 0,96 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 2012 ve 2013 yıllarında İzmir, Adana ve Ş.Urfa lokasyonlarında yetiştirilen ebeveynler ve RIL' lara ait dane Fe konsantrasyonlarının (mg/kg) minimum, maksimum ve ortalama değerleri ve kalıtım derecesi

Lokasyon	İzmir		Adana		Şanlı Urfa		Ortalama
Yıllar	2012	2013	2012	2013	2012	2013	
CDC Milestone	39,0	42,9	38,0	44,1	41,0	38,2	40,5
ILL 8006	112,5	123,8	100,5	126,1	116,5	106,5	114,3
Minimum	37,2	37,1	37,5	39,2	35,5	36,9	37,2
Maksimum	238,5	146,8	144,0	151,9	149,0	223,8	175,7
Ortalama	66,4	62,9	62,5	66,3	64,5	66,3	64,8
Kalıtım Derecesi	2012 2013						
	0,95	0,96					

Popülasyona ait 2 bireyin (LR11-17 ve LR11-133) Fe içeriği yüksek ILL 8006 ebeveynine (114,3 mg/kg) nazaran daha yüksek Fe konsantrasyonuna sahip olduğu (> 200 mg/kg) saptanmıştır. Bu spesifik RIL' lardaki yüksek Fe konsantrasyonunu gösteren bu verileri doğrulamak için, İzmir'de yetiştirilen bu bireylerin aynı miktardaki daneleri yeniden analiz edilmiştir. Yaş yakma işlemi

yeniden yapılmış ve dane Fe konsantrasyonu ilave olarak 2 kez daha ölçülmüştür. Toplam 9 tekrardan sonra (3 ekstraksiyon x 3 tekrar), benzer değerler elde edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında popülasyonda transgresif açılma olduğu belirlenmiştir.

Wu et al., 2008 her 2 ebeveyndeki farklı QTL allelleri nedeniyle bir popülasyonda transgresif açılma görülmesinin yaygın bir durum olduğunu belirtmişlerdir. Klein and Grusak (2009), bir *Lotus japonicus* RIL popülasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmalarında benzer bir sonuç elde etmişlerdir. Ebeveynlere ait danelerde Fe konsantrasyonu sırasıyla 67 ve 87 mg/kg arasında bulunurken RIL' lara ait danelerdeki Fe konsantrasyonu 2006 yılında 27 mg/kg ve 191 mg/kg arasında, 2007 yılında ise 51 mg/kg ve 152 mg/kg arasında saptanmıştır. Yine benzer bir şekilde Tiwari et al., (2009) tarafından buğday RIL popülasyonunda dane Fe konsantrasyonu ile ilişkili transgresif açılma gösterilmiştir. İki ebeveyn için ortalama dane Fe konsantrasyonu sırasıyla 23,8 ve 40,1 mg/kg olarak belirlenirken bu değer RIL'lar arasında 17,8 ve 69,7 mg/kg olarak değişmektedir.

LR-11 popülasyonunun 2 yıl ve 3 lokasyon için ölçülen dane Fe konsantrasyonu 37,2 ile 175,7 mg/kg arasında değişmektedir. Konsantrasyondaki bu aralığın Thavarajah et al., (2011) (73-90 mg/kg), Karaköy et al., (2012) (49,4-69,9 mg/kg), Alghamdi et al., (2014) (65,7-85,7 mg/kg) ve Sen Gupta et al., (2016) (26-92 mg/kg) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda belirtilen aralıklardan daha büyük olduğu görülmekle beraber Kumar et al., (2014) tarafından belirlenen aralık ile (50,85 -136,91 mg/kg) uyumlu olduğu söylenebilmektedir.

Danede Fe konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik birçok bitkide yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilen aralıklar şu şekildedir; pirinçte 6-24 mg/kg (Gregorio et al., 2000), fasulyede 35-92 mg/kg (Islam et al., 2002), 48- 74 mg/kg (Ariza-Nieto et al., 2007), 5,9-72,2 mg/kg (Mahajan et al., 2017), mısırdada 17-24 mg/kg (Oikeh et al., 2003), bezelyede 23-105 mg/kg (Grusak and Çakmak 2005), buğdayda 24-43 mg/kg (Garvin et al., 2006), 20-45 mg/kg (Oury et al., 2006) ve 25-56 mg/kg (Morgounov et al., 2007) ve nohutta 24-41 mg/kg (Zia-Ul-

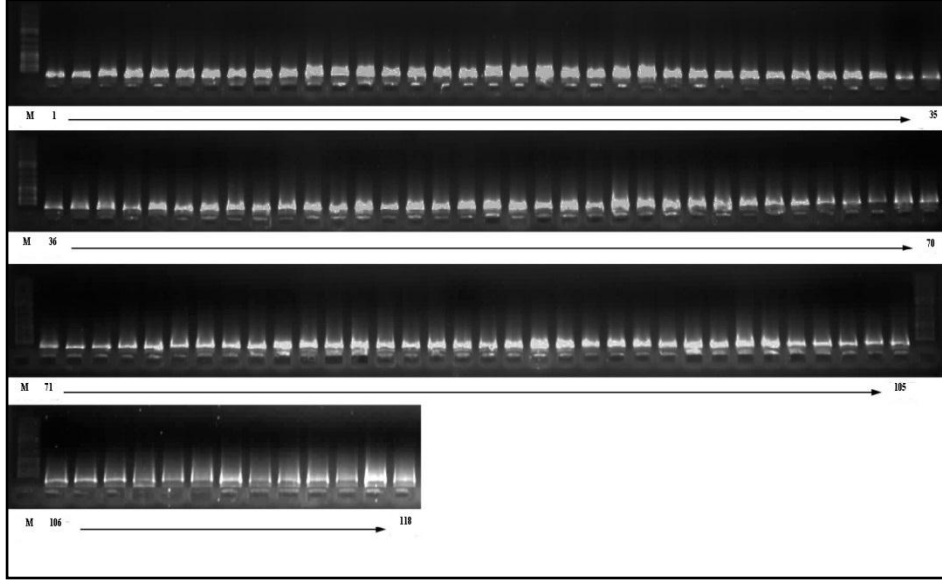
Haq et al., 2007). Bu çalışmalarda elde edilen Fe konsantrasyonları göz önüne alındığında mercimek danesindeki Fe elementi içeriğinin diğer bazı bitkilere göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında, LR-11 popülasyonuna ait 2 RIL' da (LR 11-17 ve LR 11-133) en yüksek Fe konsantrasyonları saptanmıştır. Bu hatlar gerek yüksek verim özelliği ile kombine edilip yeni çeşit olarak geliştirilebilirler ya da melezlemede ebeveyn olarak kullanılabilirler.

Bu çalışma, mercimek RIL' larında dane Fe konsantrasyonu ile ilişkili QTL' leri belirlemesinin yanı sıra, mercimek danesindeki Fe konsantrasyonu için transgesif açılmanın olduğunu gösteren bir çalışma olması açısından da önemlidir. Mercimek 3 ana adaptasyon havuzuna sahiptir: kuzey ılıman (CDC Milestone benzeri), sup-tropikal savana (ILL 8006 benzeri) ve Akdeniz. Mercimek uzun ve kısa gün fotoperiyodu ile sıcaklık- çevre koşullarına hızlı reaksiyon gösterebilen bir bitkidir. Çalışmada kullanılan LR-11 popülasyonunun her iki ebeveyninde bu çalışmanın yürütüldüğü Akdeniz iklim koşullarına adapte olmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, adaptasyon genleri dane Fe konsantrasyonunda önemli bir rol oynamış olabilir. Bu durum; LR-11 popülasyonunun dane dolumu sırasında fenolojilerini ve Fe alımlarını belirlemek amacıyla diğer iki çevrede (kuzey ılıman ve sup-tropikal savana) yetiştirilip karşılaştırılması ile araştırılabilir. Yapılacak olan çalışmalarda Kuzey ılıman ve sup-tropikal savana bölgelerinde de dane Fe konsantrasyonu 150 mg/kg'ın üstünde tespit edilmesi durumunda, Fe konsantrasyonu ile ilgili olarak danede yüksek Fe içeren genotiplerin seleksiyonu yapılabilir. Böylelikle mercimekte “danede Fe elementi” ile zenginleştirilmiş çeşitlerin geliştirilmesine olanak sağlanabilir.

4.3 DNA Saflık ve Miktar Analizi Sonuçları

İzolasyon sonucunda izole edilen DNA'ların saflığını belirlemek amacıyla agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Agaroz jel elektroforezi sonucu elde edilen DNA saflık görüntüleri Şekil 4.1'de yer almaktadır. DNA'ların miktarını ve kalitesini belirleyebilmek amacıyla Nanodrop 1000 (ND-1000, Thermo Co.) kullanılarak yapılan ölçüm miktarları Çizelge 4.3' de gösterilmiştir



Şekil 4.1. ILL 8006 x CDC Milestone RIL popülasyonu bireylerinden izole edilen DNA'ların agaroz jel görüntüsü; M:Markör, 1-35, 36-70, 71-105, 106-118: RIL birey etiket numarası.

Çizelge 4.3 ILL 8006 x CDC Milestone popülasyonunda Nanodrop 1000 kullanılarak ölçülen DNA miktarları

Örnek no	Ebeveynler ve RIL popülasyonu	DNA miktarı (ng/µl)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀	Örnek no	Ebeveynler ve RIL popülasyonu	DNA miktarı (ng/µl)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀
1	ILL 8006	221,79	1,84	2,28	61	LR11-95	119,36	1,79	2,16
2	CDC Milestone	263,47	1,77	2,26	62	LR11-97	179,58	1,83	2,24
3	LR11-2	202,89	1,83	2,27	63	LR11-100	159,95	1,81	2,28
4	LR11-3	237,38	1,81	2,28	64	LR11-102	179,04	1,81	2,32
5	LR11-4	188,76	1,82	2,35	65	LR11-103	137,14	1,82	2,23
6	LR11-5	265,09	1,81	2,29	66	LR11-105	167,22	1,82	2,20
7	LR11-6	244,79	1,82	2,30	67	LR11-106	150,32	1,80	2,20
8	LR11-8	225,79	1,84	2,28	68	LR11-108	115,66	1,81	2,09
9	LR11-9	210,41	1,81	2,38	69	LR11-110	151,51	1,80	2,12
10	LR11-13	181,51	1,83	2,26	70	LR11-111	82,00	1,84	2,17
11	LR11-14	221,05	1,81	2,32	71	LR11-113	220,15	1,81	2,24
12	LR11-15	200,22	1,81	2,26	72	LR11-114	222,35	1,82	2,29
13	LR11-16	221,12	1,81	2,27	73	LR11-115	142,93	1,81	2,31
14	LR11-17	169,33	1,80	2,16	74	LR11-117	148,91	1,73	1,51
15	LR11-18	221,77	1,77	1,91	75	LR11-118	104,65	1,80	2,10
16	LR11-19	194,13	1,81	2,04	76	LR11-119	161,45	1,81	2,22
17	LR11-20	177,28	1,81	2,25	77	LR11-122	228,71	1,84	2,37
18	LR11-22	156,84	1,83	2,36	78	LR11-123	160,47	1,83	2,27
19	LR11-23	197,21	1,81	2,25	79	LR11-124	185,07	1,80	2,20
20	LR11-24	194,32	1,71	1,76	80	LR 11-126	138,40	1,74	2,07
21	LR11-25	263,47	1,77	1,76	81	LR 11-127	189,24	1,83	2,23

Çizelge 4.3 (devamı)

Örnek no	Ebeveynler ve RIL popülasyonu	DNA miktarı (ng/μl)	A26 0/A 280	A26 0/A 230	Örnek no	Ebeveynler ve RIL popülasyonu	DNA miktarı (ng/μl)	A26 0/A 280	A26 0/A 230
22	LR11-27	205,32	1,83	2,20	82	LR 11-128	146,21	1,83	1,69
23	LR11-28	182,76	1,80	2,12	83	LR 11-131	158,26	1,83	2,20
24	LR11-29	174,84	1,76	1,92	84	LR 11-132	186,70	1,82	2,30
25	LR11-30	191,36	1,82	2,32	85	LR 11-133	194,83	1,84	2,39
26	LR11-31	208,92	1,83	2,33	86	LR 11-134	225,91	1,81	2,23
27	LR11-32	152,14	1,81	2,21	87	LR 11-136	141,00	1,78	2,25
28	LR11-33	174,33	1,84	2,39	88	LR 11-137	219,59	1,84	2,26
29	LR11-34	168,66	1,76	1,83	89	LR 11-139	184,04	1,81	2,21
30	LR11-37	185,26	1,80	2,13	90	LR 11-140	165,26	1,80	2,18
31	LR11-38	151,15	1,80	2,19	91	LR 11-142	167,25	1,81	2,21
32	LR11-40	176,56	1,82	2,45	92	LR 11-144	207,93	1,84	2,26
33	LR11-43	173,71	1,79	1,99	93	LR 11-145	225,60	1,78	1,98
34	LR11-46	210,75	1,82	2,19	94	LR 11-146	98,94	1,81	2,16
35	LR11-47	201,58	1,80	2,28	95	LR 11-147	127,67	1,83	2,34
36	LR11-48	154,03	1,81	2,18	96	LR 11-148	110,76	1,88	2,35
37	LR11-49	166,31	1,83	2,13	97	LR 11-149	129,24	1,79	1,93
38	LR11-53	116,3	1,82	2,35	98	LR 11-150	215,80	1,84	2,31
39	LR11-55	157,61	1,77	1,96	99	LR 11-152	132,61	1,79	2,27
40	LR11-56	189,27	1,82	1,89	100	LR 11-153	218,50	1,85	2,37
41	LR11-58	179,49	1,78	2,19	101	LR11-154	171,56	1,77	2,25
42	LR11-60	171,29	1,82	2,25	102	LR11-156	171,35	1,77	2,18
43	LR11-61	165,02	1,82	2,16	103	LR11-159	167,23	1,77	2,16
44	LR11-62	216,93	1,81	2,28	104	LR11-160	158,60	1,81	2,38
45	LR11-68	201,31	1,81	2,28	105	LR11-161	132,28	1,82	2,22
46	LR11-71	166,33	1,80	2,22	106	LR11-162	246,99	1,76	2,27
47	LR11-72	150,20	1,80	2,15	107	LR11-163	152,75	1,75	2,27
48	LR11-73	173,51	1,75	1,72	108	LR11-164	113,05	1,78	2,18
49	LR11-74	152,37	1,82	2,19	109	LR11-165	131,79	1,78	2,14
50	LR11-78	213,39	1,83	2,28	110	LR11-167	195,24	1,81	2,28
51	LR11-81	96,67	1,82	2,54	111	LR11-168	123,96	1,79	2,24
52	LR11-84	237,74	1,82	2,26	112	LR11-169	164,27	1,79	2,17
53	LR11-86	146,85	1,83	2,20	113	LR11-170	153,87	1,78	2,27
54	LR11-87	166,35	1,78	1,95	114	LR11-171	158,42	1,79	2,23
55	LR11-88	149,58	1,81	2,24	115	LR11-173	195,11	1,81	2,30
56	LR11-89	159,43	1,81	2,21	116	LR11-175	161,40	1,81	2,28
57	LR11-90	183,53	1,80	2,14	117	LR11-178	112,51	1,77	2,16
58	LR11-92	165,74	1,79	2,17	118	LR11-179	200,75	1,80	2,24
59	LR11-93	152,14	1,82	2,16	119	LR11-180	190,03	1,80	2,29
60	LR11-94	229,17	1,83	2,37	120	LR11-182	129,68	1,79	2,13

4.4 ILL 8006 x CDC Milestone Popülasyonu Bağlantı Haritası Sonuçları

LR-11 RIL popülasyonunun bağlantı haritası; toplam 4.177 SNP markörü kullanarak oluşturulmuştur. Bu markörler 7 BG üzerinde haritalanmıştır. Haritanın toplam uzunluğu 497,1 cM olup komşu markörler arasındaki ortalama uzaklık ise 0,12 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4). BG'lerin uzunlukları 29,0 cM (BG3) ve 161,5 cM (BG4) arasında değişmektedir. BG başına düşen ortalama markör sayısı 596'dır. BG4 en fazla marköre (1.224 markör) sahip gruptur ve bu grupta markör arası ortalama uzaklık 0,13 cM'dir. En az marköre (258 SNP markör) sahip grup ise BG3'dir ve bu grup üzerinde markörler arası ortalama uzaklık 0,11 cM olarak belirlenmiştir. Bütün BG'ler göz önüne alındığında markörler arası ortalama uzaklık 0,08 cM (BG1,5 ve 6) ile 0,17 cM (BG2) arasında değişmektedir. (Çizelge 4.5)

Çizelge 4.4 ILL 8006 x CDC Milestone popülasyonu için bağlantı haritalama sonucunda elde edilen veriler

Popülasyon	Harita Uzun. (cM)	Toplam Markör (No.)	Toplam BG	Ortalama Markör (No.)/ BG	Max. Markör/ BG	Min. Markör/ BG	Markörler Arası Ort. Uzaklık (cM)
ILL 8006 x CDC Milestone	497,1	4.177	7	596	1.224 Markör/ BG 4	258 Markör/ BG 3	0,12

Çizelge 4.5 Bağlantı haritası üzerinde yer alan SNP markörlerinin sayıları ve karakteristikleri

Bağlantı Grubu	SNP	SNP (%)	Uzunluk (cM)	Markörler arası ortalama uzaklık (cM)
BG1	516	12,4	38,9	0,08
BG2	724	17,3	126,5	0,17
BG3	258	6,2	29,0	0,11
BG4	1.224	29,3	161,5	0,13
BG5	593	14,2	48,9	0,08
BG6	523	12,5	42,5	0,08
BG7	339	8,1	49,8	0,15
Toplam	4.177		497,1	0,12

NGS; binlerce SNP' nin saptanmasında, genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasında ve GWAS (Genome Wide Association Study; Genom Çapında İlişkilendirme Çalışması) çalışmalarında kullanılmaktadır (Metzker, 2010). Bu tür metodolojiler, kısa zamanda çok sayıda markörü saptadığı gibi, SNP geliştirme maliyetini de düşürmekte ve sonuçta araştırmacılar GBS gibi teknolojileri genom haritalama çalışmaları için tercih edebilmektedir (Poland et al., 2012 (arpa ve buğday) ve Ward et al., 2013 (*Rubus idaeus*)).

Toplam 4.177 SNP markörü, 7 BG (uzunlukları 29,0 cM ve 161,5 cM arasında değişmekte) üzerinde haritalanmıştır. Bulunan bu BG sayısı mercimeğin haploid kromozom sayısına ($n=7$) eşittir. Benzer sonuç; Ejayl et al., (1998), Sharpe et al., (2013), Gujaria-Verma et al., (2014) ve Ateş et al., (2016) tarafından da rapor edilmiştir. Çalışmada elde edilen haritanın toplam uzunluğu 497.1 cM olarak bulunmuştur. Daha önce mercimek haritalama çalışmaları sonucu elde edilen harita uzunlukları 741 cM ile 4,060.6 cM arasında değişmektedir. (Ejayl et al., 1998; Rubeena et al., 2003; Duran et al., 2004; Hamwieh et al., 2005; Tanyolaç et al., 2010; Gupta et al., 2012; Sharpe et al., 2013; De la Puente et al., 2013; Gujaria-Verma et al., 2014; Ateş et al., 2016; Bhadauria et al., 2017). Bu çalışmada elde edilen harita uzunluğu, daha önce mercimekte haritalama çalışmaları sonucu elde edilen harita uzunluklarından kısadır. Fakat Bhadauria et al., (2017) tarafından yapılan çalışmada elde edilen uzunluğa neredeyse yakındır (741 cM). Yapılan bağlantı haritasında markörler arası ortalama uzaklık (0,12 cM), diğer çalışmalarda elde edilen ortalama uzaklıklardan daha kısadır (1,36 cM-19,3 cM). SNP-bazlı teknolojilerin kullanımı her bağlantı grup başına düşen markör sıklığını arttırmaktadır (Deschamps et al., 2012). Mercimek bağlantı haritalarındaki markör yoğunluğunda gözlenen bu farklılıklar; yetersiz sayıda ve/veya farklı tipte genetik markör sistemlerinin kullanımına, zayıf ve/veya eksik kalitede veriye, mercimek genomundaki markör dağılımlarına, haritalama popülasyonu oluşturmak için kullanılan ebeveynlerin birbirlerine olan genetik uzaklığına ve bu ebeveynler kullanılarak oluşturulan popülasyonlardaki bireylerin sayısına ve farklı bağlantı haritalama metodlarının tercih edilmesine bağlı olabilmektedir (Liu, 1998; Satovic et al., 2013).

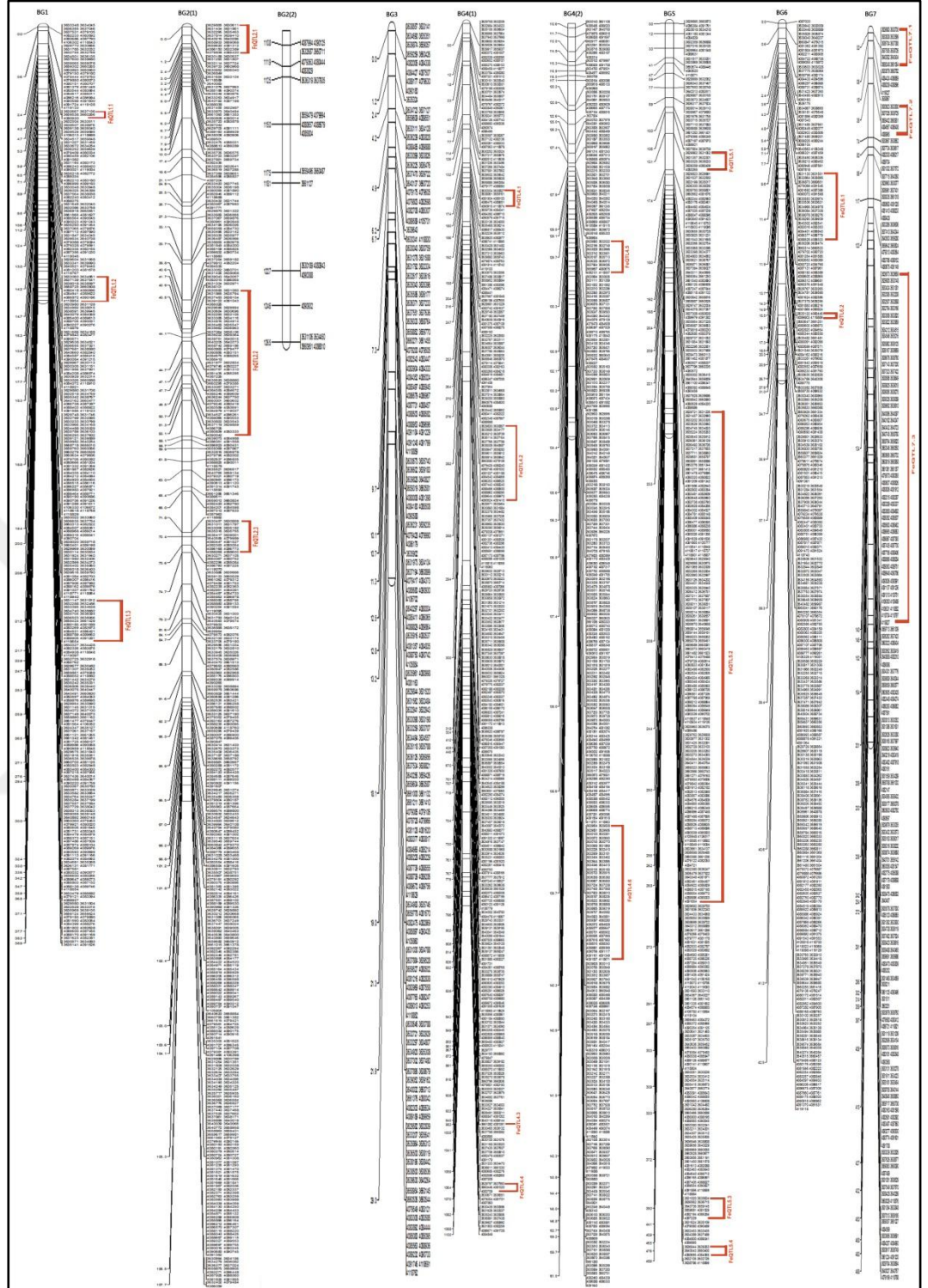
Mercimek bitkisine ait pek çok bağlantı haritası RFLP, RAPD, SSR, ISSR ve AFLP markörleri kullanılarak oluşturulmuştur. Bu markörler dışında bu çalışmada olduğu gibi sadece GBS bazlı SNP markörlerinin kullanıldığı başka çalışmalar da vardır. Sharpe et al., (2013), Bhadauria et al., (2017) ve Ateş et al., (2016) tarafından oluşturulan bağlantı haritalarındaki SNP markörü sayıları (sırasıyla 537, 543 ve 1.780 SNP markörü) bu çalışmada haritalanmış SNP markör sayısından daha azdır (4.177 SNP). Bu çalışmada haritalanan markörlerin sayısı daha önce yapılmış çalışmalarda saptanan bağlantı haritalarındaki markör sayılarından oldukça yüksektir (Örn; 114 Rubeena et al., 2003 ve 283 (Hamwieh et al., 2005)).

4.5 ILL 8006 x CDC Milestone Popülasyonu QTL Analizi Sonuçları

SIM analizi sonucunda danede Fe konsantrasyonu ile ilişkili toplam 21 QTL (BG1, BG2 ve BG7’de 3 QTL, BG4’ de 6 QTL, BG5’ de 4 QTL ve BG6’ da 2 QTL) 6 bağlantı grubu (BG1, 2, 4-7) üzerinde haritalanmıştır (Şekil 4.2).

Belirlenen bu 21 QTL bölgesi fenotipik varyasyonunun %5,9-14,0’ nü açıklamaktadır. QTL’ lerin LOD değerleri 3,00 ile 4,45 arasında değişmektedir. En fazla sayıda QTL (6 QTL) içeren bağlantı grubu, BG4’ dür (FeQTL4.1, FeQTL4.2, FeQTL4.3, FeQTL4.4, FeQTL4.5 ve FeQTL4.6). Bu bölgedeki QTL’ lerin LOD değerleri ve % fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla 3,01-4,45 ve 6,0-14,0 arasında değişmektedir. BG6 ise LOD ve % Fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla 3,14 -4,12 ve 6,7- 12,2 arasında değişen 2 QTL bölgesi (FeQTL6.1 ve FeQTL6.2) ile en az QTL içeren bağlantı grubudur.

FeQTL5.2 en fazla SNP markörü (239) içeren QTL bölgesidir. Bu bölgenin LOD ve % Fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla 3,03-4,07 ve 6,1-12,0’ dir. En az SNP markörüne sahip QTL bölgesi ise FeQTL4.3’ dür. 2 SNP markörü bulunmaktadır. LOD ve % Fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla 3,07-3,38 ve 6,4-8,1 arasında değişmektedir. FeQTL1.1 ve FeQTL4.1 dışındaki bütün QTL’ ler 2012 ve 2013 yıllarında saptanmıştır. QTL bölgelerinin eklemeli etkisine ilişkin detaylar Çizelge 4.6’ da verilmiştir.



Şekil 4.2. RIL' ların SNP' lere dayalı bağlantı haritası. Bağlantı gruplarının sol tarafında cM cinsinden uzunluklar, sağ tarafında ise marker isimleri bulunmaktadır. Kutucuklar ve dikey harfler Fe konsantrasyonu ile ilişkili QTL bölgelerini; 2[1] gibi parantez içindeki sayılar ise belirli bağlantı gruplarının devam ettiğini göstermektedir.

Çizelge 4.6 2012 ve 2013 yıllarında İzmir, Adana ve Ş.Urfa lokasyonlarında yetiştirilen 118 LR-11 mercimek RIL genotipinde danede Fe konsantrasyonu için belirlenen QTL'ler

QTL	BG	Pozisyon (cM)	QTL Bölgesindeki SNP Sayıları	% Fenotipik Varyasyon	LOD	Eklmeli Etki	Yıl/Lokasyon
FeQTL1.1	1	2,36	5	6,3	3,06	-	2012/Adana
FeQTL1.2	1	14,16	15	6,7-9,9	3,14-3,70	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL1.3	1	21,15	25	6,1-7,1	3,02-3,20	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir and Sanli Urfa
FeQTL2.1	2	0	18	7,6-10,4	3,28-3,79	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL2.2	2	43,52-53,05	81	6,1-13,5	3,02-4,36	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL2.3	2	72,39	20	6,0-7,7	3,00-3,31	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL4.1	4	15,61	10	6,0	3,01	-	2013/Adana
FeQTL4.2	4	28,21	40	11,9-14,0	4,07-4,45	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL4.3	4	98,26	2	6,4-8,1	3,07-3,38	-	2012/Izmir and Adana; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL4.4	4	106,44	5	6,4	3,07-3,09	-	2012/ Adana; 2013/Izmir
FeQTL4.5	4	129,69	18	6,1-7,5	3,03-3,27	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL4.6	4	139,72	70	7,5-9,7	3,28-3,66	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL5.1	5	13,06	9	6-7,3	3,01-3,23	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL5.2	5	23,26-26,75	239	6,1-12	3,03-4,07	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL5.3	5	38,97	11	5,9-9,4	3,00-3,62	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL5.4	5	47,64	6	6,0-6,2	3,00-3,03	-	2012/ Sanli Urfa; 2013/Izmir and Sanli Urfa
FeQTL6.1	6	9,55-11,35	34	6,7-9,9	3,14-3,70	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL6.2	6	15,51	4	10,4-12,2	3,78-4,12	+	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL7.1	7	0	12	8,2-10,7	3,40-3,84	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL7.2	7	3,60	9	7,1-8,9	3,19-3,52	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa
FeQTL7.3	7	13,43	101	6,3-9,1	3,05-3,56	-	2012/Izmir, Adana and Sanli Urfa; 2013/Izmir, Adana and Sanli Urfa

Bu çalışma; GBS yaklaşımı kullanılarak mercimek danesinde Fe konsantrasyonunu kontrol eden genlerle ilişkili QTL bölgelerini belirlemek için yapılmış ilk çalışmadır. Sonuçta mercimekte Fe konsantrasyonu ile ilişkili 6 BG üzerine dağılmış 21 QTL tespit edilmiştir. Bu sonuca yaklaşık bir sonuç (danede Fe konsantrasyonu için 13 QTL) Blair et al., (2009) tarafından rapor edilmiştir.

Klein and Grusak (2009) *Lotus japonicus* RIL popülasyonu kullanarak yaptıkları bir çalışmada BG1, 4 ve 6 üzerinde lokalize olmuş danede Fe konsantrasyonu ile ilişkili 5 QTL tanımlamışlardır. Willems et al., (2010) kadmiyum-kontamineli topraklarda büyüyen *Arabidopsis halleri* x *Arabidopsis lyrata petraea* F₂ popülasyonunda Fe akümüasyonu ile ilişkili olarak 1., 2., 3. ve 8. BG grupları üzerinde yer alan toplam 4 QTL belirlemişlerdir. Tahıllarda yapılan QTL haritalama çalışmaları sonucunda danede Fe konsantrasyonu için benzer sayılarda QTL(ler) tespit edilmiştir. Stangoulis et al., (2007) pirinç danesindeki Fe konsantrasyonunu etkileyen 3 QTL’i, BG2, 8 ve 12 üzerinde tespit etmişlerdir. Aynı şekilde, Xu et al., (2012) buğdayda Fe konsantrasyonunu kontrol eden QTL’leri belirlemek için yaptıkları çalışmada 2’ si aditif ve 1’ i epistatik olmak üzere toplam 3 QTL saptamışlardır. Simic et al., (2012) da mısır danesinde P, Fe, Zn ve Mg konsantrasyonu ile ilişkili olan QTL’leri genomda haritalamaya yönelik yaptıkları çalışmada sadece Fe konsantrasyonu kontrol eden 3 QTL belirlemişlerdir. Jin et al., (2013) yaptıkları çalışmada mısır danesindeki Fe konsantrasyonunu kontrol eden 1 QTL’i BG5 üzerinde saptamışlardır. Srinivasa et al., (2014) buğday RIL popülasyonu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada BG1A, 2A ve 3B üzerinde lokalize olan ve Fe konsantrasyonu ile bağlantılı 5 QTL’i tespit etmişlerdir.

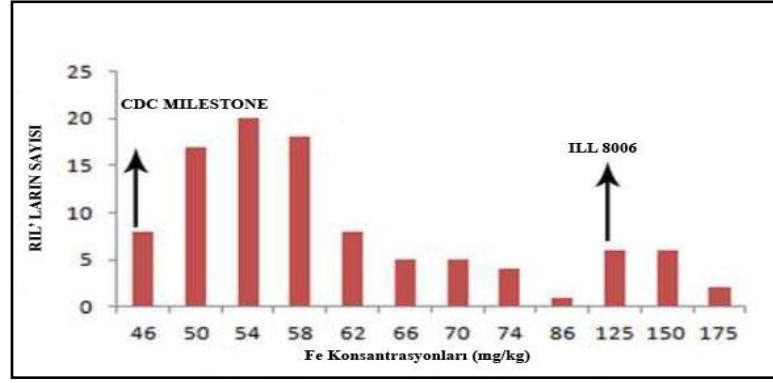
Bu çalışmada, dane mineral konsantrasyonunu etkileyen QTL’lerin haritalanması için diğer bitkilerde yapılan çalışmalara kıyasla genom üzerinde daha fazla QTL (LG1, 2, 4, 5, 6 ve 7 üzerinde lokalize olmuş 21 QTL) haritalanmıştır. Bunun nedeni; yüksek yoğunluklu haritanın oluşturulmasında GBS teknolojisi tarafından üretilmiş SNP’lerin kullanılmış olmasıdır. Bu teknoloji, QTL’lerin kesin bir şekilde tespit edilmesi için gerekli olan markör yoğunluğunu arttırmada kullanılabilmektedir. (Bandillo et al., 2013; Chen et al., 2014; Raman et al., 2014).

Yu et al., (2011) yüksek markör yoğunluğunun genetik haritaların çözünürlüğünü arttırabileceğini göstermişlerdir. Bu şekilde elde edilen yüksek yoğunluklu haritalar, rekombinasyon olaylarının görünmediği bir kromozom bölgesinde lokalize olmuş bir markörün bulunma olasılığını ve QTL lokalizasyonlarının doğruluğunu arttırabilmektedir (Liu et al., 2013; Stange et al., 2013).

Haritalanan 21 QTL bölgesi, Fe konsantrasyon varyasyonunun %5,9-14,0' nü açıklamaktadır. QTL' lerin LOD değerleri 3,00 ile 4,45 arasında değişmektedir. Elde edilen bu varyasyon değerleri daha önce lahana (%10,5) (Wu et al., 2008), pirinç (%13,8-18,3) (Stangoulis et al., 2007), buğday (%11,7-12,6; %5,4-19,1) (Tiware et al., 2009; Pu et al., 2014) ve mısır (%16,9) (Jin et al., 2013) ile yapılan çalışmalarda elde edilen varyasyonlara çok yakındır.

4.6 Varyans Analizi Sonuçları

Varyans analizi; Genotip (G), Yıl×Lokasyon (Y×L), Lokasyon×Genotip (L×G), ve Yıl×Lokasyon×Genotip (Y×L×G) arasındaki etkileşimi önemli olarak gösterirken Yıl×Genotip (Y×G) arasındaki etkileşimi önemsiz olarak göstermiştir (Çizelge 4.7). 2012 ve 2013 yıllarına ait İzmir, Adana ve Ş. Urfa lokasyonlarından elde edilen ortalama dane Fe konsantrasyonunu gösteren histogramda normale yakın bir dağılım görülmüştür. LR 11 popülasyonunda danede Fe konsantrasyonu yönünden transgresif açılma gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. ILL 8006 x CDC Milestone LR-11 mercimek RIL popülasyonunda 2 yıl (2012 ve 2013) ve 3 lokasyonda ölçülen dane Fe konsantrasyonunun dağılımı. Oklar; CDC Milestone (sol) ve ILL 8006 (sağ) ebeveynlerinin Fe konsantrasyonunu göstermektedir.

Çizelge 4.7 LR-11 mercimek RIL popülasyonunda dane Fe konsantrasyonu için yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik derecesi	Ortalama Kareler	F
Blok	2	56,3	0,17 ns
Yıl	1	49,0	0,13 ns
Lokasyon	2	343,2	0,95 ns
Genotip	117	13.274,6	36,92**
Yıl×Lokasyon	2	1.865,6	5,19**
Yıl×Genotip	117	352,3	0,98 ns
Lokasyon×Genotip	234	480,3	1,33*
Yıl× Lokasyon×Genotip	234	724,4	2,01**
Hata	1.404	359,5	

ns:önemsiz

*: P<0,05seviyesinde önemli

** : P<0,01 seviyesinde önemli

5. GENEL SONUÇLAR

İnsan beslenmesindeki mikro besin elementi eksikliğinin insan sağlığına doğrudan ya da dolaylı etkisinin olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Ülkemizde genel beslenme alışkanlığının tahıla dayalı olması ve kullanılan tahıl ürünlerinin mikro besin elementlerince zengin olmaması, ülkemizdeki insanların sağlık problemleri ile karşılaşmasına neden olmaktadır. Ülkemizde yaşanan bu ciddi sağlık problemlerinin önüne geçilebilmesi için mikro besin elementlerince zenginleştirilmiş tahıl ve kuru baklagil çeşitlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Özellikle kuru baklagiller ve kuru baklagiller içinde de mercimek bu potansiyele sahip bir kültür bitkisidir. Yapılan bu tezde mercimek danesinde Fe içeriğinin 37,2-175,7 mg/kg arasında değiştiği görülmüştür. Bu değerlerin tahıllarla, özellikle de buğdayla karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu nedenle, mercimek genomunda mikro besin elementlerini kontrol eden gen bölgelerinin belirlenmesi ve bunların ıslahta amaca uygun kullanılması önem arz etmektedir. Zn, Mn, Fe ve Se gibi mikro elementlerce zengin olan ve günlük diyetlerde önemli yere sahip mercimek bitkisinde mikro besin elementlerinin alınımını kontrol eden genlerle ilgili genetik çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu çalışma mercimek danesindeki Fe konsantrasyonunu kontrol eden QTL' leri belirlemek amacıyla GBS teknolojisinin kullanıldığı ilk çalışmadır. Yapılan QTL analizi; birçok QTL' in her iki yılda ve 3 lokasyonda da anlamlı ve stabil olduğunu göstermiştir. Farklı lokasyonlarda aynı QTL'lerin saptanması ise Fe alınımının çevrenin etkisinden daha çok genotipik bir özellik olduğunu ifade etmektedir. Saptanan Fe konsantrasyonları, LR-11 popülasyondaki RIL'lar arasında geniş bir fenotipik varyasyon olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, mercimek danesinde Fe konsantrasyonunun kantitatif olarak kalıtıldığını ortaya çıkarmıştır.

6. ÖNERİLER

Bu çalışma ile tespit edilen stabil QTL'ler, danede yüksek Fe konsantrasyonuna sahip genotiplerin saptanması için marköre dayalı seleksiyonda (MAS; Marker Assisted Selection-Markör Destekli Seleksiyon) kullanılabilir. Bu markörler, mercimek danesinde Fe konsantrasyonunu arttıran ve stabilize eden biyofortifikasyon stratejilerine yardımcı olabilir. Bu sayede gelecekte yüksek Fe konsantrasyonuna sahip yeni mercimek çeşitleri geliştirilebilecektir. Danede Fe oranının arttırılması, uzun vadeli olarak Fe elementi eksikliğinden ortaya çıkan sağlık problemlerinin çözülmesine veya en aza inmesine yardımcı olacaktır. GBS teknolojisi ile elde edilen SNP markörleri kullanılarak oluşturulan yüksek yoğunluktaki bu bağlantı haritası, daha ileri yapılacak çalışmalarda referans genom haritası olarak kullanılabilir ve ayrıca diğer besin elementlerince zengin mercimek hatlarının geliştirilmesinde kullanılabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Açıkgöz, N., İlker, E. ve Gökçöl, A.**, 2004, Biyolojik Araştırmaların Bilgisayarda Değerlendirilmeleri, Ege Üniversitesi Tohum Teknoloji ve Uygulama ve Araştırma Merkezi Yayın, İzmir, 236s.
- Adlerova, L., Bartoskova, A. and Faldyna, M.**, 2008, Lactoferrin: A review, *Veterinarni Medicina*, 53(9):457–468 pp.
- Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H.**, 2008, Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences, *Plant Cell Reports*, 27(4):617–631 pp.
- Alghamdi, S.S., Khan, A.M., Ammar, M.H., El-Harty, E.H., Migdadi, H.M., Abd El-Khalik, S.M., Al-Shameri, A.M., Javed, M.M. and Al-Faifi, S.A.**, 2014, Phenological, nutritional and molecular diversity assessment among 35 introduced lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes grown in Saudi Arabia, *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1):277-295 pp.
- Altshuler, D., Pollara, V.J., Cowles, C.R., Van Etten, W.J., Baldwin, J., Linton, L. and Lander, E.S.**, 2000, An SNP map of the human genome generated by reduced representation shotgun sequencing, *Nature*, 407:513-516 pp.
- Anuradha, K., Agarwal, S., Rao, Y.V., Rao, K.V., Viraktamath, B.C. and Sarla, N.**, 2012, Mapping QTLs and candidate genes for iron and zinc concentrations in unpolished rice of Madhukar x Swarna RILs, *Gene*, 508(2):233–240 pp.
- Ariza-Nieto, M., Blair, M.W., Welch, R.M. and Glahn, R.P.**, 2007, Screening of iron bioavailability patterns in eight bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes using the Caco-2 cell in vitro model, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19):7950-7956 pp.
- Arnold, J.M. and Bauman, L.F.**, 1976, Inheritance of and interrelationship among maize kernel traits and elemental contents, *Crop Science*, 16:439-440 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Arnold, J.M., Bauman, L.F. and Aycock, H.S.**, 1977, Interrelations among protein, lysine, oil, certain mineral element concentrations and physical kernel characteristics in tow maize populations, *Crop Science*, 17:421-425 pp.
- Arrendo, M. and Nunez, M.T.**, 2005, Iron and copper metabolism, *Molecular Aspects of Medicine*, 26:313–327 pp.
- Arumuganathan, K. and Earle, E.D.**, 1991, Nuclear DNA content of some important plant species, *Plant Molecular Biology Reporter*, 9(3):208–218 pp.
- Ateş, D., Sever, T., Aldemir, S., Yağmur, B., Temel, H.Y., Kaya, H.B., Alsaleh, A., Kahraman, A., Özkan, H., Vandenberg, A., and Tanyolaç, B.**, 2016, Identification QTLs controlling genes for Se uptake in lentil seeds, *PLoS One*, 11(3): e0149210.
- Balint, A.F., Kovacs, G., Erdei, L. and Sutka, J.**, 2001, Comparison of the Cu, Zn, Fe, Ca and Mg contents of the grains of wild, ancient and cultivated wheat species, *Cereal Research Communications*, 29:375-382 pp.
- Bandillo, N., Raghavan, C., Muyco, P.A., Sevilla, M.A.L., Lobina, I.T., Dilla-Ermita, C.J., Tung, C.W., McCouch, S., Thomson, M., Mauleon, R., Singh, R.K., Gregorio, G., Redoña, E. and Leung, H.**, 2013, Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: progress and potential for genetics research and breeding, *Rice*, 6(1):11 pp.
- Banziger, M. and Long, J.**, 2000, The potential for increasing iron and zinc density of maize through plant breeding, *Food and Nutrition Bulletin*, 21:397-400 pp.
- Bastien, M., Sonah, H. and Belzile, F.**, 2014, Genome wide association mapping of *Sclerotinia sclerotiorum* resistance in soybean with a genotyping-by-sequencing approach, *Plant Genome*, 7:1-13 pp.
- Beard, J.L.**, 2001, Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning, *Journal of Nutrition*, 131:568–580 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bhadauria, V., Ramsay, L., Bett, K.E. and Banniza, S.,** 2017, QTL mapping reveals genetic determinants of fungal disease resistance in the wild lentil species *Lens ervoides*, *Scientific Reports*, 7(1):3231.
- Bingham, F.T.,** 1949, Soil test for phosphate, *California Agriculture*, 3(7):11-14 pp.
- Black, C.A.,** 1965, Methods of Soil Analysis Part 2, American Society of Agronomy Inc., Wisconsin.
- Blair, M.W., Astudillo, C., Grusak, M.A., Graham, R. and Beebe, S.E.,** 2009, Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Molecular Breeding*, 23:197–207 pp.
- Blair, M.W., Medina, J.I., Astudillo, C., Rengifo, J., Beebe, S.E., Machado, G. and Graham, R.,** 2010, QTL for seed iron and zinc concentration and content in a Mesoamerican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population, *Theoretical and Applied Genetics*, 121(6):1059-1070 pp.
- Blair, M.W., Astudillo, C., Rengifo, J., Beebe, S.E. and Graham, R.,** 2011, QTL analyses for seed iron and zinc concentrations in an intra-genepool population of Andean common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 122(3):511-521 pp.
- Bouyoucos, G.J.,** 1955, A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of the soils, *Agronomy Journal*, 4(9):419- 434 pp.
- Bremner, J.M.,** 1965, Total nitrogen, 1145-1178, Methods of Soil Analysis Part 2, Black, C.A. (Ed), American Society of Agronomy Inc., Wisconsin.
- Burckhardt-Herold, S.,** 2013, “Iron metabolism”, http://acac1.ethz.ch/koppenol/IRON_Metabolism_2013_A.pdf (Erişim tarihi: 25 Mayıs 2015)
- Cazzola, M., Bergamaschi, G., Dezza, L. and Arosio, P.,** 1990, Manipulations of cellular iron metabolism for modulating normal and malignant cell proliferation: achievements and prospects, *Blood*, 75(10):1903-1919 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen, Z., Wang, B., Dong, X., Liu, H., Ren, L., Chen, J., Hauck, A., Song, W. and Lai, J.,** 2014, An ultra-high density bin-map for rapid QTL mapping for tassel and ear architecture in a large F₂ maize population, *BMC Genomics*, 15(1):433 pp.
- Churchill, G.A. and Doerge, R.W.,** 1994, Empirical threshold values for quantitative trait mapping, *Genetics*, 138(3):963–971 pp.
- Cichy, K.A., Caldas, G.V., Snapp, S.S. and Blair, M.W.,** 2009, QTL analysis of seed iron, zinc, and phosphorus levels in an Andean bean population, *Crop Science*, 49(5):1742–1750 pp.
- Combs, G.F., Duxbury, J.M. and Welch, R.M.,** 1997, Food systems for improved health: linking agricultural production and human nutrition, *European Journal of Clinical Nutrition*, 51:32–33 pp.
- Courtois, B., Audebert, A., Dardou, A., Roques, S., Ghneim- Herrera, T., Droc, G., Frouin, J., Rouan, L., Goze, E., Kilian, A., Ahmadi, N. and Dingkuhn, M.,** 2013, Genome-Wide Association Mapping of Root Traits in a Japonica Rice Panel, *PLoS ONE*, 8(11): e78037pp.
- Crespo-Herrera, L.A., Velu, G. and Singh, R.P.,** 2016, Quantitative trait loci mapping reveals pleiotropic effect for grain iron and zinc concentrations in wheat, *Annals of Applied Biology*, 169 (1) : 27-35 pp.
- Cruz, V.M., Kilian, A. and Dierig, D.A.,** 2013, Development of DArT marker platforms and genetic diversity assessment of the U.S. collection of the new oilseed crop *Lesquerella* and related species, *PLoS One*;8(5): e64062 pp.
- Cubero, J.I., Perez de la Vega, M. and Fratini, R.,** 2009, Origin, Phylogeny, Domestication and Spread, 13-33, *The Lentil - Botany, Production and Uses*, Erskine, W., Muehlbauer, F., Sarker, A. and Sharma, B. (Eds.), Oxford, UK, 480 p.
- Çakmak, I., Özkan, H., Braun, H.J., Welch, R.M. and Romheld, V.,** 2000, Zinc and iron concentrations in seeds of wild, primitive, and modern wheat, *Food and Nutrition Bulletin*, 21(4): 401- 403 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- De la Puente, R., García, P., Polanco, C. and Perez de la Vega, M.,** 2013, Short communication. An improved intersubspecific genetic map in *Lens* including functional markers, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1):132-36 pp.
- Deschamps, S., Llaca, V. and May, G.D.,** 2012, Genotyping-by-Sequencing in plants, *Biology*, 1(3):460-483 pp.
- Ding, G., Yang, M., Hu, Y., Liao, Y., Shi, L., Xu, F. and Meng, J.,** 2010, Quantitative trait loci affecting seed mineral concentrations in *Brassica napus* grown with contrasting phosphorus supplies, *Annals of Botany*, 105(7):1221–1234 pp.
- Du, J., Zeng, D., Wang, B., Qian, Q., Zheng, S. and Ling, H.Q.,** 2013, Environmental effects on mineral accumulation in rice grains and identification of ecological specific QTLs, *Environmental Geochemistry and Health*, 35(2):161-70 pp.
- Duran, Y., Fratini, R., Garcia, P. and Perez de la Vega, M.,** 2004, An intersubspecific genetic map of *Lens*, *Theoretical and Applied Genetics*, 108:1265–1273 pp.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S. and Mitchell, S.E.,** 2011, A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species, *PLoS One*, 6(5):e19379 pp.
- Engin, M.,** 1989, Yemeklik Tane Baklagiller, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana.
- Eujayl, I., Baum, M., Powell, W., Erskine, W. and Pehu, E.,** 1998, A genetic linkage map of Lentil (*Lens* sp.) based on RAPD and AFLP markers using recombinant inbred lines, *Theoretical and Applied Genetics*, 97:83–89 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), 2014a**, “Production of Lentils: top 10 producers”, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Erişim tarihi: 02 Aralık 2017)
- Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), 2014b**, “2014 production/yield quantities of lentils in world”, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Erişim tarihi: 02 Aralık 2016)
- Ford, R., Rubeena, Redden, R.J., Materne, M. and Taylor, P.W.J.**, 2007, Lentil, 91-108, *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants Volume 3 Pulses, Sugar and Tuber Crops*, Kole, C. (Ed.), Berlin, 306 p.
- Fratini, R., Perez de la Vega, M. and Cubero, J.I.**, 2011, Lentil origin and domestication, *Grain Legume*, 57:5-9 pp.
- Garcia-Oliveira, A.L., Tan, L., Fu, Y. and Sun, C.**, 2009, Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain, *Journal of Integrative Plant Biology*, 51(1):84-92 pp.
- Gardner, K.M., Brown, P., Cooke, T.F., Cann, S., Costa, F., Bustamante, C., Velasco, R., Troglio, M. and Myles, S.**, 2014, Fast and cost-effective genetic mapping in apple using Next-Generation Sequencing, *G3(Bethesda)*, 4(9):1681-1687 pp.
- Garvin, D.F., Welch, R.M. and Finley, J.W.**, 2006, Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentration of US hard red winter wheat germplasm, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13):2213–2220 pp.
- Gore, M.A., Fang, D.D., Poland, J.A., Zhang, J., Percy, R.G., Cantrell, R.G., Thyssen, G. and Lipka, A.E.**, 2014, Linkage map construction and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in cotton, *The Plant Genome*, 7(1):1-10 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gregorio, G.B., Senadhira, D., Htut, H. and Graham, R.D.**, 2000, Breeding for trace mineral density in rice, *Food and Nutrition Bulletin*, 21:382–386 pp.
- Grusak, M. and DellaPenna, D.**, 1999, Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health, *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50:133–161 pp.
- Grusak, M.A. and Çakmak, I.**, 2005, Methods to improve the crop-delivery of minerals to humans and livestock, 265-286, *Plant Nutritional Genomics*, Broadley, M.R. and White, P.J. (Eds), Oxford, 317 p.
- Grusak, M.A.**, 2009, Nutritional and health-beneficial quality, 368-390, *The Lentil - Botany, Production and Uses*, Erskine, W., Muehlbauer, F., Sarker, A. and Sharma, B. (Eds.), Oxford, UK, 480 p.
- Gujaria-Verma, N., Vail, S.L., Carrasquilla-Garcia, N., Penmetsa, R.V., Cook, D.R., Farmer, A.D., Vandenberg, A. and Bett, K.E.**, 2014, Genetic mapping of legume orthologs reveals high conservation of synteny between lentil species and the sequenced genomes of Medicago and chickpea, *Frontier Plant Science*, 5:676 pp.
- Gupta, M., Verma, B., Kumar, N., Chahota, R.K., Rathour, R., Sharma, S.K., Bhatia, S. and Sharma, T.R.**, 2012, Construction of intersubspecific molecular genetic map of lentil based on ISSR, RAPD and SSR markers, *Journal of Genetics*, 91(3):279–287 pp.
- Haas, J.D. and Brownlie, T.**, 2001, Iron deficiency and reduced work capacity: A critical review of the research to determine a causal relationship, *Journal of Nutrition*, 131(2):676–690 pp.
- Hamwieh, A., Udupa, S.M., Choumane, W., Sarker, A., Dreyer, F., Jung, C. and Baum, M.**, 2005, A genetic linkage map of *Lens* spp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of Fusarium vascular wilt resistance, *Theoretical and Applied Genetics*, 110(4):669–677 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Havey, M.J. and Muehlbauer, F.J.**, 1989, Linkages between restriction fragment length, isozyme, and morphological markers in lentil, *Theoretical and Applied Genetics*, 77:395–401 pp.
- He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z.X., Liu, H. and Li, Z.**, 2014, Genotyping by Sequencing (GBS), an ultimate Marker-Assisted Selection (MAS) tool to accelerate plant breeding, *Frontiers in Plant Science*, 5:484 pp.
- Huang, Y.F., Poland, J.A., Wight, C.P., Jackson, E.W. and Tinker, N.A.**, 2014, Using Genotyping-by-Sequencing (GBS) for genomic discovery in cultivated oat, *PLoS ONE* 9(7):e102448 pp.
- Iannotti, L.L., Tielsch, J.M., Black, M.M. and Black, R.E.**, 2006, Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks, *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(6):1261–1276 pp.
- Institute of Medicine**, 2001, Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc, Food and Nutrition Board National Academy Press, Washington, 797 p.
- Islam, F.M.A., Basford, K.E., Jara, C., Redden, R.J. and Beebe, S.**, 2002, Seed compositional and disease resistance differences among gene pools in cultivated common bean, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49:285–293 pp.
- Jackson, M.L.**, 1967, Soil Chemical Analysis, Prentice Hall of India Private Ltd., New Delhi, 498 p.
- Jaganathan, D., Thudi, M., Kale, S., Azam, S., Roorkiwal, M., Gaur, P.M., Kishor, P.B., Nguyen, H., Sutton, T. and Varshney, R.K.**, 2015, Genotyping-by-Sequencing based intra-specific genetic map refines a "QTL-hotspot" region for drought tolerance in chickpea, *Molecular Genetics and Genomics*, 290:559–571pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jin, T., Zhou, J., Chen, J., Zhu, L., Zhao, Y. and Huang, Y.,** 2013, The genetic architecture of zinc and iron content in maize grains as revealed by QTL mapping and meta-analysis, *Breeding Science*, 63(3):317–324 pp.
- Kaçar, B.,** 1972, Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri: II. Bitki Analizleri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Kaçar, B. and İnal, A.,** 2008, Bitki Analizleri, Nobel Yayın, Ankara.
- Karaköy, T., Erdem, H., Baloch, F.S., Toklu, F., Eker, S., Kilian, B. and Özkan, H.,** 2012, Diversity of macro and micronutrients in the seeds of lentil landraces, *Scientific World Journal*, 2012:710412 pp.
- Kilian, A., Wenzl, P., Huttner, E., Carling, J., Xia, L., Blois, H., Caig, V., Heller-Uszynska, K., Jaccoud, D., Hopper, C., Aschenbrenner-Kilian, M., Evers, M., Peng, K., Cayla, C., Hok, P. and Uszynski, G.,** 2012, Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms, *Methods in Molecular Biology*, 888:67-89 pp.
- King, K.E., Peiffer, G.A., Reddy, M., Lauter, N., Lin, S.F., Cianzio, S., and Shoemaker, R.C.,** 2013, Mapping of iron and zinc quantitative trait loci in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) for association to iron deficiency chlorosis resistance, *Journal of Plant Nutrition*, 36: 2132–2153 pp.
- Klein, M.A. and Grusak, M.A.,** 2009, Identification of nutrient and physical seed trait QTL in the model legume *Lotus japonicus*, *Genome*, 52(8):677–691 pp.
- Kosambi, D.D.,** 1943, The estimation of map distance from recombination values, *Annals of Eugenics*, 12:172-175 pp.
- Krishnappa, G., Singh, A.M., Chaudhary, S., Ahlawat, A.K., Singh, S.K., Shukla, R.B., Jaiswal, J.P., Singh, G.P. and Solanki, I.S.,** 2017, Molecular mapping of the grain iron and zinc concentration, protein content and thousand kernel weight in wheat (*Triticum aestivum* L.), *PLoS ONE*, 12(4): e0174972.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kujur, A., Bajaj, D., Upadhyaya, H.D., Das, S., Ranjan, R., Shree, T., Saxena, M.S., Badoni, S., Kumar, V., Tripathi, S., Gowda, C.L.L., Sharma, S., Singh, S., Tyagi, A.K. and Parida, S.K.,** 2015, Employing genome-wide SNP discovery and genotyping strategy to extrapolate the natural allelic diversity and domestication patterns in chickpea, *Frontiers Plant Science*, 6:162pp.
- Kumar, H., Dikshit, H.K., Singh, A., Jain, N., Kumari, J., Singh, A.M., Singh, D., Sarker, A. and Prabhu, K.V.,** 2014, Characterization of grain iron and zinc in lentil (*Lens culinaris* Medikus *culinaris*) and analysis of their genetic diversity using SSR markers, *Australian Journal of Crop Science*, 8(7):1005-1012 pp.
- Kumar, J., Kant, R., Quatadah, S.M., Kumar, S. and Sarker, A.,** 2016 Biofortification Through Breeding Interventions in Lentil, 147-156, Biofortification of Food Crops , Singh, U., Praharaj, C.S., Singh, S.S., Singh, N.P. (Eds.), Springer, 461 p.
- Kumar, S., Banks, T.W. and Cloutier, S.,** 2012, SNP discovery through Next-Generation Sequencing and its applications, *International Journal of Plant Genomics*, 2012:831460 pp.
- Kumar, S., Hamweih, A., Manickavelu, A., Kumar, J., Sharma, T.R. and Baum, M.,** 2014, Advances in lentil genomics, 111-130, Legumes in the Omic Era, Gupta, S., Nadarajan, N. and Gupta, D.S. (Eds.), New York, 360 p.
- Lander, E.S. and Botstein, D.,** 1989, Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps, *Genetics*, 121(1):185-199 pp.
- Li, C., Li, Y., Shi, Y., Song, Y., Zhang, D., Buckler, E.S., Zhang, Z., Wang, T. and Li, Y.,** 2015, Genetic control of the leaf angle and leaf orientation value as revealed by ultra-high density maps in three connected maize populations, *PLoS ONE*, 10(3): e0121624 pp.
- Lieu, P.T., Heiskala, M., Peterson, P.A. and Yang, Y.,** 2001, The roles of iron in health and disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 22:1-87 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Linsday, W.L. and Norvell, W.A.**, 1978, Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper, *Soil Science Society of America Journal*, 42:421-428 pp.
- Liu B.H.**, 1998, Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis, Stern, R.B., Didier, D. and Boca, R., (Eds.), CRC Press, 648 p.
- Liu, H., Bayer, M., Druka, A., Russell, J.R., Hackett, C.A., Poland, J., Ramsay, L., Hedley, P.E. and Waugh, R.**, 2014, An evaluation of Genotyping by Sequencing (GBS) to map the Breviaristatum-e (ari-e) locus in cultivated barley, *BMC Genomics*, 15:104 pp.
- Liu, L., Qu, C., Wittkop, B., Yi, B., Xiao, Y., He, Y., Snowdon, R.J. and Li, J.**, 2013, A high-density SNP map for accurate mapping of seed fibre QTL in *Brassica napus* L, *PLoS ONE*, 8(12):e83052 pp.
- Lu, K., Li, L., Zheng, X., Zhang, Z., Mou, T. and Hu, Z.**, 2008, Quantitative trait loci controlling Cu, Ca, Zn, Mn and Fe content in rice grains, *Journal of Genetics*, 87:305-310 pp.
- Ma, Y., Coyne, G.J., Grusak, M.A., Mzourek, M., Cheng, P., Main, D. and McGee, R.J.**, 2017, Genome-wide SNP identification, linkage map construction and QTL mapping for seed mineral concentrations and contents in pea (*Pisum sativum* L.), *BMC Plant Biology*, 17:43.
- Mahajan, R., Zargar, S.M., Salgotra, R.K., Singh, R., Wani, A.A., Nazir, M. and Sofi, P.A.**, 2017, Linkage disequilibrium based association mapping of micronutrients in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): a collection of Jammu & Kashmir, India, *3 Biotech*, 7(5):295.
- Mascher, M., Wu, S., Amand, P.S., Stein, N. and Poland, J.**, 2013, Application of Genotyping-by-Sequencing on semiconductor sequencing platforms: a comparison of genetic and reference-based marker ordering in barley, *PLoS ONE*, 8(10): e76925 pp.
- Metzker, M.L.**, 2010, Sequencing technologies—the next generation, *Nature Reviews Genetics*, 11(1):31-46 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mikic, A.**, 2011, On some of the most ancient Eurasian words denoting lentil (*Lens culinaris*), *Grain Legumes*, 57:10 pp.
- Morgounov, A., Gómez-Becerra, H.F., Abugalieva, A., Dzhunusova, M., Yessimbekova, M., Muminjanov, H., Zelenskiy, Y., Öztürk, L. and Çakmak, I.**, 2007, Iron and zinc grain density in common wheat grown in central Asia, *Euphytica*, 155:193-203 pp.
- Moritz, A. and Hornecker, J.**, 2006, Simple Steps to Total Health, Ener-Chi Wellness Press, USA, 184 p.
- Muehlbauer, F.J. and McPhee, K.E.**, 2005, Lentil (*Lens culinaris* Medik.), 219-230, Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement, Singh, R.J. and Jauhar, P.P. (Eds.), New York, 456 p.
- Norton, G.J., Deacon, C.M., Xiong, L., Huang, S., Meharg, A.A. and Price, A.H.**, 2010, Genetic mapping of the rice ionome in leaves and grain: identification of QTLs for 17 elements including arsenic, cadmium, iron and selenium, *Plant and Soil*, 329:139-153 pp.
- Oikeh, S.O., Menkir, A., Maziya-Dixon, B., Welch, R. and Glahn, R.P.**, 2003, Genotypic differences in concentration and bioavailability of kernel-iron in tropical maize varieties grown under field conditions, *Journal of Plant Nutrition*, 26:2307-2319 pp.
- Ortiz-Monasterio, J.L. and Graham, R.D.**, 2000, Breeding for trace minerals in wheat, *Food and Nutrition Bulletin*, 21:392-396 pp.
- Oury, F.X., Leenhardt, F., Rémésy, C., Chanliaud, E., Duperrier, B., Balfourier, F. and Charmet, G.**, 2006, Genetic variability and stability of grain magnesium, zinc and iron concentration in bread wheat, *European Journal of Agronomy*, 25:177-185 pp.
- Peleg, Z., Çakmak, I., Öztürk, L., Yazıcı, A., Jun, Y., Budak, H., Korol, A.B., Fahima, T. and Saranga, Y.**, 2009, Quantitative trait loci conferring grain mineral nutrient concentrations in durum wheat x wild emmer wheat RIL population, *Theoretical and Applied Genetics*, 119(2):353-369 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pfeiffer, W.H. and McClafferty, B.**, 2007, HarvestPlus: breeding crops for better nutrition, *Crop Science*, 47:88–105 pp.
- Poland, J.A., Brown, P.J., Sorrells, M.E. and Jannink, J.L.**, 2012, Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme Genotyping-by-Sequencing approach, *PLoS ONE*, 7(2): e32253 pp.
- Pratt, P.F.**, 1965, Potassium, 1010-1022, Methods of Soil Analysis Part 2, Black, C.A. (Ed.), American Society of Agronomy Inc., Wisconsin.
- Pu, Z.E., Yu, M., He, Q.Y., Chen, G.Y., Wang, J.R., Liu, Y.X., Jiang, Q.T., Li, W., Dai, S.F., Wei, Y.M. and Zheng, Y.L.**, 2014, Quantitative trait loci associated with micronutrient concentrations in two recombinant inbred wheat lines, *Journal of Integrative Agriculture*, 13(11): 2322-2329 pp.
- Qin, H., Cai, Y., Liu, Z., Wang, G., Wang, J., Guo, Y. and Wang, H.**, 2012, Identification of QTL for zinc and iron concentration in maize kernel and cob, *Euphytica*, 187:345-348 pp.
- Rabbi, I.Y., Hamblin, M.T., Kumar, P.L., Gedil, M.A., Ikpan, A.S., Jannink, J.L. and Kulakow, P.A.**, 2014, High-resolution mapping of resistance to cassava mosaic geminiviruses in cassava using Genotyping-by-Sequencing and its implications for breeding, *Virus Research*, 186:87-96 pp.
- Ramamurthy, R.K., Jedlicka, J., Graef, G.L. and Waters, B.M.**, 2014, Identification of new QTLs for seed mineral, cysteine and methionine concentrations in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.], *Molecular Breeding*, 34(2):431-445 pp.
- Raman, H., Raman, R., Kilian, A., Detering, F., Carling, J., Coombes, N., Diffey, S., Kadkol, G., Edwards, D., McCully, M., Ruperao, P., Parkin, I.A.P., Batley, J., Luckett, D.J. and Wratten, N.**, 2014, Genome- wide delineation of natural variation for pod shatter resistance in *Brassica napus*, *PLoS ONE*, 9(7):e101673 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Richards, L.A.**, 1954, Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils, United States Department of Agriculture, Washington, 160 p.
- Rubeena, Ford, R. and Taylor, P.W.J.**, 2003, Construction of an intraspecific linkage map of lentil (*Lens culinaris* ssp. *culinaris*), *Theoretical and Applied Genetics*, 107:910–916 pp.
- Saintenac, C., Jiang, D., Wang, S. and Akhunov, E.**, 2013, Sequence-based mapping of the polyploid wheat genome, *G3 (Bethesda)*, 3(7):1105–1114 pp.
- Sankaran, R.P., Huguet, T. and Grusak, M.A.**, 2009, Identification of QTL affecting seed mineral concentrations and content in the model legume *Medicago truncatula*, *Theoretical and Applied Genetics*, 119(2):241–253 pp.
- Sarker, A., Erksine, W., Hassan, M.S., Afzal, M.A. and Murshed, A.N.M.M.**, 1999, Registration of “Barimasur-4” lentil, *Crop Science*, 39:876pp.
- Sarker, A.**, 2007, Final Report to Harvest Plus Challenge Program, 07.
- Sarker, A. and Kumar, S.**, 2011, Lentils in production and food systems in West Asia and Africa, *Grain Legumes*, 57:46-48 pp.
- Satovic, Z., Avila, C.M., Cruz-Izquierdo, S., Díaz-Ruiz, R., García-Ruiz, G.M., Palomino, C., Gutiérrez, N., Vitalr, S., Ocaña-Moral, S., Gutiérrez, M.V., Cubero, J.I and Torres, A.M.**, 2013, A reference consensus genetic map for molecular markers and economically important traits in faba bean (*Vicia faba* L.), *BMC Genomics*, 14: 1-15pp.
- Saxena, M.C.**, 2009, Plant morphology, anatomy and growth habit, 34-46, The Lentil - Botany, Production and Uses, Erskine, W., Muehlbauer, F., Sarker, A. and Sharma, B. (Eds.), Oxford, UK, 480 p.
- Schlichting, E. and Blume, H.P.**, 1966, Bodenkundliches Practicum, Hamburg, 209 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sen Gupta, D., Thavarajah, D., McGee, R.J., Coyne, C.J., Kumar, S. and Thavarajah, P.**, 2016, Genetic diversity among cultivated and wild lentils for iron, zinc, copper, calcium and magnesium concentrations, *Australian Journal of Crop Science*, 10(10):1381-1387 pp.
- Sharpe, A.G., Ramsay, L., Sanderson, L.A., Fedoruk, M.J., Clarke, W.E., Li, R., Kagale, S., Vijayan, P., Vandenberg, A. and Bett, K.E.**, 2013, Ancient orphan crop joins modern era: gene-based SNP discovery and mapping in lentil, *BMC Genomics*, 14:192 pp.
- Simic, D., Drinic, S.M., Zdunic, Z., Jambrovic, A., Ledencan, T., Brikic, J., Brikic, A. and Brikic, I.**, 2012, Quantitative trait loci for biofortification traits in maize grain, *Journal of Heredity*, 103(1):47-54pp.
- Sonah, H., Bastien, M., Iqura, E., Tardivel, A., Légaré, G., Boyle, B., Normandeau, É., Laroche, J., Larose, S., Jean, M. and Belzile, F.**, 2013, An improved Genotyping by Sequencing (GBS) approach offering increased versatility and efficiency of SNP discovery and genotyping, *PLoS ONE*, 8(1): e54603 pp.
- Spindel, J., Wright, M., Chen, C., Cobb, J., Gage, J., Harrington, S., Lorieux, M., Ahmadi, N. and McCouch, S.**, 2013, Bridging the genotyping gap: using genotyping by sequencing (GBS) to add high-density SNP markers and new value to traditional bi-parental mapping and breeding populations, *Theoretical and Applied Genetics*, 126: 2699–2716 pp.
- Srinivasa, J., Arun, B., Mishra, V.K., Singh, G.P., Velu, G., Babu, R., Vasistha, N.K. and Joshi, A.K.**, 2014, Zinc and iron concentration QTL mapped in a *Triticum spelta* × *T. aestivum* cross, *Theoretical and Applied Genetics*, 127(7):1643-1651 pp.
- Stange, M., Utz, H.F., Schrag, T.A., Melchinger, A.E. and Würschum, T.**, 2013, High-density genotyping: an overkill for QTL mapping? Lessons learned from a case study in maize and simulations, *Theoretical and Applied Genetics*, 126:2563-2574 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stangoulis, J.C.R., Huynh, B.L., Welch, R.M., Choi, E.Y. and Graham, R.D.,** 2007, Quantitative trait loci for phytate in rice grain and their relationship with grain micronutrient content, *Euphytica*, 154(3):289–294 pp.
- Tanyolaç, B., Özatay, Ş., Kahraman, A. and Muehlbauer, F.,** 2010, Linkage mapping of lentil (*Lens culinaris* L.) genome using recombinant inbred lines revealed by AFLP, ISSR, RAPD and some morphologic markers, *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 2(1):1-6 pp.
- Thavarajah, D., Vandenberg, A., George, G.N and Pickering, I.J.,** 2007, Chemical form of selenium in naturally selenium-rich lentils (*Lens culinaris* L.) from Saskatchewan, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (18):7337–7341 pp.
- Thavarajah, D., Thavarajah, P., Sarker, A. and Vandenberg, A.,** 2009, Lentils (*Lens culinaris* Medikus Subspecies *culinaris*): a whole food for increased iron and zinc intake, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(12):5413-5419 pp.
- Thavarajah, D., Thavarajah, P., Wejesuriya, A., Rutzke, M., Glahn, R.P., Combs, Jr .G.F. and Vandenberg, A.,** 2011, The potential of lentil (*Lens culinaris* L.) as a whole food for increased selenium, iron, and zinc intake: preliminary results from a 3 year study, *Euphytica*, 180:123-128 pp.
- Tiwari, C., Wallwork, H., Arun, B., Mishra, V.K., Velu, G., Stangoulis, J., Kumar, U. and Joshi, A.K.,** 2016, Molecular mapping of quantitative trait loci for zinc, iron and protein content in the grains of hexaploid wheat, *Euphytica*, 207:563-570 pp.
- Tiwari, V.K., Rawat, N., Chhuneja, P., Neelam, K., Aggarwal, R., Randhawa, G.S., Dhaliwal, H.S., Keller, B. and Singh, K.,** 2009, Mapping of quantitative trait loci for grain iron and zinc concentration in diploid a genome wheat, *Journal of Heredity*, 100(6):771-776 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2016**, “İstatistiksel Tablolar ve Dinamik Sorgulama/ Tahıllar ve Diğer Bitkisel Ürünler”, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim tarihi: 08 Haziran 2017)
- United States Department of Agriculture/Agricultural Research Service (USDA/ARS), 2007**, “USDA Nutrient Data Laboratory Home Page”, <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/> (Erişim Tarihi: 18 Eylül 2015)
- Uitdewilligen, J.G.A.M.L., Wolters, A.M.A., D’hoop, B.B., Borm, T.J.A., Visser, R.G.F. and van Eck, H.J., 2013**, A Next-Generation Sequencing method for Genotyping-by-Sequencing of highly heterozygous autotetraploid potato, *PLoS ONE*, 8(5):e62355 pp.
- Upadhyaya, H.D., Bajaj, D., Das, S., Kumar, V., Gowda, C.L.L., Sharma, S., Tyagi, A.K. and Parida, S.K., 2016**, Genetic dissection of seed-iron and zinc concentrations in chickpea, *Scientific Reports*, 6:24050.
- Urbano, G., Porres, J.M., Frías, J. and Vidal-Valverde, C., 2007**, Nutritional Value, 47-93, Lentil: An Ancient Crop for Modern Times Yadav, S.S., McNeil, D. and Stevenson, P.C. (Eds.), Springer, 461 p.
- Vandenberg, A., Kiehn, F.A., Vera, C., Gaudiel, R., Buchwaldt, L., Kirkland, K.J., Morrall, R.A.A., Wahab, J. and Slinkard, A.E., 2001**, CDC Milestone lentil, *Canadian Journal of Plant Science*, 81:113-114pp.
- Van Ooijen, J.W., 2006**, JoinMap ® 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations, Kyazma BV, Wageningen, Netherlands.
- Van Ooijen, J.W., 2009**, MapQTL6, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species, Kyazma BV, Wageningen, Netherlands.
- Visscher, P.M., Hill, W.G. and Wray, N.R., 2008**, Heritability in the genomics era concepts and misconceptions, *Nature Reviews Genetics*, 9:255 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vreugdenhil, D., Aarts, M.G.M., Koornneef, M., Nelissen, H. and Ernst, W.H.O.**, 2004, Natural variation and QTL analysis for cationic mineral content in seeds of *Arabidopsis thaliana*, *Plant, Cell and Environment*, 27:828–839 pp.
- Wang, N. and Daun, J. K.**, 2006, Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*), *Food Chemistry*, 95 (3):493–502 pp.
- Wang, R.**, 2016, Genetic analysis of selected seed constituent traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.), PhD Thesis, University of Saskatchewan, 173p
- Ward, J.A., Bhangoo, J., Fernández-Fernández, F., Moore, P., Swanson, J.D., Viola, R., Velasco, R., Bassil, N., Weber, C.A. and Sargent, D.J.**, 2013, Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using Genotyping by Sequencing and genome-independent imputation, *BMC Genomics*, 14:2 pp.
- Waters, B.M. and Grusak, M.A.**, 2008, Quantitative trait locus mapping for seed mineral concentrations in two *Arabidopsis thaliana* recombinant inbred populations, *New Phytologist*, 179(4):1033–1047 pp.
- Welch, R.M.**, 2002, The impact of mineral nutrients in food crops on global human health, *Plant and Soil*, 247:83–90 pp.
- 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(396):353-364 pp.
- White, P.J. and Broadley, M.R.**, 2005, Biofortifying crops with essential mineral elements, *Trends in Plant Science*, 10(12):586–593 pp.
- White, P.J. and Broadley, M.R.**, 2009, Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine, *New Phytologist*, 182(1):49-84 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Willems, G., Frerot, H., Gennen, J., Salis, P., Saumitou-Laprade, P. and Verbruggen, N.**, 2010, Quantitative trait loci analysis of mineral element concentrations in an *Arabidopsis halleri* x *Arabidopsis lyrata petraea* F₂ progeny grown on cadmium contaminated soil, *New Phytologist*, 187: 368–379 pp.
- World Health Organization (WHO) Health Report, 2002**, “Reducing risks, promoting healthy life”, http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf (Erişim tarihi: 20 Haziran 2015)
- Wu, J., Yuan, Y.X., Zhang, X.W., Zhao, J., Song, X., Li, Y. Li, X., Sun, R., Koornneef, M., Aarts, M.G.M. and Wang, X.W.**, 2008, Mapping QTLs for mineral accumulation and shoot dry biomass under different Zn nutritional conditions in chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*), *Plant and Soil*, 310:25–40 pp.
- Xu, Y.F., An, D.G., Liu, D.C., Zhang, A.M., Xu, H.X. and Li, B.**, 2012, Molecular mapping of QTLs for grain zinc, iron and protein concentration of wheat across two environments, *Field Crops Research*, 138:57–62 pp.
- Yang, M., Cobine, P.A., Molik, S., Naranuntarat, A., Lill, R., Winge, D.R. and Culotta, V.C.**, 2006, The effects of mitochondrial iron homeostasis on cofactor specificity of superoxide dismutase 2, *EMBO Journal*, 25(8): 1775-1783 pp.
- Yu, H., Xie, W., Wang, J., Xing, Y., Xu, C., Li, X., Xiao, J. and Zhang, Q.**, 2011, Gains in QTL detection using an ultra-high density SNP map based on population sequencing relative to traditional RFLP/SSR markers, *PLoS ONE*, 6(3):e17595 pp.
- Zhang, M.W., Guo, B.J. and Peng, Z.M.**, 2004, Genetic effects on Fe, Zn, Mn and P content in Indica black pericarp rice and their genetic correlations with grain characteristics. *Euphytica* 135(3):315-323 pp.
- Zia-Ul-Haq, M., Iqbal, S., Ahmad, S., Imran, M., Niaz, A. and Bhanger, M.I.**, 2007, Nutritional and compositional study of desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Punjab, Pakistan, *Food Chemistry*, 105: 1357–1363 pp.

ÖZGEÇMİŞ

Seçil ALDEMİR 1981 yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğretimlerini sırasıyla Yeşilyurt İlkokulu, Hasan Tahsin Ortaokulu ve Selma Yiğitalp Süper Lisesinde tamamladı. 2000 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2004 yılında lisans eğitimini tamamlayıp Biyolog ünvanını almaya hak kazandı. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji A.B.D’ye yüksek lisans başvurusu kabul edildi. 2007 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2011 yılında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir’de biyolog/araştırmacı olarak çalışmaya başladı. 2012 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji A.B.D’de doktora eğitimine başladı.