

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BAZI KENDİLENMİŞ ŞEKER MISIR HATLARININ
ŞEKER İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
İLGİLİ MOLEKÜLER MARKÖRLER İLE
TARANMASI**

Gizem ÇİVİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Muzaffer TOSUN

Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 25.12.2015

Bornova-İZMİR

2015

Gizem ÇİVİ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Bazı Kendilenmiş Şeker Mısır Hatlarının Şeker İçeriklerinin Belirlenmesi ve İlgili Moleküler Markörler İle Taranması.” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş vetarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Muzaffer TOSUN	
Raportör Üye	: Doç. Dr. Fatma AYKUT TONK	
Üye	: Yar.Doç.Dr. Tamer KUŞAKSIZ	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Bazı Kendilenmiş Şeker Mısır Hatlarının Şeker İçeriklerinin Belirlenmesi ve İlgili Moleküler Markörler İle Taranması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / 12 / 2015

İmzası

Gizem ÇİVİ

ÖZET**BAZI KENDİLENMİŞ ŞEKER MISIR HATLARININ ŞEKER
İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE İLGİLİ MOLEKÜLER
MARKÖRLER İLE TARANMASI**

ÇİVİ, GİZEM

Yüksek Lisans Tezi, Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Muzaffer TOSUN

Aralık 2015, 47 sayfa

Çalışmada, Amerikan Tarım Bakanlığı'ndan temin edilen 26 kendilenmiş tatlı mısır hattı ile Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilen 23 adet kendilenmiş tatlı mısır hattı kullanılmıştır. Denemede toplam farklı 49 adet kendilenmiş tatlı mısır hattı 2015 yılında latif deneme deseninde ekilmiştir. Bitkiler 4-5 yapraklı dönemde iken DNA izolasyonu için yaprak örnekleri alınmıştır. Koçanların hasadından sonra tanelerdeki toplam şeker içerikleri Luff- Schoorl metodu ile tayin edilmiştir. Aynı zamanda tatlı mısırdaki şeker içeriğini kontrol eden genlerin bazılarında ait 9 adet SSR markörü kullanılarak 49 bitkiden oluşan kendilenmiş tatlı mısır popülasyonunda moleküler tarama yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan 49 adet kendilenmiş tatlı mısır hattındaki toplam şeker içeriği % 16,84 ile % 0,66 arasında değişmiştir. Çalışmamızda tatlı mısırın şeker içeriği ile ilişkili *su* geni için *umc1031*, *sh1* geni için *phi44*, *sh2* geni için *umc2276* ve *ea1* geni için *phi328175* markörlerinin daha uygun oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, at dişi mısırların şeker oranı en fazla % 4,0 olduğundan, çalışmamızdaki kendilenmiş hatlardan 24 adedinin toplam şeker içeriği bu değerden daha yüksek bulunmuştur. Bu genotiplerin hibrit şeker mısır çeşitlerinin geliştirilmesinde ebeveyn olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Kendilenmiş tatlı mısır hatları, Toplam şeker içeriği, SSR markörleri, Markör taraması

ABSTRACT**DETERMINATION OF SUGAR CONTENT OF SOME INBRED
SWEET CORN LINES AND SCREENING WITH SSR MARKERS**

ÇİVİ, Gizem

MSc in
Department of Variety Development

Supervisor: Prof. Dr. Muzaffer TOSUN

December 2015, 47 pages

In this study we evaluated 26 sweet corn inbred lines which is obtained from the U.S. Department of Agriculture and 23 sweet corn inbred lines developed by Ege University, Faculty of Agriculture, Field Crops Department. In total 49 different sweet corn inbred lines were planted with lattice experimental design in 2015. The leaf samples were taken when they were within 4-5 leaf stage for DNA isolation. After harvesting of the corn cobs, total sugar content in the kernel were measured by Luff-Schoorl method. At the same time, molecular screenings were carried out by using 9 SSR marker which is related to sugar content genes in 49 inbred sweet corn lines.

The total sugar content were ranged from 0,66 % to 16,84 % in 49 sweet corn inbred lines. For genes which are related to the sugar content of sweet corn was determined to more suitable umc1031 primer for *su* gene, phi44 primer for *sh-1* gene, umc2276 primer for *sh-2* gene and phi328175 primer for *ea-1* gene. In addition to, since dent corn sugar content is the most 4.0 %, the total sugar content of 24 inbred lines in this study were found higher than 4.0 %. We concluded that these genotypes can be used as parental genotypes for improved of hybrid sweet corn cultivars.

Keywords: Sweet corn inbred line, kernel soluble sugar content, SSR marker, screening marker

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin konusunu belirleyen ve tez denemesinin kurulması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve tavsiyelerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Muzaffer TOSUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Moleküler çalışmalarım boyunca bütün bilgilerini benimle paylaşan ve tez yazımında benden desteğini asla esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Fatma AYKUT TONK'a teşekkür ederim.

Moleküler laboratuvarında çalışmalarım ve tarla denememin her aşamasında her zaman yanımda olan Arş. Gör. Deniz İŞTİPLİLER'e teşekkür ederim.

Tarla denememin kurulması aşamasından itibaren bütün tarla çalışmalarım boyunca yanımda olan bildiklerini benimle paylaşan değerli büyüğüm Hakkı KESKİN'e teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı'nın maddi desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a ve 14-FBE-006 nolu projenin yürütülmesine maddi olanak sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	İxvii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1 Materyal.....	9
3.1.1 Deneme alanının özellikleri.....	9
3.1.2 Kullanılan tohumluk materyali ve ekim zamanları	10
3.2 Metot.....	11
3.2.1 Denemenin kurulması ve bakımı	11
3.3 Yöntem	14

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.3.1 Moleküler Analizler	14
3.3.2 Polimorfik zincir reaksiyonları	16
3.3.3 Poliakrilamid jel elektroforezi	18
3.3.4 Toplam şeker içeriği analizi.....	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	20
4.1 Toplam Şeker İçeriği Miktarları	20
4.2 Moleküler Analizler	22
5. SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	41
ÖZGEÇMİŞ	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Denemenin ekim.	12
3.2. Kendileme çalışmalarından bir görüntü.	12
3.3. Farklı boylarda ki tatlı mısır hatları.	13
3.4. (a) <i>sh2</i> genotipine (b) <i>sh1</i> genotipine sahip tatlı mısır koçanları.....	13
3.5. Sıvı azotta ezilmiş yaprak örneğinden bir görünüm	14
3.6. Su banyosunda inkübasyon.	15
3.7. Santrifüjden sonra iki fazlı görünüm	15
3.8. Jel yükleme görüntüsü.	18
4.1. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında <i>su</i> geni için kullanılan bnlg1937 primerinin jel görüntüsü.....	22
4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında <i>su</i> geni için kullanılan umc1031 primerinin jel görüntüsü.....	23
4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında <i>sh-1</i> geni için kullanılan phi28 primerinin jel görüntüsü.....	24
4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki <i>sh-2</i> geni için kullanılan umc1320 primerinin jel görüntüsü.....	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 110-120 gr tatlı mısırın ortalama besin bileşimi	5
2.1. Ebeveynlerin, F ₁ ve F _{2:3} bireylerinin çözünür şeker içeriği (%).	8
3.1. Deneme alanının toprak yapısı ve besin maddesi içerikleri.	9
3.2. Ege Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilen S ₄ aşamasındaki hatlar ve Amerika Tarım Bakanlığı'ndan temin edilen kendilenmiş hatlar	10
3.3. DNA Ekstraksiyon Tamponu [Doyle&Doyle(CTAB)]	14
3.4. Moleküler çalışmada kullanılan SSR primerleri ve baz dizilişleri.	17
3.5. PCR protokolünde kullanılan PCR programı (Touchdown PCR).	18
4.1. Tatlı mısır hatlarının ilgili markör ve toplam şeker içeriği miktarları	21
4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1031 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	26
4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2061 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	27
4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında bnlg1937 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	28
4.5. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ28 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%)	29
4.6. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ44 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%)	30

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.7. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ328175 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	31
4.8. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	32
4.9. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1273 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	33
4.10. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1320 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).....	34
4.11. <i>su</i> alleleline sahip bireylerin şeker miktarları	35
4.12. <i>sh-1</i> alleleline sahip bireylerin şeker miktarları.....	36
4.13. <i>ea-1</i> genotipine sahip bireylerin şeker miktarları	37
4.14. <i>sh-2</i> allelleri şeker içeriği değerleri.....	38

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1031 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	26
4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2061 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	27
4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında bnlg1937 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	28
4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ28 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	29
4.5. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ44 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	30
4.6. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ328175 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	31
4.7. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	32
4.8. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1273 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	33
4.9. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1320 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).	34
4.10. <i>su</i> alleleline sahip bireylerin şeker miktarları	35
4.12. <i>ea-1</i> genotipine sahip bireylerin şeker miktarları	37
4.13. <i>sh-2</i> genotipine sahip bireylerin şeker miktarları	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	yüzde
µl	mikrolitre
°	derece
°C	santigrat
 <u>Kısaltmalar</u>	
AN	amonyum nitrat
bç	baz çifti
bp	base pair
cm	santimetre
da	dekar
MAS	markörlere dayalı seleksiyon
ml	mililitre
mm	milimetre
NP	azot ve fosforlu
Se	Sugary Enhancer
Sh-2	Shrunken
SSR	simple sequence repeat
USDA	Amerika Tarım Bakanlığı

1. GİRİŞ

Mısır, *Graminaeae* familyası, *Panicoideae* alt familyası ve *Maydeae* oymağında yer almaktadır. İnsanlar ve hayvanlar tarafından kullanılan bir bitki olarak mısır, yüz yıllardır Batı yarım kürede önemli bir bitki olmuştur. Merkezi ve Güney Amerika'nın yerel halkları mısırı uzun süre hem sebze hem de daha az bozulabilen ürün olarak kullanmışlardır. Mısırın geliştirilmesi aynı yarım küredeki medeniyetlerle birlikte paralellik göstermiştir.

Kültür mısırının dünyaya yayılması Christopher Columbus'un Amerika'yı keşfinden (1492) sonra olmuştur. Mısırın orijini henüz tam olarak saptanamamıştır. Mısırın orijini hakkında araştırmacılar tarafından birçok teori ileri sürülmüştür fakat bu teorilerin hiç biri tam olarak tatmin edici değildir. Tatlı mısır ise 1770 yıllarında belgelenmiş, 1820 yıllarında tohum kataloglarında yerini almıştır. Türkiye'ye 1930 yılında getirilmiştir. Tatlı mısır başlarda beyaz daneliyken 1902 yılında Golden Bantom adlı araştırmacı tarafından sarı daneli varyeteler geliştirilmiştir.

Mısır kültür bitkileri içerisinde dünyada en fazla üretimi yapılan bitki türü olup özellikle insan gıdası ve hayvan yemi olarak tüketilmektedir. Ayrıca mısır endüstriyel olarak nişasta, irmik, şurup, dekstrin, yağ ve alkol gibi destilasyon ve fermentasyon ürünlerinin elde edilmesinde kullanılmaktadır. Dünya genelinde üretilen mısırın % 60'ı hayvan yemi, % 20'si insan gıdası olarak doğrudan tüketim, %10'u işlenmiş gıda ve %10'u diğer tüketimler ile tohumluk olarak kullanıldığı tahmin edilmektedir (Bilgiç ve ark. 2012). Ülkemizde üretilen yaklaşık 4.25 milyon ton mısırın (Anonim, 2009) % 65-70'i hayvan beslenmesinde % 20'si şeker, nişasta ve yağ sanayinde, geri kalan kısım ise gıda ve diğer amaçlarla kullanılmaktadır (Kırtok, 1998; Özcan, 2009). Taze tüketimi yapılan mısırın insan beslenmesinde daha çok haşlanarak ya da közlemelik olarak tüketimi yapılırken son yıllarda çerezlik tüketim şekli de giderek yaygınlaşmaktadır (Kara, 2012).

Mısır tanesi kuru madde olarak yaklaşık % 60-78 nişasta, (nişastanın % 25'ini amiloz geri kalanını amilopektin oluşturur) % 6-12 protein, % 3.1-5.7 yağ, % 1.0-3.0 şeker ve % 1.1-3.9 kül içermektedir. Tanesi B vitamini bakımından zengin iken, embriyosu ise E vitamini açısından zengindir. Mısır tanesinde bulunan yüksek enerji, nişasta ve yağ içeriği, hayvan yemi, insan gıdası ve sanayi ürünleri olarak çok geniş kullanım alanına sahip olmasına neden olmaktadır. Tatlı

mısırın tanesi ise % 71 nişasta, % 5-9 protein, % 3-4 yağ, % 2-6 şeker içermektedir.

Türkiye’de ise mısır toplam 6.599.980 da üretim alanında 5.900.000 ton üretim ile gerçekleştirilmektedir (TÜİK, 2013). Tatlı mısır üretim miktarları hakkında kesin bilgiler bulunmamasıyla birlikte dünyada toplam 350 bin ha alanda tatlı mısır üretimi yapılmakta ve bunun da %20’si Avrupa Birliği ülkelerinde bulunmaktadır (Anonymous, 2009; Bavec et al. 2013). Dünya’da dondurulmuş tatlı mısır ithalatı 332 milyonun üzerindeyken konserve tatlı mısır 876 milyon civarındadır (FAOSTAT 2013). Tatlı mısırın önde gelen ihracatçıları büyüyen kentleşmeden dolayı Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Macaristan, Fransa, Yeni Zelanda, Belçika ve Tayland’tır.

Ülkemizde, son yıllarda işlenmiş mısır ürünleri tüketimi arttığı halde, tatlı mısırın yeterince tanınmamasından dolayı üretimde önemli artışlar gözlenmemiştir. Diğer bir ifadeyle, tatlı mısır yetiştiriciliği ülkemizde, dar bir alanda ve az sayıda çeşitle yapılmaktadır (Özçam, 2012). Tüketilen şeker mısırın büyük bir kısmı yurt dışından ithal edilmektedir. Bununla birlikte yurt içi şeker mısır üretimi de gün geçtikçe artmaktadır. Yaklaşık 60 bin tonluk tüketimin üçte biri ülkemizde üretilmekte ve üretilen hibrit şeker mısırların büyük bir çoğunluğunu yabancı şirketlerin çeşitleri oluşturmaktadır. Yine tüketimin büyük bir kısmını da konserve ürünler oluşturmaktadır. Şeker mısırın ülkemizde taze süt mısır olarak tüketimi yoktur. Taze tüketim at dişi mısırların erken dönemde hasat edilmeleri ile yapılmaktadır. Şeker mısırın koçanları küçük ve toplam şekerdeki değişimi yüksek olması nedeniyle uzun süre dış koşullarda muhafaza edilemediğinden taze tüketimi çok yaygın değildir. Aynı zamanda uzun süre dış koşullarda kalan şeker mısır tanelerinde deformasyon (çökme) da meydana gelmektedir.

Tatlı mısırdaki ilk geliştirilen çeşitler düşük şeker oranına sahiptir. Dünyada yeni geliştirilen şeker oranları yüksek çeşitler hızla bunların yerini almaktadır. Ülkemizde şeker oranı arttırılmış yeni çeşitler fazla bulunmamaktadır. Ülkemizde, Jubilee ve Merit gibi düşük şeker içerikli çeşitlerin yanında popülasyon veya kompozit niteliğindeki çeşitler de yetiştirilmektedir (Cesurer ve Ülger, 1997; Şencar ve ark., 1999; Turgut ve Balcı, 2001; Öktem ve Öktem, 2006).

Ekonomik önemi ve yetiştirme alanları artan tatlı mısırdaki endüstriye işlenecek ürünlerde bazı teknolojik kalite özellikleri aranmaktadır. Bunlar

arasında tanenin şeker içeriği, tane rengi ve tane randımanı ilk sıralarda yer almaktadır (Paterniani vd., 2000). Tane rengi, tane şekli, çiçeklenme süresinin genotiplerin morfolojik incelenmesinde kullanılabileceğini belirtilirken, Bandel (1987) tatlı mısırdaki sekiz farklı tane tipi olduğunu belirlemiştir. Bölgelere göre uygun çeşitlerin belirlenmesinde bölgenin ekolojik özellikleri ve tüketici tercihleri dikkate alınmalıdır. Tatlı mısır çeşit grupları açısından farklı özelliklere sahip genotipler bulunurken üniform olgunlaşma gösteren iri koçanlı, sarı taneli, şeker içeriği yüksek, hastalık ve zararlılara dayanıklı verimli çeşitler tercih edilmektedir (Thomson and Kelly, 1957).

Anormal endosperm fenotipine sahip mısır mutantları nişasta biyosentez yolunun anlaşılmasına önemli katkılarda bulunmuşlardır (Preiss, 1991). Karbonhidrat sentezinin kontrol edilmesinde ve endospermde depolanmasındaki gen etkileri henüz tamamen anlaşılmamış olmasına rağmen, endosperm karbonhidrat bileşimindeki değişiklik tatlı mısır ıslahçıları tarafından kullanılmaktadır. Bu genler örneğin *bt2*, *sh1* ve *sh2* glikozun oluşumuna yardım ederken *ae1*, *su1* ve *wx1* nişasta metabolizmasının son ürünleri olan amiloz ve amilopektini üreten enzimleri kodlarlar (Hossain et al., 2015). Daha sonra şeker miktarını arttıran ve raf ömrünü uzatan “*Shrunken (Sh-2)*” ve “*Sugary Enhancer (Se)*” genleri ticari hatlara eklenmiştir. *Su1* tipinde hasattan sonra şeker seviyesinin hızla düşmesine rağmen *Sh2Sh2* mutantları ise daha yüksek şeker miktarı sayesinde dane olgunlaşma aşamasında karbonhidrat miktarı azalmıştır. Yüksek şeker seviyesi nedeniyle “süper tatlı” ya da “ekstra tatlı mısır” olarak adlandırılır (Hossain et al., 2015).

Herhangi bir gen havuzunda genetik çeşitliliğin bilinmesi ıslah programını tasarlamada gerekli olan bir bilgidir. Özellikle melezleme de kullanılacak anaçların mevcut durumunun bilinmesiyle bitki ıslahının etkinlik derecesi artırılabilir. Özellikle mısır gen havuzu içinde genetik çeşitlilik çalışmaları çok yoğun bir şekilde yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Örneğin, ABD ticari melez mısır çeşitlerinin orijini açık tozlanan “Reid” ve “Lancaster” isimli iki populasyondan elde edilen saf hatların melezlerine dayanmaktadır (Goodman, 1990; Darrah et al., 1986).

Bu çalışmanın amacı, hibrit tatlı mısıır (*Zea mays saccharata* Sturt.) ıslahında kullanılmak üzere geliştirilmiş kendilenmiş tatlı mısıır hatlarında koan hasadından sonra toplam şeker içeriği en yüksek olan genotiplerin belirlenmesidir. Bu amaçla kendilenmiş tatlı mısıır danelerinde hangi genlerin bulunduğunu moleküler markörler (SSR markörleri) kullanarak saptamak ve tanedeki şeker içeriği ile ilişkilerini ortaya koymaktır. Ayrıca bu kapsamda markör destekli seleksiyon ile şeker içeriği yüksek ve raf ömrü uzun yerli tatlı mısıır hibrit çeşit adaylarının elde edilmesinde uygun ebeveynlerin moleküler düzeyde geliştirilmesi de hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tatlı mısır varyeteleri diğer mısır varyetelerine kıyasla iyi lezzetli, kremi dokuya sahip buruşuk daneler olarak gözüktür. Tatlı mısır, bileşim açısından diğer mısırlardan farklıdır. Süt olum dönemi sonunda hasat edildiğinde şeker oranı diğer mısır varyetelerinden daha yüksek olup, danesinde daha fazla yağ ve protein bulundurmaktadır (Coşkun, 2006). Karotenoid bileşiklerinden glutelin ve zeaxantin önemli kaynağıdır. Tatlı mısır diğer mısır tiplerine göre ortama daha yüksek ısı yaymakta ve dolayısıyla solunum hızı da daha yüksek olmaktadır. Bu nedenle yüksek ortam sıcaklığında tatlı mısırdaki hızlı bir şeker kaybı gözlenmektedir (Evensen ve Bayer, 1986 ; Olsen et al., 1991). Düşük sıcaklıkta ise enzimatik faaliyetler yavaşlayacağından ve aktif hücre çoğalması da azalacağından dolayı depo maddelerinin parçalanması da yavaşlamaktadır. Khun, (1995) tatlı mısır tanesinin ortalama besin bileşimini aşağıdaki şekilde belirlemiştir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. 110-120 gr tatlı mısırın ortalama besin bileşimi.

	Taze	Dondurulmuş	Piştirilmiş	Konserve
	Tatlı Mısır	Tatlı Mısır	Tatlı Mısır	Tatlı Mısır
Kalori	66	67	89	79
Karbonhidratlar, gr	14	16	20	18
Yağ, gr	0.9	0.06	1.0	0.5
Protein, gr	2.4	2.4	2.7	2.4
Sodyum, mg	11.7	4.0	11.7	11.7
A Vitamini*	4	4	2	2
C Vitamini*	8	2	8	10
Thiamin*	10	2	10	2

*ABD’de tavsiye edilen günlük vitamin alımının % oranı

Tatlı mısır bir mutant olmakla birlikte 4. kromozomunda bulunan “su” geni ile diğer mısır varyetelerinden ayrılmaktadır. Süt olum döneminde, “su” geni endosperm içeriğini iki kat daha tatlılaştırır ve 8-10 kat daha fazla suda çözünebilen polisakkarit ile doldurur. “su” lokusunda meydana gelen mutasyon muhtemelen farklı zamanlarda ve farklı mısır türlerinde oluşmuştur (Creech, 1968). Haploid *sh-2* genine sahip tatlı mısır bitkilerinde yapılan analizlerde şeker genlerinin nişasta viskozite özellikleri ve amiloz içeriğiyle ilişkisi de belirlenmiştir (Almeida et al., 2011).

East ve Hayes (1911) mısırdaki şeker arttıran “su” geninin 4. kromozomun kısa kolunda bulunduğunu ortaya çıkarmışlardır. Son çalışmalar “su” geninin nişastanın dallanmasını kesen enzimi kodlayan mutant bir gen olduğunu göstermiştir. *Su1* mutantı nişasta dallarını kesen enzimi sentezleyerek suda çözünen polisakkarit içeriğini arttırmakla birlikte, süt olum döneminde şeker ve sükröz içeriğini düşürmeye başlamaktadır. Endospermde az nişasta birikimi olduğundan dolayı danelerde buruşma meydana gelmektedir (Feng et al., 2008).

Laughnan (1953), çökmüş danelerde resesif monogenik mutant *shrunk-2*'yi saptamıştır. 3. kromozomun uzun kolundaki *shrunk-2* ADP-glikofosforilazın büyük alt ünitesini kodlar. *Shrunk-2* nişasta biyosentezini önemli derecede engelleyen bir resesif mutanttır.

4. kromozomda bulunan *Brittle* şeker genleri *Brittle-1* ve *Brittle-2* nişasta biyosentezinde anahtar rol oynayan transpozon ekleme enziminin kodlanmasından sorumludurlar. *Brittle-1* geni adenilat taşıyan proteine transpozonun eklenmesine sebep olmaktadır. *Brittle-2* geni ADP-glikoz fosforilazın küçük alt ünitesini kodlamaktadır (Cameron and Teas, 1953). *Bt-1*, *Bt-2* genleri ve *Sh-2* geni benzer fenotipik özellikleri göstermektedir. *Bt-1*, *Bt-2* ve *Sh-2* geni nişasta biyosentezinde aynı ya da yakın adımı engellemektedirler (Feng et al., 2008). Hossain ve ark. (2015) çalışmalarında tatlı mısırdaki şeker içeriğinin genetik kontrolünün monogenik dominant ve resesif alleller ile gerçekleştiğini göstermektedir.

Pedigri ve morfolojik bilgilerle karşılaştırıldığı zaman, moleküler markörler genotipler arasındaki farklılıkları, gen kaynaklarının korunması ve kullanımı için DNA düzeyinde doğrudan güvenilir ve etkili bir araç olarak ortaya koymaktadır. Araştırmacılar moleküler markörleri kullanarak genetik çeşitlilik çalışmalarında birçok bitkiye adapte etmişlerdir (Cömertpay, 2008). Moleküler markörler çevresel faktörlerden etkilenmemeleri nedeniyle morfoloji ve pedigr bilgileriyle kıyaslandığında, genetik kaynaklarda çeşitliği belirlemek için oldukça yararlı araçlardır (Jones ve ark., 1997).

Basit tekrarlı diziler ve SSR (Simple Sequence Repeats) olarak bilinen mikrosatelit DNA markörlerinin yüksek derecede polimorfizm gösterdiği ilk kez soya bitkisinde gösterilmiştir (Akkaya ve ark., 1992). Bunlar, çoğunlukla ökaryotik türlerin genomlarında ard arda tekrarlanan ikili, üçlü, dördü ve beşli nükleotid küme dizileri halindeki DNA uzantılarıdır. Örneğin (AT)_n; (GC)_n; (CA)_n; (ATT)_n ve (AGC)_n; gibi. Bu tekrarlar bireyden bireye farklılıklar gösterir

ve tekrar sayısı “n”deki değişimler; aynı lokusta, genotipler arasında farklı uzunlukta PCR ürünlerine yol açar.

Moleküler markörlerde aranan özellikler; yüksek polimorfizm, kodominant kalıtım, genomda sık dağılım göstermesi, kolay ve hızlı olması, düşük maliyet ve tekrarlanabilir olması, popülasyonlar ve türler arası transfer olabilmesidir (Filiz ve Koç, 2011). Mikrosatellitler bundan dolayı birçok bitki türünde kullanılan bir DNA markörüdür.

Senior ve ark., (1998) farklı iki orijinli (Mısır Kuşığı Bölgesi ve Güney Mısır Kuşığı Irkları) 94 kendilenmiş mısır hattıyla genetik çeşitliliği araştırdıkları bu çalışmada 70 SSR primeri (mısır genomuna iyice dağılmış şekilde) kullanmışlardır. PCR ürünlerini yüksek çözünürlü agaroz jele yükleyip yatay elektroforez yaparak gerçekleştirmişlerdir. Allel sayısının 2 ile 23 arasında değişim gösterdiğini, lokus başına düşen ortalama allel sayısının 5 olduğunu ve toplam allel sayısının ise 365 olduğunu bildirmişlerdir. SSR lokusları için PIC değerinin 0.17 den 0.92 ye kadar değişim gösterdiğini, ortalama PIC değerinin 0.59 olduğunu, allel büyüklüğünün ise 74 bp (baz çifti) ile 266 bp arasında değiştiğini saptamışlardır. Çalıştıkları materyalde, bilinen pedigrilerle genetik uzaklığın uygunluk gösterdiğini bulmuşlardır.

Laborda ve ark., (2005) yapmış oldukları bir çalışmada 85 tropik kökenli mısır saf hattında SSR primeri kullanarak, bu hatların parmak izini çıkarmışlardır. SSR lokuslarını genomu en iyi şekilde temsil edecek biçimde mısır kromozomlarının 10’una dağılmış bir şekilde uygulamışlardır. Toplam 262 band ve ortalama 5.2 allel bulmuşlardır. SSR için PIC değeri 0.24 ile 0.90 arasında bulunurken ortalama PIC değerini 0.61 olarak bulmuşlardır. Bu markör tekniklerini kullanarak hatlar arasında çeşitliliğin önemli ve polimorfizmin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Kümeleme analizini kullanarak grupları ve alt grupları belirlemeye çalışmışlar fakat iyi ayrılmış bir grup oluşturamamışlar ve 3 farklı genetik uzaklık katsayısını (Jaccard, değiştirilmiş Roger ve moleküler coancestry katsayısı) kullanarak elde ettikleri gruplarla yine aynı sonucu bulmuşlardır. Farklı araştırmacılar tarafından geliştirilen genetik uzaklık ve genetik yakınlığın hesaplanmasında kullanılan hesap yöntemlerinin kümeleme analiz sonuçlarını etkilemediğini bulmuşlar, fakat farklı DNA markör yöntemlerinin genetik benzerliği hesaplamada büyük bir etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır (Cömertpay, 2008).

Almeida ve ark. (2011)'de 10 SSR primeri ile yaptıkları analizlerde allel ortalaması 3,3 olarak tespit edilip phi032 lokusunda 2 allel, phi021 lokusunda 6 allel olarak arasında bir aralıkta yayılım gösterdiğini belirtmişlerdir. 10 primerin de tatlı mısır ve at dişi mısır popülasyonu için spesifik olduğu ve anlamsız veri oranının % 10'dan az olduğu gözlemlenmiştir. Bulunan bant büyüklükleri 40 ile 244 bp arasında dağılmaktadır. SSR için PIC değerini 0.26 (phi032) ile 0.76 (phi021), ortalama 2.44 olarak bulmuşlardır.

Klasik bitki ıslahı, çevresel koşullara oldukça bağımlı olduğundan dolayı zaman almaktadır. Bundan dolayı, bitki ıslahçıları bu hızlandırmak için yeni teknolojilere başvurmuşlardır. Moleküler markörlerin kullanılmasıyla elde edilen genetik bilgiye dayanılarak yapılan seleksiyona, markörlere dayalı seleksiyon (MAS) denmektedir. MAS, kantitatif özelliklerin seleksiyonunu kolaylaştırır. Bunun başlıca nedenleri; 1) DNA markörleri, bitki daha fide dönemindeyken analiz edilebilir, birçok özellik henüz ortaya çıkmadan (eksprese olmadan) seleksiyon yapmaya izin verir ve böylelikle olgunluğa ulaşacak bitki sayısı düşürülmüş olur, 2) Birçok özellik, DNA markörleri kullanılarak sadece fenotipe bakılarak yapılan seleksiyondan daha doğru şekilde sekte edilirler, 3) Fenotipik özelliklerin aksine genetik markörler iklim odaları veya seralar gibi alanlarda güvenilir şekilde belirlenebilir ki bu durum bitki ıslahında daha hızlı ilerlemeyi mümkün kılar (Cömertpay, 2008).

Qi ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada kullandıkları iki kendilenmiş ebeveyn hat olan Ji557 ve Ji165'in çözünür şeker içeriğini sırasıyla % 6.75 ve % 17.81 olarak bulmuşlardır. F₁ bireylerinin şeker içeriği iki ebeveyn hat arasında % 14.82 olarak bulunmuştur. F_{2:3} aileleri ise sürekli bir dağılım göstermişlerdir. F_{2:3} aileleri dağılımı Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Ebeveynlerin, F₁ ve F_{2:3} bireylerinin çözünür şeker içeriği (%).

Kendilenmiş ebeveyn hatlat		F ₁	F _{2:3} bireyleri		
Ji557	Ji165		Ortalama	Aralık	CV(%)
6.75	17.81	14.82	11.37±1.75	4.46-17.81	32.96

Qi ve ark.(2009) bu çalışmada; kromozom 2'de 3 adet, kromozom 3'te 1 adet, kromozom 4'te 2 adet, kromozom 5'te 1 adet, kromozom 9'da 3 adet ve kromozom 10'da 1 adet olmak üzere çözünür şeker içeriği ile ilgili 11 QTL bulmuşlardır. Bulunan QTL'ler fenotipik varyasyonun % 63.7 sini açıklamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Deneme alanının özellikleri

Deneme Ege Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma Alanında 2015 yetiştirme sezonunda yürütülmüştür. Araştırma yeri olan İzmir/Bornova'nın rakımı 10 metre olup, 38° kuzey enlem başlangıcı ile 27° doğu boylamları arasında kesişen koordinatlarda bulunmaktadır. Denemenin yapıldığı İzmir ili Akdeniz iklim kuşağının hakim olduğu yazların kurak ve sıcak kışların ise ılık ve yağışlı geçtiği bir bölgedir. İzmir bazında yıllık ortalama sıcaklık, 16°C (Bergama) ile 17 °C (Bayındır) arasında değişmektedir. İzmir'de ölçülen uç değerler göz önüne alındığında sıcaklığın maksimum 45.1 °C (Torbalı) ile minimum 13 °C (Ödemiş) arasında değiştiği anlaşılmaktadır. İzmir'de bağıl nem oranı sıcaklığın yüksek bulutluluğun az olduğu yaz aylarında düşüktür. İzmir'de iklim faktörleri arasında en büyük değişkenliği yağış göstermektedir. Yıllık ortalama yağış miktarı 700 mm olmasına karşın genel atmosfer dolaşımında görülen değişmelere bağlı olarak bazı yıllarda yağış toplamı 1000 mm'yi geçmekte bazı yıllarda ise 300 mm civarına düşmektedir. Yağış miktarının en yüksek olduğu aylar Aralık, Ocak ve Şubat'tır.

Deneme alanının toprak yapısı ve besin maddesi içerikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir (Kaçar, 1986; Reçber, 2011).

Çizelge 3.1. Deneme alanının toprak yapısı ve besin maddesi içerikleri.

Özellikler	Örnek Derinliği	
	0-30 cm	30-60 cm
Kum (%)	27.44	-
Kil (%)	40.56	-
Mil (%)	32.00	-
Bünye	Kil	-
pH	7.62	7.67
Eriyebilir Toplam Tuz	0.115	0.088
Kireç	25.11	26.85
Organik Madde (%)	1.34	1.60

Çizelge 3.1. (devam)

Özellikler	Örnek Derinliği	
	0-30 cm	30-60 cm
Toplam Azot (%)	0.140	0.123
Alınabilir Fosfor (ppm)	1.27	1.22
Alınabilir Potasyum (ppm)	480.2	417.1
Alınabilir Kalsiyum (ppm)	8722	8918
Alınabilir Sodyum (ppm)	37.6	42.3
Alınabilir Demir (ppm)	11.74	12.76
Alınabilir Bakır (ppm)	1.67	1.43
Alınabilir Çinko (ppm)	2.95	7.87
Alınabilir Mangan (ppm)	17.62	11.57
Alınabilir Magnezyum	210.6	214.2

3.1.2 Kullanılan tohumluk materyali ve ekim zamanları

Proje materyali olarak Amerika Tarım Bakanlığı (USDA)'dan temin edilmiş 26 adet kendilenmiş tatlı mısır (*Zea mays saccharata* STURT.) ve Ege Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından F₂'den itibaren kendilemeye başlanılan S₄ aşamasına kadar kendilenmiş 23 adet tatlı mısır melez hattı kullanılmıştır. Denemede kullanılan mısır hatları Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Ege Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilen S₄ aşamasındaki hatlar ve Amerika Tarım Bakanlığı'ndan temin edilen kendilenmiş hatlar.

Gen.No	Pedigri	Gen.No	Pedigri	Gen.No	Pedigri
1	ames27446	17	ames27120	33	S4 kendilenmiş hattı (ruster×ladika)
2	NSL101292	18	PI587126	34	S4 kendilenmiş hattı (ruster×legacy)
3	ames27118	19	PI550521	35	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×ruster)
4	PI233315	20	ames27117	36	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×vega)
5	ames26812	21	NSL42808	37	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×sunshine)
6	PI358528	22	NSL42806	38	S4 kendilenmiş hattı (bonanza×sunshine)

Çizelge 3.2. (devam)

Gen.No	Pedigri	Gen. No	Pedigri	Gen.No	Pedigri
7	PI358528	23	ames27447	39	S4 kendilenmiş hattı (bonanza×vega)
8	PI587134	24	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×yasemite)	40	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×ladika)
9	PI587133	25	S4 kendilenmiş hattı (bonanza×ruster)	41	S4 kendilenmiş hattı (sunshine×martha)
10	PI358534	26	S4 kendilenmiş hattı (ruster×turboa)	42	S4 kendilenmiş hattı (ruster×vega)
11	PI358532	27	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×bonanza)	43	S4 kendilenmiş hattı (vega×legacy)
12	ames26813	28	S4 kendilenmiş hattı (ruster×vega)	44	S4 kendilenmiş hattı (vega×martha)
13	ames27444	29	S4 kendilenmiş hattı (ladika×turboa)	45	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×martha)
14	PI358536	30	S4 kendilenmiş hattı (sentinel×turboa)	46	NSL42807
15	ames27119	31	S4 kendilenmiş hattı (turboa×bonanza)	47	PI567792
					Erika
16	ames28186	32	S4 kendilenmiş hattı (turboa×sunshine)	48	
				49	NSL42805

3.2 Metot

3.2.1 Denemenin kurulması ve bakımı

Denemenin ekimi 7 Mayıs tarihinde 7×7 Tam Kare Latis Deneme Desenine uygun olarak 2 tekerrürlü olarak oluşturulmuştur. Ekimler 20 cm sıra üzeri ve 70 cm sıra arası mesafelerinde ve sıra üstünde 20 cm'ye iki tohum atılmıştır. Deneme ekim çalışmaları Şekil 3.1 de gösterilmiştir.

Taban gübresi olarak azot ve fosforlu (NP) kompoze gübresi dekara 9 kg saf azot şeklinde ekimle beraber verilmiştir. Daha sonra boğaz doldurma çapasıyla birlikte amonyum nitrat (AN) gübresi dekara 15 kg saf azot olacak şekilde verilmiştir.

Koçanlar tepe püskül çıkışından yaklaşık 21 gün sonra süt olum döneminde şeker analizi için hasat edilmişlerdir. Analize alınacak örnekler -20  C derecede muhafaza edilmiştir.



şekil 3.1. Denemenin ekim.



Şekil 3.2. Kendileme çalışmalarından bir görüntü.



Şekil 3.3. Farklı boylarda ki tatlı mısır hatları.



Şekil 3.4.(a) *sh2* genotipine (b) *sh1* genotipine sahip tatlı mısır koçanları.

3.3 Yöntem

3.3.1 Moleküler Analizler

3.3.1.1 Yaprak örneklerinin hazırlanması

Her hattan alınan genç yaprak örnekleri ayrı ayrı 2 ml'lik ependorf tüplerine konmuş ve sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Alınan bu örnekler, DNA analizleri başlayıncaya kadar -80 °C derecede muhafaza edilmiştir.

3.3.1.2 DNA izolasyonu

Çalışmanın moleküler analizleri Ege Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

DNA'ları izole elde etmek için Doyle&Doyle (1987) yöntemi kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Derin dondurucudaki örneklerin içerisine, +65 °C'de bekletilmiş tampon çözeltiden (CTAB) 700µl koyulmuştur. Tüpler +65 °C'de 5-10 dakika aralıklarla çalkalanarak 30 dakika boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.3. DNA Ekstraksiyon Tamponu [Doyle&Doyle(CTAB)].

Tris-HCL, pH:	8.0 100 mM
EDTA	20 mM
NaCL	1.4 M
CTAB	% 2
Na2 S2 O5	% 1
β-mercaptoethanol	% 0.2



Şekil 3.5. Sıvı azotta ezilmiş yaprak örneğinden bir görünüm.

İnkübasyondan sonra tüpler su banyosundan çıkartılıp üzerlerine 700 μ l soğuk 24:1 oranında kloroform/isoamil alkol eklenmiş ve yaklaşık 5 dakika hafifçe çalkalanmıştır. Tüpler $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Tüplerde 2 faz oluşmuştur. Alttaki fazı karıştırmadan dikkatli bir şekilde üstteki faz yeni ependorf tüplere aktarılmıştır ve üstlerine 600 μ l tekrar kloroform/isoamil alkol eklenmiş ve 5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra tekrar aynı santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Tekrar 2 faz elde edilmiş ve üstteki faz dikkatli bir şekilde yeni ependorf tüplerine aktarılmıştır. Tüplere 50 μ l NH_4OAc (10 M) ve 60 μ l NaOAc (3 M, pH5.5) ilave edilerek 5 dakika yavaşça çalkalanmıştır. Süre dolduktan sonra -20°C 'de saklanan 2-Propanol'den 500 μ l eklenmiştir. Yaklaşık 5 dakika yavaşça çalkaladıktan sonra pelet halinde DNA gözlenmiştir. Tüpler 4000 rpm'de 4 dakika santrifüjlendikten sonra tüplerdeki sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. DNA'ların üzerine 200 μ l yıkama solüsyonu (% 70'lik EtOH/10 mM NH_4OAc) koyularak tüpler $+4^{\circ}\text{C}$ 'de en az 10 dakika bekletilmiştir. 4000 rpm'de 4 dakika santrifüj işleminden sonra tüplerdeki sıvı kısım tekrar pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Tüplerin kapakları açılarak 37°C 'deki inkübatörde (termomikser) 5-10 dakika bekletilmiş ve alkolün uzaklaştırılması sağlanmıştır. Alkol tamamen uçtuktan sonra DNA'ların üzerine 100 μ l TE (10 mM Tris pH: 8.0, 1 mM EDTA pH: 8.0) buffer koyulmuş ve tüpler tekrar 37°C ve 350 rpm'deki termomikserde 2 saat çalkalamaya tabi tutulmuştur. DNA'lar tamamen çözündükten sonra -20°C 'de saklanmıştır.



Şekil 3.6. Su banyosunda inkübasyon.



Şekil 3.7. Santrifüjden sonra iki fazlı görünüm.

3.3.1.3 DNA miktar tayini

İzole edilen çift iplikli DNA miktarının tayini Biophotometer (Eppendorf) 260 nm dalga boyu absorpsiyon değerinden faydalanılarak yapılmıştır. DNA saflığını belirlemek için 260/280 nm sonucu 1.8 olarak değerlendirilmiş ve OD sonuçlarından hesaplanan DNA miktarlarına göre PCR analizi için μl 'de 25 ng olacak şekilde ddH₂O ile seyreltilmiştir. PCR işlemi için hazır hale gelen örnekler -20 °C'de saklanmıştır.

3.3.2 Polimeraz zincir reaksiyonları

Çalışmada kullanılan SSR markörlerinin bir kısmı <http://www.maizegdb.org/> web sitesinden, *sh-2* ve *su* genlerinin markörleri Hossain et al. (2015) çalışmasından seçilmiştir. SSR markörlerinin baz dizilimleri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

PCR solüsyonu Kashiani et al. (2012) çalışmasına göre toplam hacim 20 μl 'dir. Bu PCR solüsyonu içinde 5 μl genomik DNA 1.5 μl 10x PCR buffer, 1.5 μL 25 mM MgCl₂, 0.3 μl 10mM dNTP mix, 0.2 unit taq polimeraz, 4pmol/ μl DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer) mevcuttur. PCR işlemi Çizelge 3.5'te belirtilen protokole göre yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Moleküler çalışmada kullanılan SSR primerleri ve baz dizilişleri.

	Forward	Reverse	Forward	Reverse	Toplam	Bulunduğu Kromozom
umc2061	GTCTGGAGAACTCCCTACCCATTC	TAGCTTGAGAGACCGGAACAGC	24	23	47	(CTG)8 4.05 S
bnlg1937	AATGCTCGGTCCACAGAATC	AACTGGAGCCAAAAGTGGTG	20	20	40	(AG)21 4.05 S
umc1031	TTGGGTTCATACCTCCTAGGAACA	ACGTGGACAACCAAGTCTATCAACA	24	25	49	4.05 S
phi028	TCTCGCTGTCCTTCGATTAGTACGG	AATGCAGGCGATGGTTCTCCGGCCT	25	25	50	GAA 9.01
phi033	ATCGAAATGCAGGCGATGGTTCTC	ATCGAGATGTTCTACGCCCTGAAGT	24	25	49	AAG 9.01
phi044	TTATTGGTCCCTCTCCCGTCCCAGA	AGCATACCCCAATGGTCAACAGGGA	25	25	50	CCCT 9.01
phi328175	GGGAAGTGCTCCTTGCAAG	CGGTAGGTGAACGCGGTA	18	18	36	AGG 7.04 L
umc2276	CTAGGTAGCCAGCTAGGTACGGGT	AGTGGAGCTTCTTCATCCTACCG	24	23	47	(GGC)4 3.08 L
umc1273	GTTCGCTGCTGCTTCTTATATGCT	AATTGGCGCAGGCTATAGACATTT	24	24	48	(AGG)4 3.08 L
umc1320	TGCGAAATCTGTATACCATAGGCA	CTCTTTTAGCAGTGTGCCGAATTT	24	24	48	(GAAC)4 3.08 L
					464	

Çizelge 3.5. PCR protokolünde kullanılan PCR programı (Touchdown PCR).

1 döngü	9 döngü	29 döngü	1 döngü
94°C'de 3 dak.	94°C'de 30 sn. 60°C'de 30 sn. (her döngüde 1°C azalma) 72°C'de 30 sn.	94°C'de 30 sn. 50°C'de 30 sn. 72°C'de 30 sn.	72°C'de 10 dak.

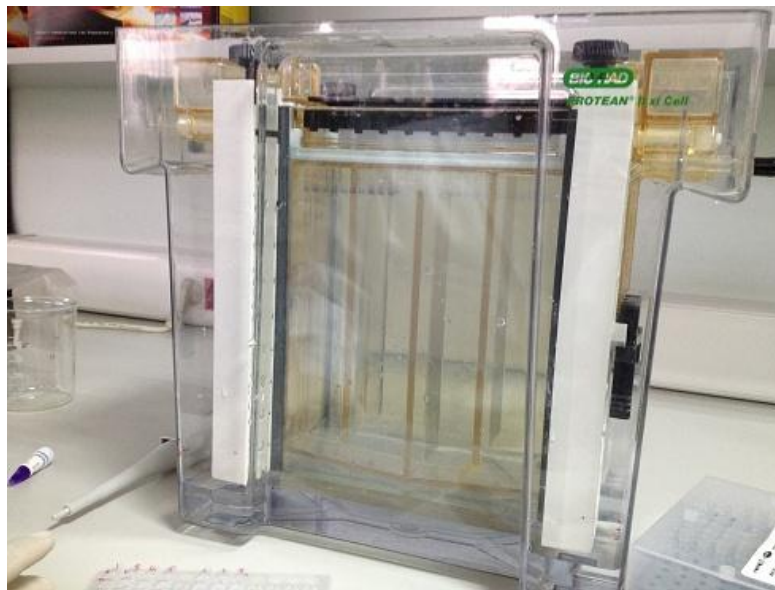
Program sonlandıktan sonra PCR ürünleri brom fenol blue boyası ile boyanmış ve yüklemeye hazır hale getirilmiştir.

3.3.3 Poliakrilamid jel elektroforezi

Çalışmada % 8'lik poliakrilamid jel kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri aşağıda bileşimi verilen % 8'lik akrilamid jelde Protean II xi cell (Bio-rad) dikey elektroforez sisteminde sabit 90 V'da yaklaşık 14 saat yürütülmüştür. Standart markör olarak 50 bp'lik DNA ladder kullanılmıştır.

% 8'lik akrilamid gel

% 40'lık akrilamid..... 44 ml
10XTBE 22 ml
Su..... 154ml
% 10'luk APS..... 1.5 ml
TEMED180 µl



Şekil 3.8. Jel yükleme görüntüsü.

3.3.4 Toplam şeker içeriği analizi

Çalışmada farklı 49 tatlı mısırın toplam şeker içeriğini belirlemek için Luff-Schoorl Metodu kullanılmıştır. Analizler hizmet alımı şeklinde zel Deppo Gıda Kontrol Laboratuvarı kimya laboratuvarında yapılmıştır. Analiz sonuçları izelge 4.1’de gösterilmektedir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Toplam Şeker İçeriği Miktarları

Mısır çeşitlerinin olgunlaşmalarında genetik yapıları oldukça etkilidir ve bunlar olgunlaşma zamanlarına göre erkenci (70 günden daha az), orta (70-84) ve geçici (84 günden daha fazla) tipler olarak sınıflandırılmaktadır (Orzolek et al., 2000). Ancak, çevre şartlarına bağlı olarak çeşitlerin olgunlaşma sürelerinin 6-19 gün arasında uzayabileceği de bildirilmektedir (Precheur et al., 2006). Erkenci çeşitler daha küçük koçanlara sahiptir ve geç olgunlaşan çeşitlere göre taze tüketim kaliteleri daha zayıftır (Motes et al., 2007). Genellikle geçici çeşitlerin tüketim kalitesi en iyidir (Lerner and Dana, 2007). Koçanlar püskül çıkışından sonra yaklaşık 21. günde pazarlanabilecek olgunluğa gelmekte ve hasat süresi 2-3 günden 5 güne kadar yayılabilmektedir (Dartt et al., 2002). Optimum hasat zamanı çeşitlerin çevreye olan tepkilerine bağlıdır ve olgunlaşma zamanları bazı sezonlarda 7 güne kadar da farklılık gösterebilir (Huelsman, 2000). SukSoon et al. (2004), şeker mısırında kalitenin olgunlaşma zamanına göre değiştiğini, hasat geciktikçe şeker miktarının azaldığını saptamışlardır. Tozlanma ve tane gelişimi esnasındaki ekstrem sıcaklık değerleri ile düşük ve yüksek nem oranları gibi stres şartları tozlanma ve tane doldurmayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu olumsuzluklar özellikle tane sayısı ve kalitesinde azalma şeklinde ortaya çıkmaktadır (Kleinhenz, 2001; Bruce et al., 2002; Precheur et al., 2006).

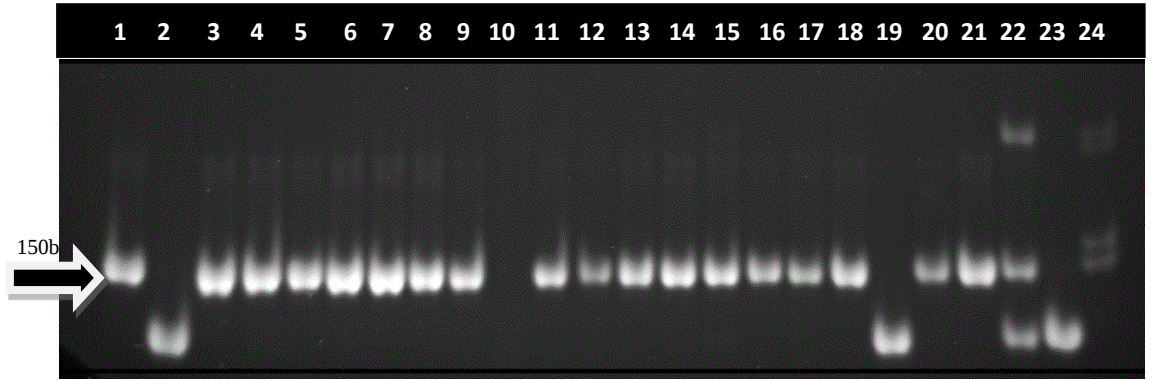
Çalışmamızda 49 farklı kendilenmiş tatlı mısır hattının toplam şeker analiz sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmektedir. Kendilenmiş tatlı mısır hatları arasında en yüksek şeker içeriği % 16.84 ile PI 587126 genotipinde ölçümlenmiştir. En düşük toplam şeker içeriği ise % 0.66 değeri ile 29 nolu genotipte belirlenmiştir. Bununla birlikte at dişi mısırın toplam şeker içeriği en fazla % 4.0 olduğu düşünülmürse mevcut kendilenmiş hatların 18 tanesinin at dişi mısırdan daha yüksek toplam şeker içerdiği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda düşük şeker içeriğine sahip genotiplerin daha erkenci genotipler olabileceği ve bu nedenle de daha geç hasat edilmesinden dolayı bir kısım şekerin nişastaya dönüşmesinden dolayı daha az toplam şeker içerdikleri düşünülebilir.

Çizelge 4.1. Tatlı mısır hatlarının ilgili markör ve toplam şeker içeriği miktarları.

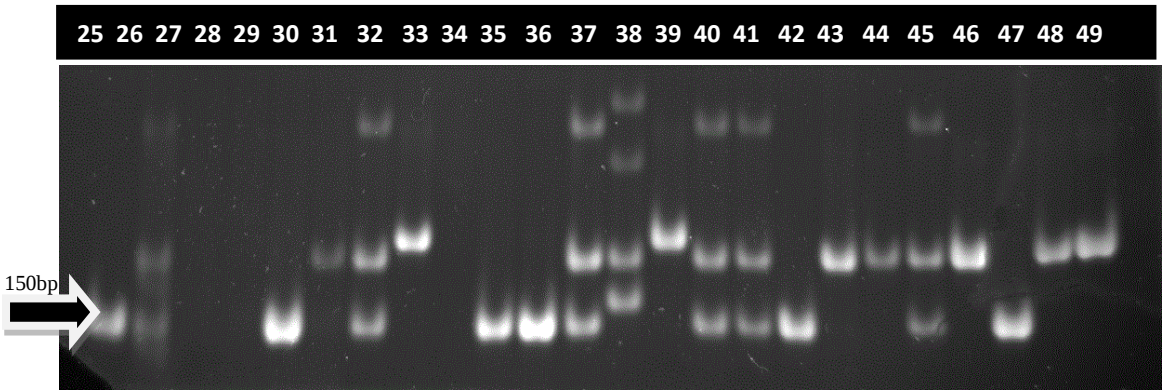
Gen. No	Pedigri	İçerdiği Allel	Toplam Şeker Miktarı	Gen. No	Pedigri	İçerdiği Allel	Toplam Şeker Miktarı
18	PI587126	sh2su, sh1	16.84	31	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,ea1	2.84
45	S4 kendilenmiş hat	sh2,su, sh1	14.37	11	PI358532	sh2,su,sh1	2.73
3	ames27118	sh2,su,sh1	13.62	6	PI358528	sh2,ea1,sh1	2.61
26	S4 kendilenmiş hat	sh2,sh1	12.08	8	PI587134	sh2,su,ea1,sh1	2.58
43	S4 kendilenmiş hat	sh2,ea1	11.85	49	NSL42805	sh2,su	2.46
10	PI358534	sh2,su,ea1,sh1	11.84	30	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	2.45
32	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	11.68	4	PI233315	su,sh1	2.44
25	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	9.94	21	NSL42808	su,sh1	2.36
13	ames27444	sh2,su,sh1	8.88	34	S4 kendilenmiş hat	sh2,ea1,sh1	2.23
7	PI358535	sh2,su,ea1,sh1	8.54	24	S4 kendilenmiş hat	su	2.16
41	S4 kendilenmiş hat	sh2,ea1,sh1	8.24	15	ames27119	Su	1.98
17	ames27120	sh2,su,ea1,sh1	7.8	40	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,ea1,sh1	1.97
36	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	7.72	28	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	1.93
48	erika	sh2,su,ea1,sh1	6.96	16	ames28186	Su	1.92
22	NSL42806	sh2,su	6.51	47	PI567792	sh2,ea1,sh1	1.92
42	S4 kendilenmiş hat	su,ea1	6.24	20	ames27117	sh2,su,ea1,sh1	1.63
27	S4 kendilenmiş hat	su,ea1,sh1	6.06	23	ames27447	sh2,sh1	1.39
37	S4 kendilenmiş hat	su,ea1	5.75	2	NSL101292	sh2	1.37
19	PI550521	sh2,su	5.33	29	S4 kendilenmiş hat	sh2,su	0.66
9	PI587133	sh2,su	4.96				
1	ames27446	su	4.95				
39	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,sh1	4.94				
5	ames26812	su,sh1	4.58				
14	PI358536	sh2,su	4.08				
33	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,ea1	3.93				
38	S4 kendilenmiş hat	sh2,su	3.76				
44	S4 kendilenmiş hat	sh2,su	3.46				
12	ames26813	sh2,su,ea1,sh1	3.24				
35	S4 kendilenmiş hat	sh2,su,ea1	2.96				
46	NSL42807	su,ea1,sh1	2.87				

4.2 Moleküler Analizler

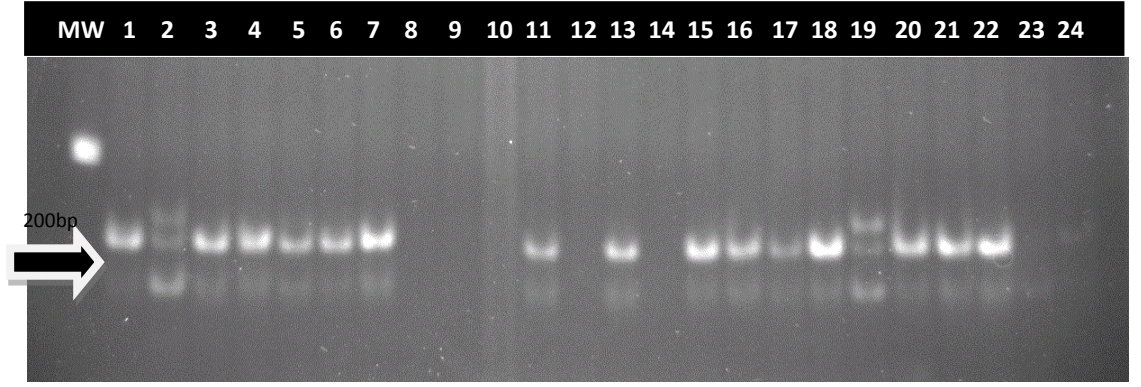
Bu çalışmada tatlı mısırdaki şeker içeriği üzerinde etkili olan genlerden “su” geni için umc1031, umc2061 ve bnlg1937 primerleri; *sh-2* geni için umc1273, umc2276 ve umc1320 primerleri; *sh-1* geni için phi28 ve phi44 primerleri; *ea-1* geni için phi32817 primeri kullanılmıştır.



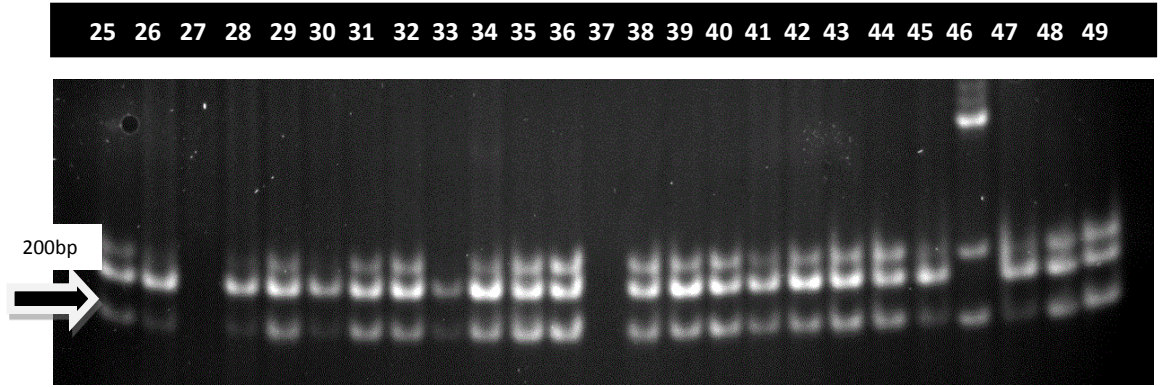
Şekil 4.1. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında *su* geni için kullanılan bnlgl937 primerinin jel görüntüsü.



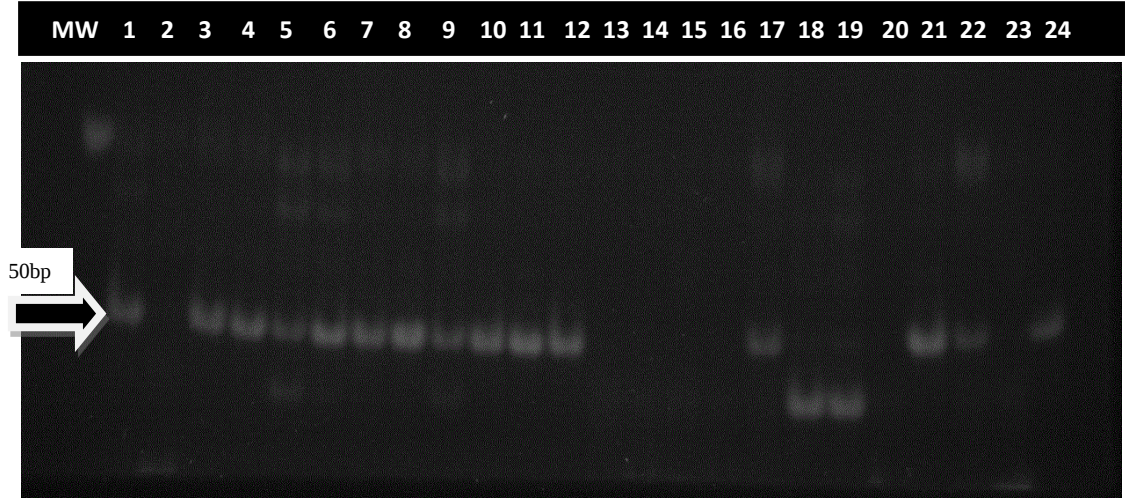
Şekil 4.1. (devam)



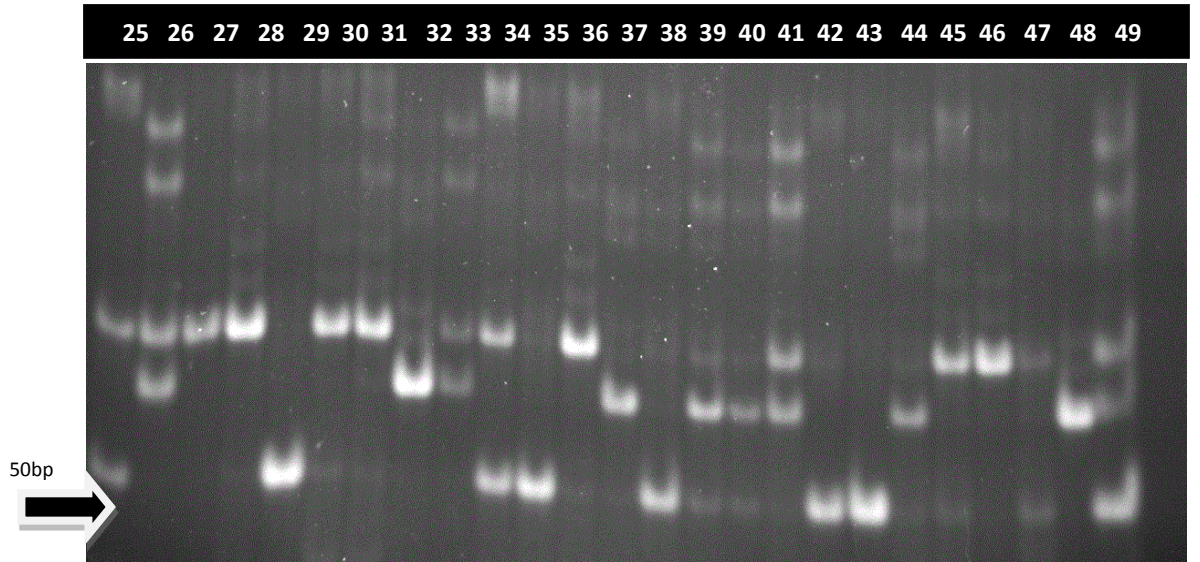
Şekil 4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında *su* geni için kullanılan umc1031 primerinin jel görüntüsü.



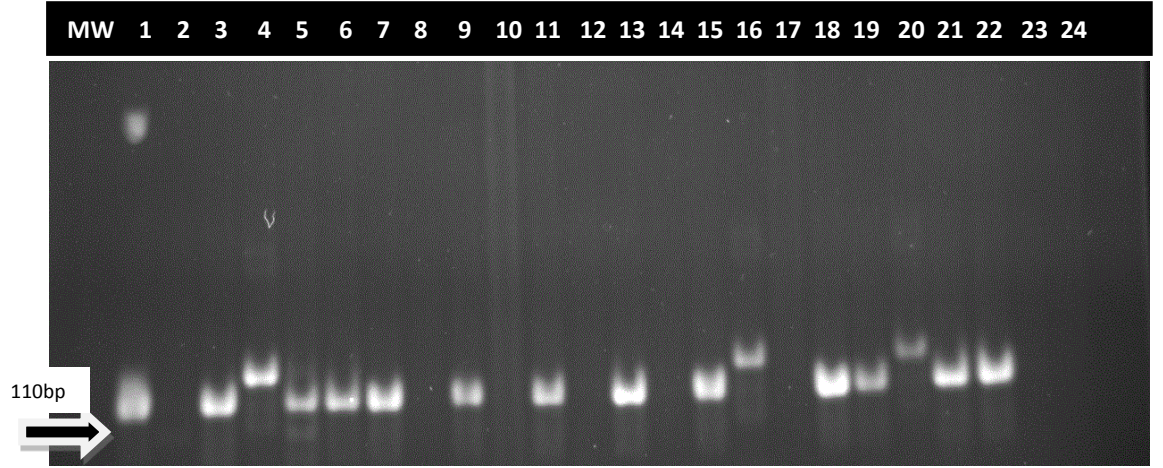
Şekil 4.2. (devam).



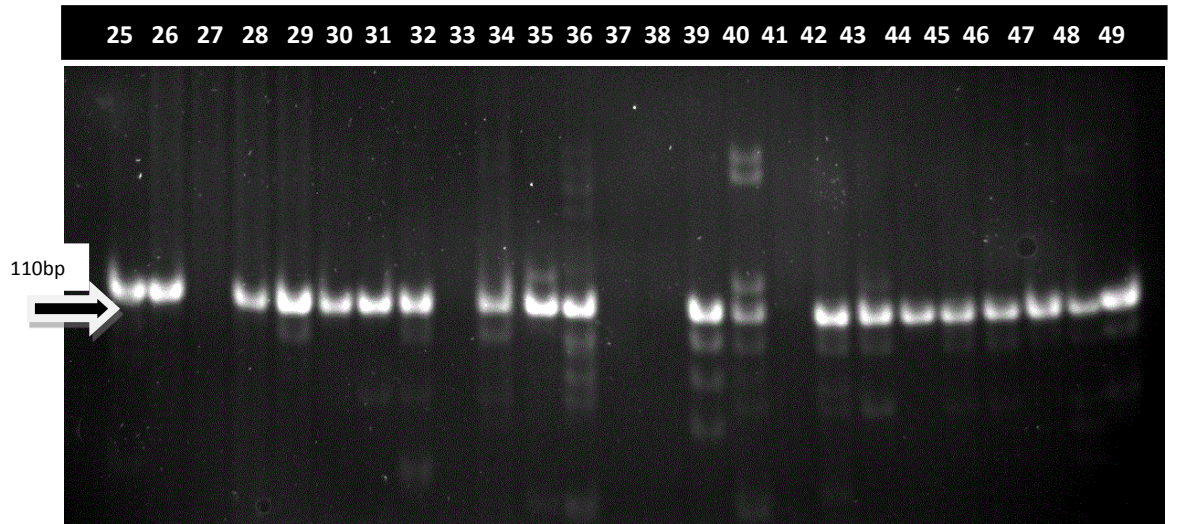
Şekil 4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında *sh-1* geni için kullanılan phi28 primerinin jel görüntüsü.



Şekil 4.3. (devam).



Şekil 4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki *sh-2* geni için kullanılan umc1320 primerinin jel görüntüsü.



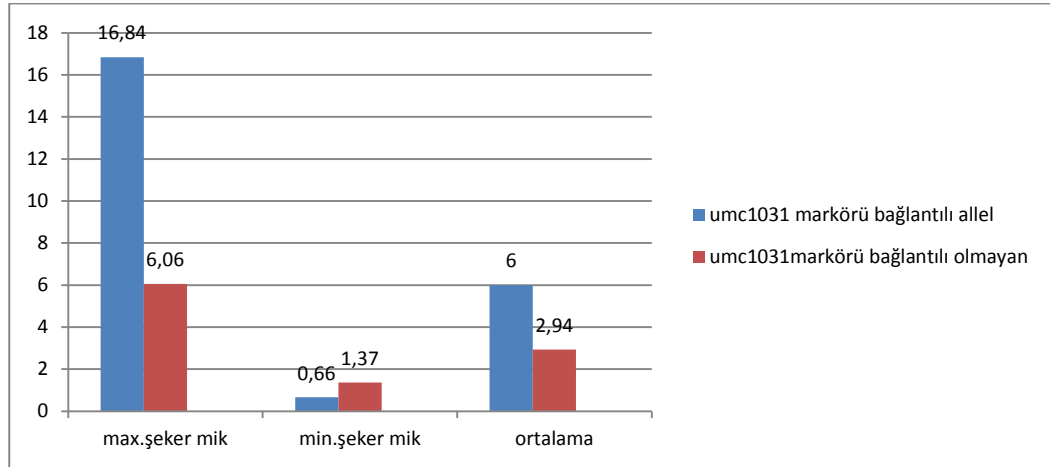
Şekil 4.4. (devam).

Çalışmamızda kullanılan 49 adet kendilenmiş tatlı mısır hattı *su* alleli bakımından umc1031, umc2061 ve bnlg 1937 SSR markörü ile taranmıştır. umc 1031 primeri ile yapılan taramada 49 adet kendilenmiş tatlı mısır hattının 39'unun primer ile ilişkili bandı taşıdığı tespit edilmiştir. Tatlı mısır populasyonunda umc 2061 primeri ile yapılan taramada ise 34'nün primer ile ilişkili bandı içerdiği belirlenmiştir. Yine mevcut populasyonda bnlg1937 primeri ile yapılan taramada 20 adet genotipin ilgili bandı saptanmıştır.

Çalışmamızdaki tatlı mısır genotiplerinin koçanları olgunlaşma döneminde hasat edilmiştir. Hasat edilen koçanlar tanelenmiş ve olgun tanedeki şeker içerikleri de analiz edilmiştir. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki *su* allelini gösteren umc1031, umc2061 ve bnl9137 markörlerine ait band desenlerinin bulunduğu ve bulunmadığı genotiplerin toplam şeker içerikleri de Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4 ve Grafik 4.1, 4.2 ve 4.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1031 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik.	min.şeker mik.	Ortalama
umc1031 markörünü taşıyanlar(39 genotip)	16.84	0.66	6.00
umc1031 markörünü taşımayanlar(10 genotip)	6.06	1.37	2.94

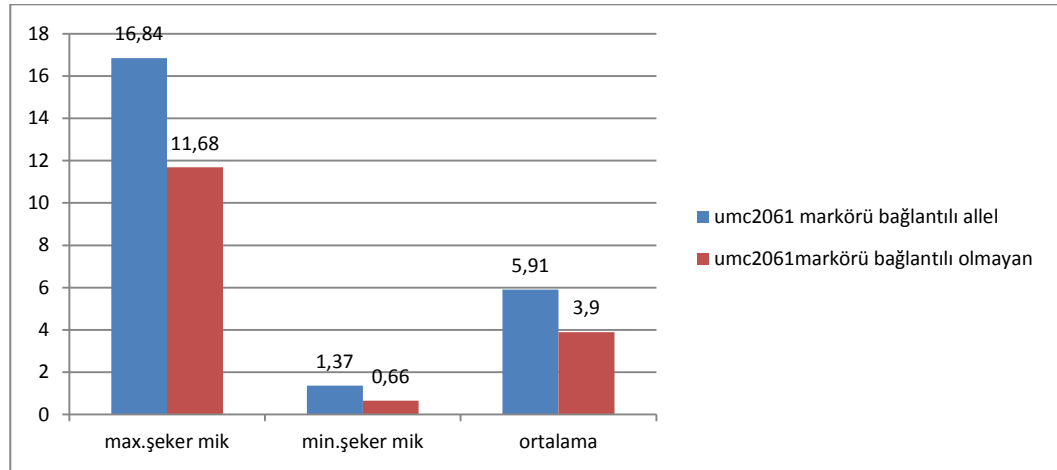


Grafik 4.1. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1031 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Çizelge 4.2 ve Grafik 4.1 incelendiğinde; kendilenmiş tatlı mısır hatlarında ilgili markörü taşıyan genotiplerin ortalama toplam şeker içerikleri (% 6.00) taşımayan genotiplerden (% 2.94) daha yüksek şeker miktarına sahiptir. Aynı zamanda maksimum şeker içerikleri de oldukça yüksek olarak saptanmıştır. Buna karşın umc 1031 markörünü taşıyan daha düşük şeker içeriğine sahip genotiplerin bulunduğu da anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2061 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
umc2061 markörünü taşıyanlar(34 genotip)	16.84	1.37	5.91
umc2061 markörünü taşımayanlar(15 genotip)	11.68	0.66	3.90

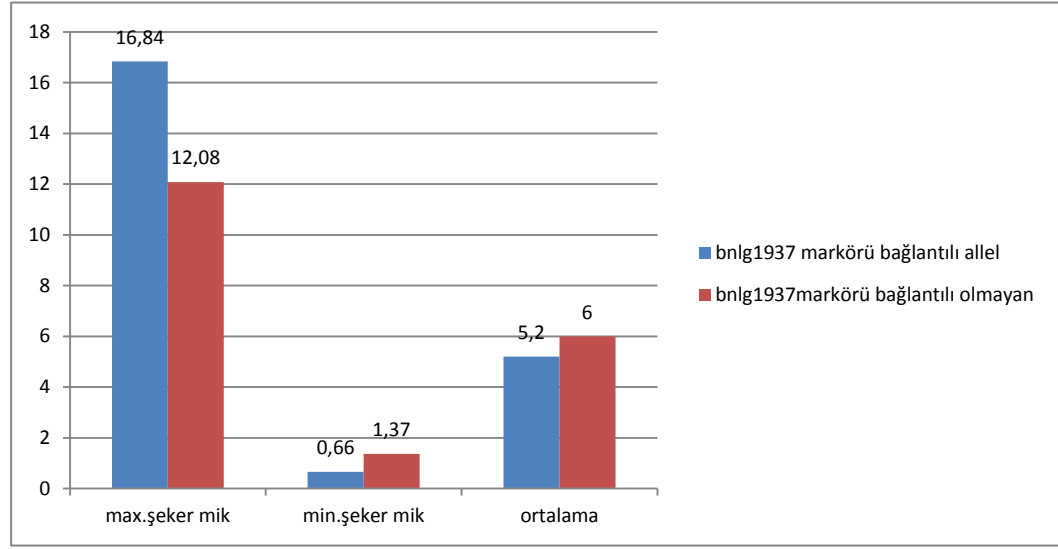


Grafik 4.2. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2061 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc 2061 markörüne ilişkin Çizelge 4.3 ve Grafik 4.2 incelendiğinde; bu markörü taşıyanların ortalama toplam şeker içeriği (% 5.91) bu markörü taşımayan genotiplerin ortalama toplam şeker içeriğinden (% 3.90) daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Yine umc 2061 markörünü taşıyanların maksimum ve minimum şeker içerikleri daha yüksek olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında bnlg1937 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
bnlg1937 markörünü taşıyanlar(20 genotip)	16.84	0.66	5.20
bnlg1937 markörünü taşımayanlar(29 genotip)	12.08	1.37	6.00



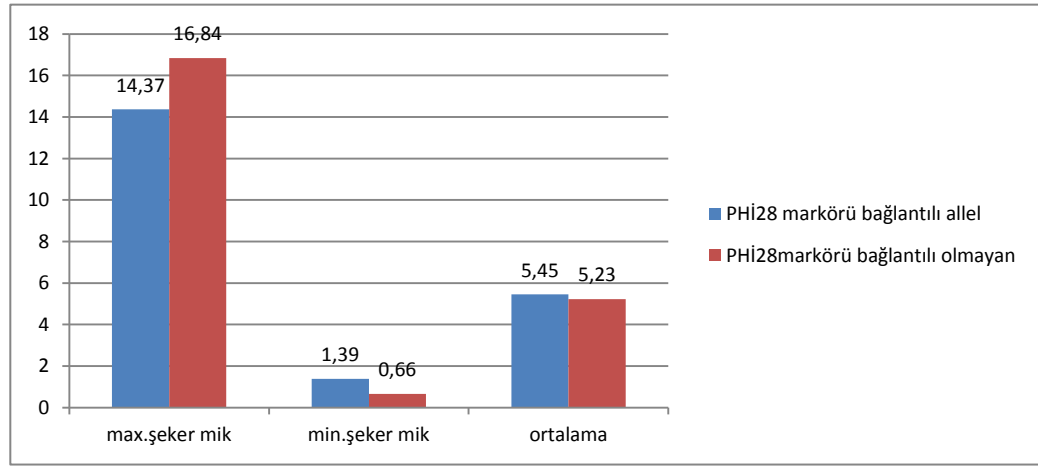
Grafik 4.3. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında bnlg1937 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Çizelge 4.4 ve Grafik 4.3'te gösterilen çizelge incelendiğinde; bnlg 1937 markörünü taşıyan genotiplerin ortalama şeker içeriklerinin(% 5.20) markörü taşımayanlarınkinden (% 6.00) daha düşük olduğu görülmektedir. Yine bu markörü taşıyanların maksimum şeker içerikleri daha fazla olurken minimum şeker içerikleri ise daha düşük olarak belirlenmiştir.

Tatlı mısırdaki *sh-1* alleli için phi28 ve phi44 SSR markörü kullanılarak kendilenmiş tatlı mısır hatlarında tarama yapılmıştır. Aynı zamanda tatlı mısır tanelerindeki toplam şeker içeriklerinin değişimi Çizelge 4.5, 4.6 ve Grafik 4.4, 4.5'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ28 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
PHİ28 markörünü taşıyanlar (32 genotip)	14.37	1.39	5.45
PHİ28markörünü taşımayanlar (17 genotip)	16.84	0.66	5.23

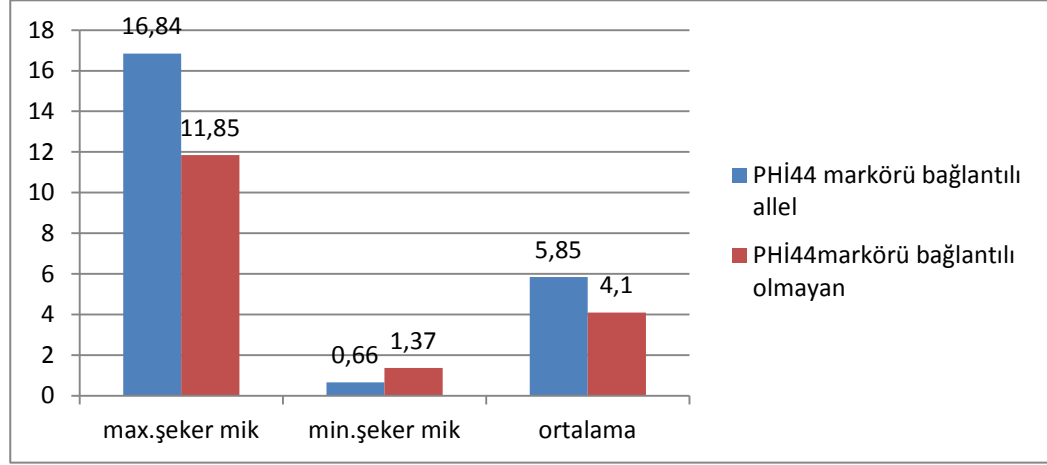


Grafik 4.4. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ28 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki phi28 markörlünün bulunduğu ve bulunmadığı alleller ele alındığında; phi28 markörünün band desenine sahip olan 32 genotipin ortalama toplam şeker içeriği (% 5.45) bu bandı bulundurmayan 17 genotipin ortalamasından (% 5.23) bir miktar yüksek olarak bulunmuştur. Çalışmada kullanılan kendilenmiş tatlı mısır hatlarının phi28 markörünü taşımayan genotiplerin maksimum şeker içeriklerinin bu markörü taşıyanlardan daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir.

Çizelge 4.6. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ44 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
PHİ44 markörünü taşıyanlar (35 genotip)	16.84	0.66	5.85
PHİ44markörünü taşımayanlar (14 genotip)	11.85	1.37	4.10

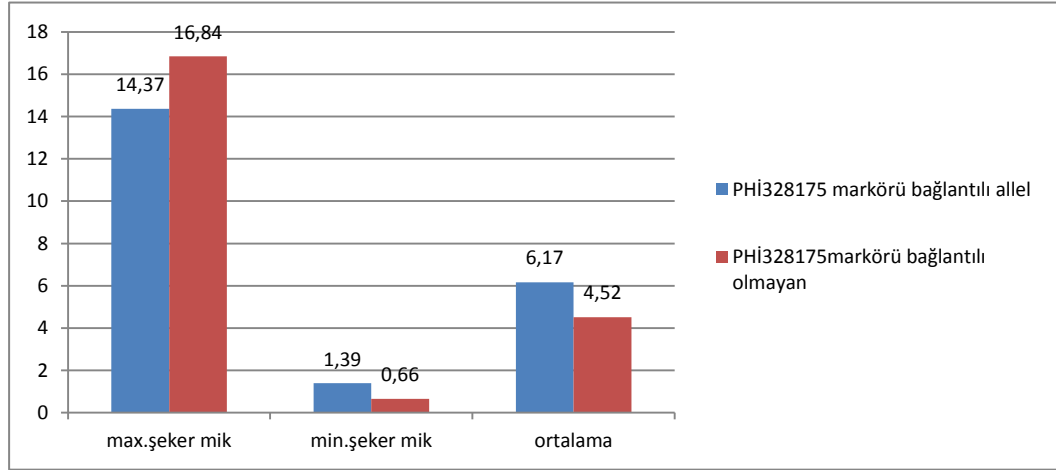


Grafik 4.5. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ44 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında *sh-1* allelinin markörü olan phi44 markörü ile yapılan taramada ise 35 adet kendilenmiş tatlı mısır hattının bu markörü taşıdığı tespit edilmiştir. 35 genotipin toplam şeker içeriği ortalaması % 5.85 olup phi 44 markörünü taşımayan 14 genotipin toplam şeker ortalamasından (% 4.1) daha yüksek olarak ölçümlenmiştir. Yani phi44 markörünün band desenine sahip olanların minimum şeker içeriği (% 1.39) bu markörün bulunmadığı genotiplerden (% 0.66) daha yüksek olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ328175 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
PHİ328175 markörünü taşıyanlar (33 genotip)	14.37	1.39	6.17
PHİ328175markörü taşımayanlar (16 genotip)	16.84	0.66	4.52



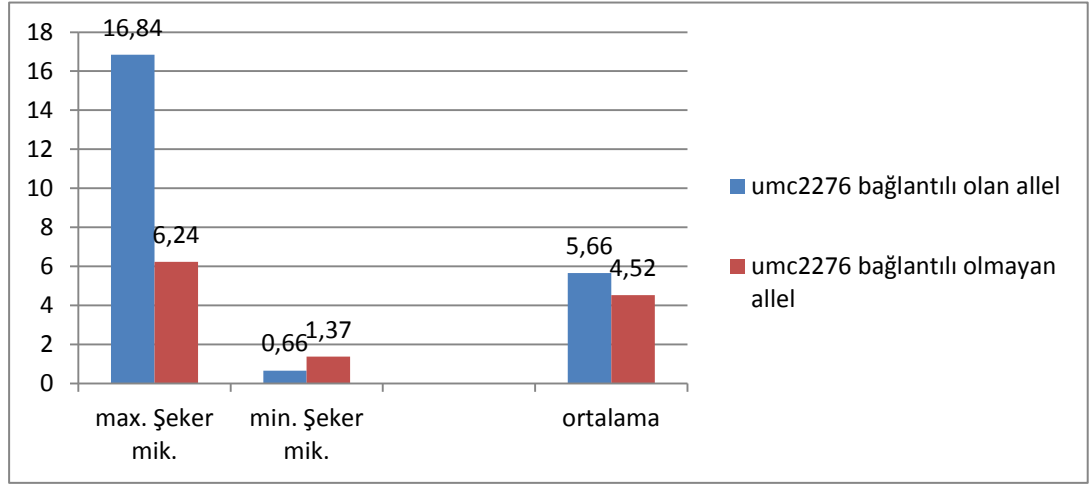
Grafik 4.6. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında PHİ328175 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Tatlı mısırdaki *ea-1* alleli için sadece phi328175 SSR markörü kullanılarak kendilenmiş tatlı mısır hatlarında tarama yapılmıştır. Aynı zamanda tatlı mısır tanelerindeki şeker içeriklerinin dağılımı da Şekil 1 ve Grafik 1’de gösterilmiştir. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki phi328175 markörünün bulunduğu 33 genotipin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.17 olup bu marköre ait bandın bulunmadığı 16 genotipin toplam şeker içeriği ortalamasından (% 4.52) yüksektir. Bununla birlikte bu markörü taşımayan genotiplerin maksimum şeker miktarı (% 16.84) markörü taşıyan genotiplerden (% 14.37) daha fazla olarak saptanmıştır.

Çalışmada tatlı mısırdaki *sh-2* alleli için umc2276, umc1273 ve umc 1320 SSR markörleri kullanılarak kendilenmiş tatlı mısır hatlarında tarama yapılmıştır. Tatlı mısır tanelerindeki şeker içeriklerinin bu markörlerle ilişkileri Çizelge 4.8, 4.9, 4.10 ve Grafik 4.7, 4.8, 4.9’da gösterilmiştir. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276, umc1273 ve umc1320 markörlerinin bulunduğu ve bulunmadığı genotiplerin maksimum şeker içerikleri dikkate alındığında, bu markörleri taşıyan genotiplerin hepsinin maksimum şeker miktarlarının daha fazla olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.8. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik.	min.şeker mik.	ortalama
umc2276 markörünü taşıyanlar(34 genotip)	16.84	0.66	6.00
umc2276 markörünü taşımayanlar(10 genotip)	6.24	1.37	2.94

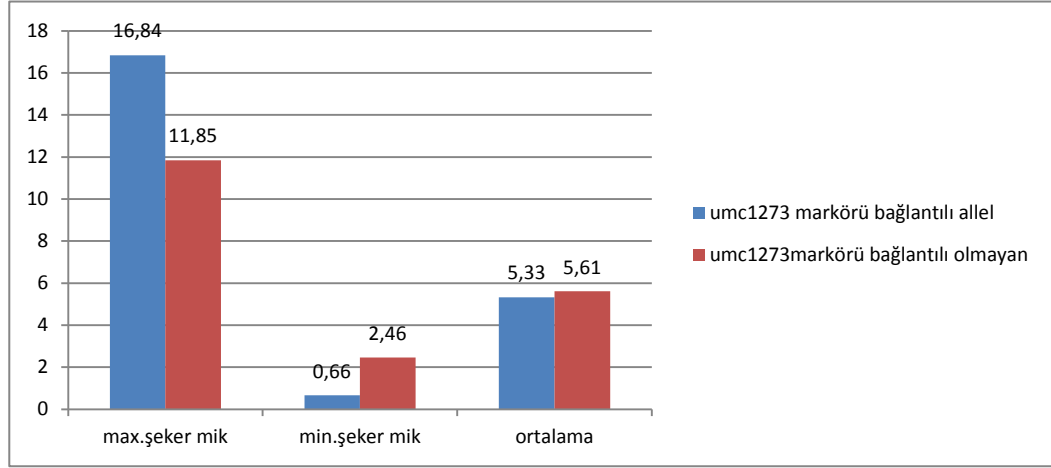


Grafik 4.7. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc2276 markörü için Çizelge 4.8 ve Grafik 4.7 incelendiğinde; bu markörü taşıyan 34 genotipin ortalama şeker içeriğinin (% 5.66) bu markörü taşımayan 15 genotipin ortalama şeker içeriğinden (% 4.52) daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızda umc2276 markörünü taşımayanların maksimum şeker içeriğinin (% 6.24) bu markör bandını taşıyan genotiplerin maksimum şeker içeriklerinden (% 16.84) oldukça düşük bulunduğu da dikkati çekmektedir.

Çizelge 4.9. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1273 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%)

	max.şeker mik.	min.şeker mik.	Ortalama
umc1273 markörünü taşıyanlar(39 genotip)	16.84	0.66	5.33
umc1273 markörünü taşımayanlar(10 genotip)	11.85	2.46	5.61

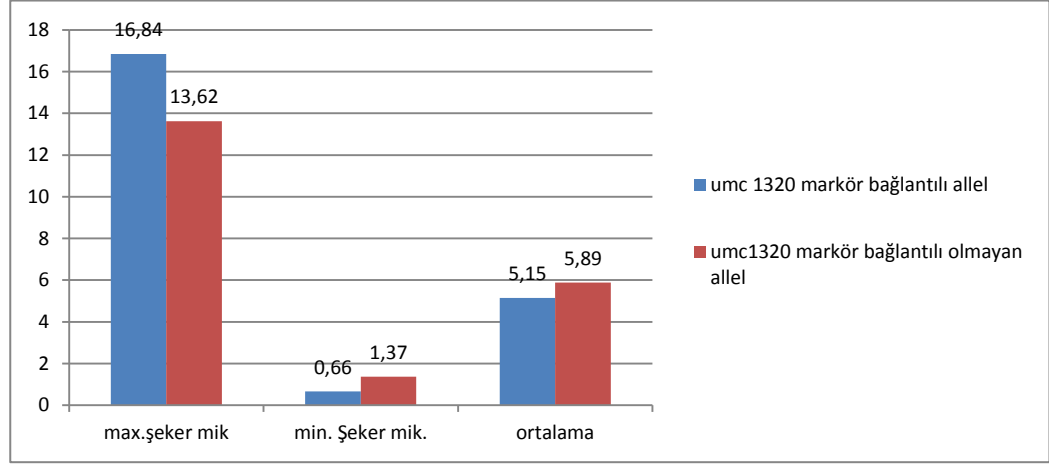


Grafik 4.8. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1273 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Sh-2 gen bölgesine için umc1273 markörüne ilişkin toplam şeker içeriklerinin dağılımları Çizelge 4.9 ve Grafik 4.8’ de gösterilmiştir. Bu marköre ait band desenini içeren 39 genotip tespit edilmiştir. Bu bireylerin toplam şeker içeriği ortalaması % 5.33 iken bu markörün band desenine sahip olmayan genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 5.61 olarak ölçümlenmiştir. Yine bu markörü taşıyanların minimum şeker oranlarının (% 0.66) bu markörü taşımayanlardan (% 2.46) daha düşük olduğu da anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.10. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1320 markörü için toplam şeker değişim miktarları (%).

	max.şeker mik.	min.şeker mik.	Ortalama
umc1320 markörünü taşıyanlar(32 genotip)	16.84	0.66	5.15
umc1320 markörünü taşımayanlar(17 genotip)	13.62	1.37	5.89



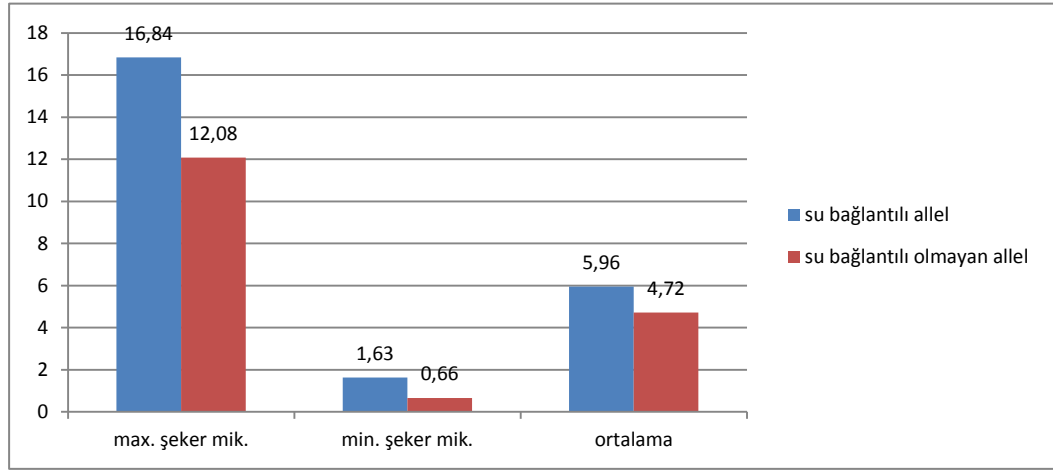
Grafik 4.9. Kendilenmiş tatlı mısır hatlarında umc1320 markörü için toplam şeker miktarlarının dağılımı (%).

Çizelge 4.10 ve Grafik 4.9’da umc1320 markörü ile yapılan taramada markörün band desenini taşıyan 32 ve markörü taşımayan 17 genotip belirlenmiştir. Bu markörü taşımayan genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 5.89 iken, markörü taşıyan genotiplerin ortalamasının % 5.15 olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda umc1320 markörünü taşıyan genotiplerin sadece maksimum şeker içeriklerinin (% 16.84) bu markörü taşımayanlardan (% 13.62) daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda tatlı mısırın şeker içeriği ile ilişkili, *su*, *sh-1*, *sh-2* ve *ea-1* allel genlerinin mevcut kendilenmiş tatlı mısır popülasyonundaki toplam şeker içeriği bakımından minimum, maksimum ve ortalama şeker içeriği dağılımları da incelenmiştir (Çizelge 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14).

Çizelge 4.11. *su* alleleline sahip bireylerin şeker miktarları.

	max. şeker oranı	min. şeker oranı	Ortalama
<i>su</i> bağlantılı allel	16.84	1.63	5.96
<i>su</i> bağlantılı olmayan allel	12.08	0.66	4.72



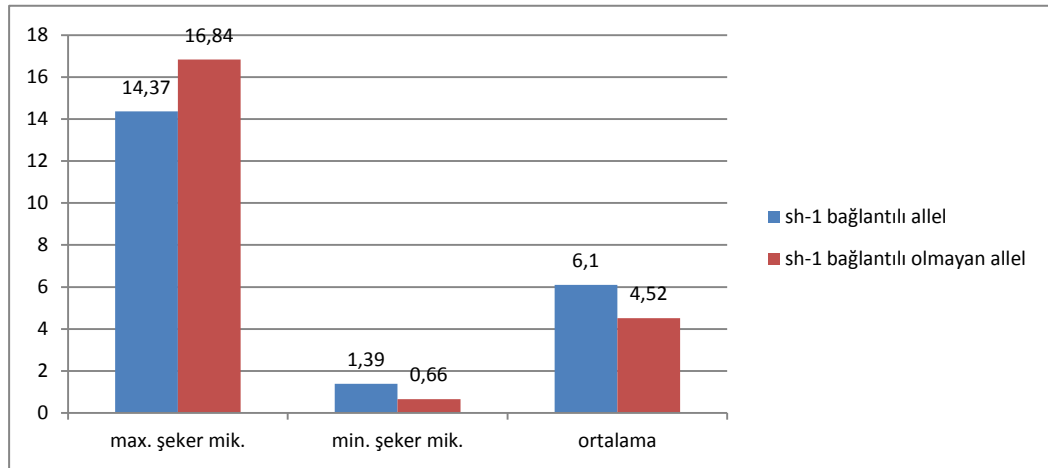
Grafik 4.10. *su* alleleline sahip bireylerin şeker miktarları.

Su geni ile bağlantılı umc1031, umc2061 ve bnlg1937 SSR markörleri ile yapılan taramada bu markörlerin hepsini taşıyan genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.02 olarak belirlenmiştir. Bu markörlerin herhangi birine ait band desenine sahip olmayan genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 3.90 olarak bulunmuştur. Şeker miktarı bakımından popülasyon ortalamasının üstünde şeker miktarına sahip 12 adet genotip tespit edilmiştir. Hosain et al. (2015) çalışmalarında kullandıkları SSR markörlerinden *su* geni bölgesine en yakın markörler olarak sırasıyla umc1031, umc2061 ve bnlg1937 markörlerini belirlemişlerdir. Çalışmamızda kullanılan *su* geni markörlerinden umc1031 markörü bandına sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.00 ile en yüksek olarak saptanmıştır. Bunu umc2061 markörü % 5.91 şeker oranı ile takip etmektedir. Yine bnlg1937 markörünün toplam şeker içeriği ortalaması % 5.20 olup en düşük olarak bulunmuştur. Araştırmacıların gen bölgesine uzaklıklarına göre markörleri sıralamaları, çalışmamızdaki toplam şeker içeriği bulgularımız ile

paralellik göstermektedir. Tatlı mısır çeşitlerindeki şeker içeriğini inceleyen Alan ve ark (2014) çalışmalarında *su* genine sahip çeşitlerden Merit tatlı mısır çeşidinin şeker miktarını % 4.0 ve Jubile tatlı mısır çeşidinin şeker miktarını % 3.5 olarak belirtmişlerdir. Wong et al (1994) ise yaptıkları çalışmada *su1* genini taşıyan tatlı mısır hibritlerinin toplam şeker içeriği ortalamasını % 12.4 olarak bulmuşlardır. Araştırmacıların bulguları çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermekte olup şeker konsantrasyonları arasındaki farklılığın hasat zamanı ve genotip×çevre interaksyonundan ileri geldiği anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.12. *sh-1* alleleline sahip bireylerin şeker miktarları.

	max. şeker mik.	min. şeker mik	Ortalama
<i>Sh-1</i> bağlantılı allel	14.37	1.39	6.10
<i>Sh-1</i> bağlantılı olmayan allel	16.84	0.66	4.52

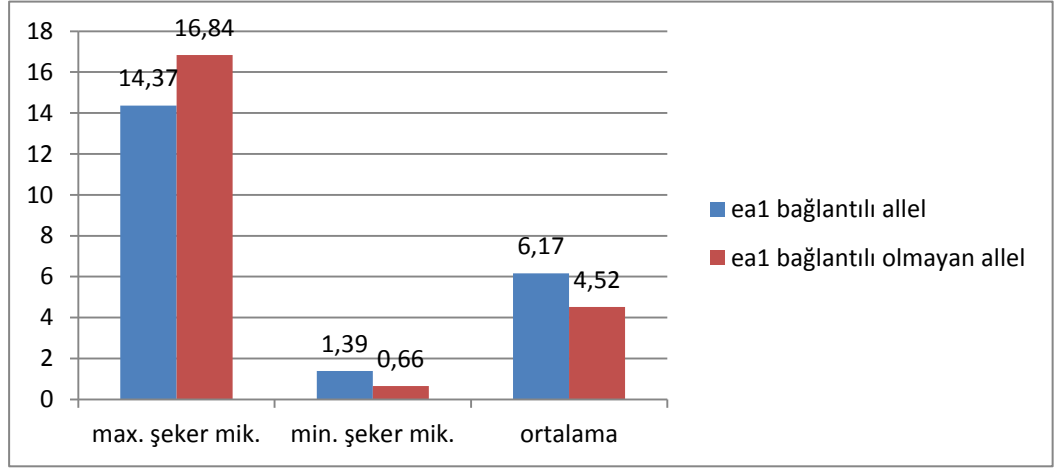


Grafik 4.11. *sh-1* alleleline sahip bireylerin şeker miktarları.

Sh-1 geninin SSR markörleri olan phi28 ve phi44 primerlerinin band desenini taşıyan 7 genotip belirlenmiştir. *sh-1* alleleline sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması (% 6.10) *sh-1* alleleline sahip olmayan genotiplerin toplam şeker içeriği ortalamasından (% 4.52) yüksek olduğu görülmektedir. Şeker miktarı bakımından populasyon ortalamasının üstünde şeker miktarına sahip 7 adet genotip tespit edilmiştir. Cobb and Hannah (1988) mısır endospermünde sükröz sentezinde *shrunk-1* geni ile ilgili yaptıkları çalışmada *sh-1* geninin tanedeki glikoz içeriğini arttırdığını fakat sükröz şeker birikimini engellediğini ve bu nedenle tanede nişasta birikiminin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Çizelge 4.13. *ea-1* genotipine sahip bireylerin şeker miktarları.

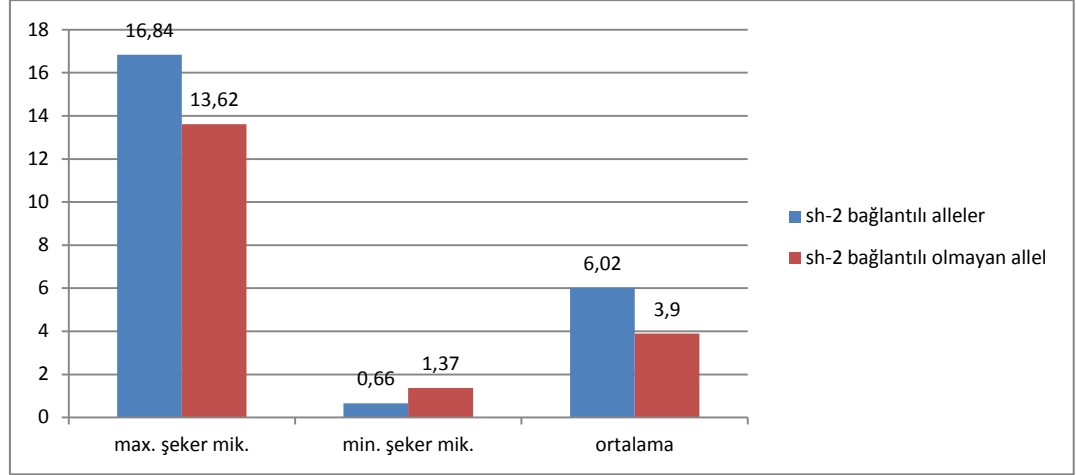
	max.şeker mik	min.şeker mik	Ortalama
<i>ea-1</i> bağlantılı allel	14.37	1.39	6.17
<i>ea-1</i> bağlantılı olmayan allel	16.84	0.66	4.52

Grafik 4.12. *ea-1* genotipine sahip bireylerin şeker miktarları.

Kendilenmiş tatlı mısır hatlarındaki *ea-1* genini temsilen phi328175 markörü ile 49 kendilenmiş tatlı mısır hattı taranmıştır ve *ea-1* markörünün bulunduğu 33 genotipin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.17 olup bu marköre ait bandın bulunmadığı 16 genotipin toplam şeker içeriği ortalamasından (% 4.52) yüksektir. Bununla birlikte bu markörü taşımayan genotiplerin maksimum şeker miktarı (% 16.84) markörü taşıyan genotiplerden (% 14.37) daha fazla olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.14 *sh-2* allelleri şeker içeriği değerleri.

	max. Şeker oranı	min. Şeker oranı	Ortalama
<i>Sh-2</i> bağlantılı alleler	16.84	0.66	6.02
<i>sh-2</i> bağlantılı olmayan allel	13.62	1.37	3.90

Grafik 4.13. *sh-2* genotipine sahip bireylerin şeker miktarları.

Sh-2 geni için umc1273, umc2276 ve umc1320 primerleri ile yapılan taramada *sh-2* alleleline sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.02'dir. *Sh-2* alleleline sahip olmayan genotiplerin ortalaması % 3.90 ile *sh-2* allelini taşıyan genotiplerin ortalamasından düşük olduğu gözlenmiştir. Şeker miktarı bakımından populasyon ortalamasının üstünde şeker miktarına sahip 14 adet genotip tespit edilmiştir. Wong et al.(1994) yaptıkları çalışmada *sh2* genine sahip populasyonların toplam şeker miktarını ortalama olarak % 28 oranında tespit etmişlerdir. Çalışmamızdaki *sh2* genine sahip genotiplerin kendilenmiş hat olması ve hasat zamanının olgunlaşmanın 28.nci gününde yapılması nedeniyle daha düşük şeker içerikleri ölçümlenmiştir. Yine Hosain et al. (2015) tatlı mısırdaki kullandıkları SSR markörlerinden *sh-2* geni bölgesine en yakın markörler olarak sırasıyla umc2276, umc1320 ve umc1273 markörlerini belirlemişlerdir. Çalışmamızda da aynı markörler kullanılmış olup *sh-2* geni markörlerinden umc2276 markörü bandına sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması en yüksek olarak saptanmıştır. Araştırmamızda şeker içeriği bakımından ikinci sırada umc1273 markörü bulunmaktadır. En düşük toplam şeker içeriği ortalamasına sahip genotipler umc1320 markörünü taşıyanlar olarak bulunmuştur. Tatlı mısır kendilenmiş hatlarında kullandığımız umc2276 markörü araştırmacıların sonuçlarıyla uyumlu iken umc1320 ve umc1273 markörlerinde kısmen bir

farklılık gözlenmiştir. Azanza et al. (1996) yaptıkları çalışmada *su1* ve *sh2* allellerini taşıyan tatlı mısır popülasyonlarında toplam şeker içeriği miktarını tozlanmadan 18 gün ve 22 gün sonra olmak üzere iki defa ölçmüşlerdir. *Su1* alleleline sahip popülasyonun tozlanmadan 18 gün sonraki toplam şeker içeriği % 15.1 çıkarken *sh2* alleleline sahip popülasyonun toplam şeker içeriği % 37.9 olarak hesaplanmıştır. Tozlanmadan 22 gün sonra yapılan ölçümlerde *su1* popülasyonunda toplam şeker içeriği miktarı % 11'e düşerken *sh2* popülasyonunda % 34.8'e düştüğü belirtilmiştir. Szymanek (2009), tatlı mısır koçanlarının hasat edilmesinin uygun olduğu hasat dönemlerinde bile tanedeki toplam şeker içeriğinin %6.2'den %5,1'e düştüğünü buna karşın tanedeki nişasta içeriğinin %14.5'ten %22.2'ye yükseldiğini belirlemiştir. Araştırmacı tatlı mısırın hasat zamanının tanedeki toplam şeker ve nişasta seviyesini önemli derecede etkilediğini vurgulamıştır. Bizim çalışmamızda ise hasat süresi daha geç tutulduğundan *su* alleleline sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 5.96 olarak hesaplanmıştır. Aynı zamanda *sh-2* allellerine sahip genotiplerin toplam şeker içeriği ortalaması % 6.02 olarak tespit edilmiştir. Bu durum şeker konsantrasyonunun hasat zamanı ve genotip×çevre interaksiyonundan etkilendiğini ortaya koymaktadır.

5. SONUÇ

Meyvelerin katı maddesinin büyük bir kısmını şeker oluşturmaktadır. Meyvelerdeki şekerlerin geneli glukoz, fruktoz ve sakarozdan oluşmaktadır. Meyve ve sebzelerin yapılarında bulunan sakaroz bunların işlenmesi ve depolanması sırasında ortam sıcaklığına bağlı olarak inversiyona uğramaktadır. Şeker tayini ile meyve-sebze ve ürünlerinin indirgen şeker, toplam şeker ve sakaroz içerikleri belirlenebilir, ayrıca depolama süresince değişimi tespit edilebilir.

Hibrit tatlı mısır çeşitlerinin geliştirilmesinde kendilenmiş hatların geliştirilmesi en önemli safhalardan birisidir. Çalışmamızda gerek yurt dışı ve gerekse E.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümünde geliştirilen kendilenmiş tatlı mısır hatlarından 49 adedi kullanılmıştır. Bu hatların şeker içerikleri ölçümlenmiş ve aynı zamanda yapraklardan alınan DNA örneklerinde *su*, *sh1*, *sh2* ve *ea1* genine ilişkin moleküler markörler ile tarama yapılmıştır. Çalışmamızda *su* geni için umc1031, *sh1* geni için phi44, *sh2* geni için umc2276 ve *ea1* geni için phi328175 markörlerinin daha uygun oldukları belirlenmiştir. Yine at dişi mısırların en yüksek şeker oranı % 4.0 olduğu dikkate alındığında, çalışmamızdaki kendilenmiş hatlardan 24 adedinin hibrit şeker mısır ıslahında ebeveyn olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A. and Cregan, P.B.**, 1992, Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean, *Genetics*, 132: 1131-1139pp.
- Alan, Ö., Kınacı, E., Kınacı, G., Başçiftçi, Z.B., Evrenosoğlu, Y., Sönmez, K. ve Kutlu, İ.**, 2014, Hasat sonrası değerlendirme şekillerine göre şeker mısırın tane kalitesinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 9(2):49-58ss.
- Almeida, C., Amorim, E.P., Neto, J.F.B., Filho, J.A.C. and Sereno, M.J.C.M.**, 2011, Genetic variability in populations of sweet corn, common corn and teosinte, *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11:64-69pp.
- Anonim, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü**, 2010, Mısır Tescil Raporu, Ankara.
- Anonymous**, 2009, The National Science Foundation, USA www.nsf.gov/news(Erişim tarihi: 5.10.2010)
- Azanza, F., Bar-Zur, A., and Juvik J.A.**, 1996, Variation in sweet corn kernel characteristics associated with stand establishment and eating quality, Israil, *Euphytica*, 87:7-18pp.
- Bandel, G.**, 1987, Paterniani, E., Viegas, G.P (orgs) Melhoramento e Produção do Milho. Fundação Cargill, Campinas *Genetica*, 111-133pp.
- Bavec, F., Bavec, M. and Fekonja, M.**, 2013, Organic and mineral nitrogen fertilizers in sweet maize (*Zea mays* L. *saccharata* Sturt.) production under temperate climate, Slovenia, *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 100, No. 3:243-250pp.
- Bilgiç, Ş., Sade, B., Soylu, S., Bilgiçli, N., Cerit, İ., Öz, A., Cengiz, R. ve Özkan, İ.**, 2012, Ulusal hububat konseyi- Mısır raporu.
- Bruce, W.B., G.O. Edmeades, and T.C. Barker**, 2002, Molecular and physiological approaches to maizeimprovement for drought tolerance. J. Expt. Bot. 53:13–25 pp.
- Cameron, J.W. and Teas, H.J.**, 1953, Carbohydrate relationships in developing endosperms of brittle 1, brittle-2, and related maize genotypes, *Proceedings of International Congress of Genet*, 822-823pp.
- Cesurer, L. ve Ülger, A.C.**, 1997, Farklı ekim zamanlarının bazı şeker mısır çeşitleri üzerindeki etkisi. II. Tarla Bitkileri Kongresi, Samsun, 25-29 Eylül, 134-138ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cobb, B.G. and Hannah L.C.**, 1988, *Shrunken-1* Encoded sucrose synthase is not required for sucrose synthesis in the maize endosperm, *Plant physiol.*, 1219-1221 pp.
- Coskun, M.B., Yalçın, İ. and Özarslan, C.**, 200,. Physical Properties of Sweet Corn Seed (*Zea mays saccharata* Sturt.), *Journal of Food Engineering*, 74: 523–528 pp.
- Cömertpay, G.**, 2008, Yerel mısır populasyonlarının morfolojik ve DNA moleküler işaretleyicilerinden SSR tekniği ile karakterizasyonu, Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, ADANA, 102s.
- Creech, R.G.**, 1968, Carbonhydrate Synthesis in Maize, *Adv. Argon*, 20: 275-322 ss.
- Darrah, L.L. and Zuber, M.S.**, 1986, United States Farm maize Germplasm Base and Comercial Breeding, *Crop Sci*, 26, 1109-1113 pp.
- Dartt, B., Black, R., Marks, P., and Morrone, V.**, 2002, Cost of Fresh Market Sweet Corn Production in Monroe County, Michigan 40 p.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L.**, 1987., A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11-15 pp.
- Evensen, K.B. and Boyer, C.D.**, 1986, Carbohydrate Composition and Sensory Quality of Fresh and Stored Sweet Corn, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111:734-738 pp.
- Feng, Z.L., Liu, J., Fu, F.L. and Li, W.C.**, 2008, Molecular Mechanism of Sweet and Waxy in Maize, *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 2(2):93-100 pp.
- Filiz, E. ve Koç, İ**, 2011, Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler, GOÜ, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 207-217 s.
- Goodman M.M.**, 1990, Genetic and germplasm stocks worth conserving, *J. Hered.*, 81(1): 11-6 pp.
- Hossain, F., Nepolean, T., Vishwakarma, A. K., Pandey N., Prasanna, B.M. and Gupta, H.S.**, 2015, Mapping and validation of microsatellite markers linked to sugary1 and shrunken2 genes in maize (*Zea mays* L.), *J. Plant Biochem. Biotechnol*, 24(2):135-142 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huelsman, M.F.**, 2000, Crop Profile for Corn (Sweet) in Ohio.
- Jones, N., Ougham, H. and Thomas, H.**, 1997, Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytologist* 137: 165-177 pp.
- Kaçar, B.**, 1986, Bitki Besleme, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi: Yayınları, No: 637, Ankara, 318 s.
- Kara, B. ve Şahin M.**, 2012, Soğukta Depolamanın Şeker Mısırın Şeker ve Kuru Madde Değişimine Etkisi, *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 29 (2):11-20 s.
- Kashiani, P., Saleh, G., Panandam, J.M., Psyquay, A. and Selamat, A.**, 2012, Demarcation of Informative Chromosomes in tropical sweet corn inbred lines using microsatellite DNA markers.
- Kırtok, Y.**, 1998, Mısır: Üretimi ve Kullanımı, Kocaoluk Basım ve Yayınevi, İstanbul, 448 s.
- Kleinhenz, M. D.**, 2001, Sweet Corn Quality -- What is it? Excerpts from the Proceedings of the Ohio Fruit and Vegetable Growers Congress, February 7-9 pp.
- Kuhn, G.D.**, 1995, Let's Preserve Sweet Corn. <http://www.wvu.edu/exten/infores/pubs/fypubs/wp392-99.pdf>. (Erişim tarihi: 09.11.2011)
- Laborda, P.R., Oliveira, K.M., Garcia, A.A.F., Paterniani, M.E.A.G.Z. and 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, 1288-1299 pp.
- Laughnan J.R.**, 1953, The effect of the *sh2* factor on carbohydrate reserves in the mature endosperm of maize. *Genetics* 38(5): 485-499 pp.
- Lerner, B.R. and Dana, M.N.**, 2007, Growing Sweet Corn, HO-98.pdf. Purdue University Cooperative Extension Service.
- Motes, J.E., Roberts, W. and Cartwright, B.O.**, 2007, Sweet Corn Production. Oklahoma Cooperative Extension Service HLA-6021.
- Olsen, J.K., Giles, R.E. and Jordan, R.A.**, 1991, Postharvest Carbohydrate Changes and Sensory Quality of Three Sweet Corn Cultivars, *Scientia Horticultureae*, 44:179-189 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Orzolek, M.D., Greaser, G.L. and Harper, J.K.,** 2000, Agricultural Alternatives: Sweet corn production.. Penn State College of Agricultural Sciences Agricultural Research and Cooperative Extension
- Öktem, A. ve Öktem, A.G.,** 2006, Bazı Şeker Mısır (*Zea mays saccharata* Sturt) Genotiplerinin Harran Ovası Koşullarında Verim Karakteristiklerinin Belirlenmesi. *Uludağ Üniv.Zir.Fak.Derg.*, 20(1): 33-46 ss.
- Özcan, S.,** 2009, Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2(2): 01-34 ss.
- Özcam, S.,** 2012, At dişi *Zea mays indentata* Sturt.) Kendilenmiş Mısır Hatları ile Kendilenmiş Şeker Mısır (*zea mays saccharata* sturt.) Hatları Melezlerinin Performanslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 47 s.
- Paterniani, E., Nass, L.L. and Santos, M.X.,** 2000. O valor dos recursos geneticos de milho para o Brasil: Uma abordagem historica da utilizaçao do germoplasma. In: U dry CW and Duarte W (eds) Uma Historia Brasileira do Milho: O Valor dos Recursos Genéticos. Paralelo 15, Brasília, 11-43 pp.
- Precheur, R.J., Doran, J., Schacht, D., Renk, C., Haddix, M., and Davlin, J.,** 2006, Evaluation of Sweet Corn Varieties at Two Grower Locations in Ohio. Vegetable Research Reports.
- Preiss, J.,** 1991, Biology and molecular biology of starch synthesis and its regulation. In B Mifflin, ed, Oxford Surveys of *Plant Molecular and Cell Biology*, Vol 7. Oxford University Press, Oxford, UK, 59-114 pp.
- Qi, X., Zhao, Y., Jiang, L., Cui, Y., Wang, Y. and Liu, B.,** 2009, QTL Analysis of Kernel Soluble Sugar Content in Super-Sweet Corn, *African journal of Biotechnology*, vol.8 (24): 6913-6917 pp.
- Sencar, Ö., Gökmen, S., Sakin, M.A. ve Ocakdan, M.,** 1999, Şeker Mısırında (*Zea mays saccharata* Sturt) Koltuk Almanın Verim ve Bazı Özelliklere Etkileri. Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi, 15-18 Kasım 1999, I, 456-459 ss.
- 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 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Suk Soon, L., Lee, S.S. Sang Hee, Y. Yun, S.H. Seo, J.M. and Jung Moon, S.** 2004, Optimum harvest time for high quality seed production of sweet and super sweet corn hybrids. *Korean Journal of Crop Science*, 49 (5): 373-380 pp.
- Szymanek, M.,** 2009, Influence of sweet corn harvest date on kernels quality. Poland, Res. Agr. Eng., 55 (1): 10-17,
- Thomson, H.C. and Kelly, W.C.,** 1957, Vegetables Crop McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- Turgut, İ. ve Balcı, A.,** 2001. Bursa Koşullarında Değişik Ekim Zamanlarının Şeker Mısırları (Zea mays saccharata Sturt.) Çeşitlerinin taze Koçan Verimi İle Verim Öğeleri Üzerine Etkileri. Türkiye 4. Tarla Bitkileri Kongresi. 17- 21 Eylül 2001. Tekirdağ
- Wong, A.D., Juvik, J.A., Breeden, D.C. and Swiader, J.M.,** 1994, *Shrunken2* Sweet Corn Yield and the Chemical Components of Quality.

ÖZGEÇMİŞ

Gizem ÇİVİ, 10 Şubat 1988 Kırklareli’de doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini Cumhuriyet ilköğretim okulda tamamladıktan sonra, lise öğrenimini 2006 yılında Kırklareli Fen Lisesinde tamamlamıştır. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans eğitiminden 2012 yılında mezun olduktan sonra 2013 yılı içerisinde Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.

ÖZGEÇMİŞ