

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI YEREL MISIR GENOTİPLERİNDE SSR YÖNTEMİYLE
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Nurettin BARAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

KASIM – 2017

T.C
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Nurettin BARAN tarafından yapılan "Bazı Yerel Mısır Genotiplerinde SSR Yöntemiyle Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

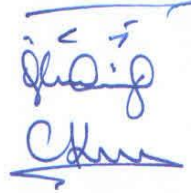
Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Mefhar Gültekin TEMİZ

Üye: Doç. Dr. Özlem GÜL TONÇER

Üye: Doç. Dr. Çetin KARADEMİR



Tez Savunma Sınavı Tarihi: 17/11/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2017

Doç.Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR V.

(MÜHÜR)



TEŞEKKÜR

Molekül konusunda öğrenimime yardımcı olan ve bu çalışma sırasında her türlü kolaylığı sağlayan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mefhar Gültekin TEMİZ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın projeye dönüştürülmesinde yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Fırat KURT'a teşekkürü borç bilirim.

Moleküler genetikle ilgili yaptığım bu çalışmamda laboratuvarında kullandığım her türlü teçhizatlarını benden esirgemeyen Değerli Sayın hocam Prof. Dr. Hakan ÖZKAN ve ekibine şükranlarımı sunarım.

Çalışmamda materyal temini konusunda bana yol gösteren ve yardımcı olan Sayın Doç. Dr Mehmet YILDIRIM'a ve Arş. Gör. Önder ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezimin gerçekleştirme aşamasında beni destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu araştırma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü tarafından ZİRAAT.16.006 kodlu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMA VE SİMGELER.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Mısırdaki Kullanılan Moleküler Yöntemler	2
1.1.1. RFLP ve RAPD	2
1.1.2. SSR	3
1.1.3. AFLP	3
1.1.4. SNP	3
1.1.5. Mikroarray (mikroçip)	3
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Mısır Bitkisinin Önemi	5
2.2. Mısırın Genetiği ve Evrimi	5
2.3. Moleküler Markörler ve Mısır	9
3. MATERYAL ve METOT	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Bitki Materyali	15
3.1.2. Deneme Toprağının Özellikleri	16
3.1.3. Yerel Mısır Genotiplerinin Verilerinin Değerlendirilmesi.....	18
3.2. Moleküler Analizler	19
3.2.1. Bitki Örneklerinde Genomik DNA Analizi	19

3.2.1.1. Yaprak Örneklerinin Hazırlanması	19
3.2.1.2. DNA İzolasyonu	19
3.2.1.3. Agaroz Jel Hazırlanması	22
3.3. DNA Konsantrasyon Ayarı	23
3.4. Kullanılan Mikrosatellit Primerler	25
3.5. SSR Analizleri	26
3.5.1. SSR Analizlerinde Kapiller Elektroforez Koşulları	27
3.5.2. Mısır Bitkisinin Verilerinin Değerlendirilmesi	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Moleküler (SSR) Analizler	29
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
6. KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	42

ÖZET

BAZI YEREL MISIR GENOTİPLERİNDE SSR YÖNTEMİYLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurettin BARAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2017

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesinden toplanmış olan 32 yerel popülasyon arasındaki genetik çeşitlilik SSR markör tekniği analiz edilmiştir. Araştırmada kullanılan 22 primerden sadece 14 tanesi bant vermiş ve toplam 42 allel elde edilmiştir. SSR lokusu başına ortalama 3 allel olduğu saptanmıştır. En fazla allel umc1571 lokusundan (6); en az allel ise phi022 (1) lokusundan elde edilmiştir. En büyük PIC değeri umc 1450 lokusundan 0.95 olarak elde edilmiştir. En düşük PIC değeri ise PHI032 lokusundan 0.43 olarak elde edilmiştir. Çorum ve Trabzon genotiplerinin birbirine genetik olarak en yakın popülasyonlar olduğu buna karşın Artvin ve Rize popülasyonlarının birbirlerine genetik olarak en uzak olan popülasyonlar olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: SSR, mısır, genetik çeşitlilik, Yerel mısır popülasyonları

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF GENETIC VARIABILITY OF SOME HEIRLOOMS USING SSR ASSAY

THESIS

Nurettin BARAN

THE DEPARTMENT OF FIELD CROPS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2017

In this study, genetic variation among 32 heirlooms collected from the Black Sea Region was analyzed using SSR markers. 22 SSRs used in the study, only 14 SSRs revealed a total of 42 alleles. The mean of 3 alleles per SSR locus was determined ranging from 6 (umc1571 locus) to 1 (phi022 locus). The largest PIC value was obtained as 0.95 from the umc1450 loci. The lowest PIC value was obtained as 0.43 at the PHI032 locus. While the Corum and Trabzon genotypes were the closest genetically related populations, Artvin and Rize populations were found to be the most genetically distant populations.

Key Words: SSR, Maize, Genetic Variability, Local Zea Populations

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Kullanılan mısır materyalin ait kayıt no, bulunduğu yer, materyalin koordinatı ve bulunduğu yerin yüksekliğine ait değerler	15
Çizelge 3.2.	Saksı denemesinde kullanılan torflu toprağa ait fiziksel ve kimyasal özellikleri	17
Çizelge 3.3.	Agaroz jel hazırlanma tablosu	22
Çizelge 3.4.	Araştırmada kullanılan ISSR primerlerinin Adı, DNA dizilimleri ve bulunduğu kromozom	26
Çizelge 4.1.	Araştırmada kullanılan SSR primerlerinin numarası, ileri (forward) ve geri (reverse)	31
Çizelge 4.2.	Popülasyonlar arasındaki benzerlik katsayıları	35

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Saksı Denemesinin Ekim Hazırlık Aşaması	17
Şekil 3.2.	Saksı Denemesinin Bitkilerinin Çıkışı	18
Şekil 3.3.	Saksı Denemesinin Genel görüntüsü	18
Şekil 3.4.	Yaprak Örneklerinin Sıvı Azotta Ezilmesi	19
Şekil 3.5.	Tampon Çözeltilisi Eklenmiş Örneklerin Su Banyosunda Tutulması	20
Şekil 3.6.	Örneklerin İki Faza Ayrılmasını Sağlamak Amaçlı Santrifüj Aşaması	20
Şekil 3.7.	a) Santrifüj Sonrası Ortaya İki Faz Çıkar b) Üst Fazı Alınmış Örnek c) Üst Fazın 1.5 ml' lik Eppendorf Tüpe Aktarılması	21
Şekil 3.8.	10 mM Ammonium Asetat bulunan % 76'lık etil alkol Eklenmiş Tüpte DNA Görünümü	21
Şekil 3.9.	DNA'nın Oda Sıcaklığında 24 saat Kurutmaya Bırakılması	22
Şekil 3.10.	Agarın Tankın Üzerine Bir Noktadan Tamamen Dökülme Aşaması	23
Şekil 3.11.	% 0.8'lik Agaroz Jelde Koşulmuş Stok DNA Örnekleri	25
Şekil 3.12.	10 ng'a Ayarlanmış DNA Örneklerinin %0.8'lik Agaroz Jelde Koşulması	25
Şekil 4.1.	Yerel Mısır Populasyonlarına Ait PHI022, UMC1450, UMC1675 PHI032 ve UMC1571 ABI Primerlerinin Amplifikasyon Ürünleri	33
Şekil 4.2.	Karadeniz Bölgesinden toplanmış genotiplerin UPGMA yöntemine göre çizilmiş dendogramı	36

KISALTMA VE SİMGELER

AFLP	: Amplified Fragment Length Polimorphisms
Bç.	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
F	: Forward
FAO	: Food Agricultural Organization
He	: Gen çeşitliliği
Ha	: Hektar
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
Mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
ng	: Nanogram
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PIC	: Polymorphism Information Content
POPGEN	: Populasyon Genetik Analiz Programı
R	: Reverse
RAPD	: Random Amplified Polimorphic DNAs
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RPM	: rounds per minute
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeats
TBE	: Tris-Borate-EDTA
UPGMA	: Unweighted Pair-Group Method With Arithmetical Averages
Yük	: Yüksek
Yy	: Yüzyıl

1. GİRİŞ

Kültür mısırı ilk olarak Christopher Colombus ve arkadaşları tarafından 1493 yılında İspanya'ya getirilmiştir. Kuzey Afrika yoluyla Asya'ya getirilen mısır; sonraki yüzyılda Batı Afrika Hindistan ve Çin'e gemici Portekizliler tarafından yayılmıştır. Orta Avrupa ülkelerine Türkiye'den yayılan mısıra Türk Buğdayı adı verilmiştir. Bunun nedeni mısırın Kuzey Afrika ve Mısır üzerinden Türkiye'ye giriş yapmasıyla ilgilidir (Cömertpay, 2008). Dünya Gıda Örgütü'nün 2015 yılı rakamlarına göre mısır, buğday ve pirinç'ten sonra en fazla ekim alanına sahip bitkidir (FAO, 2015).

Türkiye'de mısır ekim ve üretim bakımında tahıl bitkileri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye'de mısır bitkisinin ekim alanı 6.800.192 dekar, üretimi 6.4 milyon ton ve ortalama verim 920 kg/da olarak belirlenmiştir (Anonim, 2017). Türkiye'de Üretilen mısırın %78'i hayvan beslenmesinde yem maddesi olarak, %15'i Nişasta sanayinde, %5'i yerel tüketim, %3'ü ise endüstriyel alanda değerlendirilmektedir. Toplam tüketim miktarı 6-6.5 milyon ton arasında değişim göstermektedir.

Dünyada gıda amaçlı olarak kullanılan mısır bitkisi, en başta Latin Amerika ve Afrika olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde mevcut olan taleplerdeki artışlar nedeniyle artmış olup; küresel düzeyde kişi başına mısır tüketiminin de 28 kg olduğu tahmin edilmektedir (TMO, 2017). Dünya nüfusunun hızla artmasıyla mısır bitkisi temel bir besin kaynağı haline gelmektedir. Dünyadaki mevcut tarım arazileri sabit olduğundan ve arttırma imkanı olmadığından dolayı arazileri en iyi şekilde değerlendirerek birim alana düşen verimi arttırmak zorunluluğu ortaya çıkmaktadır.

Mısır bitkisinin verimini arttırmak ve daha kaliteli hale getirmek için yeni çeşitlerinin ıslah edilmesi gerekmektedir. Yerel genotipler; tarımla uğraşan insanlar tarafından uzun yıllar boyunca geleneksel yöntemlerle bugüne ulaştırılmış ve bölgelere adapte olmuştur.

Mısır bitkisinin genetik çeşitliliğinin fazla olması, etkili ıslah çalışması ve çeşit geliştirmek için uygun bir bitkidir. Bu yüzden günümüzde söz konusu bölgesel genotip çeşitlerinin toplanması ve bunların genetik çeşitliliğinin irdelenmesi ve araştırma konusu yapılması büyük bir önem arz etmektedir.

Türkiye’de 1980 yılına kadar yurdun değişik yerlerinde açık döllen popülasyonlar şeklinde tarla ve bahçe gibi arazilerde ekimi yapılan mısır bitkisi yerine, son zamanlarda bilhassa yüksek verimli ve kaliteli mısır çeşitleri ülkemizin tüm yerlerinde yetiştirilmeye başlanmıştır. Değişik bölgelerde çiftçilerce gerçekleştirilen geleneksel seleksiyonlarla bölge koşullarına adaptasyonu iyi olan ve genetik yelpazesini koruyabilen açık döllenebilen mısır popülasyonlarının devamlılığı çiftçilerce sağlanmıştır. Fakat son senelerde genotip çeşitliliği açısından zengin olan mısır bitkisinin çiftçiler tarafından tercih edilmesi nedeniyle uzun senelerden bu yana tercih edilmiş ve mısır ıslah programları adına aşırı değerliliğe sahip söz konusu yerel mısır genotiplerini kaybetme tehlikesi meydana gelmiştir. Ortaya çıkan söz konusu tehlikenin sonuçları ele alınarak, Menemen Gen Bankası’nca (Menemen-İzmir) gerçekleştirilen “Yerel mısır materyallerin toplanması” projesiyle söz konusu yerel mısır popülasyonları bir araya getirilmeye çalışılmış ve toplanan materyaller Menemen Gen Bankası’nda uygun koşullarda korunmuştur. Ancak toplanma işlemine tabi tutulan söz konusu materyalin DNA düzeyinde genetik yelpazenin belirlenmesi adına detaylı irdelemeler yapılamadığından dolayı materyalin mevcut genetik potansiyeli ortaya konamamıştır.

1.1.Mısırdaki Kullanılan Moleküler Yöntemler

Genetik markörler mısır ıslahında ve mısır’ın çeşitliğini geliştirmede son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Yıllara bağlı olarak, tekniklerin geliştirilmesiyle farklı alanlarda da uygulamaya konulmuştur. Bu tekniklerin kullanımı sırasında tekrarlanabilirliği ve doğru lokusları belirtme gücü oldukça önemlidir. Bu amaçla mısırdaki kullanılan moleküler yöntemler aşağıda verilmiştir.

1.1.1. RFLP ve RAPD

Mısır ıslahı için ilk olarak kullanan DNA markör sistemleridir. RFLP teknikleri, mısır genomunda restriksiyon enzimleriyle kesildikten sonra işaretlenmiş DNA problemleri aracılığıyla meydana gelen DNA parçalarının belirli aygıtlarla analiz etmektir. Bu tekniklerin uygulanmasında belli bir otomasyon sisteminin olmamasından dolayı maliyeti ve işçiliği çok yüksektir. RAPD tekniklerinin ise, 10 oligomerlik primer gruplarının polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sonunda genomun üzerinde meydana geldiği DNA fragmentlerinin sayısı ve büyüklüğü üzerinde değerlendirme yapılmaktadır. Bu tekniğin tekrarlanabilirliği düşüktür. Şu ana kadar biyoçeşitliliğin

belirlenmesinde ve heterotik grupların ortaya çıkarılmasında birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Messmer ve ark., 1992; Jones ve ark., 1997; Okumus, 2007).

1.1.2. SSR

SSR yöntemi, son on yıl içerisinde araştırmacıların en çok tercih ettikleri tekniklerden biridir. Bu teknik eş zamanlı olarak hem populasyon içi hem de populasyonlar arası bilgi aktarımını sağlayabilmektedir. Diğer tekniklere göre tekrarlanabilirliği yüksek olduğu için en çok tercih edilen ve farklı amaçlarla kullanılabilen bir tekniktir. (Tenailon ve ark., 2001; Ching ve ark., 2002).

1.1.3. AFLP

RFLP ve RAPD'nin kombine olmuş bir şekilde ifade eden teknolojik tekniktir. Genom başta iki enzim tarafından kesilerek küçük parçalara ayrılmakta ve meydana gelen DNA parçaları adaptör adı verilen bazlarla farklı dizilişler eklenerek meydana gelen PCR uygulaması sonucunda oluşan yapı büyüklük esasına dayalı bir değerlendirmeye tabi tutulmaktadır. Bu teknik tercihen ,akrabalığı yüksek mısır genotipleri arasındaki ilişkileri ve lokus belirlenmesinde kullanılmaktadır (Lübberstedt ve ark., 2000; Legesse ve ark., 2008).

1.1.4. SNP

Mısır ıslah çalışmalarında SSR ile araştırması kısıtlı olan durumlarda ve AFLP ile kısıtlı cevap alınabilen genotiplere uygulanan bir yöntemdir. Genom üzerinde dağılmış özel bölgelere ait olan DNA parçalarının sekanslanması ve karşılaştırılması temeline dayalıdır. Mısır bitkisinde 1 milyon SNP bölgesi mevcuttur. Araştırmacılar ve araştırma konuları bu yöne kaymaktadır. Şu ana kadar SNP tekniğiyle mısır lokusu üzerinde çalışılmıştır. Bu tekniğin tekrarlanabilirliği yüksek olmasıyla birlikte aynı zamanda otomasyonu yapılabilmektedir (Ching ve ark., 2002).

1.1.5. Mikroarray (mikroçip)

Ekonomik açıdan çok iyi olan bu teknik, genetik hataların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Yoğunluğu fazla olan gen dizilişlerinin cam bir slayt üzerine konulduktan sonra floresans olarak etiketlenen genomik DNA dizilişleri, slayt üzerinde bulunan kalıplarla, bilgisayar kontrolü altında hibridize edilir. Fakat bu teknik konusunda uzman kişilerle çalışmayı zorunlu kılmaktadır (Ching ve ark., 2002; Farooq

ve Azam, 2002). Mısır ıslahında genetik markör kullanımları son dönemde önemi yadsınamayacak bir teknik haline gelmiştir. Özellikle çeşitli tipteki karakterlerin takibi ve test edilmeleri için kullanılan bu yöntemlerin önemini artmıştır. Bu yöntemlerin genel amaçları bağlantı (linkage), haritalama (QTL), markör destekli seleksiyon (MAS), genetik çeşitlilik, ebeveyn testi, hatlarda saflık testi ve GDO testlerinden oluşmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; Türkiye’de Karadeniz bölgesinde toplanan 32 yerel mısır genotiplerinin;

- SSR markörleri göz önünde bulundurularak DNA düzeyinde çeşitliliğini araştırmak
- Moleküler yöntemlerle ortaya çıkarılan neticeleri birbirleriyle karşılaştırmaya tabi tutmaktır.

Buradan elde edeceğimiz sonuçlarla birlikte, yerel genotiplerin mısır ıslah çalışmalarında hedefe uygun şekilde kullanımını sağlamak ve geleceğe yönelik mısırla ilgili gen haritalanmasının yapılmasına zemin hazırlamaktır. Moleküler markörler yolu ile genotiplerin arasındaki akrabalık ilişkilerinin ortaya konulması ile hem yeni güçlü popülasyonlar oluşturulmasındaki seçimlerde, hem de verimli hibritlerin oluşturulmasındaki seçimlerde başarı şansının arttırılması imkanının ortaya çıkacak olması, çalışmanın önemini ortaya koymaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Mısır Bitkisinin Önemi

Mısır bitkisi, buğdaygiller (*Poaceae*) familyasına has tek çenekli (*Monocotyledon*) bir bitki türüdür. Buğdaygiller familyası içinde çok farklı özelliğe sahip olup mısır bitkisi çiçekleri monoik yapıdadır.

Dünya'nın pek çok farklı bölgesine geniş bir populasyon sayesinde adapte olan mısır bitkisi $2n=20$ kromozomlu diploid bir bitkidir. Bu bitki deniz seviyesinden 3000 m'ye, 50° kuzey enleminden 50° güney enlemlerine kadar geniş bir alanda ve farklı toprak tiplerinde ekimi yapılabilmektedir.

Mısır bitkisi, yaygın bir kullanım alanı sayesinde buğdaygiller familyasında önemli bir farklılığa sahiptir. Besin içeriği zengin olan mısır, insanların ve hayvanların da beslenmesinde kullanılmaktadır. Olgunlaşmış mısır danesi yapısında besin içeriği açısından büyük öneme sahip birçok kimyasal bileşiği bulundurmaktadır. İçeriğinde; nişasta %70-75, protein % 8-10 ve yağ %4-5 miktarlarında bulunmaktadır (Earle ve ark.,1946).

Türkiye'de ve Dünya'da ekonomik yönden büyük önem taşıyan mısır bitkisinin kökeni Amerika kıtasına dayanmaktadır. Ülkemizde mısır bitkisi tarımı, hayvansal protein üretimine önemli derecede katkı yapmaktadır. Nişasta, glikoz ve mısır özü yağı mısır bitkisinden elde edilmektedir, elde edilen bu ham maddeler ülkemizde ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Türkiye, mısır üreticisi ülkeler arasında önemli bir yere sahiptir. Özellikle Ortadoğu ülkeleri, ihtiyaç duydukları mısır ürünlerini ithal etmektedirler. Bu ülkeler arasında yer alan Türkiye, üretim potansiyelini gözden geçirerek üretimini hızlı bir şekilde artırması durumunda, öncelikle mısır bitkisini ithal etmekten kurtulacak daha sonra da mısır ihraç edecek duruma gelebilecektir.

2.2. Mısırın Genetiği ve Evrimi

M.Ö. 5000'li yıllara dayanan buğdaygiller familyası ve mısırın üretimi birçok yazılı eski kaynaklarda bulunmaktadır (White, 2001). Teosinte'yle akrabalık bağına sahip mısırın, birçok morfolojik özelliğinin evrim sayesinde geliştiği düşünülmektedir (Mangelsdorf, 1974; Brown ve Goodman 1977).

Meksika, Orta ve Güney Amerika yerlilerince mısırın primitif populasyonları arasından seleksiyonla günümüze ulaşan modern mısır genotipleri elde edilmiştir. Bu ayrışımı sayesinde birçok gıda, içecek ve ilaç üretiminde kullanılan mısır, kimyasal bileşenleri ve içeriği bakımından spesifik özelliklere sahip olmuştur (White, 2001).

Çiçeklenme şekli (tek çenekli olması) sayesinde diğer buğdaygillerden farklılık gösteren mısırın, çiçeklenme şekli bakımından ise kendisine benzeyen tek bitkinin Teosinte olduğu bilinmektedir (Anonim, 2017).

Wilkes (2004) yaptığı çalışmada, Meksika ve Guatemala'da bulunan teosinde bitkisi, yabancı bitki sınıflaması içerisinde mısıra akrabalık yönünden yakın bir bitki olduğunu ve Meksika'ya özgü teosintenin bu özellikleri sayesinde mısır bitkisinin, teosin kökenine dayandığı bildirmektedirler. Zea ($2n = 20, 40; x = 10$) bitkisine ait türler arasında mısır ve Teosinte yer aldığını ve Amerika'ya ait doğal bir bitki olan ve dağılım merkezi Meksika'da bulunan Tripsacum ($2n=36, 54, 72 x=9$) türünün Zea cinsiyle yakın akrabalığı bulunduğunu ayrıca Tripsacum cinsi içerisinde 20'e yakın tür ihtiva ettiğini bildirmektedir.

Mangelsdorf (1974) çalışmasında, Tripsacum ve mısır çeşitleri arasında gerçekleştirilen melezlemelerde, söz konusu iki türede has kromozomlar arasında parçaların yer değişimi söz konusu olmasına rağmen F_1 bitkileri arasında büyük oranda kısırlığın olduğunu belirtmiştir.

Wilkes (2004) yürüttüğü çalışmada, melezlemenin kolaylıkla yapılabildiği Mısır ve Teosinte türleri arasında meydana gelen melezlerde bir sonraki generasyonlar fertil olabileceğini; Tripsacum ile Teosinte arasında yapılan melezlemelerde başarılarının oldukça düşük olduğu vurgulamıştır.

Iltis ve ark. (1979) nesilleri tükenme aşamasına ulaşmış olan çok yıllık diploid Teosinte türünün 1970'lerin sonuna doğru Meksikanın Jalisco dağlarında keşfedildiğini belirtmişlerdir.

Wilkes (1982), Iltis ve ark. (1979) tarafından belirtilen keşfedilmiş olan bu yeni türün Tripsacum ile Teosinte türleri arasında gerçekleştirilen melezlemelerde mevcut problemlerin, söz konusu yeni türün kullanımıyla ortadan kaldırabildiğini belirlemiştir.

Eubanks (2001) *Tripsacum* x *Teosinte* (*Zea diploperennis*) melezlenmesi neticesi meydana gelen dölerin fertil olduğunu ve oluşan bireylerin başak yapısının arkeolojik kazılardan elde edilen prototip koçanlara benzediği belirtmiştir.

Wilkes (2004) yaptığı çalışmada, *Tripsacum*'un mısır bitkisinin evrim süreci içerisindeki önemliliğini ortaya koyarak, uzak akrabalar olmasına rağmen *Tripsacum* *Zea* cinsiyle ortak genetiğe sahip olduğunu belirtmiştir.

Rebourg ve ark., (2001) Fransa'nın INRA araştırma merkezinde Avrupa'nın geleneksel 130 yerel mısır populasyonlarıyla yapmış oldukları çalışmada 19 morfolojik özellik incelemişler ve 29 RFLP lokusu kullanarak moleküler analiz yapmışlardır. Genetik çeşitliliğin (H_e) 0.55 olduğunu tespit etmişlerdir. Moleküler verilerle morfolojik verilerin birbirlerini desteklediklerini ve meydana gelen dendogramın Kuzey ve Güney Avrupa populasyonlarını ayırdıklarını göstermişlerdir.

Beyene ve ark., (2005) Etiyopya'nın taban arazilerine adapte olmuş 62 yerel mısır populasyonunda, 15 morfolojik niteliğin yanı sıra moleküler seviyede, 8 AFLP primer kombinasyonu ve 20 SSR lokusunu kullanmak suretiyle genetik çeşitliliği araştırmış ve uygulanan yöntemleri karşılaştırmaya tabi tutmuşlardır. Populasyonlar arasındaki incelemeye tabi tutulan bütün özellikler (tepe püskülü çıkarma süresi, bitki boyu, koçan yüksekliği, yaprak boyu, yaprak genişliği, yaprak sayısı, olgunlaşma süresi, koçan kalınlığı, koçan uzunluğu, koçanda sıra sayısı, sırada tane sayısı ve verim) açısından dikkate değer ölçüde farklar ortaya koymuşlardır. 8 AFLP primer kombinasyonunun toplamda 650 bant ve takribi 81.25 bant elde edilmiştir. SSR lokuslarında toplamda 98 allel ve takribi 4.9 allel elde edilmiştir. SSR lokuslarının tümünün, AFLP lokuslarının ise % 89.5'inin polimorfik özellik gösterdiğini belirtmişlerdir. SSR lokuslarının PIC (Polymorphism Information Content) değeri 0.06 ile 0.76 arasında değişiklik ortaya koyduğun ve ortalama PIC değerinin ise 0.61 olduğunu belirlemişlerdir. Moleküler ve morfolojik verilerin kümeleme analizinde populasyonların 3 gruba ayrıldığını bildirmişlerdir.

Shah ve ark., (2009) 10 primer seti kullanarak 17 farklı mısır genotipini SSR tekniği ile analiz etmişlerdir. Tüm bu çalışmaların sonucunda primer setleri olan p-umc1354, p-umc1984, p-umc1186, p-umc1325, p-umc2281, p-umc1586, p-umc1824 ve p-umc1154 genotip üzerindeki sırasıyla 2.90, 1.06, 2.00, 1.35, 1.50, 1.50, 1.00 ve 1.18

lokuslarda sırasıyla çoğaltılabilmektedir. İki SSR primeri olan p-mmc0411 ve p-umc1184 hiçbir lokus üzerinde çoğaltılamamıştır. Özet olarak 2 populasyonun genetik olarak birbirinden en farklı populasyonlar olduğunu tespit etmişlerdir.

Gurung ve ark., (2010) Nepal'de 4 adet açık dölenen mısır hatları arasından seçilen 60 genotip üzerinde 30 farklı primer kullanılan çalışmada, 415 allel saptanmışlardır. Araştırmada SSR'in genetik çeşitliliği tespit etmede etkin bir yöntem olduğunu belirterek; yapılan çalışmaya eşdeğer çalışmaların sürdürülmesi ise heterotik mısır grupları içerisinde taranan mısır genotiplerinin doğru olarak yerleştirilmesinin mısır ıslahı projelerinin başarıya ulaşmasında çok önem arz ettiğini belirtmişlerdir.

Kumar ve ark., (2012) SSR tekniği ile 91 mısır genotipini materyal olarak kullandıkları çalışmada, genotipler arasındaki farklılık oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar toplam 40 farklı primer kullanılarak toplam 124 allel üretilmişlerdir. Yaklaşık 0.55 PIC değeri eldesine göre genotiplerin oldukça polimorfik olduğu sonucuna ulaşılmıştır. RJR-247, RJR-159, NSJ-179, RJR-55 ve Z101-15 genotipleri en fazla genetik değişkenlik gösteren genotipler olarak bulunduğunu mısır ıslah programında kantitatif karakter lokus haritalaması yapılabileceğini belirlemişlerdir.

Daniel ve ark., (2012) Nijerya'da yaygın olarak tüketilmekte olan 2 hibrit mısır ve bunların kendilenmiş ebeveynleri arasındaki genetik farklılıkları SSR tekniği kullanarak araştırmışlardır. Araştırmacılar, 6 farklı primer kullanılan çalışmada her bir primerin genetik farklılığın belirlenmesi için uygun olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, SSR tekniğinin mısır hibritleri arasındaki genetik saflığın belirlenmesi için tavsiye edilebileceğini belirtilmiştir. Ancak çalışmada bu işlemin daha doğru sonuç verebilmesi için daha fazla miktarda tohum kullanılması gerekliliğini vurgulamışlardır.

Nikhou ve ark., (2013) mısır hatlarının genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde ve ıslah hatları arasındaki ilişkinin ortaya konmasında SSR'in çok etkin bir metot olduğunu dikkatle vurgulamışlardır.

Micic ve ark., (2015) 3 at dişi ve 3 sert mısır agro-ekolojik alt gruplarına ait olan 18 farklı mısır çeşidi arasındaki genetik varyasyonu tespit etmek için yaptıkları araştırmalarda, kullanılan 50 SSR primerinden sadece 10 tanesinin yerel mısırların genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde düşük masraflı ve uygun olduğunu saptamışlardır. Araştırmada morfolojik ve moleküler analizler arasındaki farklılıklardan dolayı;

genotipik ve fenotipik çalışmaların birlikte yapılarak doğru genetik çeşitlilik değerlendirmelerinin yapılabileceğini özellikle vurgulamışlardır.

2.3. Moleküler Markörler ve Mısır

Populasyonların sahip olduğu genetik yelpaze, morfolojik ve agronomik değerlendirme neticesi tespit edilen noksanlıkları, daha çok biyokimyasal markörler ile giderilebilmektedir. Söz konusu markörler, bilhassa izoenzimler, populasyonların genetik kompozisyonu ve bitki populasyonlarının genetik yapısının evrimsel sürecindeki biçimlenmesi hususundaki kullanışları bakımından önemli bir yere sahiptir. Mısır bitkisinde genetik markör olarak izoenzimler, oldukça ucuz olması (Stuber ve ark., 1988; Smith, 1989) sebebiyle çokça kullanılmıştır. Kodominant markör olması sebebiyle genetik analizler adına çokça kullanışlı olduğu görülmektedir. Maalesef, polimorfizm oranının düşüklüğü, söz konusu biyokimyasal markörün kullanımla ilgili alanını sınırlandırmıştır. Ayrıca, mısır bitkisinde izoenzimler kullanılmak suretiyle yapılan çoğu genetik yelpaze araştırması bulunmaktadır.

Son 20 yıldan bu yana birden çok moleküler markörler için teknikler üretilmiş olup; bunların bazıları RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polimorphic DNAs), AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphisms), SSR (Simple Sequence Repeats) ve SNP (Single Nucleotide Polymorphism)'dir. Bu markörler, birçok bitki türünde başarıyla kullanılmaktadır. Moleküler markörler çevreye bağlı etkenlerden etkilenmeleri söz konusu olmaması sebebiyle morfoloji ve pedigri bilgileri ile kıyaslandığı zaman, genetik kaynaklardaki çeşitliliğin tespiti adına bir hayli avantajlı araçlar olarak kabul edilmektedirler. Bir moleküler markör, kalıtımı güvenli bir biçimde belirlenmesi kolay olan; bir protein ve DNA değişkeni içermektedir (Jones ve ark., 1997). Pedigri ve morfolojik bilgiler ile kıyaslama yapıldığında moleküler markörler, genotipler arasındaki farkları, gen kaynaklarının korunumunu ve kullanımı adına DNA seviyesinde doğrudan güvenilebilecek ve etkili olabilecek bir araç olarak meydana çıkmaktadır. Neticede, araştırmacılar, genetik yelpaze araştırmalarında moleküler markörleri çoğu bitkiye adapte etmeyi başarmışlardır.

Warburton ve ark. (2005) CMMYT'ce geliştirilmiş ve genetik bakımdan farklılıklar ortaya koyan 218 saf mısır hattını 32 RFLP markörünü kullanmak suretiyle;

1) barındırdığı genetik yelpazeyi meydana çıkarmak, 2) markör verileriyle kümeleme analizlerini gerçekleştirmek ve potansiyel heterotik gruplarını meydana getirmek ve 3) her heterotik grup içerisindeki en iyi temsili sağlayabilecek test edici/leri tespit etmek adına analizler gerçekleştirmişler ve yüksek oranda allelik varyasyon tespit etmişlerdir. Gerçekleştirdikleri kümeleme analizi neticesinde mısır hatları, ne fenotipe, ne çevresel adaptasyona ne dane tipi veya rengine ne de olgunlaşmaya bağlı bir gruplara ayrılma olmadığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, RFLP DNA analizinde aşırı miktarda DNA'ya ihtiyacın duyulması ve uygulama bakımından zorlukları gibi dezavantajlarının var olduğunu belirtmişlerdir.

Jones ve ark., (1997) PCR'a dair RAPD, AFLPs ve SSR gibi markör sistemlerinin giderek artan bir biçimde RFLP'nin yerini aldığını söz konusu sistemlerin her bireyde sınırsız sayıda markör analizleri gerçekleştirmeyi olanaklı hale getirdiğini bildirmişlerdir.

Moeller ve Schaal (1999) yaptıkları araştırmada, 15 yerel Amerikan mısır popülasyonunu RAPD markör yöntemi ile 11 primer analiz etmek suretiyle genetik varyasyonu çalışmışlar ve ortalama polimorfizmi %70.7 olarak tespit etmişlerdir. RAPD metodu, ucuz ve kolay uygulanması mümkün olan ve kısa süre içerisinde netice alınabilecek bir metod olmasına karşın; güven verici neticeler üretememesi ve söz konusu neticelerin laboratuvarlardan laboratuvara değişiklik göstermesinden ötürü kullanımı fazlaca tercih edilen bir metod olmadığı çoğu araştırmacı vasıtasıyla bildirmiştir.

Warburton ve ark., (2002) PIC değerinin 0.46 ile 0.85 aralığının da farklılıklar ortaya koyduğunu saptamışlardır. 85 SSR içerisinde 53 tanesinin mısır genotiplerinde parmak izlerini çıkarma işleminde kullanımının sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Gerçekleştirdikleri kümeleme analizinde popülasyonların 3 gruba ayrılıp ve bunlara ek biçimde, popülasyon içi genetik varyasyonun popülasyonlar arasındakinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kozhukhova ve Sivolap, (2004) 17 tek melez ve 23 saf mısır hattında 10 SSR primeri kullanmak suretiyle parmak izi araştırması gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar gerçekleştirdikleri PCR analizlerinde kullanımı tercih edilen lokusların genotipleri ayırma bakımından yeterli bilgiler ortaya koyduğunu bildirmişlerdir. SSR lokuslarından

elde edilen allel sayısının 2 ile 5 aralığında farklılık ortaya koyduğunu, ortalama allel sayısının ise 2.8 olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar gen yelpazesi (He değeri) 0.40 ile 0.70 aralığında farklılık oluştuğunu, ortalamanın ise 0.53 olduğu sonucunu belirlemişlerdir. SSR analizinin, tekli melezler arasında her lokusta heterozigotluğu ortaya çıkarmasından ötürü ebeveynlerin tanımlanması işlemlerinde ve mısır genotiplerinin kataloglanması, korunması ve ıslahta kullanılması bakımından etkin bir metot olduğunu bildirmişlerdir.

Senior ve ark., (1998) ayrı iki orijinli (Mısır Kuşağı Bölgesi ve Güney Mısır Kuşağı Irkları) 94 kendilenmiş mısır hattı ile genetik farklılıklarını ortaya koydukları çalışmada 70 SSR primeri (mısır genomuna iyice dağılmış şekilde) kullanmışlardır. Araştırmacılar, PCR ürünlerini yüksek çözünürlük agaroz jele yüklemesini yapıp yatay elektroforez uygulayarak oluşturmuşlar. Allel sayısının 2 ile 23 aralığında farklılık ortaya koyduğunu; lokus başına düşen yaklaşık allel sayısının 5 olduğunu ve toplam allel sayısının ise 365 olduğunu bildirmişlerdir. SSR lokusları için PIC değerinin 0.17 den 0.92 ye değin farklılık ortaya koyduğunu, ortalama PIC değerinin 0.59 olduğunu; allel büyüklüğünün ise 74 bp (baz çifti) ile 266 bp aralığında değişikliğe uğradığını tespit etmişlerdir. Çalışma yaptıkları materyalde, bilinen pedigriler ile genetik uzaklığın uygunluk gösterdiği bildirmişlerdir.

Laborda ve ark., (2005) yaptıkları araştırmada, 85 tropik kökenli mısır saf hattında SSR primeri kullanmak suretiyle, söz konusu hatların parmak izini tespit etmişlerdir. SSR lokuslarını genomu en mükemmel biçimde temsilini sağlayacak şekilde mısır kromozomlarının 10'una dağılmış bir vaziyette uygulamasını yapmışlardır. Toplam 262 band ve yaklaşık 5.2 allel tespit etmişlerdir. SSR için PIC değeri 0.24 ile 0.90 aralığında bulunur iken yaklaşık PIC değerini 0.61 şeklinde tespit etmişlerdir.

Mawgood ve ark., (2006), 3 kendilenmiş ve bunlardan elde edilen 2 hibrit mısır kullanarak; hibrit mısırın tanımlanmasını sağlayarak; DNA markörleri geliştirdiklerini bildirmişlerdir.

Legesse ve ark., (2007) mısır hatlarının genetik eşitliliğinin belirlenmesinde ve ıslah hatları arasındaki ilişkinin ortaya konmasında SSR'ın çok etkin bir metot olduğunu dile getirmişlerdir.

Munis ve ark., (2009) mildiyö'ye karşı sağlam ve dayanıklı genotiplerin seçimi için SSR tekniğini uyguladıkları çalışmalarında, toplam 30 genotipi S3 generasyonunda incelemeye tabi tutmuşlardır. Toplam 30 primer kullanılan çalışmada, genotipler arasında incelenen özellikler bakımından 0.13 to 0.78 polimorfizm tespit etmişlerdir. 30 genotipin 17'sindeki hemozigotluk oranının %80'den fazla olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, 4 beyaz ve 15 sarı tohumu sahip mısırların, F₁ düzeyinde heterotik gruplar oluşturabilme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Abdellatif ve Khidr, (2010) Mısır genotiplerinin çeşitliliği üzerine yaptıkları çalışmada, farklı moleküler (RAPD, ISSR ve SSR) ve biyokimyasal markörler (protein analizi) kullanılarak mısır genotipleri arasındaki çeşitliliği tespit etmeye çalışmışlardır. Bütün moleküler ve biyokimyasal teknikler, genotiplerin genetik farklılıklarının ortaya konmasında faydalı olurken; SSR genetik çeşitliğin belirlenmesinde avantajlı metot olduğunu belirtmişlerdir.

Mienie ve ark., (2013) yerel mısır genotiplerinin parmak izinin belirlenmesi için SSR tekniğini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 80 markör kullanılarak toplamda 1874 allel (her bir lokusta 23.4 allel) tespit edilmiştir.

Elçi ve Hançer, (2014) Moleküler markör teknolojisinin, ürün geliştirilmesi için hızlı, etkin, doğru ve uygun bir metot olarak karşımıza çıktığını belirtmişlerdir.

Drinic ve ark., (2012) SSR ve AFLP, RAPD ve RFLP tekniklerinin, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde çok daha etkili metotlar olarak ortaya çıktığını belirtmişlerdir.

Elçi ve Hançer, (2014) genetik olarak uzak ebeveynlerin ıslah çalışmalarında belirlenmesinin, ıslahçılar açısından hayati önem arz ettiğini; özellikle hibrit mısır üretiminde; genetik saflığın belirlenmesinin, başarılı bir hibrit tohum üretimi için temel şartların en başında geldiğini belirtmişlerdir. Mikrosatelit tekniği olarak bilinen SSR tekniğinin, ebeveyn genotiplerindeki allellerin kolayca belirlenmesini sağladığını ve aynı zamanda bu yöntemin "grow out test (GOT) yöntemi çok daha başarılı sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

Azeem ve ark. (2015) mısır genotiplerindeki farklılığı belirlemek için SSR ve SARP (the sequence-related amplified polymorphism) tekniklerinin karşılaştırmışlar; SARP tekniğinin 100 gr. tane ağırlığına göre genetik çeşitliliğin ve farklılığın

belirlenmesinde çok daha etkili bir metot olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre SARP markörleri bireylerin içindeki ve arasındaki varyasyonun araştırılmasında morfolojik niteliklere eşdeğer bir şekilde kullanılabileceği; bununla birlikte SSR'ın heterozigotluğun belirlenmesinde önemli bir yöntem olduğu dile getirmişlerdir.





3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan mısır yerel popülasyonları, 2015 yılının Şubat ayında, Artvin, Rize ve Trabzon illerinin mısır tarımı yapılan ilçelerinden merkez sayılabilecek ve özellikle farklı yükseltilerde ve birbirinden uzak kalan köylerinden, çiftçiler ile birebir görüşülerek, tohumluk olarak ayırdıkları mısırlardan toplanmıştır. Materyalin bir kısmı Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Fatih ÖNER'in yerel mısır koleksiyonundan temin edilmiştir. Materyallerin toplandığı bölgelere ait veriler (il, ilçe, köy, yükseklik ve koordinat) işlenerek tüm materyale kodlar verilmiştir. Örneğin; DZ-M-1 kodunda DZ, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi, M, mısır, 1 de sıra numarasını tanımlamaktadır. Kodlama işlemi rastgele olarak yapılmıştır. Karadeniz bölgesinden toplanmış 32 farklı yerel mısır genotip kullanımı tercih edilmiş olup materyal hususunda ayrıntılı bilgiler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir

Çizelge 3.1. Kullanılan mısır materyalinin ait kayıt no, bulunduğu yer, materyalin koordinatı ve bulunduğu yerin yüksekliğine ait değerler

KOD	İL	İLÇE	KÖY	YÜKSEKLİK	KOORDİNAT
DZ-M-1	ARTVİN	MURGUL	MERKEZ	467	41-17' 2" K 41-33' 52" D
DZ-M-4	ARTVİN	ARHAVİ	GÖNGÖREN	155	41-20' 25" K 41-16' 36" D
DZ-M-7	TRABZON	AKÇAABAT	MERKEZ	365	40-54' 59" K 39-29' 49" D
DZ-M-8	TRABZON	AKÇAABAT	MERKEZ	365	40-54' 59" K 39-29' 49" D
DZ-M-17	TRABZON	OF	MERKEZ	68	40-59' 46" K 39-42' 10" D
DZ-M-20	TRABZON	DÜZKÖY	ÇAYIRBAĞ	1120	40-50' 35" K 39-21' 0" D
DZ-M-32	RİZE	GÜNEYSU	ORTAKÖY	210	40-58' 3" K 40-37' 32" D
DZ-M-40	RİZE	HEMŞİN	HİLAL	437	41-0' 40" K 40-53' 11" D
DZ-M-44	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	396	41-22' 28" K 41- 36' 42" D
DZ-M-49	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	396	41-22' 28" K 41-36' 42" D
DZ-M-55	RİZE	ARDEŞEN	SESLİKAYA	324	41-8' 11" K 41-21' 22" D
DZ-M-63	RİZE	FINDIKLI	MERKEZ	100	41-16' 2" K 41- 11' 12" D
DZ-M-67	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	402	41-22' 26" K 41-36' 30" D

Çizelge 3.1. (devamı) Kullanılan mısır materyalinin ait kayıt no, bulunduğu yer, materyalin koordinatı ve bulunduğu yerin yüksekliğine ait değerler

KOD	İL	İLÇE	KÖY	YÜKSEKLİK	KOORDİNAT
DZ-M-68	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	402	41-22'26" K 41-36' 30" D
DZ-M-70	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	316	41-22' 51" K 41- 31' 37" D
DZ-M-73	ARTVİN	BORÇKA	DÜZKÖY	316	41-22' 51" K 41- 35' 35" D
DZ-M-90	AMASYA	GÖYNÜCEK	ULUSU	500	40-19' 58" K 35-28' 21" D
DZ-M-110	KARABÜK	OVACUMA	MERKEZ	528	41-28' 51" K 32-45' 34" D
DZ-M-117	AMASYA	MERKEZ	TAKUNCAK	510	40-42' 42" K 35-50' 40" D
DZ-M-128	AMASYA	MERKEZ	KOVABAYIR	550	40-38' 24" K 35-52' 44" D
DZ-M-145	ÇORUM	LAÇIN	GÖKGÖZLER	470	40-48' 55" K 34-51' 49" D
DZ-M-146	RİZE	GÜNEYSU	KIBLEDAĞI	242	40-57' 40" K 40-37' 51" D
DZ-159-2	DÜZCE	KAYNAŞLI	TAVAK	641	40- 44' 30" K 31-18' 24" D
DZ-M-169	SAKARYA	GÜMÜŞOVA	HALİLBEY	318	40-50' 16" K 30-52' 36" D
DZ-M-194-4	İZMİT	KANDIRA	HEDİYE	132	41-2' 16" K 29-57' 9" D
DZ-M-197	SAKARYA	AKÇAOCA	TAHİRLİ	51	41-3' 35" K 31-3' 33" D
DZ-M-199	ZONGULDAK	EREĞLİ	İZCEPINAR	242	41-14' 27" K 31-3' 24" D
DZ-M-205	ZONGULDAK	EREĞLİ	ÇAYLIOĞLU	257	41-14' 18" K 31-41' 4" D
DZ-M-206	ZONGULDAK	EREĞLİ	DÜZPELİT	303	41-15' 7" K 31-45' 21" D
DZ-M-207	ZONGULDAK	EREĞLİ	VAKIF	578	41-14' 55" K 31-33' 22" D
DZ-M-215	ZONGULDAK	ÇAYCUMA	KIŞLA	115	41-28' 51" K 32-3' 21" D
DZ-M-229	SAKARYA	GÜMÜŞOVA	HALİLBEY	318	40-50' 16" K 40-37' 51" D

3.1.2. Deneme Toprağının Özellikleri

Saksı denemisinde kullanan torflu toprak, nemli ve çok yağış alan yaz sıcaklarının düşük olduğu bölgelerde, göl yatakları, bataklık ve benzer su altındaki arazilerde yetişen bitkilerin su dibinde çökerek hava ile ilişkisi kesilmiş bir ortamda yüzyıllarca çürüyüp birikmesi ile oluşmuştur.

Saksı denemesinde kullanılan torflu toprağın fiziksel ve kimyasal nitelikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Saksı denemesinde kullanılan torflu toprağa ait fiziksel ve kimyasal özellikleri
(Anonim, 2017)

Test Paratresi	Test Düzeyi	Test Derecesi
Organik Madde (%)	80 - 85	
pH	5 – 6	
Çözünürlük		SUDA ÇÖZÜNMEZ
EC	215	
Kireç	0.9	
Nem	77	Kuru Yakma(105°C)
Su Tutma Kapasitesi	757	
Toplam N	0.525	
Eriyebilir P	0.41	
Eriyebilir K	39.4	

Araştırma hususunda saksı denemesi, 2017 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bitki yetiştirme odasında yürütülmüştür (Şekil.3.1- Şekil.3.2- Şekil.3.3).



Şekil 3.1. Saksı denemesinin ekim hazırlık aşaması



Şekil 3.2. Saksı denemesinin bitkilerinin çıkışı



Şekil 3.3. Saksı denemesinin genel görünümü

3.1.3. Yerel Mısır Genotiplerinin Verilerinin Değerlendirilmesi

Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde toplanan 32 yerel mısır genotiplerini çoğaltılan her mikrosatellit için ortalama allel sayısı, gen çeşitliliği (He) Nei (1978) ve Morgante ve ark., (1994)'in bildirdikleri yöntemle göre hesaplanmıştır. Kümeleme analizi ve diğer analizler PAUP-4 (Swofford, 1998) ve POPGEN (Yeh ve ark., 1997) paket programları kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Moleküler Analizler

3.2.1. Bitki Örneklerinde Genomik DNA Analizi

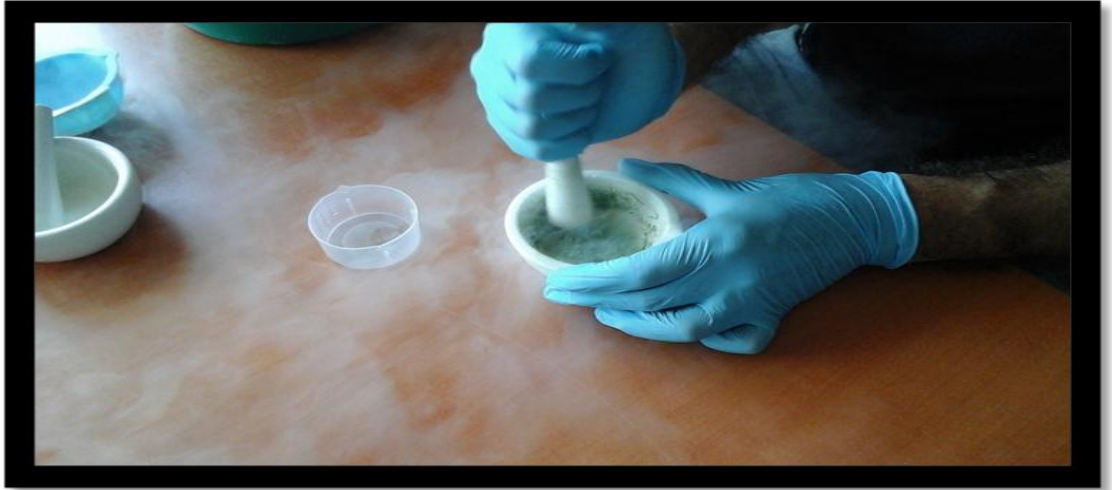
3.2.1.1. Yaprak Örneklerinin Hazırlanması

Her popülasyonu temsilen bitkilerin genç yapraklarından alınan toplam 0.8 gr bitki örnekleri, havanda sıvı azot içerisinde ezilerek un haline getirilmiştir. Ezilen örnekler, DNA izolasyonuna başlayıncaya kadar -80°C derecede muhafaza ve koruma altına alınmıştır.

3.2.1.2. DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu CTAB protokolü (Saghai-Maroo ve ark.1984; Doebley ve Stec, 1991)'ne göre gerçekleştirilmiştir. CTAB protokolü aşağıda yer alan şekilde uygulanmıştır.

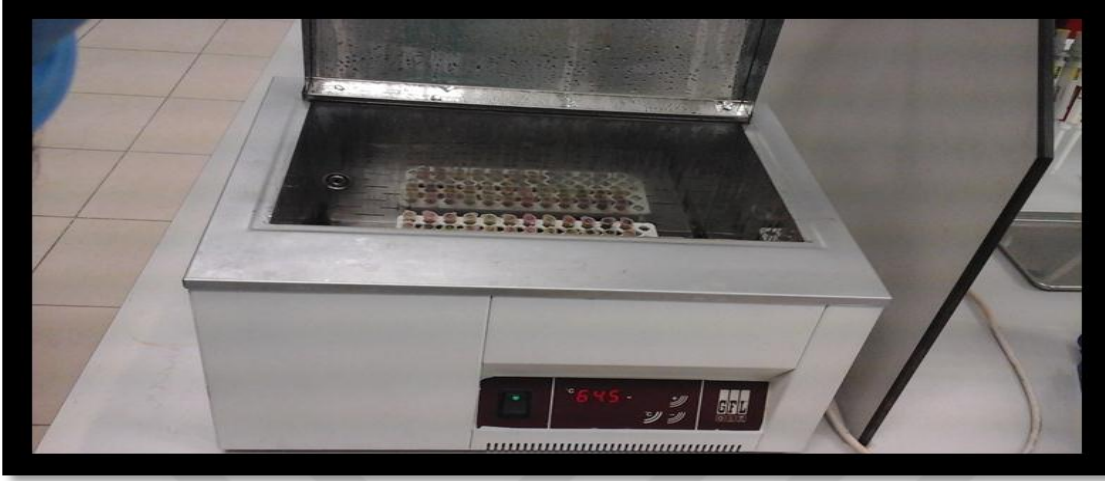
Bitkideki genç yapraklarından alınan örnekleri, havan içerisinde sıvı azotla ezilerek un haline getirilmiştir (Şekil 3.4). Un haline gelen bitki materyali 2 ml'lik eppendorf tüpünün içerisine konulmuş ve üzerine 0,7 ml CTAB tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Tampon çözeltisi ilave edilen örnekler 65°C ' de 1-1.15 saat su banyosunda beklemeye bırakılmıştır. Söz konusu süre zarfında örneklerin, her 10-15 dakikada bir elle çalkalanması yapılmıştır.



Şekil 3.4. Yaprak örneklerinin sıvı azotta ezilmesi

Su banyosundan çıkartılan örnekler, soğuması amacıyla oda sıcaklığında 10-15 dk. bekletilmiştir. Soğuması sağlanmış tüplere 0.7 ml kloroform (isoamil alkol karışım

çözeltisi) ilave edilmiş (24:1) ve 10-15 dk. süre boyunca yavaş bir şekilde elle çalkalanmıştır (Şekil 3.5).

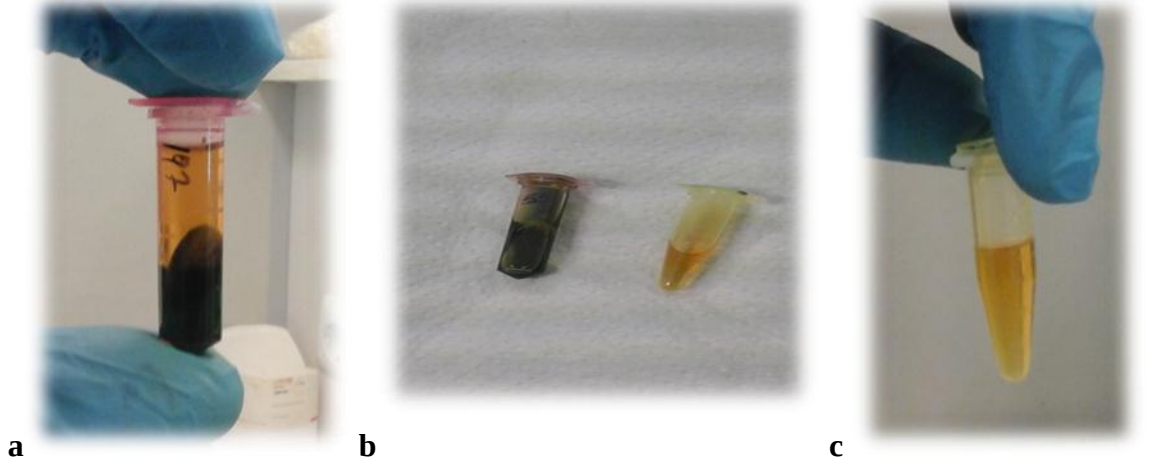


Şekil 3.5. Tampon çözeltisi eklenmiş örneklerin su banyosunda tutulması



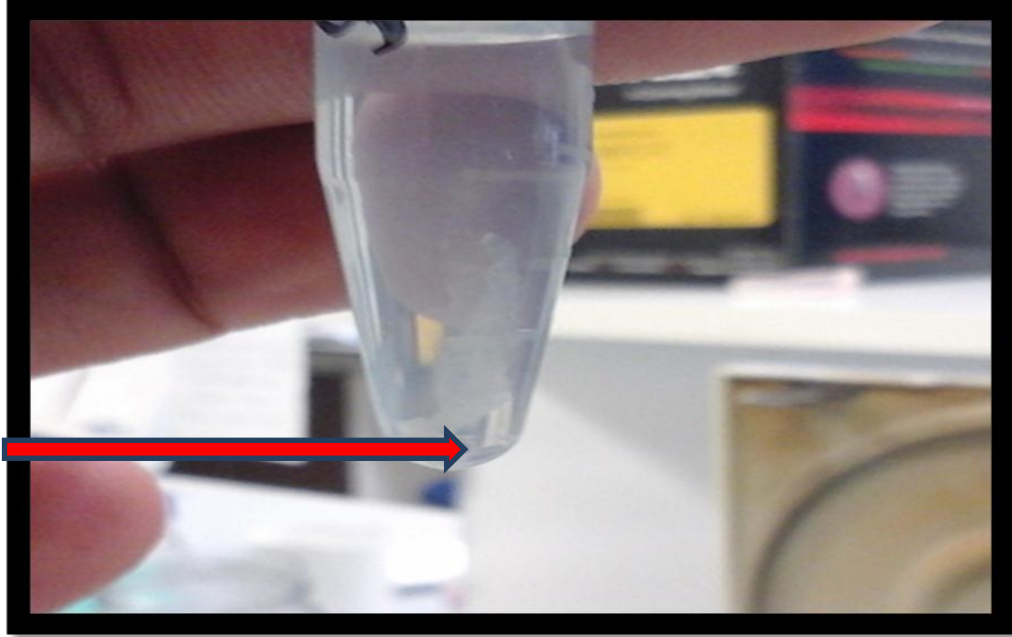
Şekil 3.6. Örneklerin iki faza ayrılmasını sağlamak amaçlı santrifüj aşaması

Daha sonra meydana gelen iki fazdan üst faz alınması sağlanmış ve elde edilen üst faz, 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılmıştır (Şekil 3.7. a-b-c).



Şekil 3.7. a) Santrifüj Sonrası Ortaya İki Faz Çıkar b) Üst Fazı Alınmış Örnek c) Üst Fazın 1.5 ml' lik Eppendorf Tüpe Aktarılması

Alınan üst fazı 1.5 ml' lik eppendorf tüpüne aktarılmış olup; tüpün üstüne 450 μ l isopropanol ilave edilmiş ve DNA'nın çökmesi sağlanmıştır. Çöken DNA'ların, içerisine 10 mM Ammonium Asetat yer alan % 76'lık etil alkolden 300 μ l ilave edilerek çalkalayıcı da 10-15 dk süre zarfında yıkanması sağlanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. 10 mM Ammonium asetat bulunan % 76'lık etil alkol eklenmiş tüpte DNA görünümü

10 mM Ammonium Asetat ile yıkanan DNA örnekleri 2-3 dk arasında 5000 rpm' de santrifüj yapılarak DNA'nın dibe çöktürülmesini sağlanmıştır. Daha sonra yıkama solüsyonu boşaltılmak suretiyle tüpün dibindeki DNA oda sıcaklığında 24 saat kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.9). Oda sıcaklığında kurutulan DNA örneklerine, 40 μ l

ddH₂O eklenerek DNA'nın çözülmesi sağlanmış ve kısa sürede elektroforez'de koşturma işlemine başlatacağımızdan dolayı +4°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.9. DNA'nın oda sıcaklığında 24 saat kurutmaya bırakılması

3.2.1.3. Agaroz Jel Hazırlanması

Aşağıda yer alan tabloya göre agaroz jel hazırlanmıştır (Çizelge 3.3'de). Jelin yoğunluğu için çalışılan materyaldeki bantlara göre karar verilmiş; küçük bantlar için daha az yoğun agaroz jel hazırlanmıştır.

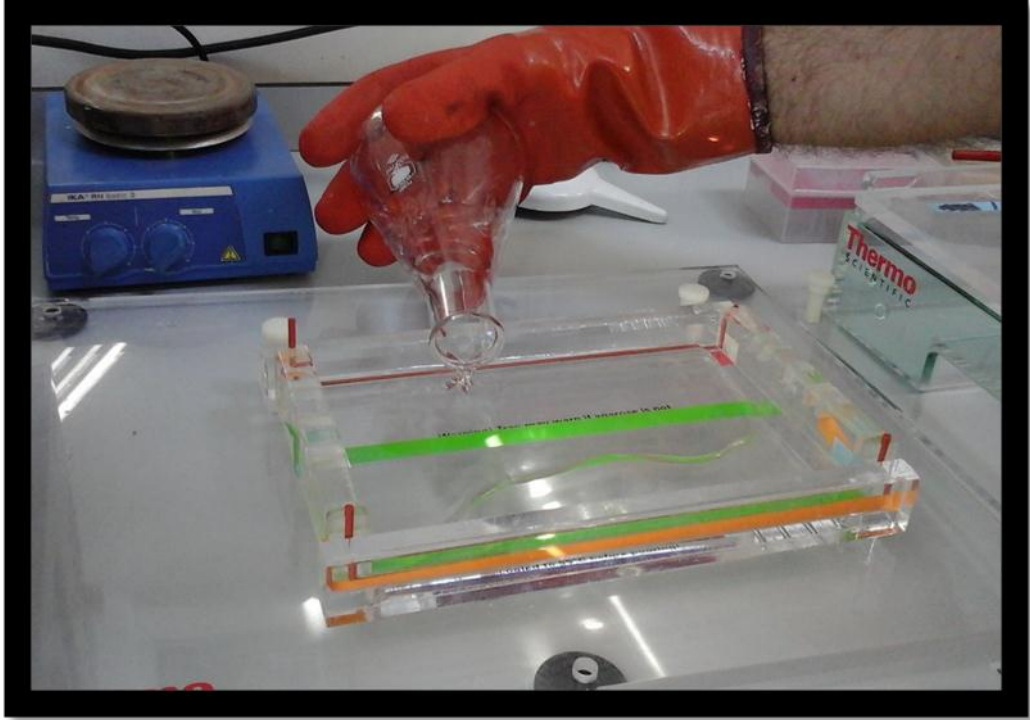
Çizelge 3.3. Agaroz jel hazırlanma tablosu

Model	Boyut	Hacim	%0.8	%1.5	%1.8	%2	%3	Tarak
D3-14	23*14 cm	160	1.3	2.4	2.9	3.2	4.8	25/50
A2	20*25 cm	250	2.0	3.7	4.5	5.0	7.5	24/36
A6	23*25 cm	290	2.3	4.4	5.2	5.8	8.7	25/50
A3-1	23*40 cm	460	3.7	6.9	8.3	9.2	13.8	25/50
Mini	8*10 cm	50	0.4	0.75	0.9	1.0	1.5	8/12
Midi	20*10 cm	130	1.1	2.0	2.3	2.6	3.9	22/40
Maxi	20*20 cm	260	2.1	3.9	4.7	5.2	7.8	22/40

Mısır için yapılan çalışmada % 0,8'lik agaroz jel hazırlanmış; bu hazırlama için 1.3 gr. agar tartılmıştır. Daha sonra 160 cm³ TBE çözeltisi üzerine eklenmiş ve mikro dalga cihazına konulmuştur. Mikrodalgadaki agar yaklaşık 1 - 1.5 dk aralarla kontrol edilerek çözünmesi sağlanmıştır.

Agar tamamen eriyip hiçbir beyaz tane içinde kalınmayana kadar mikrodalgada bırakılmıştır. Daha sonra alınarak çok soğuk olmayan akan su altında sürekli elde çevrilerek soğutulmuştur.

Bu soğutma işlemini yapmadan önce jel tankının denge ayarı yapılmıştır. Agar yeterince ılık hale geldikten sonra tankın üzerine bir noktadan tamamen dökülmüştür (Şekil 3.10). Jel dökülür dökülmez taraklar yerleştirilmiş ve agar soğumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.10. Agarın tankın üzerine bir noktadan tamamen dökülme aşaması

3.3. DNA Konsantrasyon Ayarı

DNA moleküler markör teknikleri ile çalışırken özellikle PCR'a dayalı kullanımı tercih edilen DNA konsantrasyonlarının ayarlanma aşaması bir hayli önemlidir. Bundan dolayı her bir genotipin PCR reaksiyonunda kullanılması uygun görülecek DNA miktarının ve kalitesinin iyi ayarlamasının yapılması gerekmektedir. Bu araştırmada

mısır genotiplerinin DNA kalitesini ve miktarını belirlenmek için, %0,8'lik agaroz jel ile konsantrasyonu 100 ve 200 ng'lık olan lamda (λ) DNA referans olarak kullanarak tahmini DNA konsantrasyonu belirlenmiştir.

Çalışmada kullandığımız genotiplerin DNA konsantrasyonunun tespit edilmesi adına her bir örnek için toplam hacmi 20 μ l olacak biçimde 2 μ l stok DNA, 4 μ l jel yükleme boyası (500 μ l/ml glycerol, 20 mM EDTA, 0.6 mg/ml bromophenol blue) ve 14 μ l saf su konulmak suretiyle örnekler hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanmış olan örneklerden 10 μ l'si, %0,8 konsantrasyondaki agaroz jel üzerindeki önceden hazırlanmış olan kuyucuklara yerleştirilmiş (Şekil 3.11.) ve elektroforezde 90 voltta 45-60 dk koşma işlemi uygulanmıştır. UV transilluminatör yardımı ile elde edilen DNA yoğunluk konsantrasyonu, lamda (λ)DNA'larla (100ng-200ng) karşılaştırılmak suretiyle tespit edilmiştir.

Genotiplerin her birinden elde edilen stok DNA konsantrasyonları belirlenmiştir. Stok DNA konsantrasyonlarına bakarak, PCR analizleri için her bir DNA örneğinin konsantrasyonu 10 ng/ μ l olacak biçimde ayarlanmıştır

Örneğin: DZ-M-1 çeşidi için = 300 ng tahmin edilmiştir.

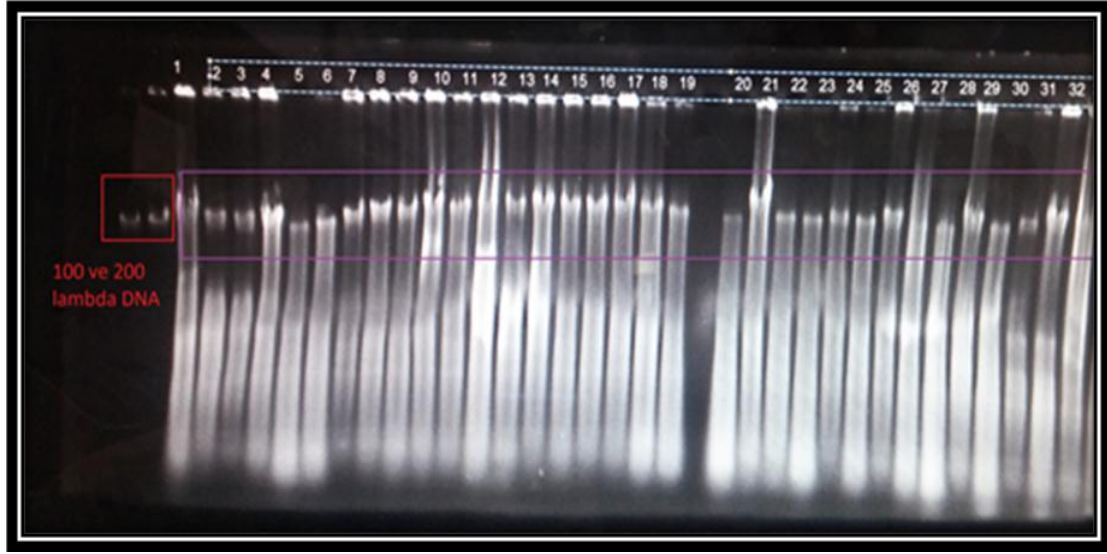
$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \longrightarrow 300 \cdot X = 10 \cdot 100$$

$$V_1 = 3.3 \quad 3.3 \mu\text{l} = \text{DNA}$$

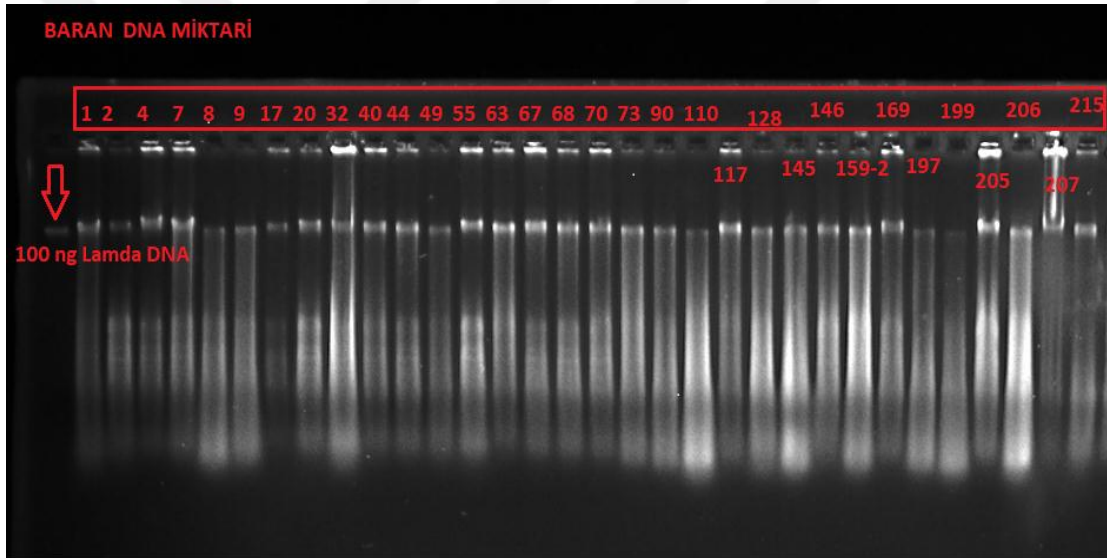
$$96.7 \mu\text{l} = \text{ddH}_2\text{O gereklidir.}$$

Yapılan işlemden sonra tekrar %0,8'lik agaroz jelde koşturma gerçekleştirilmiştir. Bunun için toplam hacmi 7 μ l olacak biçimde 5 μ l seyreltik DNA, 2 μ l jel yükleme boyası (5x) loadingdye konularak örnekler hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan DNA konsantrasyon örneklerin her birinden 7 μ l'sini agaroz jeldeki kuyucuklara yerleştirilmesi yapılmış ve 90 voltta 45-60 dk süreyle elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.12.).

Böylelikle her bir örneğin 10 ng olup olmadığının kontrolü sağlanmıştır. 10 ng'den fazla olan örneklere ultra saf su, az olan örneklere ise orantılı olarak seyreltilmiş DNA ilave ederek bütün örneklerin konsantrasyonunun 10 ng olması sağlanmıştır. Böylelikle bütün seyreltilmiş DNA örnekleri PCR analizi için hazırlanmıştır.



Şekil 3.11. % 0.8'lik agaroz jelde koşulmuş stok DNA örnekleri



Şekil 3.12. 10 ng'a ayarlanmış DNA örneklerinin %0.8'lik agaroz jelde koşulması

3.4. Kullanılan Mikrosatellit Primerler

Bazı yerel mısır populasyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan mısır genotiplerinin mikrosatellit bölgelerinde yer alan varyasyonun tespit edilmesi amacıyla <http://www.maizeGDB.org/> web sitesinden seçilen ve Çizelge 3.5'de DNA dizilimleri ve kromozomdaki yerleri verilen SSR primerlerin kullanımı tercih edilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

Çizelge 3.4. Araştırmada kullanılan SSR primerlerinin Adı, DNA dizilimleri ve bulunduğu kromozom

Primer Adı	DNA Dizilimi (5' den 3')	Bulunduğu Kromozom/ Segmenti
Umc1675	F-ATCGCGACGAGTTAATTCAAACAT R-TACGATGTCTTCAGTGTGACACCA	9.07
Phi022	F-GTTCTTCCTCTTCCCCATCAGTCT R-ATAGCTGCGCGTAAAGCAACC	9.00
bnlg1526	F- ACGAGCGAGTGGAGAATAGG R-AGCCCAGTACGTGGGGTC	10.04
bnlg1839	F-AGCAGACGGAGGAAACAAGA R-TCTCCCTCTCCCTCTTGACA	10.06
umc1743	F-TGGACTTCGAAAATTCTCTTCAGC R-GAGAGGAGGAGCTTCACGAGC	9.03
umc1993	F-CTTTTCTGCTACTCCTGCCTGC R-CTAGCTGATGGAGGCTGTAGCG	10.06
phi 032	F-CTCCAGCAAGTGATGCTGGAC R-GACACCCGGATCAATGATGGAAC	9.04
umc1571	F-GCACTTCATAACCTCTCTGCAGGT R-CACCGAGGAGCACGACAGTATTAT	9.04
umc1450	F-ACAGCTCTTCTTGGCATCGT R-GACTTTGCTGGTCAGCTGGT	7.03
umc1893	F-TCCAGTGCCACCCCTAGATAGTAA R-ACCCCAGAGTATCTCATCACCTT	9.02
umc1432	F-GGCCATGATACAGCAAGAAATGAT R-TACTAGATGATGACTGACCCAGCG	10.02
umc1279	F-CAATCCAATCCGTTGCAGGTC R-GATGAGCTTGACGACGCCTG	9.00
umc1129	F-GAGAGTATGCTACTCGCCGC R-GACGAGTTTGGAGTGCCATT	1.11
umc2016	F-AGAGACGACATGTCTATCCTTGCC R-ATTGCATTGCATTCAGCTGTTGT	10.03

*F:Forward

*R:Reverse

(.)'dan önceki rakam primerin bulunduğu kromozomu gösterir

(.)'dan sonraki rakam kromozom segmentini gösterir

3.5. SSR Analizleri

SSR analizlerinde elektroforez işlemleri kapiler elektroforez yöntemiyle ABI 3130xl otomatik genetik analizör cihazı kullanılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR amplifikasyon reaksiyonunun hacmi, 12,5 µl olarak

hazırlanmıştır. PCR reaksiyonu; 75 mM Tris-HCl, pH: 8.8, 20 mM (NH₄)₂ SO₄, 2.0 mM MgCl₂, %0.01 Tween 20, 200 -M dNTP, 20 nM, 5' ucunda M13 üniversal primeri eklenmiş ileri primer (ortalama 40 baz), 200 nM geri primer (ortalama 20 baz), 200 nM FAM, VIC, NED veya PET ile işaretlenmiş M13 üniversal primer, 0.7 ünite Taq DNA polimeraz ve 10-20 ng DNA içermektedir.

PCR döngü koşulları olarak ön denatürasyon 94°C'de 5 dk, 28 döngü boyunca denatürasyon aşaması 94°C'de 45 sn, primerin DNA'ya yapışma safhası 55°C'de (primer çiftine göre değişmek üzere) 45 sn, uzama safhası 72°C'de 1.5 dk ve 8 döngü zarfında denatürasyon aşaması 94°C'de 45 sn, primerin DNA'ya yapışma safhası 52°C'de 45 sn, uzama safhası 72°C'de 1.5 dk ve son uzama safhası da 1 döngü boyunca 72°C' de 5 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. SSR Analizlerinde Kapiller Elektrophorez Koşulları

Kapiller elektrophorez işlemi ABI 3130xl [Applied Biosystems Inc, Foster City, Calif, (ABI)] genetik analizör cihazı kullanılarak yapılmıştır. Kapiller elektrophorez için FAM, VIC, NED, PET flourosan boyalarıyla etiketli primerle yapılmış PCR reaksiyonlarından, her bir örnek için 0.5 µl PCR ürünü alınmış, 9.8 µl Hi-Di Formamid ve 0.2 µl LIZ-500 size standart ile birlikte bir kuyucuğa yüklenmiştir. Daha sonra 95°C'de 5 dk bekletilerek denatüre olması sağlanmış ve denatürasyon sonrası 5 dk da buzda bekletilerek DNA'nın tek iplikçik halinde ABI 3130xl cihazına yüklenmesi sağlanmıştır.

3.5.2. Mısır Bitkisinin Verilerinin Değerlendirilmesi

ABI analiz sonuçlarına bakarak polimorfizm durumuna göre 0 (yok) veya 1 (var) olarak derecelendirilmiştir. Daha sonra bir matriks oluşturularak genetik uzaklık Nei (1972;1973)'e göre aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$D = -\ln \left[G_{xy} / \sqrt{G_x G_y} \right]$$

$G_x = \sum p_i^2$,nin ortalaması (p_i =X populasyonuna ait i'ninci allelin frekansı)

$G_y = \sum q_i^2$,nin ortalaması (q_i = Y populasyonuna ait i'ninci allelin frekansı)

$G_{xy} = \sum p_i q_i$ 'nin ortalaması

3. MATERYAL ve METOT

Polimorfizm miktarının belirlenmesi, Baccaro ve ark. (2000) ile göre aşağıdaki formül yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bantların sayıları belirlenmiştir. Daha sonra bu bantların ayrı ayrı frekansları hesaplanmıştır. Formüle göre f_i , i bantının frekansıdır.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n \int_i^2$$

Aynı zamanda çoğaltılan her mikrosatellit için ortalama allel sayısı, gen çeşitliliği (H_e) Nei (1978) ve Morgante ve ark., (1994)'in bildirdikleri yöntemle göre hesaplanmıştır. Kümeleme analizi ve diğer analizler PAUP-4 (Swofford, 1998) ve POPGEN (Yeh ve ark., 1997) paket programları kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Moleküler (SSR) Analizler

Karadeniz Bölgesi'nin farklı lokasyonlarından toplanmış olan mısır genotiplerinin genetik çeşitliliğini belirlemek için Simple Sequence Repeat (Tek Dizili Tekrarlar) olarak bilinen markör analizi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan 32 mısır genotipi için toplam 22 farklı SSR primeri kullanılmıştır. SSR primerlerin seçiminde ana ilke olarak her kromozom bölgesi için en az bir primer belirlenmesi benimsenmiştir. Ancak kullanılan SSR primerlerinden sadece 14 tanesi bant vermiştir. Çalışmada bant veren SSR primerlerinin kromozom numarası, PIC (Polimorfizm Bilgi İçeriği) değerleri, ileri ve geri primer dizileri ve allel sayıları ise Çizelge 4.1 verilmiştir. Buna göre 32 yerel mısır popülasyonu için kullanılan 14 SSR primeri, toplam 42 allel meydana getirmiş; SSR lokusu başına ortalama 3 allel olduğu saptanmıştır. En fazla allel umc1571 lokusundan (6 allel), en az allel ise phi022 lokusundan (1 allel) elde edilmiştir. Çalışmada en büyük PIC değeri umc1450 lokusundan 0.95 olarak elde edilmiştir. En düşük PIC değeri ise PHI032 lokusundan 0.43 olarak elde edilmiştir.

Çalışmada kullanılan PIC değerinin hesaplanmasında kullanılan 14 SSR lokusuna ait bazı ABI sonuçları Şekil 4.1'de verilmiştir.

Senior ve ark., (1998) ayrı iki orijinli (Mısır Kuşağı Bölgesi ve Güney Mısır Kuşağı Irkları) 94 kendilenmiş mısır hattı ile genetik farklılıklarını ortaya koydukları çalışmada 70 SSR primeri kullanmışlardır. Araştırmacılar, PCR ürünlerini yüksek çözünürlük agaroz jele yüklemesini yapıp yatay elektroforez uygulayarak oluşturmuşlardır. Allel sayısının 2 ile 23 aralığında farklılık ortaya koyduğunu, lokus başına düşen yaklaşık allel sayısının 5 olduğunu ve toplam allel sayısının ise 365 olduğunu bildirmişlerdir. SSR lokusları için PIC değerinin 0.17'den 0.92'ye değin farklılık ortaya koymuşlardır.

Warburton ve ark, (2002) 85 SSR içerisinde 53 tanesinin mısır genotiplerinde parmak izlerini çıkarma işleminde kullanımının sağlanabileceğini belirtmişlerdir. PIC

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Kozmanova ve ark., (2004) 17 tek melez ve 25 saf mısır hattında 10 SSR primeri kullanmak suretiyle parmak izi araştırması gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar gerçekleştirdikleri PCR analizlerinde kullanımı tercih edilen lokusların, genotipleri ayırma bakımından yeterli bilgiler ortaya koyduğunu bildirmişlerdir. SSR lokuslarından elde edilen allel sayısının 2 ile 5 aralığında farklılık ortaya koyduğunu, ortalama allel sayısının ise 2.8 olduğu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar gen yelpazesinin (H_e değeri) 0.40 ile 0.70 aralığında farklılaştığını, ortalamanın ise 0.53 olduğunu belirlemişlerdir.

Laborda ve ark., (2005) üzerinde uğraştıkları bir araştırmada, 85 tropik kökenli mısır saf hattında SSR primeri kullanmak suretiyle söz konusu hatların parmak izinin tespitinde toplam 262 band ve yaklaşık 5.2 allel tespit etmişlerdir. SSR için ortalama PIC değerini 0.61 şeklinde tespit etmişlerdir.

Beyene ve ark., (2005) Etiyopya'nın taban arazilerine adapte olmuş 62 yerel mısır popülasyonunda, 20 SSR lokusunu kullanmak suretiyle genetik çeşitliliği araştırmışlardır. SSR lokuslarında toplamda 98 allel ve ortalama 4.9 allel elde etmişlerdir. SSR lokuslarının PIC (Polymorphism Information Content) değerinin 0.06 ile 0.76 arasında değişiklik ortaya koyduğunu ve ortalama PIC değerinin ise 0.61 olduğunu belirlemişlerdir.

Phumichai ve ark., (2008) 7 ticari tek melez mısır çeşidinde 64 SSR primeri ile yaptıkları araştırma sonucunda, 319 allel üretildiğini; allel sayısının 2-11 arasında değiştiğini ve lokus başına düşen ortalama allel sayısının 4.98 olduğunu bulmuşlardır.

Cheng-Lai ve ark., (2010) 112 SSR markörü ile yapmış oldukları çalışmada, PIC değerini 0,2053 ile 0,6446 arasında bulmuşlardır.

Liu ve ark., (2007) PIC değerinin, allel lokusların polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde kullanılan güçlü bir indeks olduğunu belirtmişlerdir.

Zeybekçioğlu, (2012) PIC değerinin, 0 ve 1 arasında değişen bir değer olmakla beraber, değerin 1'e yakın olmasının, alleller arasındaki varyasyonun büyüklüğüne işaret ettiğini belirtmiştir.

Gurung ve ark., (2010) Nepal'de 4 adet açık dölenen mısır hatları arasındaki 60 genotip, genetik çeşitlilik SSR tekniği kullanılarak incelenmiş; 30 farklı primer kullanılan çalışmada 415 allel saptanmıştır.

Kumar ve ark., (2012) 91 mısır genotipini SSR tekniği kullanılarak incelemiş ve toplam 40 farklı primer kullanarak toplam 124 allel tespit etmişlerdir.

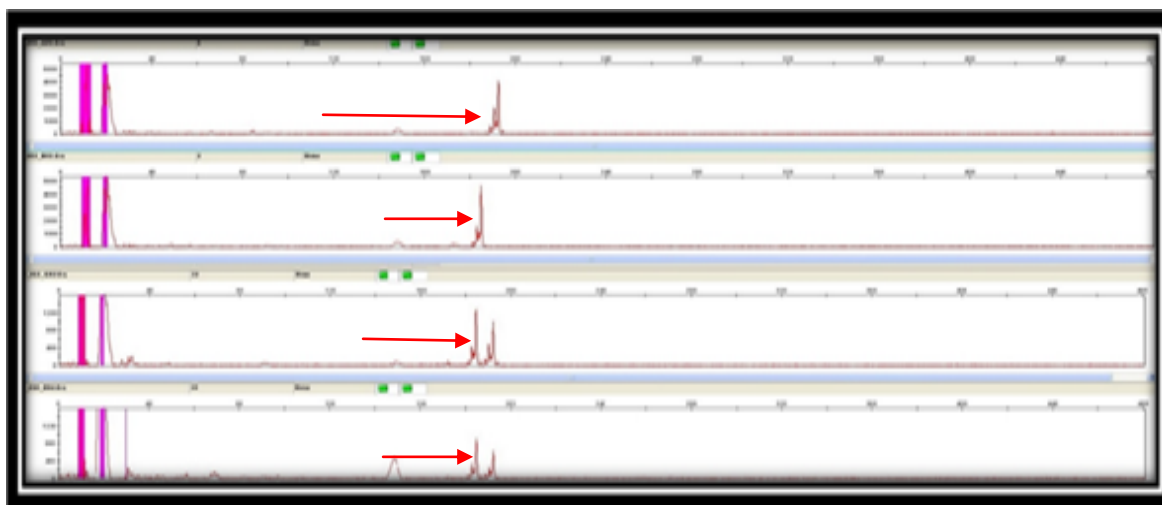
Mienie ve ark., (2013) yerel mısır genotiplerinin parmak izinin belirlenmesi için SSR tekniğini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 80 markör kullanılarak toplamda 1874 allel (her bir lokusta 23.4 allel) tespit etmişlerdir.

Avval, (2017) SSR primerlerinin, 96 tane mısır hattında 70 adet allel ürettiği lokus başına düşen allel sayısının 1- 24 arasında değerler aldığını ve ortalama her bir SSR lokusu başına 2.69 allel oluşturduğunu belirlemiştir PIC değerinin 0.04- 0.43 arasında değiştiğini; ortalama PIC değerinin 0,29 olduğunu belirlemiştir.

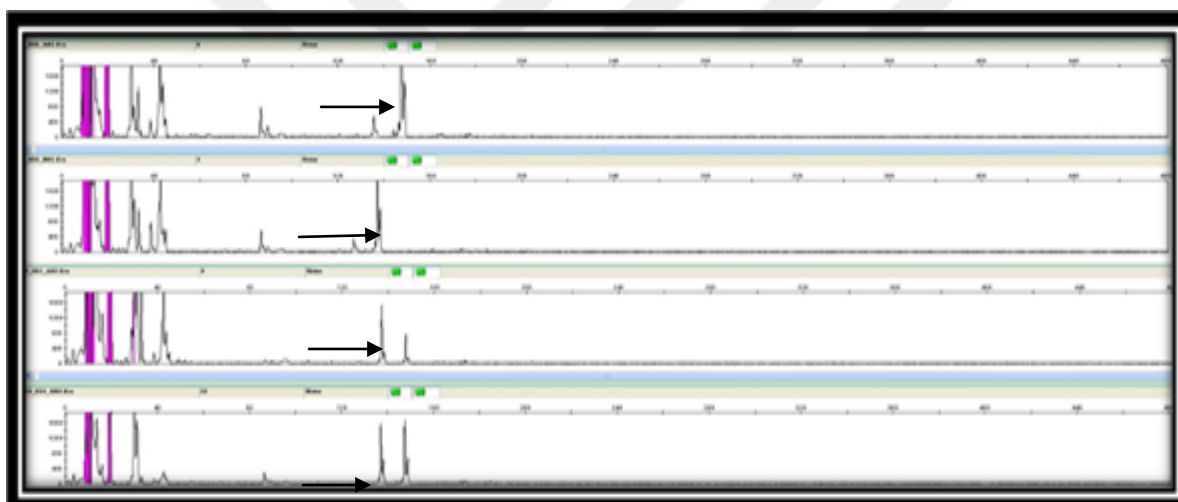
Çizelge 4.1 Araştırmada kullanılan SSR primerlerinin numarası, ileri (forward) ve geri (reverse)

Primerler	DNA Dizilimi (5' den 3')	Bulunduğu Kromozom	Allel Sayısı	PIC Değeri
Umc1675	F-ATCGCGACGAGTTAATTCAAACAT			
	R-TACGATGTCTTCAGTGTGACACCA	9.07	2	0.44
Phi022	F-GTTCTTCCTCTTCCCCATCAGTCT			
	R-ATAGCTGCGCGTAAAGCAACC	9.00	1	0.52
bnlg1526	F- ACGAGCGAGTGGAGAATAGG			
	R-AGCCCAGTACGTGGGGTC	10.04	3	0.61
bnlg1839	F-AGCAGACGGAGGAAACAAGA			
	R-TCTCCCTCTCCCTCTTGACA	10.06	2	0.50
umc1743	F-TGGACTTCGAAAATTCTCTTCAGC			
	R-GAGAGGAGGAGCTTCACGAGC	9.03	4	0.67
umc1993	F-CTTTTCTGCTACTCCTGCCTGC			
	R-CTAGCTGATGGAGGCTGTAGCG	10.06	2	0.58
phi 032	F-CTCCAGCAAGTGATGCTGGAC			
	R-GACACCCGGATCAATGATGGAAC	9.04	2	0.43
umc1571	F-GCACTTCATAACCTCTCTGCAGGT			
	R-CACCGAGGAGCACGACAGTATTAT	9.04	6	0.80
umc1450	F-ACAGCTCTTCTTGGCATCGT			
	R-GACTTTTGCTGGTCAGCTGGT	7.03	4	0.95
umc1893	F-TCCAGTGCCACCCCTAGATAGTAA			
	R-ACCCCAGAGTATCTCATCACCTT	9.02	3	0.62
umc1432	F-GGCCATGATACAGCAAGAAATGAT			
	R-TACTAGATGATGACTGACCCAGCG	10.02	5	0.79
umc1279	F-CAATCCAATCCGTTGCAGGTC			
	R-GATGAGCTTGACGACGCCTG	9.00	2	0.69
umc1129	F-GAGAGTATGCTACTCGCCGC			
	R-GACGAGTTTGGAGTGCCATT	1.11	3	0.73
umc2016	F-AGAGACGACATGTCTATCCTTGCC			
	R-ATTGCATTGCATTGAGCTGTTGT	10.03	3	0.65

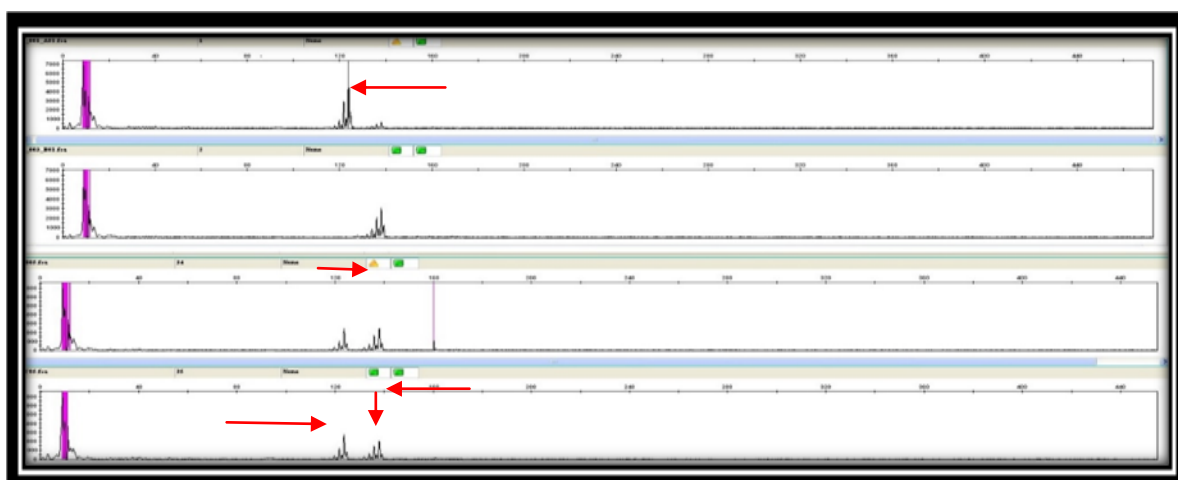
4. BULGULAR ve TARTIŞMA



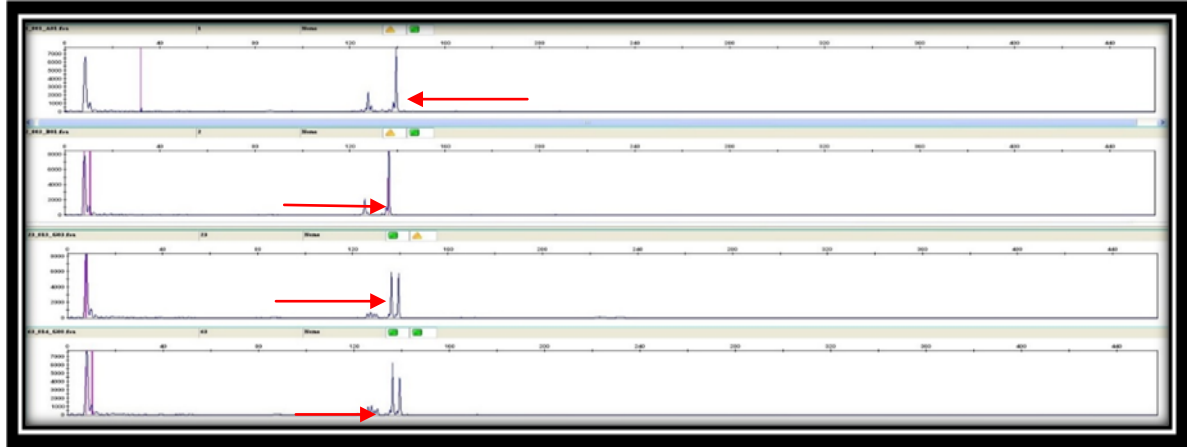
PHI022



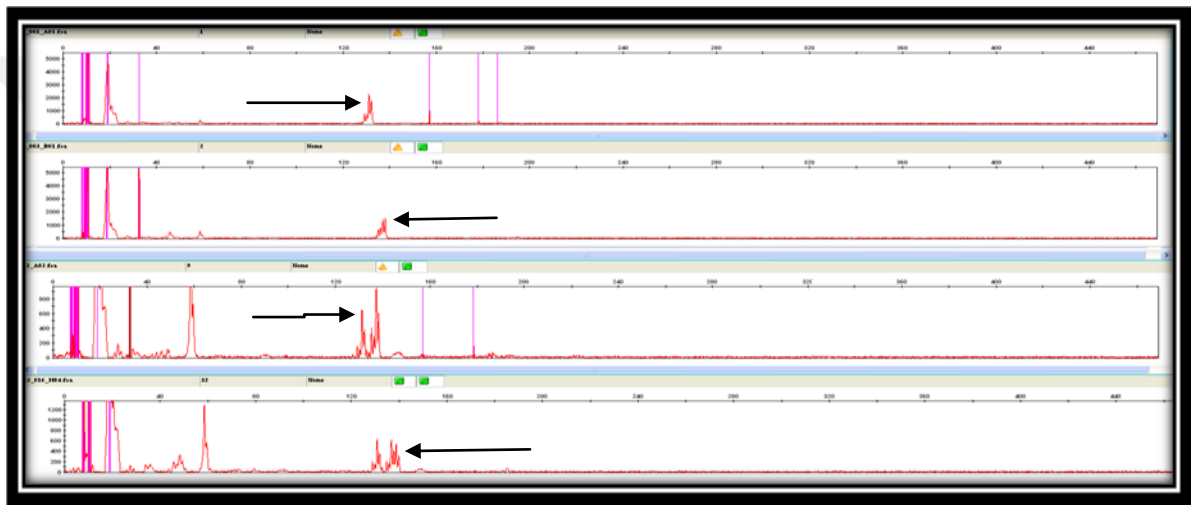
UMC1450



UMC1675



PHI032



UMC1571

Şekil 4.1. Yerel mısır populasyonlarına ait PHI022, UMC1450, UMC1675, PHI032 ve UMC1571 ABI primerlerinin amplifikasyon ürünleri

Nei'nin benzerlik katsayısı formülüne göre hesaplanmış olan değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Buna göre benzerlik katsayısı DZ-M-145 (Çorum) ve DZ-M-20 (Trabzon) arasında 0.29 olarak bulunmuştur. Bu durumda Çorum ve Trabzon genotiplerinin birbirine genetik olarak en uzak olduğunu göstermektedir. En yüksek benzerlik katsayısı ise 0.92 ile DZ-M-68 (Artvin) , DZ-M-55 (Rize) ve DZ-M-63 (Rize) genotipleri arasındaki değer olarak saptanmıştır. Buna göre Artvin ve Rize genotipleri birbirlerine genetik olarak en yakın olan genotiplerdir.

Phumichai ve ark. (2008), 7 ticari tek melez mısır çeşidinde SSR markırları ile yaptıkları genetik çeşitlilik çalışması sonucunda, aralarındaki genetik uzaklık katsayılarının 0,333-0,658 arasında değerler aldığını, ortalama değer ise 0,421

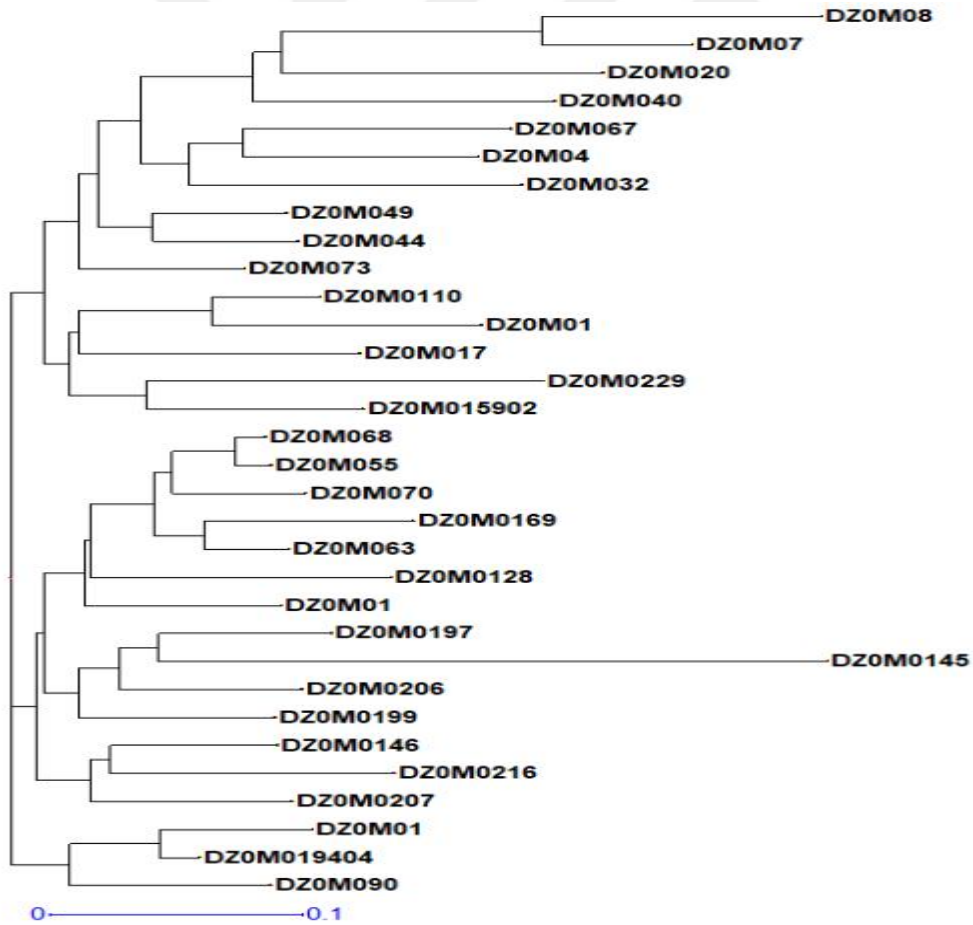
olduğunu tespit etmişlerdir. Pabendon ve ark. (2009), 34 mısır saf hattı ile yaptıkları araştırmada, hatlar arasındaki genetik uzaklık değerinin 0.23-0.83 katsayıları arasında değiştiğini, ortalama değerin ise 0.53 olduğunu bildirmişlerdir.



Çizelge 4.2. Popülasyonlar arasındaki benzerlik katsayıları

	1	4	7	8	17	20	32	40	44	49	55	63	67	68	70	73	90	110	216	128	145	146	159-2	169	194-4	197	199	205	206	207	215	229
1	1.00																															
4	0.55	1.00																														
7	0.54	0.63	1.00																													
8	0.67	0.50	0.76	1.00																												
17	0.74	0.72	0.51	0.59	1.00																											
20	0.54	0.63	0.71	0.58	0.63	1.00																										
32	0.51	0.67	0.59	0.35	0.61	0.70	1.00																									
40	0.61	0.69	0.64	0.64	0.75	0.64	0.53	1.00																								
44	0.67	0.77	0.62	0.54	0.78	0.67	0.80	0.72	1.00																							
49	0.61	0.67	0.50	0.56	0.65	0.60	0.63	0.58	0.79	1.00																						
55	0.64	0.55	0.54	0.50	0.68	0.59	0.67	0.61	0.73	0.77	1.00																					
63	0.72	0.60	0.63	0.55	0.68	0.73	0.72	0.65	0.77	0.72	0.85	1.00																				
67	0.53	0.74	0.56	0.52	0.67	0.72	0.71	0.68	0.76	0.70	0.74	0.74	1.00																			
68	0.70	0.62	0.60	0.56	0.69	0.65	0.74	0.63	0.79	0.79	0.92	0.92	0.81	1.00																		
70	0.67	0.63	0.57	0.53	0.75	0.67	0.76	0.68	0.84	0.75	0.88	0.88	0.82	0.90	1.00																	
73	0.70	0.68	0.55	0.52	0.80	0.67	0.70	0.78	0.85	0.69	0.72	0.76	0.67	0.73	0.82	1.00																
90	0.63	0.64	0.49	0.54	0.78	0.58	0.60	0.68	0.75	0.70	0.77	0.68	0.71	0.74	0.76	0.81	1.00															
110	0.67	0.51	0.44	0.51	0.62	0.50	0.58	0.50	0.62	0.65	0.74	0.69	0.67	0.76	0.72	0.58	0.67	1.00														
216	0.53	0.58	0.46	0.43	0.58	0.56	0.59	0.51	0.67	0.70	0.68	0.74	0.56	0.70	0.67	0.71	0.67	0.55	1.00													
128	0.61	0.62	0.56	0.48	0.73	0.56	0.68	0.67	0.74	0.68	0.81	0.76	0.70	0.83	0.79	0.73	0.74	0.70	0.70	1.00												
145	0.44	0.41	0.40	0.42	0.50	0.29	0.33	0.42	0.47	0.48	0.53	0.47	0.44	0.55	0.51	0.55	0.53	0.34	0.50	0.56	1.00											
146	0.68	0.57	0.47	0.60	0.71	0.64	0.62	0.65	0.76	0.76	0.70	0.74	0.68	0.76	0.72	0.79	0.72	0.63	0.73	0.75	0.40	1.00										
159-2	0.78	0.55	0.58	0.67	0.74	0.62	0.60	0.53	0.75	0.70	0.68	0.73	0.62	0.74	0.71	0.70	0.71	0.62	0.52	0.65	0.53	0.76	1.00									
169	0.58	0.63	0.56	0.48	0.63	0.56	0.53	0.60	0.67	0.65	0.74	0.79	0.61	0.76	0.72	0.67	0.67	0.55	0.67	0.70	0.50	0.68	0.67	1.00								
194-4	0.73	0.58	0.48	0.57	0.69	0.57	0.59	0.67	0.73	0.68	0.76	0.76	0.60	0.77	0.70	0.76	0.78	0.60	0.74	0.72	0.46	0.78	0.69	0.65	1.00							
197	0.58	0.58	0.56	0.62	0.58	0.51	0.53	0.55	0.67	0.70	0.74	0.68	0.67	0.76	0.67	0.63	0.76	0.67	0.67	0.70	0.50	0.68	0.62	0.61	0.70	1.00						
199	0.70	0.60	0.54	0.59	0.77	0.63	0.60	0.64	0.75	0.70	0.77	0.77	0.62	0.78	0.75	0.81	0.78	0.62	0.71	0.73	0.59	0.75	0.71	0.71	0.77	0.76	1.00					
205	0.65	0.62	0.52	0.53	0.73	0.61	0.68	0.63	0.78	0.73	0.80	0.80	0.74	0.82	0.87	0.84	0.78	0.70	0.74	0.81	0.56	0.78	0.69	0.74	0.72	0.70	0.85	1.00				
206	0.61	0.62	0.55	0.51	0.61	0.55	0.63	0.50	0.70	0.68	0.77	0.77	0.65	0.79	0.75	0.73	0.74	0.59	0.76	0.68	0.55	0.71	0.65	0.65	0.73	0.76	0.74	0.77	1.00			
207	0.71	0.59	0.49	0.58	0.74	0.62	0.60	0.57	0.67	0.65	0.68	0.68	0.57	0.70	0.62	0.74	0.75	0.67	0.67	0.70	0.42	0.84	0.79	0.62	0.78	0.67	0.75	0.69	0.65	1.00		
215	0.63	0.68	0.57	0.49	0.67	0.57	0.70	0.56	0.76	0.75	0.78	0.73	0.56	0.75	0.67	0.67	0.76	0.61	0.67	0.70	0.34	0.68	0.67	0.67	0.78	0.67	0.71	0.65	0.75	0.71	1.00	
229	0.67	0.68	0.56	0.62	0.63	0.62	0.53	0.51	0.67	0.70	0.58	0.63	0.56	0.59	0.62	0.63	0.67	0.55	0.50	0.50	0.31	0.64	0.71	0.61	0.60	0.61	0.62	0.56	0.59	0.67	0.72	1.00

UPMGA yöntemine göre Karadeniz Bölgesinden toplanmış popülasyonların dendogramı Şekil 4.2’de verilmiştir. Populasyon arasında akrabalık derecesini belirten dendogramın incelenmesi sonucunda yerel mısır genotipleri üç ana grup altında toplanmıştır. Birinci grup 15 popülasyondan meydana gelmiştir ve kendi içinde iki ana gruba ayrılmıştır. Birinci grubun alt grubu içinde DZ-M-4,DZ-M-7,DZ-M-8,DZ-M-20,DZ-M-32,DZ-M-40,DZ-M-44,DZ-M-49,DZ-M-67,DZ-M-73 genotipleri bulunurken birinci grubun ikinci alt grubunda ise DZ-M-01,DZ-M-17,DZ-M-110,DZ-M-159-2,DZ-M-229 genotipleri yer almıştır. İkinci ana grup 14 popülasyondan meydana gelmiştir ve kendi içinde 3 farklı alt gruba ayrılmıştır. İkinci grubun birinci alt grubu içerisinde DZ-M-55,DZ-M-63,DZ-M-70,DZ-M-128,DZ-M-159-2, İkinci grubun ikinci alt grubu ise DZ-M-145,DZ-M-197,DZ-M-199,DZ-M-206 ve ikinci grubun üçüncü alt grubu içerisinde ise DZ-M-146,DZ-M-207,DZ-M-216 genotipleri yer almıştır. Üçüncü ana grupta ise DZ-M-01,DZ-M-90,DZ-M-194-4 genotipleri yer almıştır.



Şekil. 4.2. Karadeniz Bölgesinden toplanmış genotiplerin UPGMA yöntemine göre çizilmiş dendogramı

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesine ait 32 farklı yerel mısır popülasyonunun genetik çeşitliliği, SSR markörü kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçları aşağıda sıralanmıştır.

- 32 yerel mısır popülasyonu için 14 SSR primeri kullanılmış ve toplam 42 allel elde edilmiştir. SSR lokusu başına ortalama 3 allel olduğu saptanmıştır. En fazla allel umc1571 lokusundan (6 allel); en az allel ise phi022 lokusundan (1 allel) elde edilmiştir.
- En büyük PIC değeri umc1450 lokusundan 0.95 olarak elde edilmiştir. En düşük PIC değeri ise phi032 lokusundan 0.43 olarak elde edilmiştir.
- Çorum ve Trabzon genotiplerinin, birbirine genetik olarak en uzak popülasyonlar olduğu; buna karşın Artvin ve Rize popülasyonlarının birbirlerine genetik olarak en yakın olan popülasyonlar olduğu saptanmıştır.
- İleride yapılacak bilimsel çalışmalarda araştırmacılar, çalışmamızda kullandığımız SSR markörlerinin seçimine bakarak kendi çalışmaları için daha uygun SSR markörleri seçebileceklerdir.
- Elde edilen bulgular sonucunda araştırmacıların yapacakları çalışmalarda emek ve maliyet kaybı azalacaktır.
- Hibrit tohum endüstrisi, araştırmamızda kullanılan genotiplerde belirlenmiş olan polimorfik allel lokuslarını ve genetik benzerlik durumlarını dikkate alarak gelecekte daha etkin ve verimli ıslah çalışmaları yürütebilirler.
- Buna benzer çalışmalar ayrıca bölgeye ve iklime adaptasyonu yüksek yeni mısır hatlarının oluşturulmasına katkı sağlayabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER



6. KAYNAKLAR

- Abdellatif K. F., Khidr Y. A. 2010. Genetic Diversity of New Maize Hybrids Based on SSR Markers as Compared with Other Molecular and Biochemical Markers. J. Crop Sci. Biotech. 13 (3) : 139 145
- Anonim, 2017. <http://www.mavifidan.com/faydalibilgidty.phpbilgiID=8>
- Anonim, 2017. <http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt.id=1001>
- Anonim, 2017. <https://mgm.gov.tr/tahmin/il-ve-ilceler.aspx?il=Diyarbakir>
- Anonim, 2017. http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=26263
- Azeem M. A. Hashem M. H., Haleem S. . M. A. 2015. Detection of genetic variability in Zea mays in bred lines using SSR and SRAP markers. Egypt. J. Genet. Cytol., 44:291-307.
- Beyene Y., Botha A.M. and Myburg A.A. 2005. A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize, African Journal of Biotechnology 4(7), 586-595
- Brown W. L. And Goodman, M. M., 1977. Races Of Corn, In Corn And Corn Improvement. Sprague, G.F. Ed., Amer., Soc. Agron., Inc., Madison, W1, , 49
- Cheng- Lai, W., Qian-Qian, Z., Bing-Xue, D., Sheng-Fu, L., Chun-Qing, Z., 2010, Analysis of genetic structure and relationships of maize inbred lines in China, **ScienceDirect**, 36(11):1821-1831.
- Cömertpay G. 2008. Yerel mısır populasyonlarının morfolojik ve DNA moleküler işaretleyicilerden SSR tekniği ile karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana
- Ching, A., K. S. Caldwell, M. Jung, M. Dolan, and O. S. Smith 2002. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. BMC Genet. 3 (19): 1-14.
- Daniel I. O., Adetumbi J. A., Oyelakin O. O., Olakojo A. A., Ajala M. O., Onagbesan S. O., 2012. Application of SSR Markers for Genetic Purity Analysis of Parental Inbred Lines and Some Commercial Hybrid Maize (Zea mays L.). American Journal of Experimental Agriculture 2(4): 597-606
- Drinic Snezana Mladenovic, Violeta Andjelkovic and Dragana Ignjatovic Micic (2012). Genetic Diversity of Maize Landraces as Sources of Favorable Traits, The Molecular Basis of Plant Genetic Diversity, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0157-4, InTech.
- Doebley J.F. and Stec A., 1991. Genetic Analysis of morphological differences between Maize and Teosinte, **Genetics**, 129, 285-295
- Elçi E., Hançer T., 2014. Genetic Analysis of Maize (Zea mays L.) Hybrids Using Microsatellite Markers. Journal of Agricultural Sciences, 21:192-198
- Earle, F. R., Curtis, J.J, Hubbard, J. E., 1946. Composition of the component parts of the kernel . Cereal Chem. 23, 504

- Esquinaz- Alcazar J.T., 1993. Plant Genetic Resources, Plant Breeding: Principles and prospects. Edited by M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I. Romagosa. Published in 1993 by Chapman & Hall, London. ISBN 0 412 43390 7.
- Eubanks, MW. 2001. The Mysterious Origin Of Maize. *Economic Botany* 55: 492-514.
- FAO 2015. Faostat on-line statistical service. Rome: FAO. Available on-line at <http://faostat3.fao.org/home/E>.
- Farooq, S. And F. Azam, 2002. Molecular markers in plant breeding –I: Concepts and Characterization. Pakistan J. Of Biol. Sci. 5(10): 1135-1140
- Gurung D. B., George M. L. C. Cruz Q. D. D. C 2010. Analysis of Genetic Diversity within Nepalese Maize Populations Using SSR Markers. Nepal Journal of Science and Technology 11: 1-8.
- Inghelandt D. V., Melchinger A. E., Lebreton A., Stich B. 2010. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. Theor Appl Genet, 120:1289–1299
- Iltis and Doebley, J.F. , H.H. 1980. Taxonomy of Zea (Gramineae): I. A subgeneric classification with a key to taxa. *Am. J. Bot.* 67: 982-993
- Jones, N., Ougham, H. and Thomas, H. 1997. Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytologist* 137: 165-177
- Kozhukhova N. E. and Sivolap Yu. M. 2004. Identification and Registration of Maize Genotypes with the Use of Molecular Markers Russian Journal of Genetics, Vol. 40, No. 1, 2004, pp. 49–55. Translated from Genetika, Vol. 40, No. 1, pp. 59–66.
- Laborda, P.R.; Oliveira, K.M.; Garcia, A.A.F.; Paterniani, M.E.A.G.Z.; Souza, A.P. 2005. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? Theoretical and Applied Genetics, v.111, p.1288-1299.
- Legesse B. W., Myburg A. A., Botha A. M. 2006. Genetic diversity of maize inbred lines revealed by SSR markers. Hereditas 00: 18.
- Legesse B. W., Myburg A. A., K. V., Pixley, and S. Twunmasi-Afriyie. 2008. Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distnce in highland maize inbred lines. Euphytica 162:313-323.
- Lubberstedt, T., A.E. Melchinger, C. Duble, M. Vuylsteke and M. Kuiper. 2000. Relationships mong early european maize inbreds: iv. Genetic diverty revealed with AFLP markers and comparison with RFLP, RAPD and pedigree data. Crop Sci. 40:783-791.
- Mawgood A. A. L., Ahmed M. M. M, Ali B. A. 2006. Application of molecular markers for hybrid maize (Zea mays L.) identification. Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.4 (2) : 176 - 178
- Mangelsdorf, P.C., 1974. Corn its origin Evolution and improvement Belknap Press Cambridge, MA

- Messmer, M. M. Melchinger, J. Boppermaier, R.G. Herrmann and E. Brunklaus-Jung. 1992. RFLP analyses of early-maturing European maize germplasm: I. Genetic diversity among flint and dent inbreds. *Theor. Appl. Genet.* 83: 1003-1012
- Mienie C. M. S., Fourie A. P. 2013. Genetic diversity in South African maize (*Zea mays* L.) genotypes as determined with microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(2), pp. 123-133. 845-852.
- Micic-Ignjatovic D., D. Ristic, V. Babic, V. Andjelkovic and J. Vancetovic (2015): A simple SSR analysis for genetic diversity estimation of maize landraces. -*Genetika*, Vol 47, No. 1, 53-62.
- Muis A. Nonci N. Pabendon M. B. 2015. Genetic diversity of S3 maize genotypes resistant to downy mildew based on SSR markers. *Indonesian Journal of Agricultural Science* Vol. 16 No. 2, 79-86
- Mumtaz S., Nwaz R., Swati A. A. 2009. Genetic diversity of Pakistani maize genotypes using chromosome specific simple sequence repeat (SSR) primer sets. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (3), pp. 375-379, 4.
- Moeller, D.A. and Schaal, B.A. 1999. Genetic relationships among Native American maize accessions of the Great Plains assessed by RAPDS. *Theor. Appl. Genet.* 99:1061-1067.
- Morgante M., Rafalsky A., Biddle P., Tingey S., Olivieri A.M., 1994. Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci, *Genome*, 37, 763-769.
- Nei M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70, 3321-3323.
- Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89, 583-590.
- Nikhou F., Ebrahimi A., Shiri M. 2013. Genetic diversity assessment among Maize Hybrids with using SSR Markers. *Tech J Engin & App Sci.*, 3 (S): 3831-3834.
- Okumuş, A. 2007. Genetic variation and relationship between Turkish Flint Maize landraces by RADP markers *American j. Of Agric. and Biol. Sci.* 2(2): 49-53
- Phumichai, C., Douchan, W., Puddhanon, P., Jampatong, S., Grudloya, P., Kirdsri, C., Chunwongse, J. and Pulam, T., 2008, SSR based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand, *Field Crops Research*, 108: 157-162
- Pabendon, M.B., Mejaya, M.J., Koswara, J., and Aswidinnoor, H., 2009, SSR-based genetic diversities among maize inbred lines and their relationships with F1 phenotypic data of MR4 and MR14 testcrosses, *Indonesian Journal of Agriculture*, 26:69-77.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S. and Rafalski A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis, *Molecular Breeding*, 2, 225-238
- Rebourg C., Gousnard B. and Charcosset A., 2001. Large Scale Molecular analysis of Traditional European Maize Populations. Relationship with Morphological Variation, *Heredity*, 86, 574-587.

Senior, M.L., Murphy, J.P., Goodman, M.M. and Stuber, C.W., 1998, Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system, *Crop Science*, 38 (4): 1088-1098.

Shanbao Q., Yuhua W. Tingzhao R., Kecheng Y., Shibin G., Guangtang P. 2009. Effective improvement of genetic variation in maize lines derived from R08xDonor backcross by SSRs. *Biotechnology*, 8 (3) 358-364.

Shah Z., Munir I., Ali S., Iqbal A., Mumtaz S., Nwaz R., Swati A. A. 2009. Genetic diversity of Pakistani maize genotypes using chromosome specific simple sequence repeat (SSR) primer sets. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (3), pp. 375-379, 4.

Stuber Cw, Wendel Jf, Goodman Mm, Smith Jsc 1988. Techniques and scoring procedures for starch-gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). *Tech Bull 286 Res Service*, North Carolina State University, USA

Srdic J., A.Nikolic and Z.Pajic 2008. SSR markers in characterisation of sweet corn inbred lines.– *Genetika*, Vol. 40, No. 2,169-177. Shah Z., Munir I., Ali S., Iqbal A.,

Saghai-Maroo M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W.1984. Ribosomal DNA Saper-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, Chromosomal location, and population dynamics, *Proc.Natl. Acad.Sci. USA*, 81, 8014-8018.

Swofford, D. L. 1998, PAUP* (version 4.0). Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Sinauer Associates, Sunderland, MA. (beta version).

Tenaillon, M.I., M. C. Sawkins, A. D. Long, R. L.Gaut, J. F. Doebley and B. S. Gaut. 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *Mays* L.). *Proced. Of the Nat. Acad. Of Sci of United States of America* 98 (16):9161-9166.

Warburton ML, Ribaut JM, Franco J, Crossa J, Dubreuil P, Betrán FJ (2005) Genetic characterization of 218 elite Cimmyt inbred maize lines using RFLP markers. *Euphytica* 142:97–106

White, S., 2001. Regulated Deficit Irrigation and Partial Root Zone Drying. National Centre for Engineering in Agriculture, Toowoombai.

Wilkes, G. 2004. Wild relative of the maize gene pool. *Maize for biological Research*. Plant Molecular Biology Association, Charlottesville,VA. Pages 335-339. Sheridan, Ed.

Zeybekçioğlu 2012. <http://acikerisim.selcuk.edu.tr:8080/xmlui/handle/123456789/3716>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nurettin BARAN

Doğum Yeri: Mardin/ Kızıltepe

Doğum Tarihi: 04/09/1984

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

e-posta: nbaran47@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lise: Gaziantep İslahiye Lisesi 2003 - 2006

Lisans: Adana Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü 2008 - 2012

Tezli Yüksek Lisans: Diyarbakır Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı 2015 -

MESLEKİ DENEYİM

2012-2013 Adana Entegre İlaç Bayisinde (7 ay)

2013-2014 Şanlıurfa/Viran Tarımsal Yayın ve Danışmanlık Şirketinde(12 Ay)

2014-2016 Şırnak/İDİL Ziraat Odasında Teknik Eleman (24 Ay)

2016-2017 Mardin/Kızıltepe Çiftçi Geliştirme ve Danışmanlık Derneğinde (12 Ay) ve Şuan Tarsim bünyesinde Exper olarak görev yapmaktadır.

	T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU	
	ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Nurettin BARAN	
ÖĞRENCİ NO	15811013	
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2017-2018	
YARIYIL	☒ Güz ☐ Bahar	
ANABİLİM DALI	Tarla Bitkileri	
PROGRAM	Yüksek Lisans	
TEZ KONUSU	Bazı Yerel Mısır Genotiplerinde SSR Yöntemiyle Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi	
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ		
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası	
SAYFA SAYISI	53	
BENZERLİK ORANI	%22	
RAPORLAMA TARİHİ	24/11/2017	
Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 53 sayfalık kısmına ilişkin, 23/11/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından <i>turnitin</i> adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 22'tür. Uygulanan filtrelemeler: ☒ Kabul/Onay sayfaları hariç, ☐ Kaynakça hariç ☐ Alıntılar hariç/dâhil ☐ Diğer Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini saygılarımla arz ederim.		
 24/11/2017 Prof. Dr. Mefhar Gültekin TEMİZ Tez Danışmanı		 Nurettin BARAN
 24/11/2017 Prof. Dr. Davut KARAASLAN Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Başkanı		