



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ÜLKEMİZDE YAYGIN OLARAK YETİŞTİRİLEN
ŞEKER MISIR (*Zea mays* L. var. *saccharata*)
VARYETELERİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

NEVİN ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. Ertuğrul FİLİZ

İSTANBUL, 2017



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ÜLKEMİZDE YAYGIN OLARAK YETİŞTİRİLEN
ŞEKER MISIR (*Zea mays* L. var. *saccharata*)
VARYETELERİNİN GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

NEVİN ÖZTÜRK
(520115006)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. Ertuğrul FİLİZ

İSTANBUL, 2017

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Nevin ÖZTÜRK'ün "Ülkemizde Yaygın Olarak Yetiştirilen Şeker Mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*) Varyetelerinin Genetik Çeşitlilik ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması" başlıklı tez çalışması, 18.08.2017 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT
Marmara Üniversitesi

(Danışman)

Prof. Dr. Bahattin YALÇIN
Marmara Üniversitesi

(Üye)

Yrd. Doç. Dr. İlhan DOĞAN
İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü

(Üye)

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ^{22.08.2017} tarih ve ^{2017/19-04} ~~42345~~ sayılı kararı ile Nevin ÖZTÜRK'ün Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Uğur Yahşi

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Tezim süresince beni yönlendiren ve bilgi birikimini paylaşan danışmanım **Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT**'e ve aynı şekilde yardımlarını esirgemeyen eş-danışmanım **Doç. Dr. Ertuğrul FİLİZ**e içtenlikle teşekkür ederim.

Gerek deneylerimin yürütülmesi, gerekse tez yazım aşamasındaki katkılarından dolayı **Dr. Mehmet Emin URAS**'a, deneylerimde bana yardımcı olan arkadaşım **Ecem BALCI**'ya ve İngilizce çevirilerde zorlandığım yerlerde bana yardımcı olan ve her dakika yanımda olan arkadaşım **Sezin ADINIR**'a teşekkür ederim.

Benden manevi ve maddi desteklerini esirgemeyen, çok sevgili aileme sevgilerimi ve teşekkürlerimi, bunun yanı sıra çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım **Zeynep Zişan GÖKÇE**, **Aşlı HOCAOĞLU**'na ve okul müdürüm **İlyas KESİM**'e şükranlarımı sunarım.

Aşağıdaki sözlü sunum bu tezden üretilmiştir.

Ibrahim Ilker Ozyigit, Ertugrul Filiz, Mehmet Emin Uras, **Nevin Ozturk** and Ahmet Yilmaz. "Evaluation of phylogenetic relationships of Turkish sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*) varieties by using *trnL-F* sequences". The Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress. Kyrgyzstan, September, 20-23, 2017 (Sözlü Bildiri).

Ağustos, 2017

Nevin ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SEMBOL LİSTESİ	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Mısır (<i>Zea mays</i> L.) Bitkisinin Genel Özellikleri.....	2
1.1.1. Mısır Yetiştiriciliği.....	7
1.1.2. Besin Değerleri.....	7
1.1.3. Üretim Değerleri.....	8
1.2. Moleküler Belirteçler.....	11
1.2.1. Basit Sekans Tekrarları Arası Polimorfizm (ISSR)	13
1.2.2. cpDNA, <i>trnL</i> - <i>trnF</i>	13
1.2.3. Moleküler Belirteçlerin Kullanılmasına Dair Daha Önceki Çalışmalar	14
2. MATERYAL ve METOD.....	16

2.1. Deney Bitkilerinin Yetiştirilmesi ve Yaprak Örneklerinin Alınması	16
2.2. DNA İzolasyonu	17
2.3. PCR Reaksiyonları	19
2.4. Elektroforez Uygulamaları	22
2.5. ISSR Analizi	24
2.6. Filogenetik Analiz	24
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	26
3.1. ISSR Verileri.....	26
3.2. Filogenetik Analiz Sonuçları	29
3.2.1. <i>trnL-trnF</i> intergenik ara bölgesi dizileri	29
4. SONUÇLAR	35
5. KAYNAKÇA	36
6. ÖZGEÇMİŞ	45

ÖZET

Ülkemizde Yaygın Olarak Yetiştirilen Şeker Mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*) Varyetelerinin Genetik Çeşitlilik ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

Mısır bitkisi (*Zea mays* L.) ülkemiz için önemli bir tarım ürünüdür ve şeker mısır da (*Z. mays* L. var. *saccharata*) önemli bir mısır varyetemizdir. Yapılan bu çalışmada ülkemizde tarımı yapılan şeker mısır varyetelerinin genetik çeşitlilikleri ve filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. DNA izolasyonu CTAB metoduyla gerçekleştirilmiş ve genetik çeşitlilik analizlerinde ISSR moleküler belirteçleri, filogenetik analizler için ise kloroplast genomunda bulunan *trnL* - *trnF* intergenik bölgesinin dizileri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, genetik çeşitlilik seviyesinin genotipler arasında yüksek olduğu ve polimorfik lokus oranının %76 olduğu tespit edilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda ise, şeker mısır genotiplerinin birbirine benzediği buna karşın filogenetik ağaçta farklı grupların olduğu anlaşılmıştır. Sonuçta, ISSR moleküler belirteçlerin ve kloroplast *trnL-F* bölgesinin şeker mısır varyetelerinde genetik ve filogenetik analizler için uygun birer genetik araç olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen veriler, gelecekteki mısır ıslah çalışmalarına bilimsel bir zemin ve katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Moleküler markör, ISSR, *trnL-F*, cpDNA,

ABSTRACT

Investigation of Genetic Diversity and Phylogenetic Relationships in Sweet Corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*) Varieties Commonly Grown in Our Country

The corn (*Zea mays* L.) is an important agricultural product for Turkey, and sweet corn (*Z. mays* L. var. *saccharata*) is also an important variety of corn. In this study, it is aimed to reveal genetic diversity and phylogenetic relationships in some sweet corn varieties, which have been widely planting in our country. DNA isolation was performed by using CTAB method, and ISSR molecular markers were employed for analysis of genetic diversity. *trnL-trnF* intergenic spacer sequences in the chloroplast genome were employed for phylogenetic analysis. According to our results, genetic diversity level was higher among the studied genotypes and percentage of polymorphic loci was detected as 76%. Phylogenetic analysis showed that, although sweet corn genotypes were resemble to each other, they were clustered in different groups in phylogenetic trees. As a result, it could be understood that ISSR molecular markers and chloroplast *trnL-trnF* intergenic spacer region were suitable genetic tools for genetic and phylogenetic analysis of sweet corn varieties. The obtained data from this study will provide a scientific basis and contribution to future corn breeding studies.

Ağustos, 2017

Nevin ÖZTÜRK

SEMBOL LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
\$: Amerikan doları, (para birimi)
kg.da⁻¹	: Hektar başına düşen kilogram
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
gb	: Cigabayt
gr	: Gram
kg	: Kilogram
M	: Molar
m	: Kütle
m	: Metre
mb	: Megabayt
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
sn	: Saniye
V	: Hacim

KISALTMALAR

AFLP	: oğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
Bp	: Baz ifti
Chl	: Kloroplast
Chr	: Kromozom
cpDNA	: Kloroplast DNA'sı
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide
dNTP	: Deoksinkleosid Trifosfat
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats DNA (Basit Sekans Tekrarları Arası Polimorfizm)
M.Ö.	: Milattan önce
mtDNA	: Mitokondial DNA
ML	: Maximum-Likelihood Metodu
MT	: Mitokondri
Na	: Gzlenmlenen allellerin yaklaşık sayısı
nDNA	: Nüklear DNA
Nuc	: Nüklear
PCR/PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PE	: Polimorfik Loki
RAPD	: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA
SCAR	: Sekansı Karakterize Edilmif (Belirlenmiş) oğaltılmış Bölgeler
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SNPs	: Tek Nükleotid Polimorfizmleri
SSR	: Basit Dizi Tekrarları
STS	: İşaretlenmiş Dizi Bölgeleri
TE	: Tris-Edta
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TBİVES	: Türkiye Bitkileri Veri Servisi
UV	: Ultraviyole Işınım

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Mısır (<i>Zea mays</i> L.) bitkisinin çiçek durumu	4
Şekil 1.2 Ülke Geneli Tane Mısır Üretim Miktarı (2014).....	10
Şekil 2.1 Örneklerin yetiştirilmesi ve hazırlanması.....	16
Şekil 2.2 (A) Nanospektrofotometre, (B) vortex cihazı, (C) Santrifüj cihazı.....	17
Şekil 2.3 Şeker mısır genotiplerinden DNA izolasyon süreci.....	19
Şekil 2.4 Termal Döngüleyici (Thermal Cycler).....	20
Şekil 2.5 Çalışmada kullanılan elektroforez ekipmanı ve UV transillüminatörü.....	23
Şekil 2.6 Çalışmada kullanılan jel görüntüleme cihazı.....	23
Şekil 2.7 Agaroz jele DNA yüklenmesi.....	24
Şekil 2.8 Maximum-Likelihood (ML) filogenetik ağaç kurulumunda kullanılan uyarlanmış parametreler	25
Şekil 3.1 Şeker mısır genotiplerinde ISSR1 primeri ile elde edilen ISSR bantlarının agaroz jeli görüntüsü.....	27
Şekil 3.2 <i>Z. mays</i> L. var. <i>saccharata</i> genotiplerine ait MVSP 3.22 yazılımı ile elde edilmiş Principal Component Analysis (PCA) sonuçları.....	28
Şekil 3.3 Agaroz jelde şeker mısır genotiplerinden elde edilen <i>trnL-trnF</i> intergenik ara bölgesi bant görüntüsü.....	29
Şekil 3.4 <i>trnL-trnF</i> intergenik ara bölgesi dizileri kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç	32
Şekil 3.5 <i>trnL-trnF</i> intergenik ara bölgesi dizilerinin <i>Z. mays</i> L. var. <i>saccharata</i> ve NCBI GenBank veri tabanından alınan diğer bitki türleri ile birleşik filogenetik ağacı.....	33

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 Mısır (<i>Zea mays</i> L.) bitkisinin sistematığı.....	2
Tablo 1.2 Mısır (<i>Zea mays</i> L.) bitkisinin genomu.....	6
Tablo 1.3 Dünya Mısır Üretimi Ortalama Verileri.....	9
Tablo 1.4 Moleküler Belirteçlerin Karşılaştırılması	12
Tablo 2.1 PCR Reaksiyonlarında Kullanılan Bileşenler ve Miktarları.....	20
Tablo 2.2 PCR Reaksiyonlarının Gerçekleştiği Basamaklar.....	21
Tablo 2.3 Kullanılan <i>trnL-trnF</i> ara bölgesi primerleri ve dizileri.....	21
Tablo 2.4 Kullanılan ISSR primerleri ve dizileri.....	22
Tablo 3.1 ISSR-PCR işleminde kullanılan ISSR primerlerinin çeşitli özellikleri.....	26
Tablo 3.2 Tüm lokusları kapsayan ISSR bant verilerinin, Popgene 32 yazılımıyla değerlendirilmesiyle elde edilen genetik çeşitlilik istatistik verileri.....	27
Tablo 3.3 Bu çalışmada şeker mısırı genotiplerinden elde edilen <i>trnL - trnF</i> intergenik ara bölgesi dizileri NCBI GenBank veri tabanı erişim numaraları ve nükleotid içerikleri.....	30
Tablo 3.4 NCBI GenBank veri tabanından elde edilen <i>Z. mays</i> L. var. <i>saccharata</i> genotiplerinin <i>trnL-trnF</i> dizileriyle örtüşen ilk üç dizinin ayrıntıları.....	31

1. GİRİŞ

1999 yılında Pagel, filogeninin ortak bir atadan gelen türlerin hiyerarşik düzeni olduğunu öne sürmüştür (Pagel 1999a). Güncel türlerin karakteristik özelliklerinin ortaya konulması ile elde edilecek bir filogenetik ağaç, dallanarak canlıların birbirleri ile ilgili akrabalık dereceleri ile ilgili bize bilgi verecektir. Bu ortak atanın karakteristik özelliklerindeki değişimler ise bize güncel yaşam formlarını sunacaktır.

Genetik çeşitliliğin esası DNA molekülüne, bu molekülün kodlanmasına ve gelecek nesillere aktarılmasına bağlıdır. Türlerin ortaya çıkma sürecini DNA yapısında meydana gelen değişimler gerçekleştirir (Hughes ve ark., 2008). Tür içi ve türler arası oluşan bu genetik varyasyonlar, içinde yaşadığımız ekosistemi ve işleyişini etkiler. Yaşamın adaptasyon yeteneği genetik varyasyona dayanır. Genetik varyasyonları sayesinde, canlılar buldukları çevreye uyum sağlayarak hayatta kalırlar. Bunun tarımsal açıdan doğrudan bir önemi vardır; bazı kritik genlerin kodlanması ile ortaya çıkan bu varyasyonlar beraberinde değerli kabul edilen özellikleri getirir, atalarına oranla daha güçlü ve daha kararlı bitkiler ve onların tohumlarının süregelmesi gibi (Bruford ve ark., 2016).

Heterozis belirli özellikleri ile ön plana çıkan ve yetiştiricilerce değerli görülen parental bireylerin çaprazlanarak ortaya daha üstün olan hibrit F1 dölünün çıkması fenomenidir (Li ve ark., 2017). Heterozis fenomeni birçok mahsulün ve hayvan türünün üretilmesi ve ıslah edilmesinde denenmiştir. Bu çalışmaya dair ilk örnekler dişi at ile erkek eşeğin çifletirilmesi sonucu ortaya çıkan katırdır. Bir bakıma katır ve hibrit mısır benzerlik gösterir; her ikisi de parental bireylere oranla üstün fenotipler sergiler ve stresse daha toleranslıdır. Öte yandan bu uygulama daha pahalıdır ve oluşan döller verimsizdir, bu da yetiştiricinin sürekli dışardan yeni tohumlar almasını gerektirir. Elbette yapılan ıslah çalışmaları ile bunun önüne de çift melezleme ile geçilebileceği ve daha verimli tohumlar elde edilebileceği görülmüştür (Springer ve Stupar, 2007).

Genetik çeşitlilik fenotip ile sınırlı değildir, mısır genomu moleküller olarak da eşsizdir. Mısır hatları genlerindeki polimorfizmlerle zaman içinde değişikliklere uğramıştır. Gen ve nükleotid seviyesindeki bu değişimler, karmaşık özelliklerin görülmesini sağlamıştır.

Örneğin yabancı bir mısır hattının genotipi dizileme bakımından bir insandan, *Drosophila*'dan ya da çoğu yabancı bitkinden daha fazla çeşitlilik gösterebilir (Buckler ve ark., 2006).

Çalışmamızda bizi mısıra yönelten başlıca sebepler besin, hayvan yemi ve endüstriyel kullanımlarının yanı sıra mısırın genetik ve morfolojik olarak yabancı akrabalarından ayrı düşmesidir. Amacımız hem genetik açıdan mısır bitkisinin farklılığını kavrayabilmek hem de son yıllarda hızla kendini gösteren mısır üretimindeki artışa ve verimlilik arayışına katkı sağlayabilmektir. Ayrıca, Türkiye'de tarımı yapılan şeker mısır varyetelerinin filogenetik ve genetik çeşitlilik analizlerine katkı sağlamak da amaçlanmıştır.

1.1 Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinin Genel Özellikleri

Mısır bitkisinin anavatanı Amerika kıtasıdır, burada yerliler tarafından yetiştirildiği daha sonra İspanyol akınları ve Amerika kıtasının keşfi ile Avrupa'ya geçtiği düşünülmektedir (Babaoğlu, 2005). Bunun yanı sıra 1998 yılında Kırtok, mısır bitkisinin Avrupa'ya Kuzey Afrika, Mısır, Suriye hattı aracılığıyla Anadolu üzerinden geçmiş olabileceğini öne sürmüştür (Kırtok, 1998).

Tablo 1.1 Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin sistematigi (Tübvies, 2017)

Alem: Plantae
Alt Alem: Tracheobionta
Şube: Magnoliophyta
Sınıf: Liliopsida
Alt Sınıf: Commelinidae
Takım: Cyperales
Aile: Poaceae
Cins: <i>Zea</i>
Tür: <i>Zea mays</i> L.

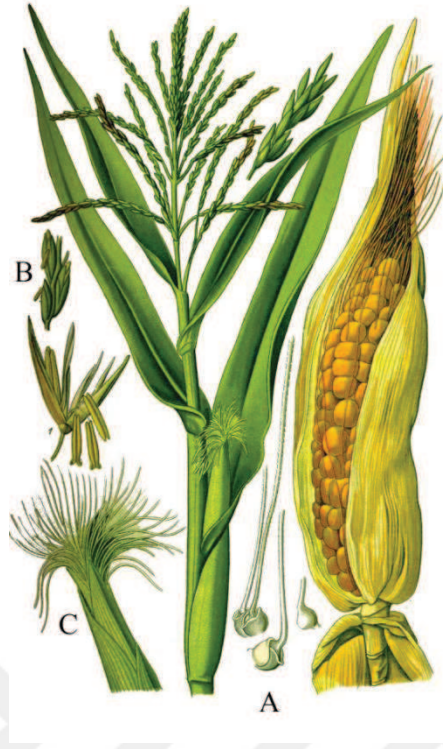
Poaceae familyası ekonomik açıdan tüm bitki familyaları arasında en önemlisidir. Buna ek olarak, dünya üzerindeki birçok doğal ve el yapımı arazi üzerinde baskınlık kurması

ekolojik anlamda da önemlidir (Bremer, 2002). Bu familyanın geçirdiği değişimin takibini yapmak zordur, çünkü metabolik yollar, coğrafi farklılıklar ve morfolojik yapıları düşünülünce familya içi polimorfizm oranları yüksektir (Bouchenak-Khelladi ve ark., 2010). Poaceae familyasına bağlı 12 altfamilya, 600-900 cins ve tanımlanmış yaklaşık 11.000 tür bulunmaktadır, dolayısıyla çiçekli bitkiler (Kapalı tohumlular, *Angiospermae* ya da *Magnoliophyta*) arasındaki en büyük 4. familya kabul edilebilirler (Saarela ve Graham, 2010).

Zea genusu ise 6 takson ve 4 tür olacak şekilde sınıflandırılmıştır:

1. *Z. mays* L. ve *Z. mays* subsp. *mays* dahil olmak üzere kültüre edilmiş mısır; *Z. mays* subsp. *mexicana* (Schrader, Iltis); *Z. mays* subsp. *parvigluvis* (Iltis ve Doebley) türlerinden oluşur.
2. *Z. luxurians* (Durieu ve Ascherson) Bird. yani kuzeydoğu Guatemala ve Honduras'tan tek yıllık bir çeşit teosinte;
3. *Z. perennis* (Hitchcock) yani tetraploid çok yıllık bir çeşit teosinte;
4. *Z. diploperennis* (Iltis, Doebley ve Guzman) yani güney Meksika'ya özgü diploid çok yıllık teosinte çeşidi olmak üzere. Elbette sınıflandırmaların ve rakamların kaynaklar arasında farklılıklar gösterebileceğini belirtmeliyiz.

Mısır, basit ve uygulamalı bilim açısından bir model organizma kabul edilir. Her sene milyar dolarları bulan ekonomik getirisi ise dikkat çekicidir. Hepsi birer tahıl mahsulü olmasına rağmen pirinç (*Oryza sativa*), süpürge darısı (*Sorghum bicolor*), buğday (*Triticum* sp.), arpa (*Hordeum vulgare*) benzeri bitkilere oranla genetik yapısı en fazla araştırılan tahıldır (Strable ve Scanlon, 2009).



Şekil 1.1 Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin çiçek durumu. (A) Yetişkin mısır bitkisi. (B) Erkek çiçek durumu. (C) Dişi çiçek durumu. (Prof. Dr. Otto Wilhelm Thomé)

Yetiştirilmesi oldukça basit ve kolaydır, bunu dişi ve erkek organların aynı bitkinin farklı çiçekleri üzerinde olmasına borçludur, yine tamamen bu sebepten tozlaşması kolayca kontrol edilebilir istenmeyen herhangi bir durumda da önenebilir (Strable ve Scanlon, 2009). Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan mısır bitkisinin %35'i insan gıdası, %30'u silajlık (hayvan yemi), %20'si hammadde olarak yem endüstrisinde, %10'u içerisindeki glikoz ve nişastadan dolayı sanayide, %5'i ise tohumluk olarak kullanılanlar ve kayıplar olarak dağılım göstermektedir (Eşiyok ve ark., 2004).

Ülkemizde genel olarak yetiştirilmesi en çok tercih edilen mısır çeşitleri tatlı mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*), sert mısır (*Zea mays* var. *indurata*), cin mısır (*Zea mays* var. *everta*) ve at dişi mısır (*Zea mays* var. *intendata*)'dır (İzli ve Işık, 2006). Tatlı mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*) bitkisi, Poaceae (Gramineae) yani Buğdaygiller familyasının *Maydeae* grubuna bağlı tek evcikli ve tek yıllık bir türdür (Sabancı, 2016).

Mısır bitkisi uygun şartlar altında 120 ile 180 gün içerisinde yetişir. Bitki, 4 ay içerisinde 2,5-4,5 m boylara ulaşabilir ve koçanı ise 600-1000 kadar tohum ihtiva edebilir. Birim alandan en fazla kuru maddeyi üreten tür olması ile yetiştiriciliği oldukça önem kazanmıştır (Sabancı, 2016).

Eşsiz bir diğer yanı ise koçan etrafındaki yaprakların C3 özelliği gösterirken bitkinin geriye kalan tüm yapraklarının C4 bitkisi özelliği göstermesidir (Bourzac, 2017). Diğer tahıllara oranla güneş ışığına ve karbondioksite daha fazla ihtiyaç duyar ve daha hızlı büyür. Ayrıca da geniş yaprakları sayesinde en yüksek fotosentez oranına sahip tahıldır. Soğuğa dayanıklı değildir, gelişme periyodunun sıcak olması gerekir; ılıman, tropik ve subtropik bölgelerde ekimi tercih edilir. Tanelerindeki pigmentasyon genel olarak sarı, beyaz ve kırmızı tonlarındadır (Cengiz ve Esmeray, 2015).

Yüksek oranda (%96) yabancı dölleme geçirir. Sap boğumundan çıkan koçanlar üzerinde dişi çiçekler; tepe püskülü üzerinde ise erkek çiçekler toplanmıştır. Bir mısır bitkisi 3-5 milyon polen verebilmektedir. Tepe püskülü çıkışı 4-8 gün sonrasında koçan püskülü çıkışı takip eder. Her bir koçandan yaklaşık 300-1000 kadar püskül oluşur. Bu püsküllerin çıkışı ile artık çiçekler döllemeye hazırdır ve polen tozu alana kadar 10-15 gün süreyle canlı kalırlar, döllemeden sonra ise kısa zamanda kurur (Anonim 1, 2017).

Mısır ile ilgili en erken bilimsel çalışmalar, Mendel'e aittir. *Pisum* türleri üzerindeki deneylerine benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Her iki cins de büyük bitkilere sahip olmakla birlikte fenotipik incelemelerin dolayısıyla da morfolojik olarak mutant bitkilerin genetik analizinin yapılmasını kolaylaştırması ile ön plana çıkmıştır.

Tablo 1.2 Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin genom özellikleri (NCBI, 2017)

Lokus	Tip	Adı	RefSeq	INSDC	Boyut (Mb)	GC%	Protein	rRNA	tRNA	Diğer RNA	Gen	Psödojen
		master WGS	-	LPUQ000000001	4,212.64	46.9	130,282	-	-	-	39,001	-
Nuc	Chr	1	NC_024459.2	CM007647.1	307.04	47.0	8,611	-	116	1,779	6,948	468
Nuc	Chr	2	NC_024460.2	CM007648.1	244.44	47.0	6,964	-	140	1,438	5,78	447
Nuc	Chr	3	NC_024461.2	CM007649.1	235.67	46.9	6,181	-	79	1,254	4,945	368
Nuc	Chr	4	NC_024462.2	CM000780.4	247	46.6	6,047	-	109	1,326	5,118	390
Nuc	Chr	5	NC_024463.2	CM000781.4	223.9	46.9	6,655	-	101	1,319	5,293	408
Nuc	Chr	6	NC_024464.2	CM000782.4	174.03	47.1	4,897	1	78	1,037	4,049	326
Nuc	Chr	7	NC_024465.2	CM007650.1	182.38	46.8	4,778	-	59	928	3,762	284
Nuc	Chr	8	NC_024466.2	CM000784.4	181.12	47.0	5,048	-	75	1,217	4,263	305
Nuc	Chr	9	NC_024467.2	CM000785.4	159.77	47.0	4,274	-	53	987	3,59	307
Nuc	Chr	10	NC_024468.2	CM000786.4	150.98	46.9	4,05	-	49	785	3,253	288
MT	Chr	MT	NC_007982.1	AY506529.1	0.56963	43.9	163	4	29	-	213	26
Chl	Chr	Pltd	NC_001666.2	X86563.2	0.140384	38.5	111	8	38	-	158	1
	Un	-	.	-	28.03	46.7	512	1	19	108	428	24

1990'ların sonunda mısır genomuna ait kapsamlı bir sınıflandırılma yapılmıştır. Mısır, tahmini 2,3 gb ile 2,7 gb uzunluğundaki 10 kromozomdan ($2n=20$) oluşan diploid bir bitkidir. Bu 10 kromozomun her biri morfolojik olarak birbirinden yapısal özellikler, satelit durumları, kromozom uzunluğu, sentromerin pozisyon gibi özellikleri ile ayırt edilebilir haldedir (Strable ve Scanlon, 2009).

1.1.1 Mısır Yetiştiriciliği

Mısır bitkisinin tohumlarının rahatça çimlenebilmesi ve gelişebilmesi için sıcaklığın genel olarak yaklaşık 14-15°C olması gereklidir (Eşiyok ve Bozokalfa, 2005).

Sulama planı kritiktir, bu planın iyi yapıldığı tüm alanlarda yetiştirilmesi gerçekleştirilebilir. Ekim nöbeti (münavebe) ile farklı bitkilerle birlikte sıralı olarak ekimi yapılabilir. Böylece mısırdan sonra ekimi yapılan tahıllardan alınan verimin de arttığı belirtilmiştir. Ülkemizde çoğu yerde birincil ve ikincil olarak yetiştirilmektedir (Vartanlı ve Emekler, 2007).

Birincil ürün olarak yetiştirilecek mısır için tercihen son don olaylarından sonra ilkbaharda toprak sıcaklıkları yaklaşık 10-12°C iken; ikincil ürün olarak yetiştirilecek mısır için ise 15 Haziran ile 15 Temmuz arası ekim yapılması uygundur. Elbette bu tarihler bölgelere göre değişim gösterebilir. Örneğin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ekim için en geç tarih temmuz ayı sonlarını bulabilir. Ekim derinliğinin yaklaşık 5-6 cm olması gereklidir. Toprakta bulunması gereken azot miktarı yaklaşık 20-25 kg.da⁻¹ değerlerindedir, gübrelemede bu oranı bozmayacak şekilde olmalıdır (Anonim 2, 2017).

Mısır ekimi için ideal bölgeler deniz seviyesi ile 1500 m yükseklikte yer alan kısımlara kadar olan alanlar ve 250-2500 mm yaklaşık yağış alan bölgelerdir. Bu şartları sağlayan bölgelere ait verim oranları göz önünde bulundurulursa Akdeniz Bölgesi %31 ile ilk sırada gelir. Hemen sonrasında Güney Doğu Anadolu Bölgesi %22, Karadeniz Bölgesi %17, Marmara ve Ege Bölgeleri birlikte %13 ve son olarak İç Anadolu Bölgesi %4 ile karşımıza çıkmaktadır (Sabancı, 2016).

1.1.2 Mısır Besin Değerleri

Tahıl grubu bitkiler arasında, yulaf en fazla yağ oranına sahip olan tür iken onu hemen sonrasında mısır takip eder. %80'i embriyoda bulunan yağ oranı genel olarak %4-5 iken bu oran %7'yi bulabilir. Koçan üzerinde mısır tanesinin bulunma durumuna göre ihtiva ettiği yağ oranı değişebilir ama yaklaşık bir oran vermek istersek buna baş, orta ve uç için %0,1-0,6 diyebiliriz. Koçanın yağ veriminin belirlenmesinde tavsiye edilen, daha fazla yağ oranına sahip olmaları sebebiyle koçanın ortasında bulunan tanelerdir.

Bir adet mısır tanesinin içerdiği nişasta oranı %61-78; lif oranı %8,3-11,9; protein oranı %6-12; yağ oranı %3,1-5,7; ve kül oranı %1,1-3,9 arasında değişiklik göstermektedir. Tane ağırlığının yaklaşık %5'ini yağ oluşturur. Buradaki yağ, endospermde %1, embriyoda %33, kabukta %1 ve sapçıkta %4 oranlarına sahip olacak şekilde dağılmıştır. Bu yağın ticari amaçla üretimi yapılmaktadır ve büyük bir öneme sahiptir (White ve Weber, 2003).

Unlu mamul yapımında kullanılan nişasta, Dünya'da üretim amacıyla sadece birkaç bitki üzerinden ticari olarak elde edilebilir ve mısır bunlardan biridir. Amerika ve Türkiye'deki verilere bakılacak olunursa elde edilen nişastanın %95 oranında mısırdan sağlandığı görülebilir (White, 2001).

Mısır nişastasının bu kadar talep edilmesinin sebepleri olarak kabarma özelliğine sahip olması, renk ve lezzet standartlarını sağlaması, çok iyi su çekerek hazır çorba imalatına uygun olması sayılabilir. Mısır tohumunun yaklaşık %70'ten fazlası nişasta içerir. Mısır tanesi içerisinde oranları ise endospermde %86, embriyoda %8, kabukta %7 ve sapçıkta %5 olacak şekildedir (Sabancı, 2016).

Mısır proteinlerinin %40 ile %50'si zein proteindir. Alkol ve su kullanılarak ekstrakte edilmesi sağlanır, ortaya çıkan granüller kurutularak toz haline getirilir. Bu toz mısır öğütme sanayisinin ticari bir yan ürünüdür. Zein kullanılarak elde edilen film ile palamut gibi besinler kaplanarak depolanması ve muhafaza edilmesi sağlanabilir. Yapılan çalışmalar bu ekstraktlar ile oluşturulan yenilebilir filmlerin raf ömrünü uzattığını göstermiştir (Duyar ve ark., 2016).

1.1.3 Üretim Değerleri

Elimizdeki 10 yıllık mısır üretim verileri göstermektedir ki toplam üretim her geçen sene artmıştır ve bundan sonra da artacağını öngörebiliriz. Bazı yıllarda her ne kadar azalmalar görülse de bunların o senelere özgü iklimsel dalgalanmalardan kaynaklı olduğu tahmin edilebilir. Mısıra yönelim her geçen gün artmaktadır çünkü sadece bir besin ve hayvan yemi kaynağı değil aynı zamanda endüstriyel kullanımı ve ticari üretimi sağlanan bir mahsuldür (White ve Weber, 2003; Zhao ve ark., 2016).

Tablo 1.3 Dünya Mısır Üretimi Ortalama Verileri (ml ton)

Ülkeler	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
A.B.D.	299,8	282,2	267,5	331,1	307,1	332,5	316,1	313,9	273,8	353,6
Çin	130,2	139,3	151,6	152,3	165,9	163,9	177,4	192,7	205,6	218,4
Brezilya	41,8	35,1	42,6	52,1	58,9	50,7	55,3	55,6	71	80,2
Arjantin	14,9	20,4	14,4	21,7	22	13,1	22,6	23,7	21,1	32,1
Ukrayna	8,8	7,1	6,4	7,4	11,4	10,4	11,9	22,8	20,9	30,9
Hindistan	14,1	14,7	15	18,9	19,7	16,7	21,7	21,7	22,2	23,2
Meksika	21,6	19,3	21,8	23,5	24,3	20,1	23,3	17,6	22	22,6
Endonezya	11,2	12,5	11,6	13,2	16,3	17,6	18,3	17,6	19,3	18,5
Fransa	16,3	13,6	12,7	14,3	15,8	15,2	13,9	15,9	15,6	15
Kanada	8,8	9,3	8,9	11,6	10,5	9,5	11,7	10,6	13	14,1
Türkiye	3	4,2	3,8	3,5	4,2	4,2	4,3	4,2	4,6	5,9
Diğer	157,8	155,5	92,2	140	174	165,7	174,3	191	183,1	202
Toplam	728,9	713,6	706,8	790,1	830,6	820,2	851,2	887,8	872,7	1018,1

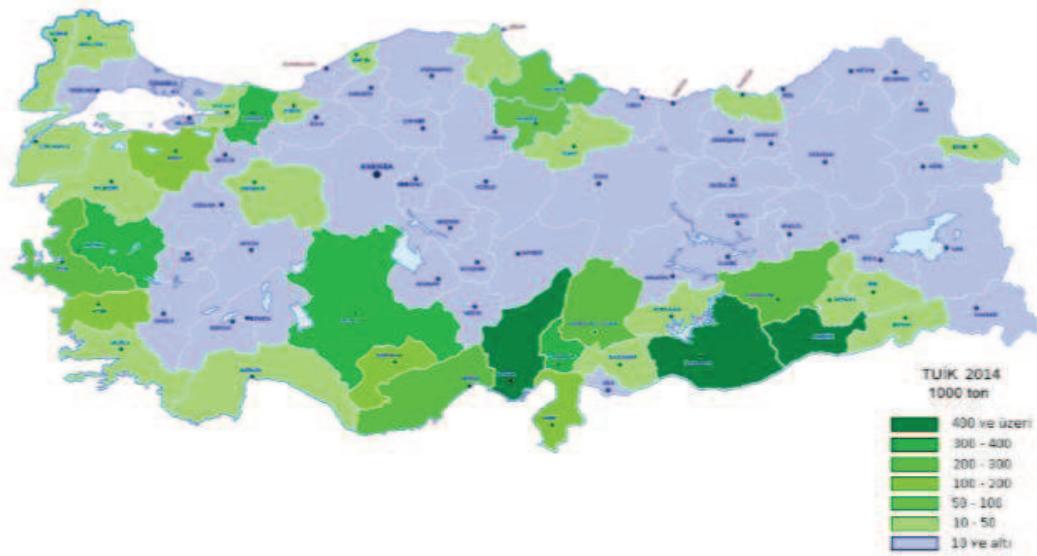
Genel olarak ele almak gerekirse bizler bu artışın en büyük sebeplerinden biri olarak tohumluk, yerli ve açıkta tozlanan olarak tabir edilen mısır çeşitlerinden ziyade mısır bitkisinin elde edilen melez çeşitlerinden kaynaklandığını kabul edebiliriz. Mısır herkesin erişebildiği, basit ve kolaylıkla yetişebilen bir bitki iken, bir de yeni teknolojik gelişmelerin melez çeşit eldesini ileri taşıdığı bir gerçektir (Strable ve Scanlon, 2009). Dünya genelindeki üretimin yaklaşık üçte birinin Amerika’da gerçekleştiği görülmektedir. Bu, hem mısır bitkisinin ana vatanı olması hem de ılıman ilkin kuşaklarında bulunan geniş tarımsal arazilere sahip olmasıyla açıklanabilir (Cengiz ve Esmeray, 2015).

Ülkemizdeki üretim ve verimdeki artış ise 1980’lerde melez mısır çeşitlerinin ülkeye girişi ile olmuştur. Ekim yapılan arazilerde büyük artışlar olmazken, üretim nerdeyse 2 katına çıkmış ve yaklaşık 6 milyon tonu bulmuştur. Mısırdan alınan verim ise 1,5 katına çıkmış 941 kg ile son on yılın en iyi ortalamasına ulaşılmıştır (TUİK, 2017; Sabancı, 2016).

Alınan verim bakımından Dünya ortalamasının yaklaşık 2 katına çıkmış olması ise ülkemizde mısır üretiminin başarılı olduğunun bir kanıtı kabul edilebilir (Tablo 3). Verimdeki bu başarı melez mısır çeşitlerine ve bunun yanı sıra tarım uygulamalarında

yapılan iyileştirmelere bağlıdır; sulama yapılabilir alanların artırılması ve yetiştirme tekniklerinin geliştirilmesi gibi durumları buna örnek olarak verebiliriz (Cengiz ve Esmeray, 2015).

TUİK'ten alınan son verilere göre ise 2014-2016 yılları arasında ekim alanı 6.586.450 dekadardan, 6.800.192 dekara; üretim miktarı 5.950.000 tondan, 6.400.000 tona; elde edilen verim ise 903 kg.da⁻¹'tan, 941 kg.da⁻¹'a ulaşmıştır. Bu da bize tüm verilerde düzenli bir artış olduğu ve artmaya da talebe bağlı olarak devam edeceğini göstermektedir.



Şekil 1.2 Ülke Geneli Tane Mısır Üretim Miktarı (2015)

İç ve Doğu Anadolu bölgelerinde ise etkinliğini gösteren karasal iklim dolayısıyla, mısır ekimi zorlaşmakta ve bu sayı 10 bin ton ve altı olarak karşımıza çıkmaktadır.

Dikkat çeken bir diğer durum ise Güney Doğu Anadolu Projesi (GAP) sonrası sulama alanlarının artırılması ve ikincil ürünlerin ekiminin sağlanması ile Güney Doğu Anadolu'daki üretim oranlarının artmasıdır. Buralarda özellikle elde edilen kârın daha yüksek olması sebebiyle alternatif ürünlerin yetiştirilmesi söz konusu olmuştur; bizim durumumuzda buna örnek olarak pamuk yerine mısırın tercih edilmesinden bahsedebiliriz (Cengiz ve Esmeray, 2015).

1.2 Moleküler Belirteçler

Moleküler işaretleyiciler geniş bir uygulama yelpazesine sahip olup, seleksiyonu, kantitatif özelliklerdeki genetik varyasyonları, genetik segregasyon analizlerinin yapılmasını, kantitatif özellik haritalarının çıkarılmasını ve daha birçoklarına imkân sağlar (Gonçalves ve ark., 2009).

Kabul edilen ilk moleküler işaretleyiciler, 1959'da Market ve Moller tarafından ortaya konulan izoenzimlerdir. Bu işaretleyiciler, incelenen genom üzerinde az sayıda lokusu saptamada ve lokus başına düşen polimorfizmi tanımlamada yetersiz kalmaları sebebiyle makul eleştiriler almıştır (Market ve Moller, 1959).

1960 yılında restriksiyon enzimlerinin (endonükleazlar) keşfi ve izolasyonu ile genomik DNA, restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphisms - RFLP) ve minisatellitler aracılığıyla, kullanılarak bireyler arasındaki farklılıklar saptanabilmiştir. Avantajlarının yanı sıra bu işaretleyiciler de kullanımlarının zahmetli, maliyetlerinin yüksek oluşu ve uygulamalarının yavaş sonuç vermesi ile geri planda kalmışlardır (Schlötterer, 2004; Schulman, 2007).

1987'de Mulis ve Faloon tarafından yayımlanan makale ise dikkatleri polimeraz katalizi ile oluşan zincir reaksiyonlar sonucu *in vitro* koşullarda spesifik DNA eldesi üzerineydi. Bu yöntem daha sonraları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR/PZR) denilmiştir ve bir bakıma moleküler biyolojide çığır açıldığı söylenebilir. Uygun sıcaklık döngülerine bağlı olarak gerçekleşen bu reaksiyonun 3 basamağı vardır; bunlardan ilki yüksek sıcaklıkta denatürasyon ile DNA zincirlerinin ayrılması (92-95°C), ikincisi sıcaklığın 35-60°C dereceye düşürülmesi ile primerlerin bağlanmasının gerçekleşmesi ve son basamak olarak 72°C'de uzamadır, ki bu sıcaklık polimerazın hedef DNA parçasını çoğaltmasında idealdir (Kubista ve ark., 2006).

Bu yöntem ile artık farklı moleküler işaretleyicilerin geliştirilmesi sağlanmış ve basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeats - SSR), rastgele arttırılmış polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA - RAPD), işaretlenmiş dizi bölgeleri (Sequence Tagged Sites - STS), sekansı karakterize edilmiş (belirlenmiş) çoğaltılmış bölgeler

(Sequence Characterized Amplified Regions - SCAR), basit sekans tekrarları arası polimorfizm (Inter-Simple Sequence Repeats - ISSR), çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP), tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) gibi birçok PCR tabanlı moleküler belirteci bilime kazandırmıştır (Oliveira ve ark., 2010; Vardar-Karlıtepe ve ark., 2010).

Tablo 1.4 Moleküler Belirteçlerin Karşılaştırılması (Genişel, 2013)

Moleküler Belirteç Tekniği	PCR Temelli Olması	Polimorfizm	Dominantlık	Verimlilik	Otomasyon	Maliyet
RFLP	Hayır	Düşük/Orta	Ko-dominant	Yüksek	Düşük	Yüksek
RAPD	Evet	Orta/Yüksek	Dominant	Düşük	Orta	Düşük
AFLP	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Orta
SSR	Evet	Yüksek	Ko-dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük
ISSR	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük
SCARS	Evet	Yüksek	Ko-dominant	Yüksek	Orta	Orta
STS	Evet	Yüksek	Ko-dominant Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük

Farklı DNA dizilimlerini tespit etmede kullanılan çeşitli moleküler işaretleyiciler oldukça yüksek kullanım oranlarına erişmişlerdir. Bu moleküler işaretleyicilerin kaynağı üretildikleri bitkilerin DNA'larıdır. DNA zincirinde bulunan şifre canlıların yapısını belirler. Bu özellikten yararlanan moleküler belirteçler ile bir bitki popülasyonunun ve bireylerinin sahip olduğu genetik çeşitlilik %100'e yakın güvenilirlikteki sonuçlarla ortaya çıkarılabilir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

1.2.1 Basit Sekans Tekrarları Arası Polimorfizm (ISSR)

ISSR, PCR'a dayalı, hızlı ve etkili olmasıyla ön plana çıkan moleküler bir tekniktir. Tercih edilmesinin ana sebepleri olarak ağır iş gücüne gerek duyulmaması, nükleik asit ihtiyacının çok yüksek miktarları bulmaması, makul bir ücrete sahip olması, kısa bir

zaman dilimi içerisinde bilimsel güvenilirliği olan ve de tekrarlanabilir sonuçlar vermesi gösterilebilir (Zümrüt ve ark., 2016).

Temel olarak bu tekniğin çalışabilmesi için birbirine zıt olarak yerleşmiş ve çoğaltılabilir bir aralığa sahip iki eş mikrosatellit tekrar bölgesi üzerinden hedef DNA parçasının çoğaltılması sağlanır. Bu yöntem, çoklu genomik lokusları hedef alan bir reaksiyon olmakla birlikte, 16-25 bp uzunluğundaki primerleri kullanır ve esas olarak farklı boyutlardaki basit mikrosatellit arası bölgeleri çoğaltmayı hedefler. Kullanılan mikrosatellit tekrarları di-nükleotid, tri-nükleotid, tetra-nükleotid ya da penta-nükleotid yapıda primerlerdir. Mikrosatellitlerin kendilerinin fonksiyon vermedikleri düşünülürken bir yandan da kodlama yapan bölgelere bağlantılı oldukları bilinmektedir, bu da ISSR primerlerinin zengin gen bölgelerini işaretlediklerini gösterir. Böylece ISSR tekniği ile farklı bitki türleri hedef alınarak genomik parmakizi, genetik çeşitlilik, genom haritaları, gen işaretleme ve populasyon genetiği gibi amaçlarla başarıyla kullanılabilir (Oliveira ve ark., 2010).

1.2.2 Kloroplast genomu (cpDNA), *trnL* ve *trnF*

Türlerin doğru sınıflandırılmasında DNA'nın rolü kritiktir. Canlılar arasındaki genetik benzerlik ve filogenetik ilişkiyi inceleyebilmek için önce hedef organizmanın makromoleküllerini incelemek gerekir. Bitkilerde yapılan DNA dizileme çalışmalarında 3 önemli DNA kaynağı vardır; bunlar nükleer (nDNA), kloroplast (cpDNA) ve mitokondri (mtDNA)'ye ait olanlardır (Özdemir-Değirmenci, 2011). Öte yandan mısır kloroplast genomu, mitokondrial genoma zıt olarak, organizasyonunda belirgin bir varyasyon göstermez (nükleotid bazında değişim oranı oldukça düşüktür) ve lineer bir gen dizilimine sahiptir. Bu yapısı ile bitki taksonomileri arasında geniş bir yelpazede karşılaştırma yapılmasına olanak sağlar (Matsuoka, 2002; Newton ve ark., 2009).

Bunun yanı sıra filogeni, bitki genetiği ve biyocoğrafya çalışmaları için de idealdir. Kloroplast DNA'sındaki kodlama yapmayan intron *trnL* (UAA) ve *trnF* (UAA) 3' ekson ile *trn-F* (GAA) geni arasındaki intergenik ara bölge kullanılarak birbirine yakınlık gösteren türler ve cinsler arasındaki ilişkiler incelenebilir. Bunun sebebi intron ve intergenik ara bölgelerinin yüksek mutasyon oranlarına sahip olmasıdır. *trnL* ve *trnF*

intergenik ara bölgelerinin, kloroplast genomundaki kodon bölgesinden daha hızlı değişerek son formunu aldığı bilinen bir başka gerçektir (Choulak ve ark, 2017). Kodlama yapmayan bölgelerin varyasyona olan bu yatkınlığı onları kodlama yapanlara oranla filogenetik bakımdan incelenmesi daha güvenilir ve daha bilgilendirici kılar (Aydemir, 2015).

1.2.3 Moleküler Belirteçlerin Kullanılmasına Dair Daha Önceki Çalışmalar

Cekic ve ark. (2001), tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Fragaria vesca f. vesca* ve yakın akrabası *F. vesca f. semperflorens* bitkilerine ait 168 birey 10 adet ISSR primeri kullanılarak incelenmiştir. Mikrosatellit bölgelerinin miktarına bağlı olarak PCR-ISSR uygulamasının gerçekleştirilebileceğini, bu sayede genetik uzaklık analizi, genomik parmak izi takibi ve genetik haritalandırma yapılabileceği görülmüştür.

Reddy ve ark. (2002), bitki ıslahında ISSR-PCR tekniğinin nasıl kullanılabileceğini incelemiş ve sonuç olarak ISSR tekniğinin, SSR, AFLP ve RAPD tekniklerinin sahip olduğu avantajları barındırdığı, hızlı, çabuk ve güvenilir sonuçlar veren bir teknik olduğu kanısına varılmıştır.

Fernandez ve ark. (2002), tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada orijini bilinen kültüre arpa türleri üzerinde RAPD ve ISSR moleküler belirteçleri kullanılarak DNA polimorfizminin, genotiplerinin tanımlanmasının ve genetik çeşitliliğin incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Her iki tekniğin de yüksek güvenilirliğe sahip olmakla birlikte, gözlenen bantlaşma oranları açısından ISSR (%83) tekniğinin RAPD (%63)'in önüne geçtiği belirtilmiştir. Buna ek olarak yürütülen izoenzim incelemesinde ise kullanılan moleküler belirteçlerin %33 oranında daha polimorfik olduğu görülmüştür.

Carvalho ve ark. (2002), Brezilya'ya özgü 79 yerel mısır çeşidi arasındaki genetik çeşitliliği incelemiştir. PCR-ISSR kullanılması sonucu elde edilen 153 DNA parçasının 116 (%75.8)'sının polimorfik olduğu ve bunların mısır çeşitlerini genomik olarak 3 gruba ayırmaya olanak sağladığı belirtilmiştir.

Oliviera ve ark. (2010)'nın mısır hatları kullanılarak gerçekleştirilen çalışmasında özellikle PCR-ISSR tekniğinin uygulanma koşulları üzerinde durulmuştur. Özellikle

yüksek bağlanma sıcaklığı sağlandığı takdirde elde edilen bantlaşmanın daha başarılı olduğu öne sürülmüştür.

do Amaral Júnior ve ark. (2011), 52 mısır hattı (49 mısır hattı, 2 atasal hat, 1 yerel mısır çeşidi) ile genetik çeşitliliği incelemiştir. 15 ISSR primeri kullanılarak elde edilen 137 bandın 122 (%89.05)'sinin polimorfik olduğu ve önceki çalışmalarla paralellik gösterdiği belirtilmiştir. Bantlaşmanın sonucunda genetik benzerliklerine göre 9 grup oluşturulmuştur. Sonuçlar güncel mısır hatları ile atasal hatlar arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları göstermede ISSR tekniğinin başarılı olduğunu göstermiştir.

Ramakrishnan ve ark. (2014), Hindistan'da yetiştirilen 17 mısır hattının genotipleri ele alınarak bitki rejenerasyonunu incelemiş ve genetik benzerlik analizlerini yapmışlardır. ISSR belirteçleri kullanılarak genotipler arasındaki moleküler varyans analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin sonucunda popülasyon içi %93 ve popülasyonlar arası %7 oranında genetik varyans olduğu görülmüştür.

Larièpe ve ark. (2016), mısır parental hatları arasındaki genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısındaki değişimleri incelemiştir. Bu çalışmada 288 kendilenmiş hattan elde edilen hibrit mısırlar kullanılmış ve SNP tekniği uygulanmıştır. Bu yöntem ile birbirleriyle ilişkisi olmayan mısır hatları kullanılarak yeni hibritler elde edilebileceği ve ıslah çalışmalarına farklı bir yaklaşım sağlanabileceği öne sürülmüştür.

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Dünya genelindeki en önemli tahıl mahsullerinden biri olan ve besin, lif ve biyoyakıt kaynağı olma özelliğinden dolayı ön plana çıkan mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin bir varyetesi olan şeker mısırı varyetelerinin (*Z. mays* L. var. *saccharata*) genetik çeşitlilik ve filogenetik açıdan incelenmesi amaç edinilmiştir. Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 10 tescilli şeker mısırı varyetesinin (*Z. mays* L. var. *saccharata*) ISSR ve *trnL-trnF* moleküler işaretleyicileri ile analizleri yapılmıştır. ISSR tekniği ile genetik çeşitliliği ve *trnL-trnF* dizileri ile filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır.

2.1. Deney Bitkilerinin Yetiştirilmesi ve Yaprak Örneklerinin Alınması

Bu deney sırasında Merit, Moreland, Argos, Vega, Caramelo, Tanem, Hazar, Baron, Overland, Batem Tatlı olmak üzere toplamda 10 tescilli şeker mısırı varyetesi kullanılmıştır. Her varyeteden 5 tohumun ekimi gerçekleştirilmiştir. Bitki büyütme kabini sıcaklığı ve nemi çimlenmeye uygun değerlerde tutulmuştur. Düzenli sulama yapılmış ve yeterli ışık alması sağlanmıştır. Laboratuvar şartlarında ekimi yapılan bitkilerin 3-4 haftalık fidelerinin genç yaprakları, hassas tartıda tartılarak alınmış (0,05-1,00 gr), etiketlenmiş ve alüminyum folyolara sarılarak, sıvı azot ile dondurularak daha sonra kullanılmak üzere -80°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1 Mısır bitkilerinin yetiştirilmesi ve moleküler analizlere hazırlanması.

2.2. DNA İzolasyonu

Bu çalışmada bitki örneklerinden DNA izolasyonunda CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) izolasyon tamponu kullanılmıştır (Somma ve Querci, 2004). CTAB uygulaması belirli değişikliklerle birlikte Doyle (1987) ve Doyle (1990)'a göre uygulanmıştır.



Şekil 2.2 (A) NanoQ DNA ölçüm cihazı, (B) WiseMix vortex cihazı, (C) Santrifüj cihazı.

DNA izolasyonu için, yetiştirilen bitki örneklerinden taze olarak toplanıp daha sonra dondurulan yapraklar kullanılmıştır. Bu işlem için öncelikle CTAB DNA izolasyon tamponu hazırlanmıştır. Tampon hazırlanırken, 5 gr CTAB, 5M 70 ml NaCl, 0.5M 10ml EDTA ve 1M 25ml Tris-HCl (pH:8) karıştırılmış ve 250 ml'ye kadar distile su ile tamamlanmıştır. Buffer önceden 65°C'ye kadar ısıtılmıştır ve izolasyondan hemen önce %0,2 (v/v) β -merkaptoetanol eklenmiştir. İzolasyon şu basamaklarda gerçekleştirilmiştir:

1. Mixer Mill MM 400 Homojenizatör (Retsch GmbH., Düsseldorf, Almanya) ya da havan ve tokmak yardımıyla 0,05-1,00 gr yaprak dokusu homojenize edilmiştir.
2. Homojenize edilmiş yaprak dokusu 2 ml'lik mikrosantrifüj tübüne aktarılmış ve üzerine 800 μ l CTAB izolasyon tamponu ve 0.002 gr PVP eklenmiştir. Tüp birkaç kez tersyüz edilerek karıştırılmıştır.
3. Karışım 65°C sıcaklıkta 60-90 dk süresince inkübe edilmiştir.
4. Karışıma 800 μ l of 24:1 Kloroform/Oktanöl eklenerek aynı şekilde birkaç kez teryüz

edilerek karıştırılmıştır.

5. Karışım 13.000g devirde 10 dk süresince santrifüj edilmiştir.

6. Yaklaşık olarak 600 µl süpernatant temiz bir tüpe aktarılmıştır.

7. 300µl 5M NaCl ve 600 µl soğutulmuş %96 izopropanol karışıma eklenmiştir.

8. Karışım, DNA zincirleri görünür hale gelene kadar -20°C sıcaklıkta bekletilmiştir.

9. Karışım 10.000g devirde santrifüjlendikten sonra süpernatant boşaltılmıştır.

10. Pelete %70 etanol eklenmiş ve DNA'nın çözülmesi sağlamıştır.

11. 10.000 g devirde 3 dk süresince santrifüj yapılmıştır.

12. Basamak 10 ve 11 gerektiği kadar tekrar edilmiştir.

13. 13.000g devir 3 dk'lık son santrifüjden sonra süpernatant boşaltılmıştır.

14. Geriye kalan DNA peleti çeker ocakta hava ile kurutularak etanolden arındırılmıştır.

15. Rehidrasyon için 100µl TE ya da distile su eklenerek izolasyon prosedürü tamamlanmıştır.

16. OPTIZEN NANO Q Spektrofotometre (Mecasys Corp., Gyeonggi-do, Güney Kore) kullanılarak dsDNA ölçüm modunda DNA konsantrasyonları ölçülmüştür.

17. Konsantrasyon ölçümlerinden hemen sonra nükleaz içermeyen ultra saf su eklenerek yaklaşık 50 ng/µl son konsantrasyon değerlerine ulaşılmıştır.



Şekil 2.3 Şeker mısır genotiplerinden DNA izolasyon süreci.

2.3. PCR Reaksiyonları

PCR reaksiyonlarının gerçekleştirilmesi için uygun koşullarda hazırlanmış bir karışım kullanılmıştır. Bu karışım içerisine $MgCl_2$, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, Taq polimeraz enzimi ve kalıp DNA, ilgili primeler ve nükleaz içermeyen ultra saf su eklenerek hazırlanmıştır. Daha sonra Aeris Thermal Cycler Model G96 (Esco Micro Pte. Ltd., Singapur) marka termal döngüleyici yardımı ile *trnL* ve *trnF* intergenic ara ve ISSR bölgelerinin çoğaltılması sağlanmıştır.



Şekil 2.4 Termal Döngüleyici (Thermal Cycler)

Tablo 2.1 PCR Reaksiyonlarında Kullanılan Bileşenler ve Miktarları

Reaksiyon İçeriği	Miktar
Kalıp DNA	50ng
Buffer (10X)	3µl
MgCl ₂ (25 mM)	3µl
dNTP Karışımı (25 mM)	0.5µl
Taq DNA polimeraz (1µl/5U)	0.2µl (1U)
Primer (10mM)	1.5µl
Ultra Saf Su	16µl
TOPLAM	25µl

Deneilerimizde yukarıdaki Tablo 2.1 de verilen içerikler kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Uygulamanın amacına uygun olarak primerlerin bağlanma sıcaklığı, uzunluğu ve diğer özelliklerine göre farklılıklar yapılmıştır.

Tablo 2.2 PCR Reaksiyonlarının Gerçekleştiği Basamaklar

Basamak	Sıcaklık	Süre
Ön - Denatürasyon	94°C	5 dk
Denatürasyon	94°C	60 sn
Bağlanma	Primere Bağlı Olarak Değişkenlik Göstermektedir.	60 sn
Uzama	72°C	60 dk
Son – Uzama	72°C	7 dk

trnL ve *trnF* intergenik ara bölgesi için primerin bağlanma sıcaklığı 53°C olarak belirlenmiştir fakat dizileme için en uygun olan bantlar 48°C'de elde edilmiştir.

Tablo 2.3 Kullanılan *trnL-F* primerleri ve sekansları (Sang ve ark., 1997).

Primer	Sekans	Bağlanma Sıcaklığı
<i>trnL-F</i> Forward	5'-AAAATCGTGAAGGTTCAAGTC-3'	53°C (48 °C)
<i>trnL-F</i> Reverse	5'-GATTTGAACTGGTGACACGAG-3'	

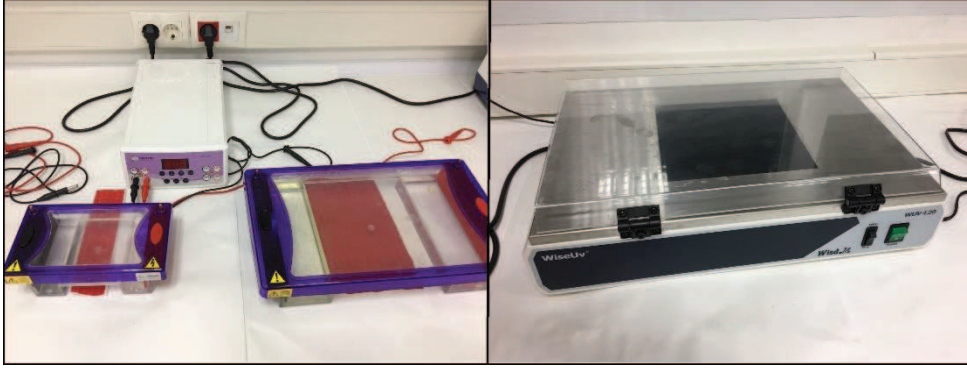
Kullanılan ISSR primerleri daha önceki çalışmalar baz alınarak seçilmiştir (Nagaoka and Ogihara 1997). ISSR moleküler işaretleyiciler ile genomdaki genetik benzerlik içeren bölgeler tespit edilerek gerekli analizlerden sonra genetik benzerlik derecesi belirlenmiştir.

Tablo 2.4 Kullanılan ISSR moleküler işaretleyici primerlerinin nükleotit dizileri (Nagaoka and Ogihara 1997).

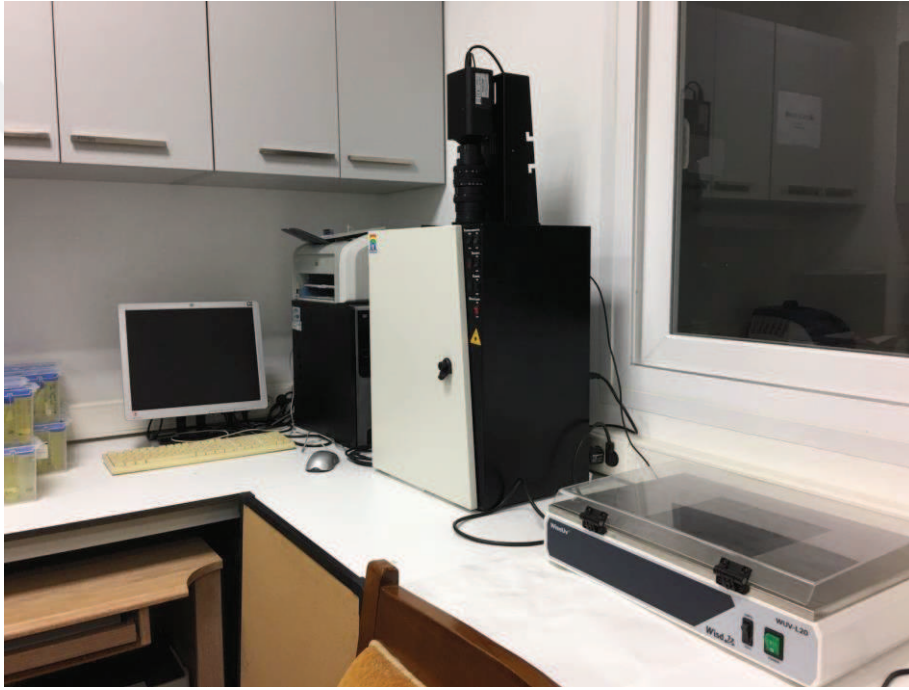
Primer	DNA Dizisi
ISSR1	AGAGAGAGAGAGAGT
ISSR2	GAGAGAGAGAGAGAGAC
ISSR3	CACACACACACACAAA
ISSR4	CACACACACACACAG
ISSR5	GTGTGTGTGTGTGTGTC
ISSR6	TCTCTCTCTCTCTCC
ISSR7	ACACACACACACACG
ISSR8	AGAGAGAGAGAGAGAGYA
ISSR9	CACACACACACACARG
ISSR10	GTGTGTGTGTGTGTGYA
ISSR11	ACACACACACACACACYT
ISSR12	GAGAGAGAGAGAGAGAYG
ISSR13	CCCTCCCTCCCTCCCT
ISSR14	ACTGACTGACTGACTG
ISSR15	CTCTCTCTCTCTCTRC

2.4. Elektroforez Uygulamaları

Elektroforez uygulamaları için agaroz jel hazırlanırken 100 ml TBE çözeltisi için 1,6 gr, 250 ml TBE çözeltisi (Fisher Scientific, Massachusetts, Amerika) için ise 4 gr [1.6% (m/v)] olacak şekilde agaroz (peqGOLD Universal Agarose, VWR International, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Ayrıca çözeltiliye 100 ml’de 2 μ ya da 250 ml’de 5 μ Etidyum Bromür (10mg/mL, MP Biomedicals, California, Amerika) eklenmiştir. Jel hazırlandıktan sonra elektroforez işlemi için Power Supply CS-300V omniPAC MIDI (Clever Scientific Ltd., Warwickshire Birleşik Krallık) güç kaynağı kullanılmıştır. PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütme işlemi yine aynı markaya ait olan tank içinde gerçekleştirilmiştir.

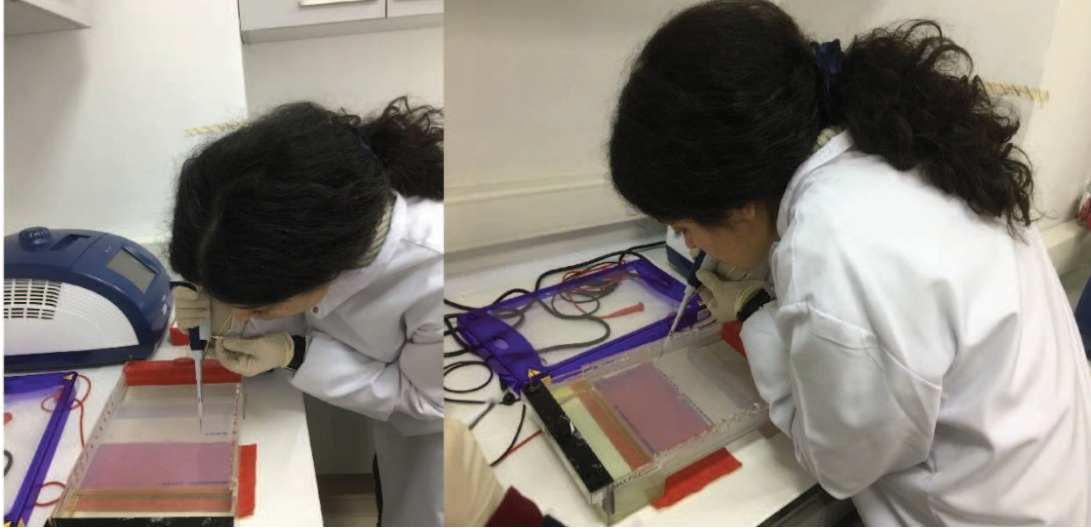


Şekil 2.5 Çalışmada kullanılan Elektroforez ekipmanı ve UV transillüminatörü.



Şekil 2.6 Çalışmada kullanılan jel görüntüleme cihazı

Uygulamanın devamında, her PCR ürünü için 6μ 'da 1μ olacak şekilde, PCR ürünleri bromofenol mavisi ihtiva eden 6X DNA yükleme boyası ile (Termo Fisher Scientific, Massachusetts, Amerika) ile karıştırılmıştır. Elektroforez uygulaması büyük boy jelde 90 V, 120 dk olacak şekilde uygulanmıştır. UV transillüminatör (Vilber Lourmat, Collégien, Fransa) ve UV transillüminatör WiseUV WUV-L20 (Wisd - Witeg Laboratuvar Ekipmanları, Wertheim, Almanya) cihazları kullanılarak elde edilen DNA bantlarının tespit edilmesi sağlanmıştır.



Şekil 2.7 Agaroz jele DNA yüklenmesi.

2.5 ISSR Veri Analizi

ISSR moleküler belirteçleri ile çoğaltılan DNA parçaları varsa 1, yoksa 0 ile skorlanarak kaydedilmiştir. Bu DNA parçalarından temiz bir görüntüye ve ayırdedilebilirliğe sahip olan DNA bantları veri kabul edilmiştir. Analizlerde MVSP. 3.22 ve POPGENE 1.32 (Yeh ve ark., 1999) yazılımları kullanılmıştır. Bireyler arasındaki benzerlik matrisinin oluşturulması Jaccard benzerlik indeksine göre sağlanmıştır. Genetik parametreler ile polimorfik lokiler (P), lokus başına düşen etkin alel sayısı (Ne), gözlenen allellerin yaklaşık sayısı (Na), Nei'ye göre gen çeşitliliği (h), (Kimura, 1964) ve Shannon'a göre bilgi indeksinin hesaplanması yapılmıştır. Principal Component Analysis (PCA) testi ile bireyler arasındaki ISSR ilişkilerini temsil eden bir grafik oluşturulmuştur, buna ek olarak belirteç verileri kullanılarak MVSP 3.2 programı ile varyant-kovaryant matrisi hesaplanmıştır.

2.6. Filogenetik Analizler

PCR işleminden sonra ilgili bantların görüntülenebilmesi için parafin üzerinde, 1 μ 6X DNA yükleme boyası ve 3 μ PCR ürünü karıştırılarak %1,2'lik agaroz jele yüklenmiştir. Geriye kalan 20-22 μ 'luk PCR ürünleri ise dizileme işlemleri için kullanılmıştır. Dizileme işlemini ise Iontek Moleküler Tanı (Maslak, İstanbul, Türkiye) tarafından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

Dizilenmiş DNA'lar analiz edilmiş ve gerektiğinde kısa ve yanlış olduğu belirlenen DNA sekansları elimine edilerek, dizileme süreci tekrar edilmiştir. Elde edilen DNA dizileri NCBI GenBank veri tabanına gönderilerek erişim numaraları temin edilmiştir (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Birleşik filogenetik ağacı elde etmek için kullandığımız diğer türlere ait *trnL-trnF* ara bölgesi dizileri nükleotid NCBI GenBank veri tabanından elde edilmiştir.

Dizileme işleminden sonra elde edilen ve NCBI GenBank veri tabanından elde edilmiş olan tüm *trnL-trnF* ara bölgesi dizileri ClustalW - BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999; Larkin et al., 2007) yazılımının varsayılan parametreleri kullanılarak hizalanmıştır (alignment). MEGA 6 yazılımı ile Maximum-Likelihood (ML) metodu (Tamura et al., 2013) kullanılarak Tablo 2.8'da verilen parametreler ile filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçlar 1000 Bootstrap değeriyle elde edilmiştir. Maximum-Likelihood (ML) metodu kullanılarak filogenetik uzaklıklar hesaplanmıştır. BioEdit 7.2.5. ile sekanlama tanımlama matrisinin, (%) G+C içeriği, Tajima nötrlük testinin (Tajima, 1989) ve korunarak kalan bölgelerin hesaplanması gerçekleştirilmiştir.

```
Analysis
Analysis ----- Phylogeny Reconstruction
Statistical Method ----- Maximum Likelihood
Phylogeny Test
Test of Phylogeny ----- Bootstrap method
No. of Bootstrap Replications --- 1000
Substitution Model
Substitutions Type ----- Nucleotide
Model/Method ----- Tamura-Nei model
Rates and Patterns
Rates among Sites ----- Uniform rates
Data Subset to Use
Gaps/Missing Data Treatment ---- Use all sites
Tree Inference Options
ML Heuristic Method ----- Nearest-Neighbor-Interchange (NNI)
Initial Tree for ML ----- Make initial tree automatically (Default - NJ/BioNJ)
Branch Swap Filter ----- Very Strong
System Resource Usage
```

Şekil 2.8 Maximum-Likelihood (ML) filogenetik ağaç kurulumunda kullanılan uyarlanmış parametreler

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Z. mays* L. var. *saccharata* genotipleri için sırasıyla filogenetik ilişkileri analiz etmek için *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri ve genetik çeşitliği analiz etmek içinde ISSR moleküler işaretleyicisine ait DNA bant verileri kullanılmıştır.

3.1. ISSR verileri

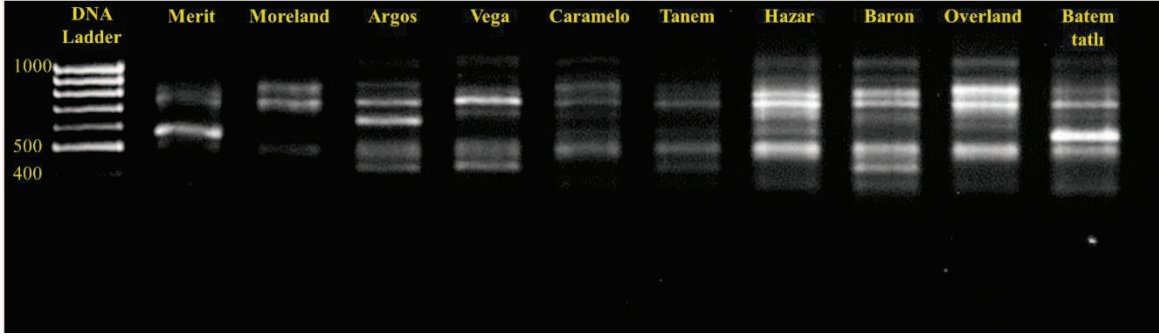
Bu çalışmada 10 adet *Z. mays* L. var. *saccharata* genotipinde, 15 adet ISSR moleküler işaretleyici primeri uygulanmış ve 9 ISSR primer uygulamasında elde edilen görünür ve ayırt edilebilenler, analizlerde veri olarak kullanılmıştır. PCR işlemlerinden elde edilen ürünler agaroz jelde elektroforez işleminde yürütülmüş daha sonra oluşan ayırt edilebilir ve net görülen bantlar, varlığı için 1 yokluğu için 0 olarak skorlanmıştır.

Dokuz primerden toplam 75 lokus elde edilmiştir. Primer başına ortalama lokus sayısı 8.3 olarak belirlenmiştir. Bu lokusların büyüklüğü 200 ile 1500 bp arasında değişmektedir. Tablo 3.1’de primer kodu, bu primerlerden elde edilen PCR ürünlerinin boyutu, elde edilen toplam bant, homomorfik ve polimorfik bant sayısı gösterilmiştir.

Tablo 3.1 ISSR-PCR işleminde kullanılan ISSR primerleri ve DNA bantlarının çeşitli özellikleri

No	ISSR Primeri	Kodu	Bant Büyüklüğü (bp)	Toplam Bant Sayısı			Polimorfizm
				Elde edilen	Homomorfik	Polimorfik	
1	ISSR 1	UBC807	350-1100	10	3	7	76%
2	ISSR 2	UBC811	300-850	7	0	7	
3	ISSR 3	UBC817	300-900	9	0	9	
4	ISSR 6	UBC823	400-1000	7	0	7	
5	ISSR 8	UBC825	350-1100	6	2	4	
6	ISSR 9	UBC848	400-1300	10	2	8	
7	ISSR 12	UBC842	200-900	8	2	6	
8	ISSR 14	UBC829	250-700	11	6	5	
9	ISSR 15	UBC844	250-1500	7	3	4	
Elde edilen bant sayısı:				75	18	57	

Şekil 3.1’de ISSR1 primerinin uygulanması ile elde edilen bantlar örnek olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Şeker mısır genotiplerinde ISSR1 primeri ile elde edilen ISSR bantlarının agaroz jeli görüntüsü.

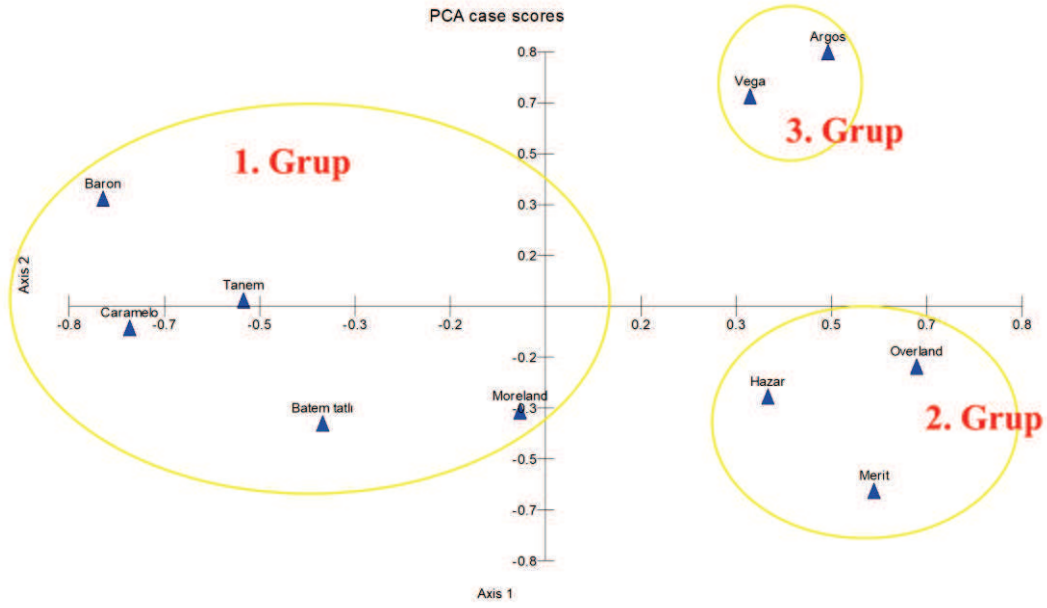
Popgene 32 yazılımı ile elde edilen genetik çeşitlilik analizi sonuçları Tablo 3.2’de gösterilmiştir. Gözlenen allel sayısı (na), efektif allel sayısı (ne), Nei (1973)’e göre gen çeşitliliği değeri (h) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerleri hesaplanmıştır.

Tablo 3.2 Tüm lokusları kapsayan ISSR bant verilerinin, Popgene 32 yazılımıyla değerlendirilmesiyle elde edilen genetik çeşitlilik istatistik verileri.

	Polimorfik lokus sayısı	PPL (%)	na	ne	h	I
Ortalama	57	76	1.7600	1.4472	0.2626	0.3946
Standart sapma			0.4300	0.3680	0.1882	0.2620

PPL: polimorfik lokus yüzdesi, na: gözlenen allel sayısı, ne: efektif allel sayısı [Kimura and Crow (1964)], h: Nei (1973)’e göre gen çeşitliliği değeri, I: Shannon bilgi indeksi [Lewontin (1972)]

ISSR primerlerinin uygulanması sonucunda oluşan bant verileri analiz edilmiş ve toplam 57 adet lokusun polimorfizm gösterdiği görülmüştür. Polimorfizm yüzdesi (PPL) ise %76 olarak hesaplanmıştır. Gözlenen allel sayısı (na) ortalama 1.76, efektif allel sayısı (ne) ortalama 1.45 olarak belirlenmiştir. Nei (1973)’e göre gen diversity değerinin (h) ise 0.26 olduğu tespit edilmiştir. Shannon bilgi indeksi (I) 0.39 olduğu görülmüştür. Bu değerlere göre *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin genetik çeşitliliğin yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 3.2 *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerine ait MVSP 3.22 yazılımı ile elde edilmiş Principal Component Analysis (PCA) sonuçları. Eksen üzerindeki rakamlar PCA skorlarını, mavi üçgenler genotipleri ve sarı çemberler ana grupları göstermektedir.

PCA grafik verileri incelendiğinde (Şekil 3.2) üç ana grup görülmektedir. 1. grupta Baron, Caramelo, Tanem, Batem tatlı ve Moreland genotipleri yer alırken, 2. grupta Hazar, Merit, ve Overland genotipleri, 3. grubunda ise Vega ve Argos genotipleri yer almaktadır. 1. grup 5 genotip ile en büyük grup iken 3. grup iki varyete ile en küçük gruptur. 3. grup genotipleri olan Vega ve Argos diğer genotiplerden ayrılarak en fazla farklılaşan genotipler olmuştur.

3.2. Filogenetik analiz sonuçları

Bu çalışmada *Z. mays* L. var. *saccharata* varyeteleri arasındaki filogenetik ilişkileri *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri kullanılarak incelenmiştir.

3.2.1. *trnL-trnF* İntergenik Ara Bölgesi Dizileri

trnL-trnF intergenik ara bölgesi Tablo 2.7’te belirtilen primerler ile termal döngüleyici ile çoğaltılarak 400-500 bp uzunluğunda ampliconlar elde edilmiştir. Elde edilen bu ürünler elektroforez işlemi için agaroz jelde yürütülmüş ve elde edilen DNA bantları Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Görüntüleme işleminden sonra elde edilen PCR ürünleri gerekli işlemler tamamlanarak dizileme işlemine hazır hale getirilmiştir. Dizileme işlemi hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3 Agaroz jelde şeker mısır genotiplerinden elde edilen *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi bant görüntüsü.

Elde edilen ham *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri düzenlenerek, kendi içlerinde baz hizalama işlemine tabi tutulmuştur (alignment). Elde edilen nihai *trnL-trnF* intergenik ara bölgesine ait dizilerinin uzunluğu 428 bp olarak belirlenmiştir. Bu aşamadan sonra, elde edilen diziler NCBI GenBank veri bankasına gönderilerek her bir dizi için erişim numarası elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen *trnL-trnF* intergenik ara bölgelerine ait dizilerin NCBI GenBank erişim numaraları ve bazı özellikleri Tablo 9’da gösterilmektedir.

Tablo 3.3 Bu çalışmada şeker mısırı genotiplerinden elde edilen *trnL* - *trnF* intergenik ara bölgesi dizileri NCBI GenBank veri tabanı erişim numaraları ve nükleotid içerikleri.

No	Genotip	Nükleotidler				GC İçeriği (%)	NCBI Erişim Numarası
		A	S	G	T		
1	Merit	129	77	65	157	33.18	MF509755
2	Moreland	129	78	63	158	32.94	MF509756
3	Argos	130	75	63	160	32.24	MF509757
4	Vega	136	74	62	156	31.78	MF509758
5	Caramelo	131	76	65	156	32.94	MF509759
6	Tanem	133	70	66	159	31.78	MF509760
7	Hazar	131	76	64	157	32.71	MF509761
8	Baron	134	71	64	159	31.54	MF509762
9	Overland	129	77	63	158	32.71	MF509763
10	Batem tatlı	132	74	53	159	32.00	MF509764

Dizilerin tümünde 1. bazdan 364. baza kadar *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi, 365. bazdan 428. baza kadar ise *trnF* geninin bir bölümünü içerdiği tespit edilmiştir. *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri analiz edildiğinde GC içeriklerinin %32.00 ile 33.18 arasında değiştiği görülmüştür. Mustapha ve ark. (2015) *Prunus* cinsi üyelerinde yaptığı bir çalışmada, *trnL-trnF* intergenik ara bölgesinin GC içeriğini, bu çalışmanın bulgularına uyumlu olarak yaklaşık %33.8 olarak tespit etmişlerdir.

Elde edilen *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri, kapsama ve uyumu yüksek dizilerin belirlenmesi için NCBI GenBank veri tabanının nükleotid koleksiyonunda tarandı. Bu amaçla NCBI'nın Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (BLASTn), "Highly similar sequences (Megablast)" seçeneği ile kullanılarak dizilerimize en yüksek kapsama ve benzerliğe sahip olan diziler belirlendi. Her bir genotipe en çok benzerlik gösteren üç diziye ait erişim numarası, kapsama ve benzerlik oranları Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

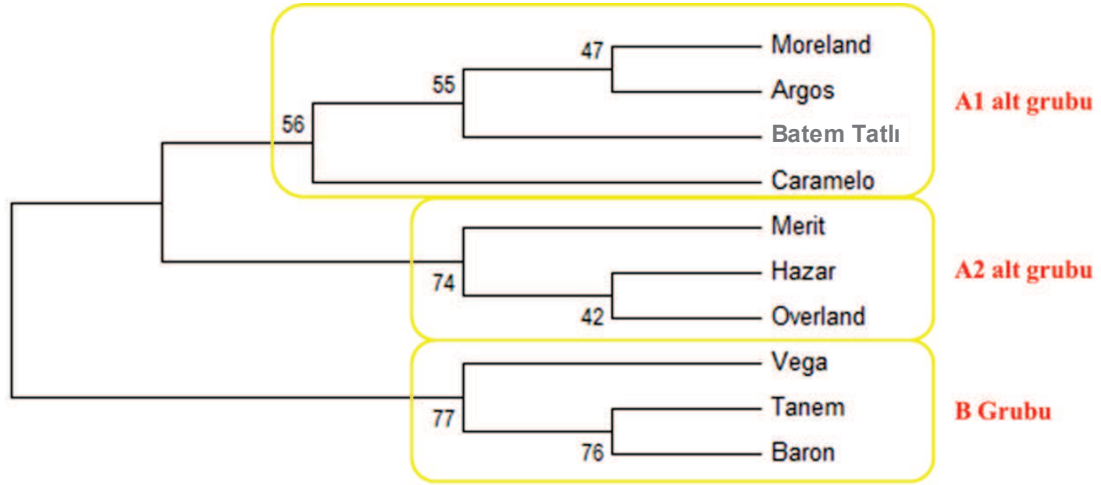
Sonuçlara göre, *trnL-trnF* intergenik ara dizilerine en çok benzerlik gösteren diziler sırasıyla erişim numaraları KU291447, KR873423 ve KR873421 olan *Z. nicaraguensis*, *Z. perennis* ve *Z. diploperennis* bitkilerine ait kloroplast organeli DNA genomu dizileridir.

Tablo 3.4 NCBI GenBank veri tabanından elde edilen *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin *trnL-trnF* dizileriyle örtüşen ilk üç dizinin ayrıntıları.

Varyete	Organizma	Familya	Erişim Numarası	Kapsama (%)	Benzerlik (%)
Merit	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99
Moreland	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	96	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	96	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	96	99
Argos	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	95	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	95	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	95	99
Vega	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99
Caramel	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99
Tanem	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99
Hazar	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	95	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	95	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	95	99
Baron	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	93	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	93	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	93	99
Overland	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99
Batem Tatlı	<i>Z. nicaraguensis</i>	Poaceae	KU291447	92	99
	<i>Z. perennis</i>		KR873423	92	99
	<i>Z. diploperennis</i>		KR873421	92	99

Bu çalışmada elde ettiğimiz *trnL-trnF* intergenik ara dizileri kullanılarak *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin kendi içinde filogenetik ilişkilerini analiz edildi ve filogenetik

ağaç oluşturuldu (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik ağaç, MEGA6 yazılımı kullanılarak 1000 bootstrap değeri ile Maksimum Likelihood yöntemi kullanılarak üretilmiştir.

Z. mays L. var. *saccharata* genotiplerinin filogenetik ağaçtaki dağılımına bakıldığında; A ve B olarak adlandırılan iki ana grubun oluştuğu; Moreland, Argos, Batem tatlı ve Caramelo genotipleri A₁ alt grubunda; Merit, Hazar ve Overland genotipleri A₂ alt grubunda; Vega, Tanem ve Baron genotipleri ise B grubunda yer aldığı görülmüştür. B grubunda 77 ile en yüksek bootstrap değeri gözlenmiştir. En düşük bootstrap değeri ise A₁ alt grubunda 56 olarak tespit edilmiştir.

trnL-trnF intergenik ara bölgesi dizileriyle elde ettiğimiz filogenetik ağacı, ISSR bant verilerinden elde ettiğimiz PCA grafik verileriyle karşılaştırdığımızda filogenetik ağaçta A₁ grubunda yer alan Argos ve B grubunda yer alan Vega genotipleri, diğer grup üyelerinden ayrılarak PCA grafiğinde 3. grubu oluşturmuştur. Filogenetik ağacın A₁ ve B grubundaki diğer genotipler ise PCA analizinde 1. grupta yer almıştır. Filogenetik ağacın A₂ grubu, PCA verilerine göre 2. grubu oluşturmuş ve iki analiz arasında tam uyum göstermiştir.

Bu sonuçlara göre bu *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin filogenetik ayrımında kullandığımız *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri normal seviyede bir benzerlik ortaya koymuştur. Bu benzerliğin, ilgili bölgenin korunmuş bir bölge olması ve bu genotiplerin ortak ya da benzer bir atadan ıslah yoluyla elde edilmesi gibi nedenlerden

filogenetik grubu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre, bu çalışmada elde edilen ve NCBI GenBank veri tabanından alınan genotipler iki ana grup oluşturmuştur. Bu gruplar kırmızı renkle gösterilen A grubu ve sarı renkle gösterilen B grubu olarak adlandırılmıştır. A grubu, Rosaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Solanaceae, vb. gibi önemli dikotil familyalarının bir araya gelmesiyle oluşmuştur. B Grubu ise kozalaklı ve monokotil bitki familyalarının bir araya gelmesiyle; B₁ ve B₂ alt grupları olarak adlandırılan iki adet alt gruptan oluştuğu gözlenmiştir.

B₁ alt grubunda *Abies*, *Pinus*, *Juniperus* ve *Taxus* gibi kozalaklı bitki türleri bir araya gelerek bir alt grup olarak ayrılmıştır. B₂ alt grubu ise Poaceae familyasına ait üyelerden oluşmuştur. B₂ alt grubunda *Hordeum vulgare*, *Festuca multinodis* ve bu çalışmanın konusu olan *Z. mays* genotiplerinden oluşmaktadır. *Z. mays* L. var. *saccharata* genotipleri ve NCBI GenBank veri tabanından elde edilen *Z. mays* subsp. *parviglumis* genotipleri B₂ grubunda %80 bootstrap değeriyle bir araya gelmişlerdir. Oluşturulan iki filogenetik ağaç incelendiğinde, bu çalışmada incelenen *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin iki filogenetik ağaçta benzer şekilde dağılım gösterdiği gözlemlenmiştir.

Bootstrap değerlerine bakıldığında ise B₁ alt grubu 99, B₂ alt grubunun 98 bootstrap değerleriyle bir araya gelmiştir. B₁ ve B₂ alt grupları 99 bootstrap değerleriyle bir araya gelerek B grubunu oluşturmuştur. Bu sonuçlara göre, *trnL-trnF* intergenik ara bölgesine ait dizilerin, incelenen genotipleri tür içi ve türler arası düzeyde ayırt edebilmede etkili bir bölge olduğu ileri sürülebilir. Birleşik ağaçta oluşan gruplar türler arası seviyede ayrışım göstermiştir.

Moeller ve ark. (2007)'nin yaptığı bir çalışmada *Z. mays* subsp. *parviglumis* bitkisinde görülen nükleotid polimorfizminin, populasyon yapısı etkilerini inceleyen, tür içinde yapılan bir çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu çalışmada *Z. mays* ssp. *parviglumis* bitkisinden elde edilen beş çekirdek genomu ve iki kloroplast genomu DNA bölgesi analiz edilmiştir. Bu bölgelerden *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri kloroplast genomundan elde edilerek dizileme işlemi yapılmıştır. Moeller ve ark. (2007) çalışmasında elde edilen bazı *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri ile bu çalışmada elde edilen *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi dizileri ile yüksek benzerlik göstererek birleşik ağaçta B₂ alt grubunda bir araya gelmiştir.

4. SONUÇ

Bu çalışmada *Z. mays* L. var. *saccharata* genotipleri ISSR moleküler işaretleyicileri ve *trnL-trnF* intergenik ara bölge dizileri kullanılarak analiz edilmiştir. Bu genotiplerin genetik çeşitliliği ISSR moleküler işaretleyicileri; filogenetik ilişkileri ise *trnL-trnF* intergenik ara bölge dizileri kullanılarak analiz edilmiştir.

Bu analizlere göre;

- a) ISSR moleküler belirteçleri şeker mısır varyetelerinin genetik çeşitlilik analizlerinde (%76 polimorfizm) etkili sonuçlar vermiştir.
- b) ISSR verisi, yapılan PCA analizleri sonucunda şeker mısır varyetelerinin genotipik olarak ayrılmasına katkı sağlamıştır. Bu analize göre en fazla farklılaşan genotipler Vega ve Argos olarak belirlenmiştir.
- c) *Z. mays* L. var. *saccharata* genotipleri kendi aralarında iki filogenetik gruba ayrılmışlardır. Buna göre Vega, Baron ve Tanem genotipleri diğer genotiplerden ayrılarak B grubunda toplanmışlardır.
- d) *Z. mays* L. var. *saccharata* genotiplerinin oluşturduğu filogenetik grupların bootstrap değerleri genotipler arasında benzerliğin normal seviyede bir benzerlik gösterdiğine işaret etmektedir.
- e) *trnL-trnF* intergenik ara bölgesinin, birleşik filogenetik ağaçta incelenen genotipleri benzer ve diğer bitki gruplarından ayırmada etkili olduğu görülmüştür.

Sonuçlara göre, ISSR moleküler belirteçleri ve kloroplast *trnL-trnF* intergenik ara bölgesi genetik çalışmalarda *Z. mays* var. L. *saccharata* genotiplerinin genetik analizlerinde kullanılabilir, etkili genetik araçlar olduğu öne sürülebilir.

5. KAYNAKÇA

1. **Anonim1**.https://adana.tarim.gov.tr/Belgeler/SUBELER/bitkisel_uretim_ve_bit_ki_sagligi_sube_mudurlugu/hububat_yetistiriciligi_ve_mucadelesi/M%C4%B1s%C4%B1r%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi.pdf (Erişim tarihi: 16.06.2017)
2. **Anonim2**.<http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM/Belgeler/Tescil/Teknik%20Talimatlar/S%C4%B1cak%20%C4%B0klim%20Tah%C4%B1llar%C4%B1m%C4%B1s%C4%B1r.pdf> Erişim Tarihi: 18.06.2017.
3. **Anonim 3**.<http://www.adalar.bel.tr/eng/default.asp> (Erişim tarihi: 12.10.2016)
4. **Anonim4**.http://www.ibb.gov.tr/sites/ks/tr-TR/0-Istanbul-Tanitim/konum/Pages/Nufus_ve_Demografik_Yapi.aspx (Erişim tarihi: 12.10.2016)
5. **Arnon, D. I. (1949)** Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiology, 24(1), 1.
6. **Aydemir, M. (2015)** Phylogenetic Analysis of *Colchicum* L. Species with Chloroplast Genome-Specific Markers. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
7. **Moeller, D. A., Tenailon, M. I., & Tiffin, P. (2007)**. Population structure and its effects on patterns of nucleotide polymorphism in teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). Genetics, 176(3), 1799-1809.
8. **Babaoğlu, M. (2005)** Mısır ve Tarımı. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları, Edirne.
9. **Baldwin, B. G. (1992)** Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. Molecular phylogenetics and evolution, 1(1), 3-16.

10. **Bingöl, D., Ay, Ü., Bozbaş, S. K., Uzgören, N. (2013)** Chemometric evaluation of the heavy metals distribution in waters from the Dilovası region in Kocaeli, Turkey. *Marine pollution bulletin*, 68(1), 134-139.
11. **Bouchenak-Khelladi, Y., Verboom, G. A., Savoilenen, V., Hodkinson, T. R. (2010)** Biogeography of the grasses (*Poaceae*): a phylogenetic approach to reveal evolutionary history in geographical space and geological time. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 162, 543–557.
12. **Bourzac, K. (2017)** Bioengineering: Solar Upgrade. *Nature*, 544, 11-13.
13. **Bremer, K. (2002)** Gondwanan evolution of the grass alliance of families (*Poales*). *Evolution*. 56: 1374–1387.
14. **Bruford, M. W., Davies, N., Dullou, M. E., Walters, M. (2016)** The GEO Handbook on Biodiversity Observation Networks. Chapter 5: Monitoring Changes in Genetic Diversity. Springer, 107-128
15. **Buckler, E. S., Gaut, B. S., McMullen, M. D. (2006)** Molecular and functional diversity of maize. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 172–176.
16. **Carvalho, V. P., Ruas, P. M., Ruas, C. F., Ferreira, J. M., Moreira, R. M. P. (2002)** Assessment of genetic diversity in maize (*Zea mays* L.) landraces using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(4), 557-568.
17. **Cekic, C., Battey, N. H., Wilkinson, M. J. (2001)** The potential of ISSR-PCR primer-pair combinations for genetic linkage analysis using the seasonal flowering locus in *Fragaria* as a model. *Theor Appl Genet*, 103, 540–546.
18. **Cengiz, R., Esmeray, M. (2015)** Tarımsal Araştırmalardan Bakış 2015: Mısır. Mısır Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.

19. **Choulak, S., Chatti, K., Marzouk, Z., Chatti, N. (2017)** Genetic differentiation and gene flow of some Tunisian pistachio (*Pistacia vera* L.) Varieties using chloroplastic DNA. Journal of Research in Biological Sciences, 02, 35-41.
20. **do Amaral Júnior, A. T., de Oliveira, E. C., Gonçalves, L. S. A., Scapim, C. A., Candido, L. S., da Conceição Silva, T. R., Vittorazzi, C., da Cunha, K. S. (2011).** Assessment of genetic diversity among maize accessions using inter simple sequence repeats (ISSR) marker. African Journal of Biotechnology Vol, 10(69), 15462-15469.
21. **Doyle, J. J. (1987)** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem bul, 19, 11-15.
22. **Doyle, J. J. (1990)** Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12, 13-15.
23. **Durukal, E., Erdik, M., Uçkan, E. (2008)** Earthquake risk to industry in Istanbul and its management. Natural Hazards, 44(2), 199-212.
24. **Duyar, H.A., Gargacı, A., Yücel, Y. (2016)** Yenilebilir mısır zeini filmiyle kaplama ve vakum paketlenimin buzdolabında depolanan palamut balığının (*Sarda sarda*) raf ömrüne etkisi. Alınteri Zirai Bilimler Dergisi, 31(B), 77-83.
25. **Eşiyok, D., Bozokalfa, M. K. (2005)** Ekim ve dikim zamanlarının tatlı mısırdaki (*Zea mays* L. var. *saccharata*) verim ve koçanın bazı agronomik karakterleri üzerine etkisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg, 42(1), 35-46.
26. **Eşiyok, D., Bozokalfa, M. K., Uğur, A. (2004)** Farklı lokasyonlarda yetiştirilen şeker mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*) çeşitlerinin verim kalite ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg, 41(1), 1-9.
27. **Fernández, M. E., Figueiras, A. M., Benito, C. (2002)** The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and

- genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theor Appl Genet*, 104, 845–851.
28. **Genişel, H. (2013)** Türkiye Florası'ndaki Acı Çiğdem (*Colchicum L.*) Yeni Tür Adaylarının Karakterizasyonunda ISSR Markörlerinin Kullanımı. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
29. **Gonçalves, L. S., Rodrigues, R., do Amaral Junior, A. T., ..., Karasawa, M. (2009)** Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model. *Genet. Mol. Res*, 8, 364-374.
30. **Gülşen, O., Mutlu, N. (2005)** Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve
31. **Hall, T.A. (1999)** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser*, 41, 95-98.
32. **Hamzaoğlu, O., Etiler, N., Yavuz, C. I., Çağlayan, Ç. (2011)** The causes of deaths in an industry-dense area: example of Dilovası (Kocaeli). *Turkish Journal of Medical Sciences*, 41(3), 369-375.
33. **Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T., Underwood, N., Vellend, M. (2008)** Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.
34. **İzli, N., Işık, E. (2006)** Türkiye'de mısır üretimi ve mısır üretiminde kullanılan mekanizasyon uygulamaları. Tarımsal Mekanizasyon 23. Ulusal Kongresi, 6-8 Eylül 2006, Çanakkale.
35. **Mustapha, S. B., Tamarzizt, H. B., Baraket, G., Abdallah, D., & Hannachi, A. S. (2015)**. Cytoplasmic polymorphism and evolutionary history of plum cultivars: Insights from chloroplast DNA sequence variation of *trnL-trnF* spacer and aggregated *trnL* intron & *trnL-trnF* spacer. *Genet Mol Res*, 14, 3964-3979.

36. **Kırtok, Y. (1998)** Mısır, Üretimi ve Kullanımı. Kocaelik Basım ve Yayıncılık, İstanbul.
37. **Kimura, M., Crow, J. F. (1964)** The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49, 725–738. PMID: 14156929.
38. **Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., ..., Forootan, A. (2006)** The real-time polymerase chain reaction. *Mol. Aspects Med*, 27, 95-125.
39. Kullanım Alanları. *Alatırım*, 4(2), 27-37.
40. **Larièpe, A., Moreau, L., Laborde, J., Bauland, C., Mezmouk, S., Décousset, L., Mary-Huard, T., Fiévet, J. B., Gallais, A., Dubreuil, P., Charcosset, A. (2016)** General and specific combining abilities in a maize (*Zea mays* L.) test-cross hybrid panel: relative importance of population structure and genetic divergence between parents. *Theor Appl Genet*, 130(2), 403–417.
41. **Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R. (2007)** ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics*, 23, 2947–2948.
42. **Li, Z., Coffey, L., Garfin, J., Miller, N. D., White, M R., Spalding, E. P., de Leon, N., Kaeppler, S. M., Schnable, P. S., Springer, N. M., Hirsch, C. N. (2017)** Genotype By Environment Interactions Affecting Heterosis in Maize. Cold Spring Harbor Laboratory Press, doi: <https://doi.org/10.1101/131342>.
43. **Market, C., Moller, F. (1959)** Multiple forms of enzymes: Tissue, autogene and species patterns. *Proc. Nat. Acad. Sci*, 45, 753-763.
44. **Matsuoka, Y., Yamazaki, Y., Ogihara, Y., Tsunewaki, K. (2002)** Whole Chloroplast Genome Comparison of Rice, Maize, and Wheat: Implications for Chloroplast Gene Diversification and Phylogeny of Cereal. *Mol. Biol. Evol*, 19(12), 2084–2091.

45. **Mert, Z. G., Akman, G. (2011)** The Profile of the Organized Industrial Zones in Kocaeli/TURKEY. In ERSA conference papers (No. ersa11p1137), European Regional Science Association.
46. **Newton, K. J., Stern, B. D., Gabay-Laughnan, S. (2009)** Mitochondria and Chloroplasts. Bennetzen J.L., Hake S. (eds); Handbook of Maize. Springer, New York, NY.
47. **Nagaoka, T., & Ogihara, Y. (1997)**. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. TAG Theoretical and Applied Genetics, 94(5), 597-602.
48. **OECD. (2008)** OECD territorial reviews. Turkey: Istanbul 9789264043718; DOI: 10.1787/9789264043831-en. Paris, France.
49. **Oliveira, E. C., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Pena, G. F., Freitas Júnior, S. P., Ribeiro, R. M., Pereira, M. G. (2010)** Optimizing the efficiency of the touchdown technique for detecting inter-simple sequence repeat markers in corn (*Zea mays*). Genetics and Molecular Research, 9(2), 835-842.
50. **Özdemir-Değirmenci, F. (2011)** Molecular phylogenetic position of turkish abies pinaceae based on noncoding trn regions of chloroplast genome. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
51. **Pagel, M. (1999a)** Inferring the historical patterns of biological evolution. Nature, 401, 877-884.
52. **Pagel, M. (1999b)** The Maximum Likelihood Approach to Reconstructing Ancestral Character States of Discrete Characters on Phylogenies. Syst. Biol, 48(3), 612-622.
53. **Ramakrishnan, M., Ceasar, S. A., Duraipandiyar, V., Ignacimuthu, S. (2014)** Efficient plant regeneration from shoot apex explants of maize (*Zea mays*) and

- analysis of genetic fidelity of regenerated plants by ISSR markers. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 119(1), 183–196.
54. **Reddy, M. P., Sarla, N., Siddiq, E. A. (2002)** Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128, 9–17.
55. **Saarela, J. M., Graham, S. W. (2010)** Inference of phylogenetic relationships among the subfamilies of grasses (*Poaceae: Poales*) using meso-scale exemplar-based sampling of the plastid genome. *Botany*, 88(1), 65-84
56. **Sabancı, S. (2016)** Ege Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Mısır (*Zea mays* L.) Çeşitlerinin Verim, Kalite ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
57. **Sang, T., Crawford, D., Stuessy, T. (1997)** Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (*Paeoniaceae*). *American Journal of Botany*, 84(8), 1120-1120.
58. **Schlötterer, C. (2004)** The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet*, 5, 63-69.
59. **Schulman, A. H. (2007)** Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, 158, 313-321.
60. **Somma, M., Querci, M. (2004)** The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms. *Training Course On*, 1.
61. **Springer, N. M., Stupar, R. M. (2007)** Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than a whole? Cold Spring Harbor Laboratory Press, 17, 264–275.
62. **Strable, J., Scanlon, M.J. (2009)** Maize (*Zea mays*): A Model Organism for Basic and Applied Research in Plant Biology. *Cold Spring Harb Protoc*, pdb.emo

132, 4(10).

- 63. Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991)** Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*, 17(5), 1105-1109.
- 64. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipksi, A., Kumar, S. (2013)** MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12), 2725-2729.
- 65. TUIK. (2016)** (<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=216039>) (Erişim Tarihi: 12.10.2016)
- 66. Tuncer, M. (2009)** National Cancer Program 2009–2015. Republic of Turkey Ministry of Health, ISBN 978-975-590-285-2.
- 67. Vardar-Karlitepe, Ç., Aras, S., Cansaran-Duman, D. (2010)** Bitki ıslahında moleküler belirteçlerin kullanımı ve gen aktarımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(1), 33-43.
- 68. Vartanlı, S., Emeklier, H.Y. (2007)** Ankara koşullarında hibrit mısır çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(3), 195-202.
- 69. White, P. J. (2001)** Properties of corn starch. *Specialty Corns*, ed.A.R. Hallauer, Second edition, CRC Press, New York.
- 70. White, P. J., Weber, E. J. (2003)** Lipids of the kernel. corn: chemistry and technology (2nd ed), St. Paul, Minnesota, USA, The American Association of Cereal Chemists.
- 71. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor., J.W. (1990)** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A*

Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White, Academic Press, Inc., New York, 315-322.

72. **Yaylalı-Abanuz, G. (2011)** Heavy metal contamination of surface soil around Gebze industrial area, Turkey. *Microchemical Journal*, 99(1), 82-92.
73. **Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. B., Ye, Z. H., Mao, J. X. (1997)** POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada*, 10.
74. **Zhao, Xin-hua., Yu, Hai-qiu., Wen Jing., Wang, Xiao-guang., Du, Qi., Wang, Jing., Wang, Qiao. (2016)** Response of root morphology, physiology and endogenous hormones in maize (*Zea mays* L.) to potassium deficiency. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(4), 785–794.
75. **Zümürüt, I. M., Develi, E. S., Sefer, Ö., Yörük, E. (2016)** Tahıl Patojeni *Fusarium culmorum*'da Genetik Tiplendirme Yaklaşımları, *Elektronik Biyoloji Dergisi TR*, 14(2), 1-16.

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Nevin Öztürk
Doğum Yeri ve Tarihi	Bulgaristan - 07.05.1982
Telefon Numarası	05064769976
E-mail Adresi	nevinozturk@mynet.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	Balikesir Üniversitesi	2006
Lisans	Biyoloji	Balikesir Üniversitesi	2008
Yüksek Lisans	Biyoloji	Marmara Üniversitesi	

KONGRE

(SEMPOZYUM)

ETKİNLİKLERİ:

Ibrahim Ilker Ozyigit, Ertugrul Filiz, Mehmet Emin Uras, **Nevin Ozturk** and Ahmet Yilmaz. "Evaluation of phylogenetic relationships of Turkish sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*) varieties by using *trnL-F* sequences". The Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress. Kyrgyzstan, September, 20-23, 2017 (Sözlü Bildiri).