

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**ŞEKER SORGUMDA BİYOENERJİ İLE İLİŞKİLİ QTL'LERİN YENİ NESİL
SEKANSLAMA YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HARİTALANMASI**

Birgöl GÜDEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HAZİRAN 2022

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞEKER SORGUMDA BİYOENERJİ İLE İLİŞKİLİ QTL'LERİN YENİ NESİL
SEKANSLAMA YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HARİTALANMASI**

Birgöl GÜDEN

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez TÜBİTAK tarafından 118O169 nolu proje ile desteklenmiştir

HAZİRAN 2022

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞEKER SORGUMDA BİYOENERJİ İLE İLİŞKİLİ QTL'LERİN YENİ NESİL
SEKANSLAMA YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HARİTALANMASI**

Birgöl GÜDEN

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez / / 202..... tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Mevlüt TÜRK

Doç. Dr. Sabri ERBAŞ

Doç. Dr. Engin YOL

Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ÖZET

ŞEKER SORGUMDA BİYOENERJİ İLE İLİŞKİLİ QTL'LERİN YENİ NESİL SEKANSLAMA YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HARİTALANMASI

Birgül GÜDEN

Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent UZUN

Mayıs 2022; 136 sayfa

Bu tez çalışmasında bitki boyu, şeker miktarı ve bitki öz suyu miktarı bakımından farklı karakterlere sahip Erdurmuş şeker sorgum çeşidi ile tanelik yetiştiriciliğe uygun Öğretmenoğlu çeşidinin melezlenmesi ile elde edilen 181 bitkiden oluşan F₂ popülasyonunda ddRAD-seq (double-digest Restriction Site Associated DNA) yöntemi ile genomik kütüphane oluşturulmuş ve yeni nesil sekanslama yöntemi ile veriler elde edilmiştir. Bitki boyu, bitki öz suyu ve Brix özellikleri ile ilgili fenotipik gözlemler F₃ popülasyonunda Konya ve Antalya lokasyonlarında gerçekleştirilmiştir. Bu veriler dahilinde oluşturulan QTL haritalamada bitki boyu için 1., 7. ve 9. kromozomlar üzerinde 3 major, bitki öz suyu için 6. kromozom üzerinde 1 major ve Brix için ise 3. ve 7. kromozomlar üzerinde minör etkili 2 QTL bölgesi belirlenmiştir. Bitki boyu için belirlenen *qPH1.1*, *qPH7.1* ve *qPH9.1* QTL'lerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranları sırasıyla %10,8, 34,8 ve 13,5'tir. Bitki öz suyu için belirlenen *qPJ6.1* QTL'inin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %26, Brix için belirlenen *qBX3.1* ve *qBX7.1* QTL'lerinin %8,6 ve 9,7 olarak belirlenmiştir. Bu QTL'ler arasında *qPH7.1* QTL bölgesinin yakınında yer alan SCM_59803007 lokasyonundaki SNP, Dw3 geninden yaklaşık 30 kb uzaklığında tanımlanmış ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,8 olarak belirlenmiştir. Bu bölgede yapılan analizlerde belirlenen SNP'in bir sonucu olarak 4. exonda yer alan 120. amino asitin Glutamat (E) yerine Aspartat (D)'a dönüştüğü gözlenmiştir.

Tanımlanan QTL bölgelerinde yer alan SNP'lerden bitki boyu için 2, bitki öz suyu için 2 ve Brix için 3 CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) markeri geliştirilmiştir. Sekans verilerini bildiğimiz 8 hat ve 3 çeşitte yapılan marker doğrulama ve etkinlik belirleme çalışmaları neticesinde, genomik sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak belirlenmiştir.

Bitki boyu, bitki öz suyu ve Brix karakterleri bakımından Erdurmuş çeşidinde olan QTL'leri içermeyen ancak yine de bu karakterler bakımından üstün olan 8 farklı hat ve Uzun çeşidine ait yeni nesil sekans verileri incelenmiştir. Farklı QTL'lerin Erdurmuş çeşidinde piramitlemesini sağlamak amacıyla, farklı SNP QTL bölgelerine sahip hat ve çeşitler ile Erdurmuş melezlenmiş ve elde edilen döllerdeki tarımsal değerler belirlenmiştir. Özellikle 507 X Erdurmuş melezinde ve (424 x Erdurmuş) X (507 x Erdurmuş) 2'li melezinde yapılan gözlemlerde bitki boyu ve Brix karakterleri için elde edilen değerlerin ebeveynlerinden oldukça yüksek olduğu ve piramitleme amacıyla seçilen bu melezlerde başarılı olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELEER: Bitki boyu, Brix, ddRAD-seq, Öz su, Piramitleme

JÜRİ: Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Mevlüt TÜRÖ

Doç. Dr. Sabri ERBAŞ

Doç. Dr. Engin YOL

Doç. Dr. Cengiz İKTEN



ABSTRACT

MAPPING OF BIOENERGY-RELATED TRAITS QTLs USING NEXT GENERATION SEQUENCING METHOD IN SWEET SORGHUM

Birgöl GUDEN

PhD Thesis in Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Bulent UZUN

June 2022; 136 pages

In this thesis, genomic library was constructed using with ddRAD-seq (double-digest Restriction Site Associated DNA) method in F₂ population consisting of 181 individuals derived from a cross between sweet sorghum, Erdurmus and grain sorghum Ogretmenoglu which were contrasting cultivars for plant height, sugar content and Brix data were obtained using the libraries by next generation sequencing method. Phenotypic observations on plant height, stalk juice and Brix characteristics were performed in the F₃ population grown in Konya and Antalya locations. Three major QTLs on the chromosomes 1, 7 and 9 for plant height, 1 major QTL on the chromosome 6 for stalk juice and 2 minor QTLs on the chromosomes 3 and 7 for Brix were determined by QTL mapping. The qPH1.1, qPH7.1 and qPH9.1 QTLs for plant height explained the phenotypic variation of 10,8, 34,8 and 13,5%, respectively. The explanation rate of the qPJ6.1 QTL was 26% for the phenotypic variation of stalk juice while the qBX3.1 and the qBX7.1 for the Brix were 8,6 and 9,7%, respectively. The SNP at the SCM_59803007 location, which was close the qPH7.1 QTL region was identified at about 30 kb from the Dw3 gene, and the phenotypic variation was explained for 34.8%. As a result of the SNP determined in the analyses performed in this region, it was observed that the 120th amino acid at the 4th exon was changed to Aspartate (D) to Glutamate (E).

From the SNPs in the defined QTL regions, 2 CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) markers for plant height, 2 CAPS for stalk juice and 3 CAPS for the Brix characters were developed for user friendly MAS selections. The conversion efficiency of genomic sequence data to CAPS marker was determined as 100% for each marker according to data especially having from the 8 lines and 1 cultivar whose genomic sequences were known.

Next generation sequence data of 8 different lines and Uzun cultivar, which no contain the QTLs of the Erdurmuş cultivar in terms of plant height, stalk juice and the Brix characters, but are still superior in terms of these characters, were scrutinized. To provide the pyramiding of different QTLs in Erdurmuş cultivar, lines and cultivars with different SNP QTL regions were crossed with Erdurmuş and the progenies were evaluated for the characters studied. Especially in the observations in crossings of 507 and Erdurmuş and (424 x Erdurmus) X (507 x Erdurmus), it was observed that the values obtained for plant height and the Brix characters were considerably higher than their parents, and thus genome-based pyramiding were successful.

KEYWORDS: Brix, ddRAD-seq, Plant height, Stalk juice, Pyramiding

COMMITTEE: Prof. Dr. Bulent UZUN

Prof. Dr. Mevlut TURK

Assoc. Prof. Dr. Sabri ERBAS

Assoc. Prof. Dr. Engin YOL

Assoc. Prof. Dr. Cengiz IKTEN



ÖNSÖZ

Şeker sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) çok yönlü kullanım özelliği ile, biyoenerji üretimi için oldukça yüksek potansiyele sahip önemli bir bitkidir. Bu bitki kuraklık ve sıcaklık streslerine yüksek düzeyde toleransı, alkali ve tuzlu toprak yapısında bulunan birçok marjinal yetiştirme koşullarına uyumu sayesinde düşük üretim maliyeti ile, muadili olan birçok bitkiden çok daha fazla etanol üretebilmektedir. Bununla birlikte yüksek biyokütle üretebilme yeteneği olan bu bitkinin dünyada önemli bir biyoyakıt bitkisi olarak değerlendirilmesinin en başta gelen sebebi de sapsızlarında yüksek düzeyde ve kolayca fermente olabilen şeker bulundurmasıdır.

Fosil yakıt kaynaklarına sürdürülebilir bir alternatif olan enerji bitkileri; verimin artırılması, girdi gereksinimlerinin azaltılması ve biyoyakıtlara dönüşüm için biyokütle ve etanol bileşimini oluşturan komponentlerinin iyileştirilmesi ile geliştirilmektedir. Bu komponentlerin geliştirilmesinde ve genetik yapısının anlaşılmasında, şeker sorgum bitkisi C4 bitkileri arasında iyi bir genetik model ve genom referans türüdür. Tek yıllık olması sebebiyle genetik ilerleme kolayca test edilebilmekte ve genomik yapısı sebebiyle genetik analizlere oldukça elverişlidir. Bu olanaklara sahip olması şeker sorgum bitkisinin ülkemizde ve dünyada stratejik ve ekonomik önemini artırmaktadır. Biyoyakıt kaynağı olarak şeker sorgum bitkisinden etkin üretim sağlanabilmesi için biyoenerji komponentleri arasında yer alan bitki öz suyu, Brix miktarının artırılması ve uzun boy karakterine sahip olan çeşit veya hatların geliştirilmesi gerekmektedir.

Bu amaçla yürütülen bu tez çalışmasında bitki boyu, bitki öz suyu ve Brix karakterlerinin genetik altyapısının anlaşılması için QTL haritalama yapılmıştır. Çalışmada belirlenen QTL bölgeleri eklemeli gen etkisinde bulunan özelliklerin iyileştirilmesine etkin bir araç olarak yol gösterici olmuştur. Bu işlemlerde amaç, belirtilen özellikler ile ilişkili QTL'leri bulunduran hat/çeşitler ile farklı özelliklerde QTL'leri içeren hatların/çeşitlerin melezleme aracılığı ile bir bireyde piramitlenerek, biyoenerji kaynağı olarak üstün özelliklere sahip potansiyel çeşit olabilecek şeker sorgum hatları geliştirmek ve dolayısıyla ülke tarımına katkıda bulunmaktır.

Lisansüstü öğrenimim boyunca ve tez sürecimde benden bir an olsun ilgi ve desteğini esirgemeyen,engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın danışman hocam Prof. Dr. Bülent UZUN'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Bu süreçte, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Engin YOL hocama; tez izleme komitemde yer alan ve değerli görüşlerini paylaşan Sayın Doç. Dr. Cengiz İKTEN hocama teşekkür ederim. Ayrıca tez savunma sınavında jüri üyesi olarak tezime katkı sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mevlüt TÜRK ve Sayın Doç. Dr. Sabri ERBAŞ hocalarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte manevi desteğini hissettiğim Arş. Gör. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ ve Arş. Gör. Dr. Hilal Şule TOSUN, Zir. Yük. Müh. Ahmet ÖZTÜRK ve Dr. Cengiz ERDURMUŞ'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez TÜBİTAK 118O169 nolu proje kapsamında yapılmış olup, maddi olanak sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında yapılan arazi çalışmalarında bana her türlü desteği sağlayan Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü ve Toprak Su ve Çölleşme ile Mücadele Araştırma Enstitüsü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca sabır ve manevi desteklerini esirgemeyen annem ve babama, kardeşlerim Burçin GÜDEN ve Anıl GÜDEN'e, varlığıyla hep yanımda olan Elif ÖZBAKIR'a ve Arş. Gör. Dr. Özge KILIÇARSLAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Metot	21
3.3. Melezleme ve F _{0:1} Generasyonu	24
3.4. F _{1:2} ve F _{2:3} Bitkilerinin Eldesi	26
3.5. Yapılan Gözlemler	29
3.5.1. Bitki boyu	29
3.5.2. Bitki öz suyu.....	31
3.5.3. Brix	33
3.6. Gözlem Yapılan Verilerin Analizi	34
3.7. Yaprak Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu	34
3.8. NGS ile Dizilemeler	36
3.9. SNP'lerin Belirlenmesi ve Biyoinformatik Analizler	36
3.10. Bağlantı (Linkage) Haritasının Oluşturulması ve QTL Haritalama	37
3.11. Olası Gen/Protein Fonksiyonlarının Tanımlanması	37
3.12. PCR Temelli SNP Markerlerinin Geliştirilmesi.....	38
3.13. Geliştirilen CAPS Markerlerinin Optimizasyonu ve Analizi	44
3.14. Erdurmuş Çeşidinde Bulunmayan SNP QTL'lerin Belirlenmesi.....	46
3.15. Melezlerin İlgili Karakterler Açısından Değerlendirilmesi.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. F ₂ Popülasyonunda Yapılan Gözlemler	47
4.2. F ₃ Popülasyonunda Yapılan Gözlemler	59

4.3. Bağlantı Haritasının Oluşturulması	70
4.4. Biyoenerji ile İlişkili Özelliklerin QTL Analizi	73
4.4.1. Bitki boyu QTL'leri	73
4.4.2. Brix QTL'leri	74
4.4.3 Bitki öz suyu QTL'i	75
4.5. Gen/Protein Fonksiyonlarının Belirlenmesi	78
4.6. Geliştirilen Markerlerin Sekansı Bilinen Çeşit ve Hatlarda Analizi	79
4.6.1. Bitki Boyu Markerlerinin Analizi	79
4.6.2. Brix markerlerinin analizi	82
4.6.3. Bitki öz suyu markerlerinin analizi	88
4.7. Erdurmuş Çeşidinde Bulunmayan SNP QTL'lerin Belirlenmesi	91
4.8. Farklı SNP QTL Bölgelerinin Erdurmuş Çeşidinde Piramitlemesi	97
4.9. Seçilen Melezlerin Değerlendirilmesi	98
5. TARTIŞMA	103
5.1. Tarla Gözlemlerinin Değerlendirilmesi	103
5.1.1. Bitki boyu	103
5.1.2. Bitki öz suyu	104
5.1.3. Brix	104
5.2. Haritalama Popülasyonu	105
5.3. Yüksek Yoğunluklu Bağlantı Haritası	105
5.4. QTL Analizi	107
5.4.1. Bitki boyu	107
5.4.2. Bitki öz suyu	110
5.4.3. Brix	111
5.5. Çoklu Özellik QTL'leri	111
5.6. Geliştirilen CAPS Markerleri	112
5.7. Piramitleme	113
6. SONUÇLAR	115
7. KAYNAKLAR	116
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora tezi olarak sunduğum “Şeker Sorgumda Biyoenerji ile İlişkili QTL'lerin Yeni Nesil Sekanslama Yöntemleri Kullanarak Haritalanması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

07/06/2022

Birgöl GÜDEN

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A : Adenin

C : Sitozin

°C : Santigrat derece

cm : Santimetre

cM : Centimorgan

ddH₂O : Ultra saf su

g : Gram

G : Guanin

Kg : Kilogram

L : Litre

m : Metre

Mbp : Mega baz çifti

MgCl₂ : Magnezyum klorür

ml : Mililitre

Mm : Milimolar

Ng : Nanogram

T : Timin

% : Yüzde

° : Derece

' : Dakika

μl : Mikrolitre

± : Artı-eksi

Kısaltmalar

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
bp	: Base Pair
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
ddRAD-seq	: Double Digest Restriction Site Associated DNA Sequencing
DNA	: Deoxyribonukleik Asit
ETS-SSR	: Expressed Sequence Tag-derived Simple Sequence Repeat Marker
GBS	: Genotyping by Sequencing
IGB	: Integrated Genome Browser
In-Del	: Insertion-Deletion
KASP	: Kompetitive Allele Specific PCR
LOD	: Logarithm of the Odds
MÖ	: Milattan Önce
NGS	: Next Generation Sequencing
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RAD-seq	: Restriction Site Associated DNA Sequencing
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RIL	: Recombinant Inbred Line
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SRAP	: Sequence-related Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeats
vs	: Vesaire
QTL	: Quantitative Trait Locus
2b-RAD	: 2b- Restriction site Associated DNA Sequencing

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sorgumun orijini ve kültüre alındığı yerler	4
Şekil 3.1. Genetik materyalin elde ediliş şeması	16
Şekil 3.2. Melezleme çalışmalarının yapıldığı Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin araştırma ve uygulama serası	22
Şekil 3.3. F ₂ bitkilerinin ekildiği Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazisi	23
Şekil 3.4. F ₃ bitkilerinin ekildiği Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazisi	23
Şekil 3.5. F ₃ bitkilerinin ekimi sırasında Toprak Su ve Çölleşme ile Mücadele Araştırma Enstitüsü deneme arazisi	24
Şekil 3.6. Çiçeklerin toz almaya hazırlanması	25
Şekil 3.7. Emaskülasyon aşaması	25
Şekil 3.8. Bitkilerin tohum bağlaması	26
Şekil 3.9. Kese kağıdı ile izole edilen F ₂ bitkileri	27
Şekil 3.10. Antalya lokasyonu F ₃ bitkileri	28
Şekil 3.11. Konya lokasyonu F ₃ bitkileri	28
Şekil 3.12. Harman yapıldıktan sonra kavanozlanan tohumlar	29
Şekil 3.13. Antalya loksasyonunda bitki boyu ölçümü	30
Şekil 3.14. Konya loksasyonunda bitki boyu ölçümü	30
Şekil 3.15. Antalya lokasyonunda bitki öz suyu eldesi için yaprakları soyulan bitkiler.....	31
Şekil 3.16. Konya lokasyonunda bitki öz suyu eldesi için yaprakları soyulan bitkiler...	32
Şekil 3.17. Antalya loksasyonunda bitki öz suyu çıkarma aşaması	32
Şekil 3.18. Konya loksasyonunda bitki öz suyu çıkarma aşaması	33
Şekil 3.19. El refraktometresi ile Brix ölçümü	33

Şekil 3.20. F ₂ bireylerinden DNA izolasyonu için yaprak alımı (a) ve DNA izolasyonunda, fiziksel ezme aşamasında kullanılan havan ve havaneli (b)	35
Şekil 3.21. İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'lara ait agaroz jel görüntüsü	35
Şekil 3.22. Tassel programında her lokustaki SNP açılımının a, b, h sistemine çevrilmesi.....	37
Şekil 3.23. IGB programı	38
Şekil 3.24. Primer3Plus programı	39
Şekil 3.25. NEB cutter V2. enzim programı	41
Şekil 3.26. B1 markeri analizinde kullanılan <i>SspI</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	41
Şekil 3.27. B7 markeri analizinde kullanılan <i>TaqI</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	42
Şekil 3.28. X3 markeri analizinde kullanılan <i>SspI</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	42
Şekil 3.29. X6 markeri analizinde kullanılan <i>AflIII</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	42
Şekil 3.30. X7 markeri analizinde kullanılan <i>TaqI</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	43
Şekil 3.31. Ö13 markeri analizinde kullanılan <i>SexAI</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)	43
Şekil 3.32. Ö15 markeri analizinde kullanılan <i>Hpy188I</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu SNP'li bölgeye ait bant uzunlukları (bp)	43
Şekil 3.33. Ö15 markeri analizinde kullanılan <i>Hpy188I</i> enziminin kesimden sonra oluşturduğu SNP'siz bölgeye ait bant uzunlukları (bp)	44
Şekil 4.1. F ₂ popülasyonunda bitki boyu ölçümleri	47
Şekil 4.2. F ₂ popülasyonunda bitki öz suyu ölçümleri için bitki saplarının sıkımı	48
Şekil 4.3. F ₂ popülasyonunda Brix ölçümleri	48
Şekil 4.4. F ₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında bitki boyu dağılım grafiği	69

Şekil 4.5. F ₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında bitki öz suyu dağılım grafiği	69
Şekil 4.6. F ₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında Brix dağılım grafiği	70
Şekil 4.7. Erdurmuş x Öğretmenoğlu melezinden oluşturulan F ₂ popülasyonundan elde edilen yüksek yoğunluklu bağlantı haritası	72
Şekil 4.8. Bitki boyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı	73
Şekil 4.9. Brix karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı	74
Şekil 4.10. Bitki öz suyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı..	76
Şekil 4.11. Bitki boyu, Brix, bitki öz suyu ve yeşil ağırlık karakterlerine ait QTL bölgelerinin kromozomlar üzerindeki lokasyonu	77
Şekil 4.12. 7. kromozom üzerinde ve 59,803,007 kb'de yer alan bitki boyu SNP QTL'ine ait mRNA sekans dizilimi	78
Şekil 4.13. Çeşit ve hatlarda B1 markeri ve <i>SspI</i> enzim analizleri	76
Şekil 4.14. B1 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri	81
Şekil 4.15. Çeşit ve hatlarda B7 markeri ve <i>TaqI</i> enzim analizleri	82
Şekil 4.16. Çeşit ve hatlarda X3 markeri ve <i>SspI</i> enzim analizleri	83
Şekil 4.17. X3 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri	84
Şekil 4.18. Çeşit ve hatlarda X6 markeri ve <i>AflIII</i> enzim analizleri	85
Şekil 4.19. Çeşit ve hatlarda X7 markeri ve <i>TaqI</i> enzim analizleri	87
Şekil.4.20. Çeşit ve hatlarda Ö13 markeri ve <i>SexAI</i> enzim analizleri	88
Şekil 4.21. Ö13 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri	89
Şekil.4.22. Çeşit ve hatlarda Ö15 markeri ve <i>Hpy188I</i> enzim analizleri	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Sorgum varyeteleri ve yayılım gösterdiği alanlar (Norman vd. 1995)	5
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan genetik materyal	17
Çizelge 3.2. Genetik materyalin ekim yapıldığı lokasyon, ekim yeri ve generasyonu ..	22
Çizelge 3.3. Geliştirilen markerlerin kromozom numarası, konumu ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı	39
Çizelge 3.4. Geliştirilen markerlere ait forward ve reverse dizilimleri ve üretilen ürün miktarı	40
Çizelge 3.5. PCR ürünlerinin kesiminde kullanılan enzimler ve kesim bölgeleri	41
Çizelge 3.6. CAPS markerlerinin analizlerinde kullanılan PCR kimyasalları ve oranları	44
Çizelge 3.7. CAPS markerlerinin analizlerinde kullanılan PCR koşulları	45
Çizelge 3.8. Kesim işleminde kullanılan kimyasallar	45
Çizelge 3.9. Restrüksiyon enzimlerinde kullanılan tampon çözelti, kesim sıcaklıkları ve inkübasyon süresi	45
Çizelge 4.1. F ₂ popülasyonuna ait bitkilerde yapılan gözlemler	49
Çizelge 4.2. Antalya ve Konya lokasyonlarında, F ₃ popülasyonuna ait bitkilerde yapılan gözlemler	60
Çizelge 4.3. Erdurmuş X Öğretmenoğlu popülasyonu için bağlantı haritalama sonucunda elde edilen veriler	71
Çizelge 4.4. Bağlantı grupları, toplam uzunluk, marker sayısı, ortalama mesafe ve en uzun boşluk	71
Çizelge 4.5. Bitki boyu karakteri ile ilişkili majör QTL bölgeleri, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranları ve eklemeli etki	74
Çizelge 4.6. Brix karakteri ile ilişkili QTL bölgeleri, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranları ve eklemeli etki	75
Çizelge 4.7. Bitki öz suyu karakteri ile ilişkili majör QTL bölgesi, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranı ve eklemeli etki	75
Çizelge 4.8. B1 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	80

Çizelge 4.9. B7 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	82
Çizelge 4.10. X3 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	84
Çizelge 4.11. X6 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	86
Çizelge 4.12. X7 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	87
Çizelge 4.13. Ö13 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	89
Çizelge 4.14. Ö15 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim	91
Çizelge 4.15. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan bitki boyu ile ilişkili 7. kromozomdaki (SCM000766.3) SNP QTL'ler	92
Çizelge 4.16. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan Brix ile ilişkili 7. (SCM000766.3) ve 3. (SCM000762.3) kromozomdaki SNP QTL'ler	95
Çizelge 4.17. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan bitki öz suyu ile ilişkili 6. (SCM000765.3) kromozomdaki SNP QTL'ler	96
Çizelge 4.18. Erdurmuş çeşitinde projeye konu olan özelliklerin piramitlenmesi amacıyla seçilen melezler	98
Çizelge 4.19. 532 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler	99
Çizelge 4.20. 424 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler	100
Çizelge 4.21. 69 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler	101
Çizelge 4.22. 507 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler	101
Çizelge 4.23. Erdurmuş çeşiti ile yapılan 2'li melezlerden elde edilen bitkilerde alınan gözlemler	102

1. GİRİŞ

Günümüz dünyasında artan popülasyona paralel olarak kullanılan enerji miktarı da her geçen gün artmaktadır. Yaygın kullanım ağına sahip olan fosil yakıtlar enerji ihtiyacının karşılanmasında yardımcı olsa da küresel ısınma, zehirli karbondioksit emisyonları, iklim değişiklikleri ve çevreye ciddi tehdit oluşturan partikül maddeler ile doğrudan bağlantılıdır (Malode vd. 2021). Bu gibi sebepler nedeniyle dünya ülkeleri dikkatlerini sürdürülebilir, çevre dostu ve yenilenebilir yakıtların üretimine yöneltmiştir. Fosil yakıtlara oldukça yüksek potansiyelde bir alternatif olarak görülen biyoyakıtlar; bitkiler ve canlılar tarafından oluşturulan organik kaynaklardan elde edilebilen bir tür enerji kaynağıdır (Malode vd. 2021). Sürdürülebilir formda olan biyoyakıtlar, aynı zamanda tarımsal ürün atıklarından da elde edilmektedir (Polburee vd. 2015; Agarwal vd. 2018; Xue vd. 2018). Fosil yakıtlara nazaran daha güvenilir olan biyoyakıtlar, karbondioksit seviyesini, sera gazı emisyonunu ve toprak erozyonunu azaltarak uzun vadede olumlu etkiler doğurabilecek türden bir enerji kaynağıdır (Yadav vd. 2019). Biyoyakıtlar; bitkisel yağlardan, tekrar tekrar kullanılabilen balmumundan veya hayvansal yağlardan üretilen biyodizelin, şeker ve nişasta çıktılarından fermente edilmesiyle üretilen biyoetanolün veya biyogazın tipik formlarıdır (Malode vd. 2021).

Biyoenerji bitkileri, biyoyakıt üretimi için düşük maliyetli girdiler kullanılarak yetiştirilen ve vejetasyon süreci boyunca doğaya zarar vermeyen birçok bitkiyi bünyesinde barındırmaktadır (Yadav vd. 2019). Bu bitkiler; birinci nesil, ikinci nesil, üçüncü nesil, özel enerji bitkileri ve halofitler olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır (Yadav vd. 2019). Birinci nesil biyoenerji bitkileri arasında mısır, şeker kamışı, palmiye yağı ve kolza tohumu yer almaktadır. Şeker sorgumda birinci nesil biyoenerji bitkileri grubunda bulunmaktadır (Yadav vd. 2019).

Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Afrika ve Güney Asya'da yarım milyar insan için önemli bir gıda olup potansiyeli sebebiyle biyoyakıt üretiminde temel bir üründür (Barcelos vd. 2011). Dünyanın en önemli beşinci tahıl bitkisi olan sorgumun adaptasyonu ve kuraklığa toleransı oldukça yüksektir (Stamenkovic vd. 2020). C3 bitkilerine kıyasla üretmiş olduğu biyokütlesini daha kolay enerjiye çevirebilen bu bitki, aynı zamanda geniş düzeyde kullanım alanı nedeniyle gıda üretimi, endüstri, hayvancılık, biyoyakıt üretimi ile ilgili endüstriler dahil olmak üzere çok çeşitli paydaşlara sahiptir (Saballos 2008; Stamenkovic vd. 2020). Bununla birlikte önemli bir C4 bitkisi olan sorgum; dane, bitki öz suyu ve lignoselülozik biyokütle ve hayvan yemi üretiminde de kullanılmaktadır. Kullanım farklılıklarına göre ise sorgum, daha fazla nişastalı tane üreterek dane sorgum, hayvanlara daha lezzetli gelen ince saplı ve yapraklı olan yemlik sorgum ve daha yüksek lignoselülozik biyokütle verimine sahip biyoenerji sorgum olarak gruplandırılmaktadır (Rooney vd. 2007). Bir tür biyoenerji tipi olan şeker sorgum ise sapsız ve kolayca fermente olabilen serbest düzeyde şeker konsantrasyonları barındırmaktadır (Appiah-Nkansah vd. 2019). Geçmişte şeker sorgumdan elde edilen öz su, konsantrasyonu artırıldıktan sonra şurup şeklinde doğal bir tatlandırıcı kaynağı olarak kullanılmıştır (Appiah-Nkansah vd. 2019). Yapılan çalışmalarda öz su içerisinde bulunan şekerin %53-85'inin sakkaroz, %9-33'ünün glikoz ve %6-21'inin ise fruktoz olduğu belirlenmiştir (Reddy vd. 2005; Wu vd. 2010; Kim ve Day 2011; Serna-saldivar vd. 2012; Rainey ve O'Hara 2013). 1980'lerin ortasından beri enerji bitkisi geliştirilmesi konusunda ıslah programlarında çalışılan şeker sorgum bitkisine olan ilgi yüksek üretkenliği, yüksek stres toleransı, mevcut tarımsal altyapıya yüksek adaptasyonu

nedeniyle her geçen gün artmaktadır (Reddy vd. 2006; Lobell vd. 2008; Kim ve Day 2011; Kovarik 2013; Appiah-Nkansah vd. 2019).

Biyoenerji komponentleri arasında yer alan bitki boyu, bitki öz su miktarı, Brix içeriği gibi birçok morfolojik özellik biyoyakıt üretimini önemli ölçüde etkilemektedir (Elangovan vd. 2014; Lekgari ve Dweikat 2014; Regassa ve Wortmann 2014). Biyoetanol veriminin öz su verimi ile olan yüksek düzeydeki korelasyonu bu durumu desteklemektedir (Guden vd. 2020a). Bitki öz suyu şeker bakımından oldukça zengin olup, %43-58'i çözünabilir formdadır (Almodares ve Hadi 2009). Ayrıca, şeker kamışı gibi bitki öz suyundan yararlanılan bitkiler ile kıyaslandığında daha az su ve gübreye ihtiyaç duymakta ve saplarının mekanik olarak ezilmesi ile elde edilen öz su içerisinde bulunan şeker kolayca biyoetanolle dönüşebilmektedir (Appiah-Nkansah vd. 2019; Guden vd. 2020a). Şeker konsantrasyonu, çeşide/genotipe, çevreye ve hasat dönemine göre değişen çözünür katı içeriği olarak tanımlanan Brix birimleri ile belirlenir (Mathur vd. 2017). Şeker sorgum bitkisinde Brix miktarı %14 ile 23 arasında değişmektedir (Almodares ve Sepahi 1996; Qazi vd. 2012; Vinutha vd. 2014). Biyoenerji üretimini etkileyen diğer bir faktör olan bitki boyu ise biyokütle karakteri ile önemli oranda ve pozitif düzeyde korelasyona sahiptir (Murray vd. 2008a; Ritter vd. 2008; Salas Fernandez vd. 2009; Zhao vd. 2009).

Günümüzde, genomik düzeyde gerçekleştirilen analizler ve elde edilen verilerin analizi, özellikle birden fazla genle/QTL ile kontrol edilen özellikler için, genotip ile fenotip arasında bulunan ilişkinin tanımlanmasını kolaylaştırmış ve bitki ıslahında yeni bir devrime yol açmıştır (Varshney vd. 2009). Tüm genom dizileme teknolojileri sayesinde fragman bazlı polimorfizmden dizi bazlı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlamasına geçilmiştir (Ray ve Satya 2014). Bu süreçte kısa zamanda daha ucuz maliyetler ile yeni nesil sekans teknolojilerinden (Next Generation Sequencing) nükleotid düzeyinde veriler elde edilmiş ve genomik kütüphane oluşturulmasında GBS (genotyping-by-sequencing), RAD-seq (restriction-site associated DNA sequencing) ve ddRAD-seq (double-digest restriction site associated DNA) gibi birçok yöntem yeni nesil bitki ıslahında genom çapında belirli bir ölçekte SNP keşfi için kullanılmıştır.

SNP, diğer marker türlerine kıyasla genomda oldukça yüksek oranda bulunan DNA'da gözlenen varyasyonun tipik bir formudur (Xia vd. 2019). Gelişen teknoloji sayesinde tek nükleotid farklılığında oluşan varyasyonların tanımlanması ile genomların haritalanması daha anlamlı hale gelmiştir. Bu sayede yürütülen ıslah çalışmalarında ilgili amaca yönelik seleksiyonun etkinliğini arttırarak genetik gelişmeyi hızlandırmış ve sonuca daha erken ulaşma olanağı sağlamıştır (Feng vd. 2018; Song vd. 2018). Bu olanaklar doğrultusunda kullanılan yöntemlerden biri olan QTL haritalama, gen/QTL'ler üzerinde ilgili özellikler ile ilişkili potansiyel konum bilgilerinin belirlenmesinde etkin bir yoldur (Massault vd. 2008). Şeker sorgumda biyoenerji ile ilişkili özellikleri konu alan ve farklı özelliklerdeki haritalama popülasyonları kullanarak belirlenen QTL'lerin genomlar boyunca lokalizasyonu 1995 yılından itibaren çalışmaya başlanmıştır (Lin vd. 1995; Pereira ve Lee 1995; Natoli vd. 2002; Yun-Long vd. 2006; Ritter vd. 2008; Guan vd. 2011). Teknolojide gerçekleşen ilerlemeler ile veri elde etme yöntemleri de değişmiştir. Upadhyaya vd. (2013) yapmış oldukları çalışmada bitki boyu karakteri ile ilgili çok sayıda lokus tanımlanmışlar ve SNP'leri Illumina platformu kullanarak belirlemişlerdir. Kajiya-Kanegae vd. (2020) bitki boyu ve Brix karakterlerinin de içerisinde bulunduğu çok sayıda QTL bölgesini RAD-seq yöntemi ile belirlemişlerdir. Jin

vd. (2021) yine RAD-seq yöntemini kullanarak yapmış oldukları QTL haritalamada bitki boyu karakteri ile ilişkili üç adet QTL belirlemişlerdir. Özellikle öz su karakteri ile ilgili çok az çalışma bulunmakla birlikte (Murray vd. 2008a; Shiringani vd. 2010; Guan vd. 2011), de Souza vd. (2021) çalışmalarında GBS yöntemi ile elde etmiş oldukları verilerden 1., 6. ve 9. kromozomlar üzerinde bitki öz suyu karakteri ile ilişkili üç QTL bölgesi belirlemişlerdir. Luo vd. (2020) ise çalışmalarında 2b-RAD yöntemi ile birçok biyoenerji özelliği ile ilişkili QTL belirlemişlerdir.

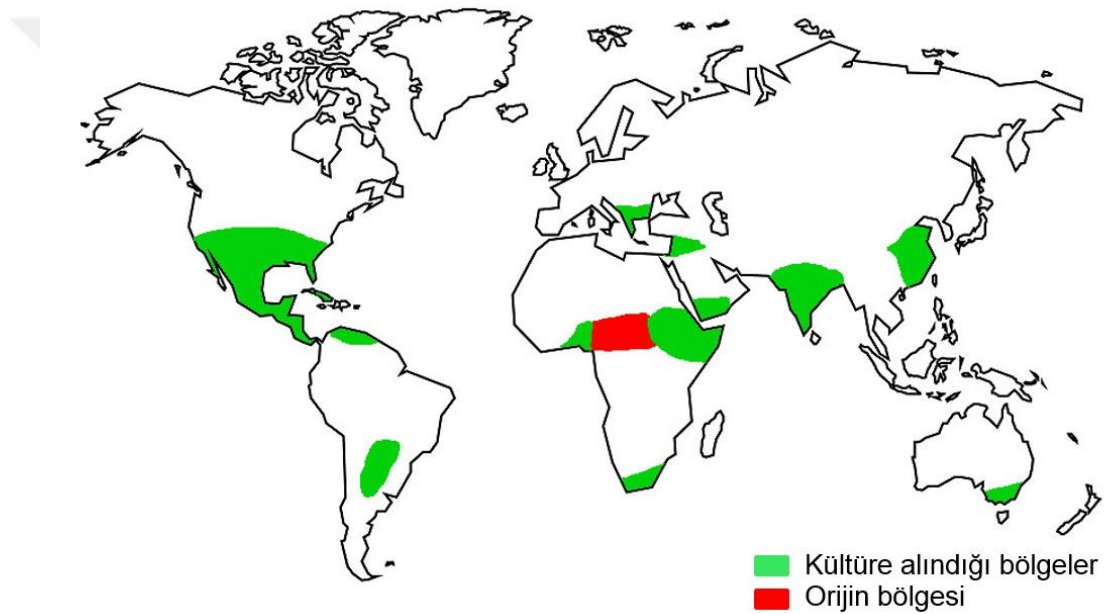
Günümüzde sağladığı avantajlar ile oldukça yaygın kullanım olanağına sahip olan SNP'ler bir genin allelik formları ile fenotipi arasındaki ilişkilerin tespitinde kullanılmaktadır (Freudenthal vd. 2019). Haritalama çalışmaları sonucunda belirlenen SNP'ler PCR bazlı markerlere dönüştürülerek, seçim etkinliğini daha ekonomik hale getirebilmekte ve markerlerin etkin olmasına olanak sağlamaktadır (Morgil vd. 2020). Genomik sekans verilerinden türetilen polimorfizmlerin yüksek verimli genotipleme için bir SNP-marker platformuna dönüştürülmesi ve bunların ıslah programlarında uygulanması fenotipe dayalı seçimi genişleterek etkin sonuçlar elde edilmesi adına oldukça önemlidir (Mammadov vd. 2012). Bu sayede jel bazlı analiz ayırma yöntemi kullanılarak amaca ulaşılmasında maliyetler daha düşük olmaktadır (Shahinia ve Sayde-Tabatabaei 2009). SNP bölgesinden PCR bazlı geliştirilen markerler arasında bulunan CAPS, ilgili bölgeye spesifik enzimler yardımıyla çeşitler/hatlar arasında farklılık oluşturan bölgenin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Thiel vd. 2003).

Genetik haritalama çalışmalarının sağladığı imkanlar ve sunmuş olduğu etkin düzeyde kullanılabilir formlar sayesinde ülkemizde ve dünyada geliştirilecek biyoenerji üretime uygun hatların/çeşitlerin belirlenmesi daha da kolaylaşmıştır. Bu tip çalışmalar, yüksek biyoetanol üretiminin amaçlandığı şeker sorgum bitkisinde biyoetanol komponentleri ile ilişkili QTL/gen bölgelerini belirleyerek melezlere katılacak ebeveynlerin seçimine ve tek bir hat/çeşit üzerinde major etki gösterecek QTL/gen bölgelerinin toplanmasına diğer bir deyişle piramitlemeye olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında şeker sorgum olan Erdurmuş çeşidi ile tanelik sorgum olan Öğretmenoğlu çeşidinin melezlenmesi ile elde edilen F₂ popülasyonunda NGS ile bitki boyu, Brix içeriği ve bitki öz suyu karakterlerini kontrol eden QTL bölgelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, belirlenen SNP QTL bölgelerinden etkinliği yüksek markerler geliştirmek ve geliştirilen markerlerin başka hatlarda validasyonu hedeflenmiştir. Daha öncesinde yapılmış olan melezlere ait ebeveynlerde, Erdurmuş çeşidinde belirlenen SNP QTL'ler dışında farklı SNP QTL bölgeleri tanımlanarak, aynı karakter için farklı QTL'lerin bir bireyde piramitlemesi ile biyoenerji üretimine uygun üstün hatların geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Sorgum bitkisi Poaceae (Gramineae) oymağına, Panicoideae alt familyasına, Andropogoneae takımına, Sorghinae alt takımına dahil olan sıcak iklim bitkisidir (Clayton ve Renvoize 1986). Bu bitkinin orijininin ve kültür formunun merkezinin, Afrika'nın kuzeydoğu kısmı olduğu, büyük olasılıkla ekimin modern Etiyopya ve Sudan bölgelerinde MÖ 4000-3000 civarında başladığı kabul edilmektedir (Dillon vd. 2007). Başka bir çalışmada 5000 yıl öncesinde, Etiyopya'da yetiştirilen ve sorgumun yabani formu sayılan *S. arundinaceum sensu lato*'den seçilerek günümüzdeki kültür formuna ulaştığı bildirilmiştir (Dogget 1965). Purseglove (1972) ise bu bitkinin, Orta Doğu veya Arabistan üzerinden Etiyopya'ya göç sırasında taşınmış olabileceği ve buğday tarlalarında yabancı ot olarak tanımlanıp sonrasında ıslah edilmiş olabileceğini bildirmiştir.



Şekil 2.1. Sorgumun orijini ve kültüre alındığı yerler

Neolitik dönemden beri hayatımızda olan sorgum bitkisinde en geniş varyasyon Etiyopya, Sudan ve Doğu Afrika'da gözlenmiş (Doggett 1988) olsa da Vavilov'a göre de eski Habeşistan yani günümüzün Etiyopya'sı sorgumun anavatanıdır (Leder 2009) (Şekil 2.1). Farklı şekillerde gruplandırılan sorgum bitkisi, genellikle besin olarak tüketilen dane sorgumu milo, kafir, hegari, feterita ve hibridler olmak üzere 5'e ayrılmıştır (Purseglove 1972). Kimber (2000) ise coğrafi izolasyon ve farklı ortamlarda rekombinasyon, çok sayıda sorgum türü, çeşidi ve ırkının oluşmasına neden olduğunu düşünmüş ve bu oluşumların sonucu olarak kültür ve gelişmiş tip, vahşi formda tip ve ara tipler olarak sorgumu üç geniş grupta tanımlamıştır. Norman vd. (1995) ise *bicolor*, *guinea*, *caudatum*, *kafir* ve *dura* olarak gruplamıştır (Çizelge 2.1). Başka bir araştırmacı ise yayılım alanına göre sorgumu; Güney Afrika'da yayılım gösteren viz kaffir; Doğu

Afrika’da yayılım gösteren milo; Sudan’da yayılım gösteren feterita; Akdeniz bölgesi’nde yayılım gösteren durra; hindistan’da yayılım gösteren sballu; Çin, Mançurya ve Japonya’da yayılım gösteren kaoliang ve Sudan’da yayılım gösteren hegari olmak üzere 7 gruba ayırmıştır (Magness vd. 1971). 1753 yılında Linnaeus, kültür formunun *Holcus sorghum*, *Holcus saccharatus* ve *Holcus tricolour* olmak üzere 3 türden oluştuğunu bildirmiş (Etuk vd. 2012), Moench ise 1794 yılında bu cinsin *Holcus*’tan farklı olduğunu belirtmiştir. 1805 yılında Person bu bitkiyi *Sorghum* cinsi olarak belirlemiş ve çok farklı şekillerde sınıflandırılmış olsa da kültür formları *S. bicolor* olarak tanımlanmıştır (Ritter vd. 2007; Leder 2009; Etuk vd. 2012). Sorgum; tane sorgum, şeker sorgum, yemlik sorgum ve süpürge darısı olarak da ayrıca sınıflandırılmıştır (Hariprasanna ve Patil 2015).

Çizelge 2.1. Sorgum varyeteleri ve yayılım gösterdiği alanlar (Norman vd. 1995)

Varyeteler	Yayılım Alanları
<i>bicolor</i>	Afrika, Güneydoğu Asya
<i>guinea</i>	Batı Afrika, Hindistan, Güneydoğu Asya
<i>caudatum</i>	Tropikal Afrika
<i>kaffir</i>	Afrika, Güney Yarımküre
<i>durra</i>	Yakın Doğu ve Hindistan

Sorgum, kültür formunda tek yıllık olarak kabul edilse de uygun iklim koşullarında birkaç mevsim boyunca canlılığını devam ettirip ve çok yıllık olarak da tanımlanabilmektedir (House 1985; Doggett 1988; Kimber 2000). Kökler birincil ve ikincil sistem olarak gruplandırılmaktadır. Embriyonik olarak da bilinen birincil kökler çimlenme süresince canlılığını korumakta olup ömürleri üç hafta ile sınırlıdır (Hariprasanna ve Patil 2015). Kalıcı yani ikincil kökler ise birinci boğumdan gelişip bitki canlılığını sürdürdüğü sürece onunla kalmaya devam eder (Hariprasanna ve Patil 2015). Sorgumun 1,5-2,4 m derinliğe kadar ulaşabilen lifli yapıdaki kökleri (Kimber 2000) su stresi sırasında uykuda olma yeteneği ile bitkide kuraklığa dayanımı arttırmakta ve bitkiyi marjinal kuru tarım sistemlerine adapte edebilmektedir (Whiteman ve Wilson 1965; Koppen vd. 2009). *S. halepense* iyi gelişmiş bir rizom kök yapısında iken (House 1985), kültür formları toprak üstü boğumlardan destek kökler çıkabilen kuvvetli bir kök sistemine sahiptir (Açıkgöz 2001). Sap diktir, boğum ve boğum aralarından meydana gelir. Sapın en altındaki boğumlar kardeşlenmeyi sağlayacak tomurcukları içermektedir (House 1985; Doggett 1988). Sıcaklık isteği karşılanılan bölgelerde birden fazla kez hasat edilebilir (Guiying vd. 2003). Sapın yapraksız hali genel ağırlığın %60-80’i kadardır (Bayram ve Turgut 2015). Toprak üstü aksamı mısır bitkisine benzemekte ve sap kalınlığı 4-5 cm’ye kadar çıkabilmektedir (Açıkgöz 2001). Sap uzunluğu veya bitki boyu bitkinin yetiştiği çevrenin koşullarına bağlı olmakla birlikte özellikle melez çeşitlerinde 4-6 m’ye kadar ulaşabilmektedir (Açıkgöz 2001). Erkenci çeşitlerde sap uzunluğu geççi çeşitlere göre daha kısadır (Bayram ve Turgut, 2015). Sorgum ve sudan otunun melezlenmesinden elde edilen bitkilerin boyunun 3,6 m’ye (Skerman ve Riveros 1990); ikinci ürün olarak yetiştirilen silajlık sorgum çeşitlerinin Çukurova bölgesinde (sulu şartlarda) 3,55 m’ye (Sağlamtimur vd. 1988); yine aynı koşullarda başka bir çalışmada ise 4,1 m’ye (Baytekin 1990) kadar ulaşmış olduğu belirtilmiştir. Antalya ve Konya koşullarında yapılan çalışmada ise bitki boyu ortalamaları sırasıyla 276 ve 241 cm olarak belirlenmiştir (Guden vd. 2020b). Kın, aya ve yaprakçıktan oluşan yapraklar paralel damarlıdır. Balmumu

tozuyla kaplı olan yaprak ayası, pürüzsüzdür. Sap boyunca dağılan yapraklar 90-100 cm uzunluğunda ve 10-12 cm genişliğindedir. Bitkinin tepesine doğru yapraklar kısalıp küçülmektedir ve en üstteki yaprak, bayrak yaprağı olarak tanımlanmaktadır (House 1985). Kuraklığa dayanımı ile bilinen sorgum, kurak koşullarda terlemeyi ve nem kaybını azaltmak için yapraklarını yukarı ve içe doğru kıvrırmaktadır. Yaprak yüzeyinde, kuraklık ve böcek zararına dayanım sağladığı bilinen farklı şekillerde silika birikintileri bulunmaktadır (Dogget 1988; Ma 2004). Oldukça yüksek oranda görülen kardeşlenme, ana sürgünün tabanında bulunan düğümden büyüyen bitki sürgünü olarak tanımlanmaktadır (Pacific Seeds 2008). Uygun düzeyde yapılan gübreleme ile tane verimini arttırdığı bilinen kardeşlenmenin genetik, karbon kaynağı ve gece sıcaklığı gibi faktörlerden etkilendiği ifade edilmektedir (Pacific Seeds 2008).

Sorgumun çiçeklenmesi, 50-60 cm uzunluğunda ve 30 cm genişliğinde açık ya da kompakt yapıda olan salkım şeklinde olmaktadır (Dogget 1988). Çiçeği, primer ve sekonder başak yapısında olup 1600-4000 arasında çiçekten oluşmaktadır (Stephens ve Quinby 1934; Doggett 1988). Fertil başakçık biseksüel ve ovaldır, diğer başakçık ise kısır ve sadece erkek organları içerir (Doggett 1988). Sorgum vejetatif olarak üremez fakat sapların kök düğümlerinden kesilmemesi durumunda vejetatif olarak çoğaltılabilir (Thomas ve Venkatraman 1930; Purseglove 1972; Schertz ve Dalton 1980). Sorgum tohum yoluyla çoğalmaktadır. Tohum karyopsis durumunda olup tanen içerip glüten içermemektedir. Meyve kabuğu, tohum kabuğu, endosperm ve embriyo kısımlarından oluşan tohum, kavuzla kaplıdır (Bayram ve Turgut 2015). 16 ile 28 g arasında değişen 1000 tane ağırlığı çeşitlere ve çevreye bağlı olarak değişmektedir (Guiying vd. 2003). Çıkıştan 60-70 gün sonra gerçekleşen çiçeklenme; çeşit, varyete ve yetiştirme koşullarına göre değişim göstermektedir (Spenceley vd. 2005). Çiçeklenme bayrak yaprağından salkım çıktıktan üç gün sonrasında başlayıp bir hafta boyunca devam etmektedir (Schertz ve Dalton 1980). Çevre sıcaklığına da bağlı olmak üzere, optimum çiçeklenme sıcaklığı 21-35 °C'dir (Schertz ve Dalton 1980). Stigma 48 saat boyunca tozlanmaya açık olarak kalabilir fakat bu süre çeşitlere bağlı olarak uzamaktadır (Stephens ve Quinby 1934). Tozlaşma, çiçeklenmeden üç gün sonra (Doggett 1988), döllenme ise polen stigmaya ulaştıktan sonraki iki saat içinde gerçekleşmektedir (Artschwager ve McGuire 1949; Schertz ve Dalton 1980; Doggett 1988). Sorgum bitkisi, nem ve sıcaklık gibi hava koşullarına bağlı olarak 3-6 saat canlı kalabilen yirmi dört milyona ulaşan polen üretmektedir (Stephens ve Quinby 1934; Karper ve Quinby 1947; Schertz ve Dalton 1980; Doggett 1988; Lansac vd. 1994). Sorgum bitkisinde döllenme; uygun koşullarda %70-95 kendine, rüzgar ve böcekler ile olmak üzere üç şekilde gerçekleşmektedir (Ellstrand ve Foster 1983; Pedersen vd. 1998; Dje vd. 2004). Yaban ve bal arıları daha çok döllenmeye yardımcı olan böcek grubunda olup polenin dağılmasını beş kilometreye kadar ulaştırmaktadırlar (Schertz ve Dalton 1980; Arriola 1995; Schmidt ve Bothma 2005; 2006). Her ne kadar arıların polen dağılımı oldukça etkin olsa da sorgum çiçeği rüzgar ile döllen bitkilerin karakteristik yapısına sahiptir (Doggett 1988; Schmidt ve Bothma 2005; Stephens ve Quinby 1934). Sorgumda yabancı döllenme çeşitlerdeki salkım tipine ve rüzgar yönüne bağlı olarak %5 ile 30 oranında olduğu tahmin edilmektedir (Schertz ve Dalton 1980; House 1985; Doggett 1988; Rai vd. 1999). Sorgum salkımı 800-6000 tohum bulundurmaktadır (Stephens ve Quinby 1934; Whiteman ve Wilson 1965; Purseglove 1972; House 1985; Doggett 1988; Vanderlip 1993; Spenceley vd. 2005; Pacific Seeds 2008). İdeal toprak PH'ı 5,0 olan sorgum bitkisinin adaptasyon yeteneği oldukça yüksektir (Guiying vd. 2003). Kuraklığa toleransı oldukça fazla olan bu

bitki bitkiler aleminin devesi olarak tanımlanmaktadır (Eren ve Öztürk 2011).

Sorgum; yem, dane, gıda ve biyoenerji kaynağı olarak çoklu kullanım alanına sahip önemli bir tahıl bitkisidir (Stamenkovic vd. 2020). Sorgumun tane bileşimi, sindirilebilirliği ve besinlerin biyo-yararlanımı oldukça büyük önem taşıması sebebiyle Asya ve Afrika'nın yarı kurak tropikal bölgelerinde yaşayan milyonlarca fakir insanın ana besin kaynağını oluşturmaktadır (Hariprasanna ve Patil 2015). Her ne kadar glutensiz dane formundan dolayı unu ile fırıncılık endüstrisinde popüler olmasa da birçok ülkede ekmek yapımı ile halk arasında yaygınlaşmıştır (House 1985). Ayrıca glutensiz yapısı çölyak hastaları için potansiyel bir besin kaynağıdır (O'Hara vd. 2013; Hariprasanna ve Patil 2015). Taneleri pirince benzer şekilde haşlanarak ya da mısır gibi kavrularak tüketilip; krep, kek, köfte, kahvaltılık gevrekler veya kuskus yapmak için un haline getirilmekte ve ayrıca alkollü ya da alkolsüz içecek hazırlanması için de kullanılmaktadır (Purseglave 1972; Doggett 1988; Taylor 2003). Tanesi ile birlikte yeşil aksamı da parçalanarak hayvanlara selüloz (lif) kaynağı olarak yedirilmektedir (Bennett 1990). Bitki sapı ve yaprakları ise silaj yapımında kullanılmaktadır (House 1985). Yapılan bir çalışmada Antalya'nın sahil kesiminde sorgum ve sudan otunun ot eldesi amacıyla en az 3 defa biçim verebildiği ve besin değeri olarak mısıra yakın olması nedeniyle kaba yem kaynağı olarak daha ekonomik olduğu bildirilmiştir (Çeçen vd. 2005). Başka çalışmalarda ise yüksek besin değerine sahip bazı hibrit sorgum çeşitlerinin süt ineklerinin verimine mısırla aynı oranda katkıda bulunduklarını ve süt hayvancılığında sorgumun mısıra karşı çok önemli bir alternatif bitki olduğunu göstermiştir (Hanna vd. 1981; Bean vd. 2002; Oliver vd. 2004). Bütün sorgum çeşitleri saplarında şeker bulundurmaktadır ve yüksek şeker miktarına sahip olanları ise şeker sorgum olarak tanımlanmaktadır (Yun-Long vd. 2006). Şeker sorgum bitkisinin şeker içeriği en fazla olan aksamı sapıdır (%78,7) (Oscar 1884). Sapından elde edilen şeker şurup, melas ve etanol üretimi için de kullanılmaktadır (Hunter vd. 1997). Biyoyakıt endüstrisi, şeker sorgum çeşitlerinin saplarından ekstrakte edilen şekerlerden ve tohumlarından elde edilen nişastadan etanol üretmektedir (Almodares ve Hadi 2009; O'Hara vd. 2013). C4 bitkisi olan şeker sorgum, alternatiflerine göre daha etkin su tüketmektedir (Borrell vd. 2000; Spenceley vd. 2005). Optimum gelişme sıcaklığı 27- 30°C olan şeker sorgum bitkisinin büyüme periyodu yaz döneminde 4-5 ay kadar sürmektedir (Downes 1972). Hafif tınılıdan ağır killiye kadar çok çeşitli topraklarda yetişebilen bir bitki olup genelde hafif kumlu topraklarda daha iyi gelişmektedir (Kimber 2000). Birçok iklim ve çevre koşuluna uyum sağlayabilen bu bitkinin sıcaklığa ve kuraklığa dayanımı oldukça iyidir (Tuck vd. 2006; Almodares ve Hadi 2009; Ratnavathi vd. 2010). Bu özelliklerinin yanı sıra sürdürülebilir tarımı da (Habyarimana vd. 2018) yapılan bu bitkinin, fosil yakıtlara kıyasla çevreyi daha az kirleten, sera gazı emisyonlarını azaltarak biyogaz ve biyoetanol dahil olmak üzere çeşitli yeşil yakıt türlerini üretmek için de kullanılabildiği bilinmektedir (Fernandes vd. 2018). Yaygın kullanım ağına sahip olan sorgum bitkisinin 1950'lerden sonra gelişen teknolojiyle birlikte, hibrit tohumu geliştirilmiş ve kullanımı yaygınlaşmıştır (Maunder 2002).

Saplarında %8-20 oranında şeker olan şeker sorgum diğer adıyla 'sorgos', *Sorghum bicolor* (L.) Moench'in varyetelerinden biridir (Rains vd. 1990). Murray vd. (2009) ile Smith vd. (1987) şeker sorgumu; saplarında yüksek konsantrasyonda (%12-18) şeker barındıran ve yüksek miktarda biyokütle üretebilen özel sorgum idiotipi olarak tanımlamışlardır. Günümüzde, etanol üretimi için 'smart' bitki olarak adlandırılan şeker

sorgum, saplarında yüksek miktarda şeker bulunması ve bol miktarda öz su üretmesinden dolayı çok uzun yıllardır şurup, şeker ve melas üretiminde kullanılmaktadır (Shiringani vd. 2010). Saplarında bulunan şeker yüksek oranda (%53-85) sakkaroz olmakla birlikte (%9-33) glukoz ve (%6-21) fruktozdan oluşmaktadır (Reddy vd. 2005; Wu vd. 2010; Yu vd. 2012; Kim ve Day 2011; Serna-Saldivar vd. 2012; Rainey ve O'Hara 2013). Bazı şeker sorgum hatlarından, toplam bitki biyokütlesinin yaklaşık %78'i kadar meyve suyu verimi elde edilmektedir (Reddy vd. 2008). Saplarındaki şeker türüne göre şeker sorgum sakkarin ve şurup tipi olmak üzere ikiye ayrılmıştır (Anglani 1998). Sakkaroz içeren sakarin tipi şeker sorgum, kristal şekerin rafine edilmesinde kullanılabilir. Glikoz içeren şurup tipi şeker sorgum ise şurup üretiminde kullanılabilir (Anglani 1998). Şeker sorgumun etanol substratı olarak kullanılmaya başlandığı zamanlar 1970'li yıllara denk gelmektedir. Bitki öz suyunun ekstraksiyonu yaygınlaşmaya başladıktan sonra, sonrasında elde edilen küspe ile kağıt, selülozik etanol, hayvan yemi vs gibi bir çok ürün elde edilmiştir (Negro vd. 1999; Rainey ve O'Hara 2013).

Şeker sorgumun enerji bitkisi olarak geliştirilmesi 1970'lerin ortalarında başlamıştır (Appiah-Nkansah vd. 2019). 1980'lerin ortalarında ise yüksek biyokütle amacıyla ıslah çalışmaları başlamış (Kim ve Day 2011; Kovarik ve Singh 2013) ve aynı süreçte şeker sorgum hatları belirlenmiştir (Reddy vd. 2005). Hatta bu süreçte ilk hibrit şeker sorgum N39 X Wray melezinden elde edilmiş, biyokütle ve tane üretimi amacıyla Amerika'da üretilmiştir (Clegg vd. 1986). Sonraki süreçlerde ise fermente edilebilir yüksek konsantrasyonda şeker ve biyokütle verimi ıslah amaçları arasında yer almıştır (Rajvanshi ve Nimbkar 2005). Şeker sorgum bitkisinin suyu teorik olarak %85 etanole veya 100 kg taze sap verimi başına 54,4 L etanole dönüştürüldüğü varsayılmaktadır (Almodares ve Hadi 2009). Şeker sorgumdan etanol üretim süreci değirmene benzer bir alet kullanılarak öz su eldesi ile başlamaktadır (Almodares vd. 2008). Sonraki aşama fermantasyondur; bitki öz suyu *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılarak etanole dönüştürülmektedir (Almodares ve Hadi 2009). Takibindeki aşamalar ise distilasyon ve damıtmadır (Almodares ve Hadi 2009). Bunlara ek olarak, şeker sorgumun danesinden de mısıra benzer şekilde etanol üretilmektedir (Quintero vd. 2008).

Gerek avantajları gerekse sağladığı olanaklar sayesinde günden güne popüler olan şeker sorgum bitkisinde birçok çalışma yapılmış ve ıslah çalışmalarına yön verilmiştir. Şeker sorgumun şeker içeriği ile ilgili Guiying vd. (2000) sapta bulunan şekerin eklemeli ve dominans etkisi olan çekinik genler etkisi altında olduğunu bildirmiş olsa da sonrasında yapılan çalışmalar ile bu özelliğin çoklu gen etkisi altında olduğu kanıtlanmıştır. Örneğin; Shiringani vd. (2010) şeker sorgum saplarında yer alan şeker oluşumu ve içeriğinin birden fazla gen tarafından kontrol edilen ve önemli derecede çevreden etkilenen kantitatif bir özellik olduğunu bildirirken, en az şeker içeriği kadar önemli olan bitki öz suyu özelliğinin kontrolünde birden fazla genin rol oynayabileceği yapılan başka bir çalışma ile belirlenmiştir (Saballos 2008). Şeker verimi bitki öz suyu ve Brix miktarının da içerisinde bulunduğu birçok komponente bağlıdır (Guan vd. 2011). Bunlar arasında yer alan Brix, genellikle toplam şeker içeriğinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Hagio vd. 1987). Ayrıca, Brix toplam şeker miktarı ($r = 0,900$, $P < 0,01$) ve sakkaroz konsantrasyonu ($r = 0,894$, $P < 0,01$) ile yüksek oranda ilişkilidir (Hagio vd. 1987; Ritter vd. 2008; Kawahigashi vd. 2013). Bitkinin saplarında bulunan şeker; önemli oranda sakkarozdan oluşurken, az miktarda fruktoz ve glikoz formundan da oluşmaktadır (Guan vd. 2011). Bu yapılar etanole kolayca fermente edilebilir formdadır (Guan vd.

2011). Şeker sorgumda sakkaroz konsantrasyonu çiçeklenme döneminden sonra artmakta (Zegada-Lizarazu ve Monti 2012) ve uygun koşullar altında, 13,2 ton/ha 'a kadar ve hektar başına 7682 L etanol eşdeğeri toplam şeker üretilebilmektedir (Jackson vd. 1980).

Birden çok morfolojik ve teknolojik özellik, örneğin; bitki boyu, ekstrakte edilebilir bitki öz suyu ve bunun Brix içeriği biyoetanolü etkileyen önemli özellikler olarak kabul edilir (Elangovan vd. 2014; Regassa ve Wortmann 2014; Mathur vd. 2017). Bitki boyu biyokütle üretimi ile pozitif ve güçlü bir korelasyona ($r=0,68-0,7$ Murray vd. 2008a) sahip olan önemli bir biyoetanol komponentidir (Salas Fernandez vd. 2009; Zhao vd. 2009). Guden vd. (2020b) 53 genotipi 9 çeşitle birlikte 2 farklı lokasyonda değerlendirmişler ve birden çok genotipin 300 cm'den daha uzun boya sahip olduğunu belirlemişlerdir. Audilakshmi vd. (2010) çalışmalarında ana bitkiyi 2 farklı baba ile melezleyerek elde ettikleri bitkileri 2 farklı ebeveyn ile geri melez yapmışlar ve bu bitkileri 2 yıl değerlendirmişlerdir. En yüksek bitki boyu değerlerini F_1 bitkilerinde 278, F_2 'de 241, BC_1 'de 221 ve BC_2 'de 283 cm olarak belirlemişlerdir. Cole vd. (2017) çalışmalarında 4 ticari şeker sorgumun bitki boyunu 2 yıl boyunca değerlendirmiş ve en yüksek değeri 371 cm olarak belirlemişlerdir. Yapılan birçok çalışmada belirlenmiştir ki bitki boyu; bitki öz suyu verimi, yeşil sap ağırlığı ve biyokütle üretimi gibi birçok biyoetanol komponenti ile önemli korelasyonlara sahiptir (Murray vd. 2008a,b; Ritter vd. 2008; Salas Fernandez vd. 2009; Zhao vd. 2009).

Ekstrakte edilebilir bitki öz suyu toplam biyokütlenin yaklaşık %78'ine ulaşan önemli bir diğer biyoetanol üretim faktörüdür (Tsfamichael vd. 2015). Başka bir çalışmada ise bitki öz suyunun yaklaşık %85'inin etanole dönüştürüldüğü bildirilmiştir (Almodares ve Hadi 2009). Cole vd. (2017) çalışmalarında 2 yıl boyunca değerlendirmiş oldukları 4 ticari şeker sorgum çeşidinin de en yüksek bitki öz suyu verimini 25 646 L/ha ile M81E çeşidinde belirlemişlerdir. Guden vd. (2020a) çalışmalarında 62 adet genotipi kullanarak 2 farklı lokasyonda biyoetanol ve ilişkili parametreleri değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında Antalya lokasyonunda bitki öz suyu verimi değerlerinin 2610 ile 24020 L/ha; Konya lokasyonun da ise 1440 ile 23990 L/ha arasında olduğunu bildirmişlerdir. Audilakshmi vd. (2010) çalışmalarında bitki başına düşen bitki öz suyunu ml cinsinden belirlemişler ve en yüksek değere 27 B X BJ 248 melezinin F_1 generasyonunda (169 ml) gözlemlemişlerdir.

Şeker konsantrasyonu, çözünür katı içeriği olarak tanımlanan Brix birimleri ile belirlenir (Mathur vd. 2017). Bu konsantrasyon çevreye, genotipe, boğum aralarının pozisyonuna ve hasat zamanına bağlı olarak değişmekle birlikte, şeker sorgumda %14 ile 23 arasındadır (Almodares ve Sepahi 1996; Qazi vd. 2012; Vinutha vd. 2014). Ayrıca Brix birçok biyoetanol komponenti ile yüksek oranda ve pozitif korelasyonlara sahiptir; sakkaroz ile 0,91 ve biyoetanol verimi ile 0,39 (Guden vd. 2020a), toplam şeker ile 0,76, biyokütle ağırlığıyla 0,74, verim ile 0,74 ve sakkaroz ile 0,85'tir (Cole vd. 2017). Brix değerinin sakkaroz ile de oldukça yüksek korelasyona sahip olduğu başka çalışma ile de doğrulanmıştır (Ma vd. 1992). Yapılan çalışmalarda Brix değerleri oldukça farklılık göstermiştir. Guden vd. (2020a) 63 genotipin Brix değerlerini Antalya lokasyonunda %8,28-17,03, Konya lokasyonunda %8,1-17,9 olarak bildirmişlerdir. Almodares ve Sepahi (1996) çalışmalarında ise 36 şeker sorgumunun Brix değerlerini %11,16 ile 23,01 arasında belirlemişlerdir. Cole vd. (2017) çalışmalarında dünyada yaygın olarak kullanılan 4 ticari şeker sorgum çeşidini 2 yıl değerlendirmiş ve Brix değerlerini %13,01 ile 10,98 arasında belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise düşük ve yüksek değere sahip

olan ebeveynlerin melezlenmesinden sonra F₂ generasyonunda tekrar yüksek değere sahip ebeveyn ile geri melezlenmesiyle elde edilen bitkide Brix değeri %20,7 olarak belirlenmiştir (Audilakshmi vd. 2010). Dutra vd. (2013) sekiz adet şeker sorgumu değerlendirdikleri çalışmalarında en yüksek Brix değerini %18,27 (Willey) olarak belirlemişlerdir.

Sorgum, diğer C4 bitkilerine kıyasla genomu nispeten küçüktür [(730 Mbp) (Paterson vd. 2009)] ve diploid yapıdadır (2n=20). Mısır genomu ile kıyaslandığında önemli ölçüde daha küçük ve daha az karmaşıktır. Poliploid yapıda olan şeker kamışı ve Miscanthus gibi kısırılık sorunları yaşamadığı için genetik araştırmalarda oldukça ideal bir modeldir (Rao vd. 2013c). Bu olanaklar genetik verileri kullanarak, üstün genotipleri daha etkin bir şekilde seçmek için yeni veya geliştirilmiş tarama yöntemlerine olanak sağlayıp, ıslah stratejilerinde karar verme sürecini iyileştirmektedir (Semagn vd. 2006b). Genetik verilerin kullanımı ile elde edilen genetik haritalama, herhangi bir türde moleküler işaretleyicilerin çeşitli uygulamalarından biridir (Semagn vd. 2006b). Genetik haritalama; bir DNA molekülü (kromozomlar) üzerindeki genler arasındaki göreceli konumun ve aralarındaki mesafenin belirlenmesidir (Kumar vd. 2009). Genetik haritalamanın temel amacı, karmaşık niceliksel özellikleri kontrol eden genetik nedenlere veya genlere çok yakın olan markerleri tespit etmektir (Abdurakhmonov ve Abdurakimov 2008). Kromozomlar üzerinde bulunan bağlı genlerin dizilişleri ve aralarındaki mesafenin belirlenmesi ise genetik bağlantı haritalarını oluşturmaktadır (Passarge 2000). Belirlenen mesafeler harita birimi olarak tanımlanmakta ve Thomas Hunt Morgan'a ithafen (M) ile ifade edilmektedir. 1 centimorgan (cM) %1 (0.01 θ) rekombinasyon frekansı olarak tanımlanmaktadır. 1 cM fiziki olarak 1 milyon baz anlamına gelmektedir (Liu 1998; Kappes 1999; Özsensoy ve Kurar 2013). İki genin/bölgenin birbirine bağlı olma olasılığının, bağlı olmama olasılığına oranı ise logaritmik olarak Logarithm of Odds Ratio (LOD) olarak ifade edilmektedir (Morton 1955).

Kontrollü melezlemeler ve doğada kendiliğinden oluşan melezlemeler ile elde edilen popülasyonlar genetik haritalarda haritalama popülasyonu olarak kullanılmaktadır. Haritalama popülasyonları arasında F₂ popülasyonu; iki saf hattın melezlenmesi ile elde edilen F₁'lerin kendilenmesi ile oluşmaktadır, geri melez popülasyonu; F₁ bireylerinin ebeveynlerden biri ile melezlenmesi ile oluşmaktadır, Rekombinant kendilenmiş hatlar; F₂ bireylerinin en az 6 kez kendilenmesi ile oluşmaktadır, yakın izogenik hatlar; geri melez popülasyonunun en az 6 kez bir ebeveyn ile melezlenmesinin ardından elde edilen geri melezin kendilenmesi ile oluşmaktadır, double haploit hatlar; F₁ bitkilerine ait polenlerden elde edilen haploid bitkilerde kromozom katlanması ile oluşmaktadır (Dhingani vd. 2015). Bu haritalama popülasyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan haritalarda Composite Interval Mapping (Bileşik aralık haritalama), Multiple-QTL Mapping (Çoklu-QTL Haritalama), Simple Interval Mapping (Interval Mapping; Basit Aralık Haritalama) ve Single Marker Analysis (Tek Marker Analizi) kullanılan yöntemler arasında sayılmaktadır.

Sorgumda ilk haritalama çalışmaları mısır bitkisi ile yapısının kıyaslanmasına dair olmuştur (Dufour vd. 1996). Hulbert vd. (1990) mısırdaki bulunan problemleri kullanılarak sorgumda genetik haritalama ve karakterizasyon çalışması yapmışlardır. Shanqui Red ile M91051 melezlenmesi ile oluşan F₂ popülasyonunu materyal olarak kullanmışlar, mısırdaki bulunan 14 karaktere ait DNA fragmentini klonlanmışlar ve 91 adet RFLP markeri ile taramışlardır. Mısır ve sorgum bitkisinin birçok bölgesinin korunmuş olduğunu, fakat

birkaç bölgede ise farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Whitkus vd. (1992) çalışmalarında sorgum ve mısır bitkilerinin genom haritalarının kıyaslanmasını amaçlamışlardır. Sorgum ve mısır bitkisindeki farklılıkların kromozomlarda oluşan yapısal farklılıklardan ya da inversiyonlardan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Moleküler markerlerin geliştirilmesiyle birlikte yapılan çalışmalar çeşitlenmiştir. Xu vd. (1994) F₂ popülasyonunu kullanarak RFLP markerleri yardımıyla 1789 cM uzunluğunda 14 gruptan oluşan bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Taramino vd. (1997) ise farklı orijinlere sahip sorgum bitkileri kullanılarak 13 SSR lokusunu karakterize ederek haritalama yapmışlardır. Boivin vd. (1999) çalışmalarında RFLP, AFLP ve morfolojik markerleri kullanmışlardır. Her iki moleküler marker için ayrı ayrı haritalama yapmışlar ve sonrasında birleştirmişlerdir. 1899 cM uzunluğundaki bölgede 443 adet lokus belirlemişler ve AFLP markerlerinin genom boyunca üniform dağılmadığını tespit etmişlerdir.

Etkin bir ıslah için fenotipik ve genetik bilgilerin varlığı önemlidir (Habyarimana vd. 2020). Genetik verilerin değerlendirilmesi fenotipik veriler yardımıyla çok daha ileri seviyelerde bilgi eldesine olanak sağlamaktadır (Semagn vd. 2006b). Günümüzde, bu bilgiler ışığında ıslah amaçları gerçekleştirilirken mevcut bitkilerin etkinliği ve kapasitesini arttırmak için genetik haritalama ve QTL'lerin karakterizasyonu en uygun metot olarak düşünülmektedir (Shiringani vd. 2010). Kantitatif özellik lokusu (Quantitative Trait Locus) haritalaması; karmaşık (çok gen ile kontrol edilen) özelliklerde varyasyonun genetik temelini açıklanabilmesi için kullanılan bir yöntemdir. Diğer bir deyişle fenotipe dair veriler ile genotipik verilerin birbiriyle olan ilişkisini istatistiksel yöntemlerle açıklayarak, fenotipin ilgili kromozom bölgeleriyle ilişkisini belirlemektedir (Falconer ve Mackay 1996; Kearsey 1998; Lynch ve Walsh 1998). Sorgum için QTL çalışmaları 1995 yılının başlarında başlamış (Lin vd., 1995; Pereira ve Lee, 1995) ve sonraki yıllar devam etmiştir (Rami vd. 1998; Crasta vd. 1999; Lijavetzky vd. 2000; Hart vd. 2001; Klein vd. 2001; Natoli vd. 2002; Feltus vd. 2006; Murray vd. 2008a).

Biyoyakıt üretimi için gözde bitki haline gelen şeker sorgumun biyoenerji bileşenleri ile ilişkili özelliklerin geliştirilmesi amacıyla ise sonraki yıllar haritalama konusunda daha kapsamlı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bir adet tür içi *S. bicolor* (Xu vd. 1994; Bhattaramakki vd. 2000; Klein vd. 2000; Menz vd. 2002) ve türler arası *S. bicolor* × *S. propinquum* (Chittenden vd. 1994; Bowers vd. 2003) melezinden elde edilen popülasyonda yapılan yüksek yoğunluklu haritalamada daha önce belirlenmiş 2600 bölgede 2454 AFLP markeri ile 1375 lokus belirlenmiştir. Sorgumdan haritalanan 800'den fazla marker diğer buğdaygillerden türetilmiş, ekstradan sorgumda bulunan markerler diğer buğdaygillerde de haritalanmış ve sekans benzerliği belirlenmiştir (Rao vd. 2013a, b). Ritter vd. (2008) yapmış oldukları çalışmalarında, şeker sorgum ve tane sorgumun melezlenmesi ile elde etmiş oldukları 184 genotipi içeren RIL popülasyonunda şeker ile alakalı özellikleri analiz etmişlerdir. Bununla birlikte 228 SSR ve AFLP markerini kullanarak genetik haritalama yapmışlardır. Sakkaroz, fruktoz, şeker içeriği, Brix, sakkaroz verimi, bitki boyu ve çiçeklenme zamanı QTL'lerinin 6. kromozom üzerinde aynı bölgede yer aldığını bildirmişlerdir. Ayrıca, 11 adeti şeker içeriği, 8 adeti sakkaroz verimi ve 10 adeti şeker verimi ile ilişkili olan toplamda 29 QTL belirlemişlerdir. Natoli vd. (2002), ebeveynleri şeker sorgum olmayan 129 F₂; Yun-Long vd. (2006) tane ve şeker sorgum melezinden elde edilen 207 F₂ bireyini kullanarak şeker ile ilişkili SBI-01, SBI-03, SBI-04, SBI-05, SBI-06, SBI-07, SBI-10 kromozomları

üzerinde olan birçok QTL belirlemişlerdir. Murray vd. (2009), ikisi daha önce yapılan çalışmalarla desteklenen bitki boyu ile ilişkili olan 3 QTL belirlemişlerdir. Kromozom 9 üzerinde belirledikleri QTL'in önemi daha önce yapılan QTL bağlantı (QTL linkage analysis; Pereira ve Lee 1995; Lin vd. 1995; Murray vd. 2008b) ve ilişki analizleri (Association analysis; Brown vd. 2008) ile de doğrulanmıştır. Guan vd. (2011) çalışmalarında, %11,03- 17,65 arasında fenotipik varyasyonu açıklayan Brix ile ilişkili 4 QTL belirlemişlerdir. 188 bireyden oluşan RIL popülasyonu ile yapılan çalışmada ise, 157 AFLP, SSR ve ETS-SSR markerleri kullanılarak SBI-06 kromozomu üzerinde belirlenen QTL'in çiçeklenme zamanı, bitki boyu, Brix, sakkaroz ve şeker içeriği gibi birçok özellik ile önemli ilişkisi olduğu belirlenmiştir (Shiringani vd. 2010). 3. kromozom üzerinde bulunan QTL'in Brix değerini yüksek oranda etkilediğini belirleyen Felderhoff vd. (2012), öncesinde bu çalışma ile aynı sonucu alanlardan farklı olarak (Natoli vd. 2002; Murray vd. 2008b) sadece Brix ile değil vejetatif ağırlık, kuru biyokütle, öz su verimi gibi diğer özelliklerle de ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Burks vd. (2015) 6. kromozom üzerinde belirlemiş oldukları bölgenin (yaklaşık 51,8 Mbp mesafede) şeker verimini etkilediğini ve bu bölgenin daha önce belirlenen D (Dry Midrib) lokusunu da içermekte olduğunu bildirmişlerdir (Hilson 1916; Hart vd. 2001; Xu vd. 2000; Srinivas vd. 2009). Bai vd. (2017) Rio şeker sorgum ile danelik sorgumun melezlenmesi ile elde ettikleri 189 adet bireyden oluşan RIL popülasyonu kullanarak 1418,71 cM'dan oluşan ilişki haritası oluşturmuşlardır. Bitki boyu ile ilişkili 14 QTL ve Brix için ise 4 adet QTL belirlemişlerdir.

Uzun bitki boyuna sahip bitkiler daha geç çiçeklenmekte, bu durum fotosentez aktivitesi ve biyokütle üretimi için daha fazla zaman oluşturmaktadır. Bu durum aynı zamanda şeker üretimi için daha fazla zamana sahip olduğu anlamına gelmektedir (Ferraris ve Charles-Edwards 1986; Ritter vd. 2008). Yapılan çalışmalarda bitki boyu karakterini etkileyen birçok faktör olduğu, sorgum bitkisinde boy karakteri "bodur genler" olarak tanımlanan; Dw1, Dw2, Dw3 ve Dw4 genleri tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir (Quinby 1974). Bu durum sorgumda bitki boyu karakterinin birden fazla major QTL ile kontrol edilmekte olduğunu desteklemektedir (Salas Fernandez vd. 2009). Sorgum bitkisinde boy ile ilgili ilk klonlanan gen Dw3 (SbPGP1)'tür (Multani vd. 2003). Bu gen 7. kromozom üzerinde (yaklaşık 58 Mbp) yer alıp (Hu vd. 2019) boğum arası uzunluğun azalması yönünde etkisi olup, oksin taşınmasıyla da ilişkilidir (Multani vd. 2003). 9. kromozom (yaklaşık 57 Mbp) üzerinde bulunan Dw1 geni, boğum arası uzunluğunu ve sap ağırlığını etkilemektedir (Hilley vd. 2016). Ayrıca büyümeyi inhibe eden bir hormon olan brassinosteroid sinyalinin önemli bir komponentidir (Hirano vd. 2017). Higgins vd. (2014) Dw1 geninin dane sorgum tiplerinde ve uzun boy yerine kısa boylu dane sorgum üzerinde etkili olduğu bildirmişlerdir. Dw2 ise fotoperiyot hassasiyet lokusu olan Ma1 ile ilişkili olup 6. kromozom üzerinde (yaklaşık 42 Mbp) yer almaktadır (Quinby 1967; Klein vd. 2008; Lin vd. 1995; Morris vd. 2013). Ayrıca, Dw2'nin boğum arası uzunluğunu etkileyen protein kinazı kontrolüne (Hilley vd. 2017), tane verimi ve salkım uzunluğuna; Dw3'ün ise kardeşlenme sayısına ve püskül büyüklüğüne pleiotropik etkisi bulunmaktadır (Casady 1965; Graham ve Lessmann 1966). Dw4'ün kesin konumuyla ilgili bir belirleme yapılmamasına rağmen kromozom 4 üzerinde olduğu düşünülmekte (Li vd. 2015) ve süpürge darısında olduğu bilinmektedir (Quinby ve Karper 1954). Bununla birlikte, Dw5 geni Chen vd. (2019) tarafından yeni tanımlanmıştır. Dw7a (Sobic.007G137101) geni ise çeltik bitkisinde de karşılığı olan ve sorgum bitkisinde sap uzunluğunu kontrol edildiği var sayılan yeni bir gendir (Hashimoto

vd. 2021). Bu genler dışında bitki boyu ve biyoenerji komponentlerini konu alan çok sayıda lokus ve QTL'in belirlendiği çalışmalar yapılmıştır. Upadhyaya vd. (2013) sorgum mini kor koleksiyonunda 14739 adet SNP lokusunu Illumina platformu kullanarak belirlemişlerdir. Marker lokuslarından 6 tanesini bitki boyu ve 10 tanesinin ise olgunlaşma karakteri ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Lekgari (2010) çalışmasında 142 şeker sorgumu kullanılarak genetik analizler için SSR, SRAP ve morfolojik markerlerini kullanmışlardır. Yapmış oldukları haritalama çalışmasında bitki boyu (% fenotipik varyasyonu açıklama oranı; 14,7), Brix (% fenotipik varyasyonu açıklama oranı; 6,4-33,9), toplam biokütle (% fenotipik varyasyonu açıklama oranı; 9,7-17,4), çiçeklenme zamanı (% fenotipik varyasyonu açıklama oranı; 26,2- 58,4) ve nem içeriği (% fenotipik varyasyonu açıklama oranı; 7,7-77) ile ilişkili 14 QTL belirlemişlerdir. Liu vd. (2019) çalışmalarında sorgum Tx623 ile *Sorghum virgatum* melezlenmesiyle elde edilen F₂ ve F₃ popülasyonlarını kullanarak 1., 2., 7. (Fenotipik varyasyonu açıklama oranı: %12,92), 9. (Fenotipik varyasyonu açıklama oranı: %26,49) ve 10. kromozomlar üzerinde bitki boyu ile ilgili QTL'ler belirlemişlerdir (Zhang vd., 2019). Başka bir çalışmada ise bitki boyu ile ilişkili 1., 2., 5., 7. ve 9. kromozomlar üzerinde toplamda 13 QTL belirlemişlerdir. 9. kromozom üzerindeki major QTL olup, fenotipik varyasyonu %12,11 oranında açıklamaktadır. Ayrıca belirlemiş oldukları QTL bölgeleri ile ilişkili markerleri de tanımlamışlardır (Zhang vd. 2019).

Son yıllarda sekanslama teknolojilerindeki gelişmeler bitkilerin genotip verilerinin kullanıldığı uygulama alanlarını oldukça olumlu etkilemiştir. Yeni nesil sekanslama teknolojisi (Next Generation Sequencing) ile bireyler ve popülasyonlar arasındaki genomik varyasyonu analiz ederek, polimorfizmler ile genotipleri tanımlamış ve bunların fenotiplerle ilişkisini belirlemeye yardımcı olmuştur (Scheben vd. 2017). NGS teknolojisinin ortaya çıkışı, popülasyonlarda genomik analizler için yeni moleküler yöntemlerin ortaya çıkmasına yol açmıştır; bu yöntemler GBS (Genotype by Sequencing) (Elshire vd. 2011), RAD-seq (Restriction Site Associated DNA Sequencing) (Baird vd. 2008), 2b-RAD (Wang vd. 2012) ve ddRAD-seq (double digest RAD sequencing)'tir (Peterson vd. 2012). Bu yöntemler genel itibarıyla birbirine paralel olmakla birlikte, birbirine göre farklı avantajları bulunmaktadır. GBS yönteminden elde edilen kesilmiş fragment sayısının 2b-RAD ve RAD-seq protokolüne göre daha kısıtlı ve 2b-RAD protokolünün RAD-seq yöntemine göre daha basit olduğu bildirilmiştir (Wang vd. 2012). ddRAD-seq yöntemi ise, orijinal RAD-seq protokolünde bulunan kesim adımını ortadan kaldırmakta ve hem RAD-seq hemde 2b-RAD'a göre marker yoğunluğu ve fragment sayısı açısından daha fazla esneklik sağlamaktadır (Yol vd. 2021). Bu protokol ile genom kapsamı restriksiyon enzimlerinin seçimi ile ayarlanabilmekte, yüksek verimlilik ve doğrulukla SNP'lerin belirlenmesine olanak sağlamakta ve biyoinformatik analiz sürecinde referans genom gerektirmemektedir (Peterson vd. 2012). Ayrıca, kütüphane hazırlama adımında rastgele fragment kesimini ortadan kaldırarak GBS yönteminin en büyük eksikliklerinden olan yüksek oranda eksik veri oluşumunu engellemektedir (Elshire vd. 2011). Literatürde sorgum bitkisi üzerinde ddRAD-seq yöntemiyle yapılmış çalışma bulunmasa da yukarıda belirtilen diğer yöntemler kullanılarak yapılmış birçok haritalama çalışması mevcuttur. Han vd. (2015) bitki sapının su içeriğini kontrol eden geni, qSW6, haritalamak için NGS (Next Generation Sequence) ve BSA (Bulk Segregant Analysis) yöntemlerini kullanarak %34,7-56,9 oranında fenotipik varyasyonu açıklayan QTL'i kromozom 6 üzerinde belirlemişlerdir. Harris-Shultz vd. (2015) yine GBS yöntemini kullanarak kromozom 3 üzerinde bitki boyu ile ilgili yeni bir QTL

belirlemişlerdir. Antraknoza dayanıklılık lokuslarının belirlenmesi için Felderhoff vd. (2016), dayanıklı (Bk7) ve hassas (Early Hegari-Sart) bitkilerin melezlenmesi ile oluşturdukları F_{3:4} ve F_{4:5} popülasyonlarına ait hatları kullanarak 3 farklı çevrede ve iki yıl boyunca doğal şartlar altında dayanıklılık skorlaması yapmışlardır. GBS yöntemi ile elde edilen sekans bilgilerine dayanarak, kromozom 7 ve 9 üzerinde Bk7 kaynaklı antraknoz dayanıklılığına dair lokus belirlemişlerdir. Ongom ve Ejeta (2018) çalışmalarını çok fazla sayıda bireyin melezlenmesi ile oluşan 200 adet F₇ bireyinin bir araya gelerek oluşturdukları MAGİC popülasyonunu kullanarak gerçekleştirmiştir. 2 yıl boyunca bitki boyu gözlemi aldıkları çalışmalarında, genetik analizlerini GBS yöntemini kullanarak elde etmiş oldukları veriler ile gerçekleştirmişler. Analizlerde, Dwarf 1 (9. Kromozom) ve Dwarf 3 (7. Kromozom) genlerini belirlemiş ve ayrıca 6. kromozom üzerinde bitki boyu ile ilişkili yeni bir QTL belirlediklerini rapor etmişlerdir. Kong vd. (2021) çalışmalarında toplamda 246 genotipten oluşan ve *S. bicolor* X *S. halepense* ile geri melezin yapılmasıyla elde edilen 2 adet BC₁F₂ popülasyonunu kullanılmışlardır. Farklı ortamlarda fenotipik gözlemler alınan bu popülasyonlarda GBS yöntemi kullanılarak bitki boyu ile alakalı birden fazla çevrede önemlilik gösteren 11 adet QTL belirlemişlerdir. Kajiya-Kanegae vd. (2020) çalışmalarında 460 sorgum aksesyonunu ve BTx623 ve NOG'un melezlenmesiyle elde ettikleri RIL popülasyonunu çalışmalarında genetik materyal olarak kullanmışlardır. Genetik analizlerde ise RAD-seq yöntemini kullanmışlar, RIL popülasyonunda 213 bireyi kullanarak genetik haritalama yapmışlar ve 13 adet önemli QTL bölgesi belirlemişlerdir. Bunlardan 3 tanesi bitki boyu için olup en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranının %40,51, 2 tanesi Brix için olup en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranının %13,67 olduğunu bildirmişlerdir. Faye vd. (2021) çalışmalarında 756 aksesyonda GBS yöntemini kullanarak genetik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Bitki boyu karakteri ile ilişkili 3 QTL belirlemişler ve bu QTL'ler arasından en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranı %41 (Lokasyonu; S7_59400476) olduğunu bildirmişler. Jin vd. (2021) çalışmalarında 126 bireyden oluşan RIL popülasyonunu 2 yıl boyunca içerisinde bitki boyu özelliğinin de bulunduğu birçok karakter için değerlendirmişlerdir. Elde etmiş oldukları genetik analizler (RAD-seq) sonucunda 3. (Fenotipik varyasyonu açıklama oranı %23,53-22,39), 2. (Fenotipik varyasyonu açıklama oranı %16,88) ve 9. (Fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,92) kromozomlarda bitki boyu ile ilişkili QTL'ler belirlemişlerdir. Govindarajulu vd. (2021) çalışmalarında *S. propinquum* ve *S. bicolor* Tx7000 melezlenmesiyle elde etmiş oldukları 191 adet F_{3:4} bitkisinin bulunduğu popülasyonu genetik materyal olarak kullanmışlardır. Bitki boyunun da içerisinde bulunduğu 6 özelliğin gözlemlerini iki farklı lokasyonda ve serada yapmışlardır. 7. kromozom üzerinde farklı pozisyonlarda (58,26, 66,19, 66,59 ve 63,50) belirlemiş oldukları bitki boyu QTL'lerinin sırasıyla %29,87, 24,87, 30,55 ve 20,18 fenotipik varyasyonu açıklama oranlarında olduğunu bildirmişlerdir. 9. kromozom üzerinde ise yine farklı pozisyonlarda (64,83, 71,81, 72,19 ve 69,44) belirlemiş oldukları bitki boyu QTL'leri sırasıyla %7,38, 8,68, 8,58 ve 7,86 fenotipik varyasyonu açıklama oranlarında olduğunu açıklamışlardır.

Son zamanlarda moleküler markerler bitki moleküler ıslahında çok hızlı ilerlemelere olanak sağlamıştır. RFLP markerleri ile başlayan bu biyoteknolojik süreç günümüzde genomdaki herhangi bir bölgede tek bir bazın farklılığını ortaya koyabilen SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markerleri kullanılabilir kılmıştır (Lander 1996). Modern genetikte, DNA bazlı polimorfizm olarak da tanımlanan bu gelişme (Scheben vd. 2017) bitki ıslahında oldukça fazla kullanılan bu moleküler markerler gen haritalama,

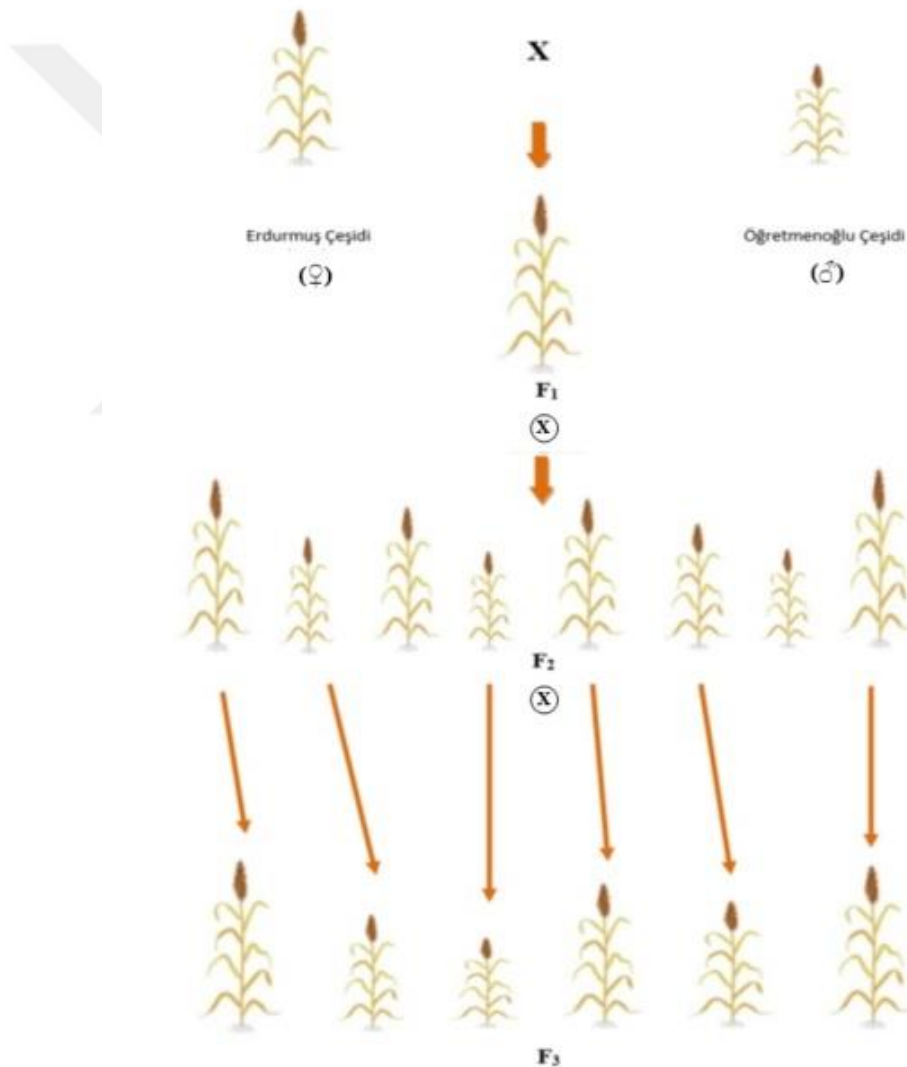
açılım analizleri, genetik işaretleme, filogenetik analizler ve çeşitli biyolojik uygulamalar için önemlilik arz etmektedir (Semagn vd. 2006a, b; Singh vd. 2010). Bitki ıslahında kullanılan marker tipleri geniş düzeyde çeşitliliğe sahip olmasına rağmen ekonomik maliyetler, çalışmaları önemli ölçüde kısıtlamaktadır (He vd. 2014). Günümüzde özellikle SNP markerleri etkinliği yüksek ve en yaygın kullanılan marker tiplerinden biri olmuştur. Ayrıca genom boyunca fazlaca rastlanılır olması, geniş ölçekte varyasyon sağlaması bu marker tipini markerler arasında gözde haline getirmiştir (Rafalski 2002). Bunlarla birlikte, tek baz düzeyinde farklılık sebebiyle fenotipik özelliklerle ilişkili bölgelerin belirlenmesinde ‘mükemmel eşleşme’ sağlaması en büyük olanaklarından biridir (Scheben vd. 2017). SNP’lerin belirlenebilmesi için ise günümüzde Roche 454 (Thudi vd. 2012), Illumina Miseq ve Hiseq (Bentley vd. 2008) ve Ion Torrent gibi yeni nesil dizileme platformları yoğun olarak kullanılmaktadır. Çalışmalarda SNP markerleri genellikle KASP, INDEL ve CAPS markerlerine dönüştürülerek marker teknolojisinin etkin kullanımına yardımcı olmuştur (Burow vd. 2019; Chen vd. 2019; Cruet-Burgos vd. 2020).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada genetik materyal olarak Brix ve bitki öz su miktarı yüksek, bitki boyu uzun olan Erdurmuş (ana) şeker sorgum çeşidi ile Brix ve bitki öz su miktarı düşük, bitki boyu kısa olan (danelik) Öğretmenoğlu (baba) sorgum çeşidinin melezlenmesiyle oluşan F_1 bitkisinin kendilenmesi ile elde edilen F_2 (190 adet) ve F_2 bitkilerinin kendilenmesi ile oluşan F_3 (181 adet) popülasyonlarına ait bitkiler kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bunlara ek olarak 8 hat (47, 69, 91, 325, 424, 456, 507 ve 532) ve 1 adet şeker sorgum çeşidi (Uzun) genetik analizlere dahil edilmiş ve 47, 69, 424, 507 ve 532 hatları piramitleme melezlerinde ebeveyn olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1).



Şekil 3.1. Genetik materyalin elde ediliş şeması

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan genetik materyal

Sıra No	Genotip No/Çeşit-Hat Adı	Kullanım Amacı
1	1	Genetik analizler ve fenotipleme
2	3	Genetik analizler ve fenotipleme
3	5	Genetik analizler ve fenotipleme
4	10	Genetik analizler ve fenotipleme
5	13	Genetik analizler ve fenotipleme
6	14	Genetik analizler ve fenotipleme
7	15	Genetik analizler ve fenotipleme
8	16	Genetik analizler ve fenotipleme
9	17	Genetik analizler ve fenotipleme
10	18	Genetik analizler ve fenotipleme
11	20	Genetik analizler ve fenotipleme
12	21	Genetik analizler ve fenotipleme
13	31	Genetik analizler ve fenotipleme
14	32	Genetik analizler ve fenotipleme
15	33	Genetik analizler ve fenotipleme
16	34	Genetik analizler ve fenotipleme
17	35	Genetik analizler ve fenotipleme
18	37	Genetik analizler ve fenotipleme
19	39	Genetik analizler ve fenotipleme
20	40	Genetik analizler ve fenotipleme
21	42	Genetik analizler ve fenotipleme
22	44	Genetik analizler ve fenotipleme
23	45	Genetik analizler ve fenotipleme
24	48	Genetik analizler ve fenotipleme
25	49	Genetik analizler ve fenotipleme
26	50	Genetik analizler ve fenotipleme
27	55	Genetik analizler ve fenotipleme
28	56	Genetik analizler ve fenotipleme
29	57	Genetik analizler ve fenotipleme
30	59	Genetik analizler ve fenotipleme
31	61	Genetik analizler ve fenotipleme
32	63	Genetik analizler ve fenotipleme
33	65	Genetik analizler ve fenotipleme
34	67	Genetik analizler ve fenotipleme
35	68	Genetik analizler ve fenotipleme
36	71	Genetik analizler ve fenotipleme
37	72	Genetik analizler ve fenotipleme
38	74	Genetik analizler ve fenotipleme
39	77	Genetik analizler ve fenotipleme
40	78	Genetik analizler ve fenotipleme
41	79	Genetik analizler ve fenotipleme
42	83	Genetik analizler ve fenotipleme
43	85	Genetik analizler ve fenotipleme
44	87	Genetik analizler ve fenotipleme

Çizelge 3.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No/Çeşit-Hat Adı	Kullanım Amacı
45	88	Genetik analizler ve fenotipleme
46	89	Genetik analizler ve fenotipleme
47	92	Genetik analizler ve fenotipleme
48	94	Genetik analizler ve fenotipleme
49	96	Genetik analizler ve fenotipleme
50	97	Genetik analizler ve fenotipleme
51	100	Genetik analizler ve fenotipleme
52	109	Genetik analizler ve fenotipleme
53	115	Genetik analizler ve fenotipleme
54	119	Genetik analizler ve fenotipleme
55	120	Genetik analizler ve fenotipleme
56	121	Genetik analizler ve fenotipleme
57	125	Genetik analizler ve fenotipleme
58	126	Genetik analizler ve fenotipleme
59	127	Genetik analizler ve fenotipleme
60	130	Genetik analizler ve fenotipleme
61	132	Genetik analizler ve fenotipleme
62	133	Genetik analizler ve fenotipleme
63	134	Genetik analizler ve fenotipleme
64	136	Genetik analizler ve fenotipleme
65	137	Genetik analizler ve fenotipleme
66	138	Genetik analizler ve fenotipleme
67	140	Genetik analizler ve fenotipleme
68	141	Genetik analizler ve fenotipleme
69	143	Genetik analizler ve fenotipleme
70	145	Genetik analizler ve fenotipleme
71	147	Genetik analizler ve fenotipleme
72	149	Genetik analizler ve fenotipleme
73	150	Genetik analizler ve fenotipleme
74	156	Genetik analizler ve fenotipleme
75	158	Genetik analizler ve fenotipleme
76	162	Genetik analizler ve fenotipleme
77	163	Genetik analizler ve fenotipleme
78	164	Genetik analizler ve fenotipleme
79	169	Genetik analizler ve fenotipleme
80	171	Genetik analizler ve fenotipleme
81	172	Genetik analizler ve fenotipleme
82	174	Genetik analizler ve fenotipleme
83	175	Genetik analizler ve fenotipleme
84	176	Genetik analizler ve fenotipleme
85	177	Genetik analizler ve fenotipleme
86	179	Genetik analizler ve fenotipleme
87	181	Genetik analizler ve fenotipleme
88	184	Genetik analizler ve fenotipleme

Çizelge 3.1'in devamı

Sıra No	Genotip No/Çeşit-Hat Adı	Kullanım Amacı
89	185	Genetik analizler ve fenotipleme
90	190	Genetik analizler ve fenotipleme
91	197	Genetik analizler ve fenotipleme
92	200	Genetik analizler ve fenotipleme
93	202	Genetik analizler ve fenotipleme
94	203	Genetik analizler ve fenotipleme
95	205	Genetik analizler ve fenotipleme
96	206	Genetik analizler ve fenotipleme
97	210	Genetik analizler ve fenotipleme
98	213	Genetik analizler ve fenotipleme
99	214	Genetik analizler ve fenotipleme
100	217	Genetik analizler ve fenotipleme
101	219	Genetik analizler ve fenotipleme
102	221	Genetik analizler ve fenotipleme
103	222	Genetik analizler ve fenotipleme
104	223	Genetik analizler ve fenotipleme
105	225	Genetik analizler ve fenotipleme
106	228	Genetik analizler ve fenotipleme
107	229	Genetik analizler ve fenotipleme
108	235	Genetik analizler ve fenotipleme
109	238	Genetik analizler ve fenotipleme
110	239	Genetik analizler ve fenotipleme
111	245	Genetik analizler ve fenotipleme
112	246	Genetik analizler ve fenotipleme
113	251	Genetik analizler ve fenotipleme
114	257	Genetik analizler ve fenotipleme
115	258	Genetik analizler ve fenotipleme
116	259	Genetik analizler ve fenotipleme
117	260	Genetik analizler ve fenotipleme
118	262	Genetik analizler ve fenotipleme
119	264	Genetik analizler ve fenotipleme
120	265	Genetik analizler ve fenotipleme
121	267	Genetik analizler ve fenotipleme
122	268	Genetik analizler ve fenotipleme
123	269	Genetik analizler ve fenotipleme
124	271	Genetik analizler ve fenotipleme
125	275	Genetik analizler ve fenotipleme
126	276	Genetik analizler ve fenotipleme
127	279	Genetik analizler ve fenotipleme
128	281	Genetik analizler ve fenotipleme
129	282	Genetik analizler ve fenotipleme
130	286	Genetik analizler ve fenotipleme
131	287	Genetik analizler ve fenotipleme
132	288	Genetik analizler ve fenotipleme

Çizelge 3.1'in devamı

Sıra No	Genotip No/Çeşit-Hat Adı	Kullanım Amacı
133	289	Genetik analizler ve fenotipleme
134	290	Genetik analizler ve fenotipleme
135	293	Genetik analizler ve fenotipleme
136	295	Genetik analizler ve fenotipleme
137	296	Genetik analizler ve fenotipleme
138	297	Genetik analizler ve fenotipleme
139	301	Genetik analizler ve fenotipleme
140	302	Genetik analizler ve fenotipleme
141	303	Genetik analizler ve fenotipleme
142	305	Genetik analizler ve fenotipleme
143	309	Genetik analizler ve fenotipleme
144	310	Genetik analizler ve fenotipleme
145	318	Genetik analizler ve fenotipleme
146	321	Genetik analizler ve fenotipleme
147	329	Genetik analizler ve fenotipleme
148	333	Genetik analizler ve fenotipleme
149	334	Genetik analizler ve fenotipleme
150	335	Genetik analizler ve fenotipleme
151	337	Genetik analizler ve fenotipleme
152	338	Genetik analizler ve fenotipleme
153	341	Genetik analizler ve fenotipleme
154	345	Genetik analizler ve fenotipleme
155	348	Genetik analizler ve fenotipleme
156	351	Genetik analizler ve fenotipleme
157	352	Genetik analizler ve fenotipleme
158	354	Genetik analizler ve fenotipleme
159	363	Genetik analizler ve fenotipleme
160	365	Genetik analizler ve fenotipleme
161	366	Genetik analizler ve fenotipleme
162	367	Genetik analizler ve fenotipleme
163	370	Genetik analizler ve fenotipleme
164	371	Genetik analizler ve fenotipleme
165	372	Genetik analizler ve fenotipleme
166	375	Genetik analizler ve fenotipleme
167	385	Genetik analizler ve fenotipleme
168	386	Genetik analizler ve fenotipleme
169	387	Genetik analizler ve fenotipleme
170	388	Genetik analizler ve fenotipleme
171	393	Genetik analizler ve fenotipleme
172	396	Genetik analizler ve fenotipleme
173	397	Genetik analizler ve fenotipleme
174	398	Genetik analizler ve fenotipleme
175	399	Genetik analizler ve fenotipleme
176	401	Genetik analizler ve fenotipleme

Çizelge 3.1'in devamı

Sıra No	Genotip No/Çeşit-Hat Adı	Kullanım Amacı
177	403	Genetik analizler ve fenotipleme
178	404	Genetik analizler ve fenotipleme
179	420	Genetik analizler ve fenotipleme
180	424	Genetik analizler ve fenotipleme
181	426	Genetik analizler ve fenotipleme
182	Erdurmuş Öğretmenoğlu	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
183		Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
184	47	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
185	69	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
186	91	Genetik analizler
187	325	Genetik analizler
188	424	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
189	456	Genetik analizler
190	532	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
191	507	Genetik analizler, fenotipleme ve melezleme
192	Uzun	Genetik analizler

3.2. Metot

Tez çalışmasında kullanılan F_2 , F_3 popülasyonlarının elde edilmesi aşamasında yapılan melezlemeler Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin araştırma ve uygulama seralarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). $F_{1:2}$ bitkileri, denizden yüksekliği 43 m olan, $36^\circ 53'$ kuzey enlemi ve $30^\circ 39'$ doğu boylamında yer alan Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nün araştırma ve uygulama arazilerine ekilmiştir. $F_{2:3}$ bitkileri ise denizden yüksekliği yaklaşık 15 m olan, $36^\circ 52'$ kuzey enlemi ve $30^\circ 50'$ doğu boylamında yer alan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazilerine ebeveynleri ile birlikte (Erdurmuş ve Öğretmenoğlu) ekilmiştir (Şekil 3.3). $F_{3:4}$ bitkileri, Antalya BATEM deneme alanına (Şekil 3.4) ve denizden yüksekliği 1072 m olan, $37^\circ 48'$ kuzey enlemi ve $32^\circ 30'$ doğu boylamı arasında yer alan Konya, Toprak Su ve Çölleşme ile Mücadele Araştırma Enstitüsü deneme arazilerine olmak üzere iki lokasyona ekilmiştir (Şekil 3.5, Çizelge 3.2). DNA izolasyonu çalışmaları ise Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Bitki Islahı Laboratuvarında yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Genetik materyalin ekim yapıldığı lokasyon, ekim yeri ve generasyonu

Generasyon	Lokasyon	Ekim Yeri
Melezleme	Antalya	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin araştırma ve uygulama seraları
F _{1:2}	Antalya	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nün araştırma ve uygulama arazileri
F _{2:3}	Antalya	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazileri
F _{3:4}	Antalya	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazileri
	Konya	Toprak Su ve Çölleşme ile Mücadele Araştırma Enstitüsü deneme arazileri

**Şekil 3.2.** Melezleme çalışmalarının yapıldığı Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nin araştırma ve uygulama serası



Şekil 3.3. F₂ bitkilerinin ekildiği Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazisi



Şekil 3.4. F₃ bitkilerinin ekildiği Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazisi



Şekil 3.5. F₃ bitkilerinin ekimi sırasında Toprak Su ve Çölleşme ile Mücadele Araştırma Enstitüsü deneme arazisi

3.3. Melezleme ve F_{0:1} Generasyonu

Melezlemeye katılacak olan ebeveynler, sıra üzeri 15 ve sıra arası 70 cm olacak şekilde 2016 yılı ocak ayında seraya ekilmiştir. Toz verme/alma olgunluğuna ulaşan bitkilerde sabah saat 6 sularında melezleme işlemi aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

- Ana olarak kullanılacak çeşitler/hatlar toz alma olgunluğuna ulaştığı belirlendikten sonra püsküllerinin bir kısmı makas yardımıyla kesilmiş ve yeterli miktarda toz almaya hazır çiçek bırakılmıştır (Şekil 3.6).
- Daha önce alkol ile sterilizasyonu yapılan pens yardımıyla her bir püskülde bırakılan (ortalama 10 adet) çiçeğin emaskülasyonu, anterlerdeki polenlerin dağılmasına izin verilmeden gerçekleştirilmiştir. Böylece toz almaya hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.7).
- Uygun toz verme olgunluğuna ulaşan baba çeşidine/hattına ait bitkiler belirlendikten sonra, makas yardımıyla kesilen püsküllerdeki çiçekler, daha önce emasküle edilmiş ve toz almaya hazır olan (anaya ait) çiçeklerin üzerine getirilerek, yüzeyinde gezdirilip anterlerin içindeki polenlerin dağıldığına emin olana denk devam edilmiştir.
- Polen bulaştırma işlemi bittikten sonra, salkımlar hava alabilen kese kağıtları ile izole edilmiştir.
- İzole edilen bitkilerin üzerine melezlemeye katılan ebeveynlerden ilk olarak ana ve sonrasında baba adı yazılmış, araya 'x' işareti koyulmuş ve altına melezleme tarihi yazılmış olan etiketler zımbalanmıştır.

- Bu işlemler gerçekleştirilirken Erdurmuş çeşidinin uzun boylu olması sebebiyle emaskülasyon ve tozlama işlemi daha rahat yapılması adına, merdiven üzerinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Çiçeklerin toz almaya hazırlanması



Şekil 3.7. Emaskülasyon aşaması

Belirtilen tarihlerden yaklaşık 10 gün sonra tohum bağladığını gözlemleyebildiğimiz (Şekil 3.8) bitkiler, kontrol edilerek yeterli olgunluğa eriştiğinde ayrı ayrı hasat edilip uygun koşullarda saklanmıştır.



Şekil 3.8. Bitkilerin tohum bağlaması

F_{0:1} bitkilerine ait tohumlar viyollere ekilmiş, 2-4 yapraklı döneme ulaştığında daha önce sürülmüş ve ekime hazırlanmış olan Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nün araştırma ve uygulama arazilerine 15 sıra üzeri ve 70 cm sıra arası mesafeyle 2017 yılının haziran ayında ekilmiştir. Her bir bitki, püskül görülmeye başladıktan sonra kese kağıdı ile izole edilmiş ve yabancı tozlanma olasılığı ortadan kaldırılmıştır. Yine her bir bitkiye, üzerinde meleze katılan ebeveynlerin bulunduğu ve F₁/yıl yazılı etiketler asılmıştır. Olgunluğa ulaşan bitkilerin tohumları, üzerinde bulunan etiketleri ile izole bir şekilde ayrı ayrı hasat edilmiştir. Harmanlama işlemi yapıldıktan sonra F_{1:2} bitkilerine ait tohumlar uygun koşullarda saklanmıştır.

3.4. F_{1:2} ve F_{2:3} Bitkilerinin Eldesi

Ebeveynler ile birlikte F_{1:2} bitkisine ait tüm tohumlar sıra üzeri 15 ve sıra arası 70 cm mesafe ile 2018 yılının mayıs ayında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü deneme arazilerine ekilmiştir. Kendileme işlemleri çiçekler toz vermeye başlamadan önce, geçirgen olmayan kese kağıdı ile izole edilerek gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9). Tek bitki hasadı sırasında kolaylık sağlaması amacıyla her bir bitkiye sırasıyla numara ve yıl adı yazılı olan etiketler asılmıştır. F₂ bitkilerine ait

tohumlar yeterli olgunluğa ulaştığında, eylül ayının başında 377 adet bitki hasat edilmiştir. Harmanlama işlemi tamamlandıktan sonra F₃ generasyonunda kullanılmak üzere 190 adet bireyin tohumları kavanozlanarak uygun koşullarda saklanmıştır.



Şekil 3.9. Kese kağıdı ile izole edilen F₂ bitkileri

F_{2:3} bitkilerine ait tohumlar Antalya (Şekil 3.10) ve Konya (Şekil 3.11) lokasyonlarında tesadüf blokları deneme deseni ile üç tekerrürlü olarak, ebeveynleri sağda ve solda olmak üzere sıra üzeri 15 cm ve sıra arası 70 cm mesafe ile Mayıs ayı içerisinde ekilmiştir. Bitkiler toz verme aşamasına gelmeden geçirgen olmayan kese kağıtları ile izole edilmiş ve üzerinde genotip numarası yazılı olan etiketler bağlanmıştır. Her bir genotipe ait ikişer bitkide bulunan tohumlar ayrı ayrı hasat edilmiştir. Konya’da hasat Eylül’ün 30’unda yapılırken Antalya’da 23’ünde gerçekleştirilmiştir. Ayrı ayrı harmanlama işlemleri tamamlanan tohumlar, kavanozlara aktarılmış ve uygun koşullarda saklanmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.10. Antalya lokasyonu F₃ bitkileri



Şekil 3.11. Konya lokasyonu F₃ bitkileri



Şekil 3.12. Harman yapıldıktan sonra kavanozlanan tohumlar

3.5. Yapılan Gözlemler

Gözlemler; hasat tarihinden yaklaşık bir ay önce (tam çiçeklenme döneminden hemen sonra) haritalama popülasyonunun hem F_2 hem de lokasyonlu ve tekerrürlü olarak yetiştirilen F_3 bitkilerinde ve her bir meleze ait ebeveynler ile her iki lokasyonda da yapılmıştır. Bitki boyu, bitki öz su ve Brix gözlemleri aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. Bitki boyu

Bitki boyu toprak yüzeyi ile bitkinin en uç noktası arasındaki mesafe olarak ölçülmüştür. F_2 popülasyonuna ait bitkilerde her bir bitki için ölçümler ayrı ayrı yapılmıştır. F_3 popülasyonunda ise her bir genotip için genotipi temsil eden 3 adet bitkide tekerrürlü olarak yapılmıştır. Ölçüm mira ile gerçekleştirilmiştir (Antalya; Şekil 3.13-Konya; Şekil 3.14).



Şekil 3.13. Antalya loksasyonunda bitki boyu ölçümü



Şekil 3.14. Konya loksasyonunda bitki boyu ölçümü

3.5.2. Bitki öz suyu

Orak yardımıyla toprak yüzeyine en yakın yerden kesilmiş bitkilerin yaprakları soyularak ve püskülleri kesilerek ana sap elde edilmiştir (Antalya; Şekil 3.15-Konya; Şekil 3.16). Sap preslenerek öz suyu (şırası) çıkarılmıştır (Antalya; Şekil 3.17-Konya; Şekil 3.18). Öz su miktarı, dereceli ölçü silindiri ile ölçülerek belirlenmiştir. F₂ popülasyonuna ait bitkilerde her bir bitki için ölçümler ayrı ayrı yapılmıştır. F₃ popülasyonunda ise her bir genotip için genotipi temsil eden 5 adet bitkide tekerrürlü olarak ölçülmüştür. Brix ölçümleri gerçekleştirileceği için her bir genotipe ait 15 ml'lik tüpler içerisine öz su örnekleri alınmış ve uygun koşullarda saklanmıştır.



Şekil 3.15. Antalya lokasyonunda bitki öz suyu eldesi için yaprakları soyulan bitkiler



Şekil 3.16. Konya lokasyonunda bitki öz suyu eldesi için yaprakları soyulan bitkiler



Şekil 3.17. Antalya loksasyonunda bitki öz suyu çıkarma aşaması



Şekil 3.18. Konya loksayonunda bitki öz suyu çıkarma aşaması

3.5.3. Brix

Ölçümler, elde edilen bitki öz sularından el refraktometresi ile laboratuvar koşullarında yapılmıştır (Şekil 3.19). İlk olarak refraktometre saf su ile kalibre edilmiştir. Daha sonra, numunelerden 300 µl alınarak ölçüm yapılmış, hesaplanan değerler % olarak kaydedilmiştir. Her bir kullanım için refraktometre tekrar ultra saf-su ile temizlenmiştir.



Şekil 3.19. El refraktometresi ile Brix ölçümü

3.6. Gözlem Yapılan Verilerin Analizi

SAS 9.2 (2007) paket programları kullanılarak, F₂ bitkilerine ait verilerde temel istatistik analizi yapılarak standart sapma, maksimum, minimum ve ortalama değerleri belirlenmiştir. F₃ bitkilerine ait tüm veriler ise tesadüf blokları deneme desenine göre varyans analizine tabi tutulmuştur.

3.7. Yaprak Örneklerinin Alınması ve DNA İzolasyonu

F₂ popülasyonunda çıkışı gözlenen 377 adet bitkiden steril bir şekilde yaprak örneği alınmıştır. Bu süreçte;

- Her bir bitki için yenilenen steril eldivenler kullanılarak bitkiye ait en genç yapraklardan örnekler yeter miktarda alınmıştır (Şekil 3.20a). Bu örnekler daha önce hazırlanan ve üzerinde numaraların yazılı olduğu alüminyum folyolara sarılmış ve içerisinde sıvı azot bulunan tankın içerisine bırakılmıştır.
- Örnek alma işi bir günden fazla sürdüğü için, yaprak örnekleri -80 °C’ de izolasyon gerçekleştirilene kadar muhafaza edilmiştir.
- DNA izolasyonu, kitler (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific) yardımıyla belirlenen 190 adet F₂ bitkisine ait yaprak örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
- DNA izolasyonu sürecinde ilk aşama yaprakların mekanik olarak ezilmesidir. Bu işlem havan ve havaneli kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.20b). İçerisine yeteri miktarda sıvı azot eklenerek sorgum yapraklarının daha kolay ezilmesi sağlanmıştır (Şekil 3.20).
- DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra kaliteleri kontrol edilmiş, kalitesi ve miktarı yeterli görülmeyenlerden tekrar DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş, %1’lik agaroz jele yüklenmiş (Şekil 3.21) ve sekans analizleri gerçekleştirilene kadar uygun koşullarda saklanmıştır.

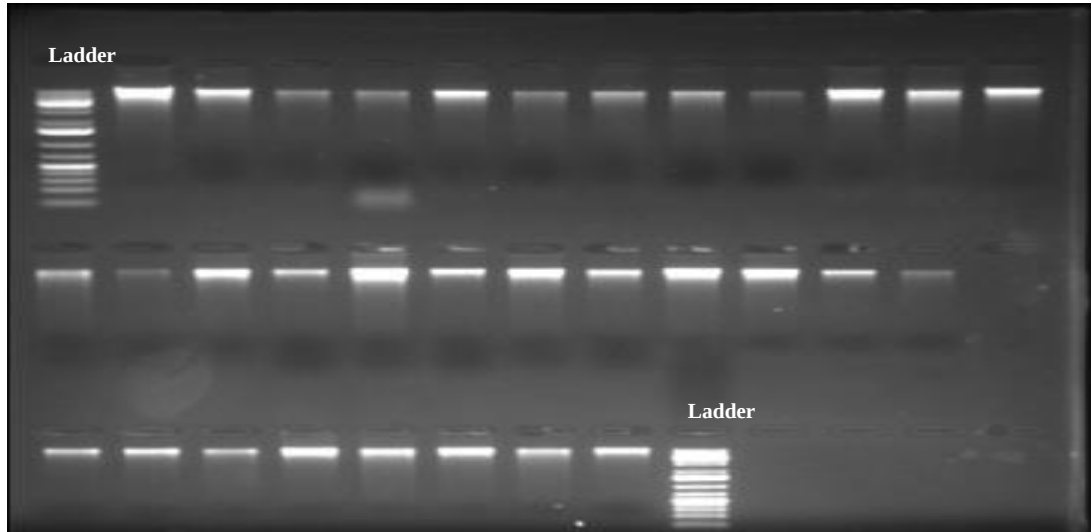


a



b

Şekil 3.20. F₂ bireylerinden DNA izolasyonu için yaprak alımı (a) ve DNA izolasyonunda, fiziksel ezme aşamasında kullanılan havan ve havaneli (b)



Şekil 3.21. İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'lara ait agaroz jel görüntüsü

3.8. NGS ile Dizilemeler

Genomik kütüphanenin oluşturulmasında ddRAD-seq (Peterson vd. 2012) yöntemi kullanılmıştır. Her bir bireye ait DNA *VspI* ve *MspI* enzimleri ile kesilmiştir. Ampure XP (Beckman Coulter Genomics) kesilmiş ürünleri temizlemek için kullanılmış, ardından T4 ligaz tamponu ile P1 ve P2 adaptör ligasyonu yapılmıştır. *EcoRI* yerine altı baz kesim özelliğine sahip *VspI* enzimi kullanıldığı için P1 adaptörünün 3' ucu değiştirilmiştir. Ligasyon sonrasında, genotipe özgü primer ile PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri agaroz jel üzerinde kontrol edilmiş ve konsantrasyonları eşitlenip bir arada toplanmıştır. Son aşama olarak, bir araya toplanmış ürünlerde boyut seçimi (400-500 bp) gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarımızda Illumina platformu olmadığından NGS analizleri hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir. 190 F₂ bireyine ait DNA'lar Illumina HiSeq Platformunda 150 bp çift yönlü okunmak üzere Macrogen (Seul, Kore)'e gönderilmiştir.

3.9. SNP'lerin Belirlenmesi ve Biyoinformatik Analizler

Biyoinformatik analizlerde web tabanlı bir platform olan Galaxy kullanılmıştır. İlk olarak ham okumalar Je suite (v1.2.1) (Girardot vd. 2016) programı kullanılarak demultiplex edilmiş ve her genotipin FASTQ dosyası ortaya çıkarılmıştır. Ardından fastp (v0.20.1) (Chen vd. 2018) programı kullanılarak her bir genotipe ait okumalarda filtreleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Veriler Bowtie2 (v2.3.4.3) (Langmead ve Salzberg 2012) yazılımı kullanılarak sorgum referans genomu (McCormick vd. 2018) "GCA_000003195.3_Sorghum_bicolor_NCBIv3_genomic" ile eşleştirilmiştir. Elde edilen SAM dosyaları ikili dizi hizalama dosyası formatına (BAM) dönüştürülmüş ve bu dosyalar freebayes (v1.3.1) (Garrison 2012) programı kullanılarak varyantlar belirlenmiştir. Düşük kaliteli okumalarda yer alan SNP'leri engellemek adına coverage değeri ise 20 olarak seçilmiştir. Varyantları içeren tüm .vcf dosyaları daha sonra VCFcombine programı ile birleştirilerek tüm varyantlar tek dosyada toplanmıştır. VCFfilter programı ile filtreleme yapılarak (In-Del bölgeleri çıkarılarak) sadece SNP'lerin yer aldığı dosya elde edilmiştir. vcf dosyası BedTools (Quinlan vd. 2010) programı kullanılarak BED dosyasına dönüştürülmüş ve her bir genotipe ait varyant dosyaları BED dosyası temelinde tekrar freebayes programında 15X, 10X ve 6X coverage ile taranmıştır. BCFTools programına ait Merge (v1.10) seçeneği ile tüm dosyalar birleştirilmiştir. Veriler TASSEL (V5.2.52) (Glaubitz vd. 2014) programında açılmış ve filtreleme opsiyonu kullanılarak heterozigotluk açılımı 0,2 ile 0,8 arasında olan lokusların seçimi yapılmıştır. Sonrasında TASSEL programında meleze giren anne-baba okumaları dikkate alınarak SNP verileri a, b, h sistemine çevrilmiştir (Şekil 3.22).

id	SCM00076.1	SCM00076.2	SCM00076.3	SCM00076.4	SCM00076.5	SCM00076.6	SCM00076.7	SCM00076.8	SCM00076.9	SCM00076.10	SCM00076.11	SCM00076.12	SCM00076.13	SCM00076.14	SCM00076.15	SCM00076.16	SCM00076.17	SCM00076.18
1	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
2	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
3	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
4	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
7	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
8	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
9	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
10	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
11	b	-	h	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
12	a	a	a	a	a	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
13	b	h	h	h	h	h	-	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
14	h	h	h	h	h	h	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
15	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
16	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
17	a	a	a	a	a	a	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
18	b	h	h	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
19	a	a	a	a	a	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
20	h	h	h	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
22	a	-	h	a	a	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
23	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
24	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
25	h	-	h	a	h	h	a	h	h	h	h	h	h	h	a	h	h	h
26	h	-	a	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
27	b	a	h	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
28	b	b	b	b	b	b	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
29	b	b	b	b	b	b	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
30	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
31	h	h	h	h	a	h	h	h	h	h	h	h	h	b	h	b	b	b
32	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
33	b	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
34	b	b	h	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	h	b	b	b
35	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
36	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	h	b	h	h
37	h	-	h	a	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	-	a	h	h
38	a	-	a	a	a	a	-	a	a	a	a	-	h	a	a	-	a	h
39	a	a	a	a	a	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
40	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	h	a	a	a
41	b	h	h	a	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
43	h	-	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
44	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	h	h	h
45	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
46	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
48	h	-	h	h	h	h	-	h	h	h	h	h	h	h	b	-	-	b
49	a	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	h	a	a	h
50	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-
51	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
53	a	-	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	h	-	a	a
55	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
57	-	-	a	a	a	h	-	h	-	-	a	-	-	-	-	-	a	a
58	h	h	a	h	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	a	-	-	-
59	h	h	h	a	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h
60	b	b	b	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	b	h	b	b	b
61	b	h	h	h	h	h	h	h	h	h	a	h	h	h	h	h	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b	b	-	h	-	-	-	b
63	-	h	h	-	-	h	-	-	h	h	h	-	h	-	h	-	-	b

Şekil 3.22. Tassel programında her lokustaki SNP açılımının a, b, h sistemine çevrilmesi

3.10. Bağlantı (Linkage) Haritasının Oluşturulması ve QTL Haritalama

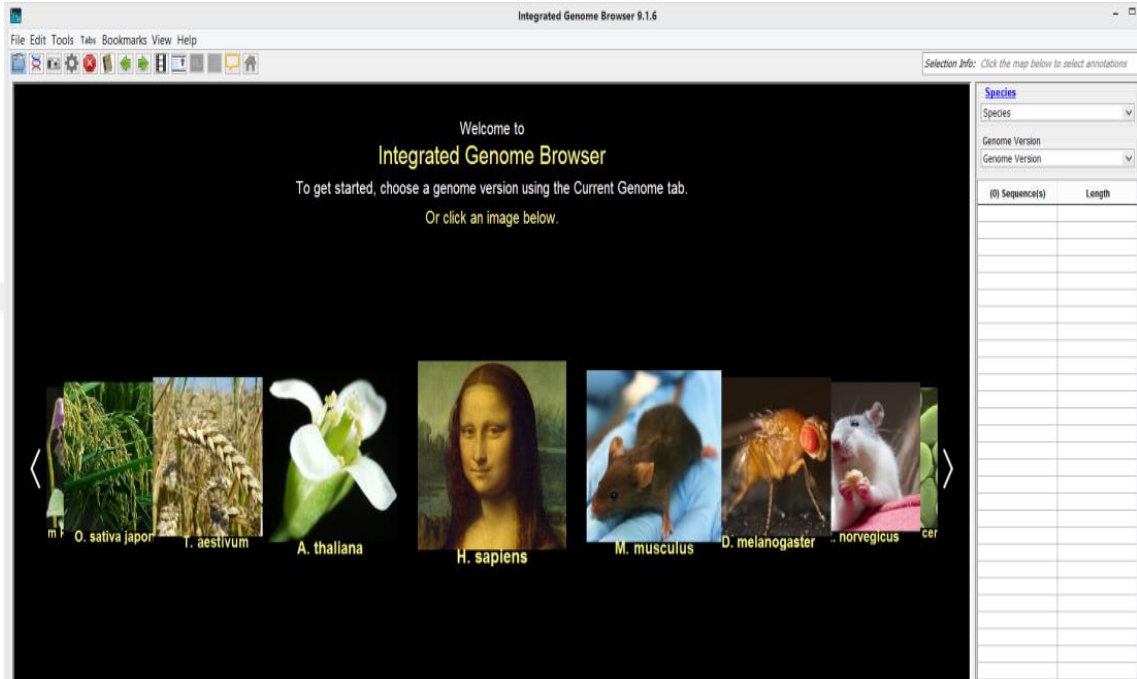
Eksik veri (> %20) ve açılıma uymayan (χ^2 -test, $P < 0,001$) markerler çıkarılmış ve geriye kalan markerler ile JoinMap (4.1) programı kullanılarak genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Gruplama işlemi için bağımsız LOD skorlaması seçeneği tercih edilmiştir. Lokusları sıralamada minimum LOD skoru ise 4 olarak belirlenmiştir. Haritalama algoritması olarak Maximum Likelihood modeli seçilmiştir. Joinmap programının Locus Genotype Frequence opsiyonu ile 1:2:1 açılımına uygun olmayan SNP'ler belirlenmiş ve analiz dışı bırakılmıştır. Haritalama sonrasında 10 bağlantı grubu elde edilmiştir. Her iki lokasyondan elde edilen fenotipleme verileri kullanılarak MapQTL (Van Ooijen 2009) programında ilgili karakterlere dair QTL'ler belirlenmiştir. Analizlerde Interval Mapping opsiyonu kullanılmıştır. Brix (LOD; 3) dışında her bir özellik için LOD değeri 4 ve üzeri olan QTL'ler belirlenmiş ve MapChart 2.0 programı kullanılarak haritalandırılmıştır.

3.11. Olası Gen/Protein Fonksiyonlarının Tanımlanması

Referans genom ile (McCormick vd. 2018, GCA_000003195.3_Sorghum_bicolor_NCBIv3_genomic) 8 hat ve 3 çeşite ait sekans verileri IGB programına yüklenmiştir. İlgili özellikteki belirlenen her bir SNP ve yakınında bulunan sekans dizilimleri tanımlanmıştır. Potansiyel gen olabilecek bölgelere ait sekans verileri, sorgum genomuna ait parametrelere dayanarak F GENESH2 (Solovyev vd. 2006) programına yüklenerek analiz edilmiştir. Potansiyel gen ya da protein olabilme ihtimali olan bölgeler NCBI'de blastp algoritması kullanılarak bilinen gen ya da proteinler ile karşılaştırılmıştır.

3.12. PCR Temelli SNP Markerlerinin Geliştirilmesi

Ana, baba ve bunların dışında sekans verileri olan 8 hatta ve 1 çeşite ait BAM dosyaları ile sorgum referans genomu IGB (Integrated Genome Browser) programına yüklenmiştir (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. IGB programı

Daha önce belirlenmiş olan QTL bölgelerine ait pozisyonlar her bir karakter için ayrı ayrı girilmiş ve SNP bölgesinin sağından ve solundan 200-400 bp'lık bölgeler belirlenmiştir. Bu dizilimler kullanılarak Primer3Plus (Untergasser vd. 2007) programında markerler geliştirilmiştir (Şekil 3.24).

Şekil 3.24. Primer3Plus programı

Primer3Plus programı kullanılarak bitki boyu için 2, Brix için 3 ve bitki öz suyu için 2 CAPS markerleri geliştirilmiş ve analizlerde kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Geliştirilen markerlerin kromozom numarası, konumu ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı

Marker Adı	Kromozom Numarası	Konumu	İlgili Karakter	Fenotipik Varyasyonu Açıklama Oranı (%)
B1	7	SCM000766.3_59610262	Bitki Boyu	34,6
B7	7	SCM000766.3_61486085	Bitki Boyu	30,0
X3	7	SCM000766.3_59610262	Brix	8,3
X6	3	SCM000762.3_55344886	Brix	8,5
X7	3	SCM000766.3_59803007	Brix	8,6
Ö13	6	SCM000765.3_45662181	Öz Su	18,2
Ö15	6	SCM000765.3_45972073	Öz Su	17,7

Bitki boyu karakteri ile ilişkili olan B1 ve B7 CAPS markerleri 7. kromozom üzerinde sırasıyla SCM000766.3_59610262 ve SCM000766.3_61486085 konumlarında yer alan SNP QTL bölgelerinden geliştirilmişlerdir. Yapılan analizlerde B1 ve B7 markerlerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı sırasıyla, %34,6 ve %30,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.3).

Brix karakteri ile ilişkili olan CAPS markerler X3, X6 ve X7'dir. Bu markerlerden X3 markeri ise 7. kromozom üzerinde yer alan SCM000766.3_59610262 konumunda bulunan SNP QTL bölgesinden geliştirilmiştir.

X6 ve X7 CAPS markerleri 3. kromozom üzerinde bulunan sırasıyla SCM000762.3_55344886 ve SCM000766.3_59803007 konumlarında yer alan SNP QTL bölgelerinden geliştirilmişlerdir. X3 markeri %8,3, X6 markeri %8,5 ve X7 markeri %8,6 oranında fenotipik varyasyonu açıklamaktadır (Çizelge 3.3).

Bitki öz suyu karakteri ile ilişkili olan CAPS markerleri Ö13 ve Ö15 olup her ikisi de 6. kromozom üzerinde yer almaktadır. Bu markerler sırasıyla SCM000765.3_45662181 ve SCM000765.3_45972073 konumunda yer alan SNP QTL bölgelerinden geliştirilmişlerdir. Ö13 markeri %18,2 ve Ö15 markeri %17,7 fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahiptir (Çizelge 3.3). Her bir markerin ürün uzunluğu farklı olup 199 ile 449 bp arasında değişmiştir. İlgili karaktere ait forward ve reverse primerlere ait sekans dizilimleri çizelge 3.4'te yer almaktadır.

Çizelge 3.4. Geliştirilen markerlere ait forward ve reverse dizilimleri ve üretilen ürün miktarı

Marker Adı	Forward Marker	Reverse Marker	Üretilen Ürün (bp)
B1	TTTTGGGAGATCCTCCACTG	CGTGTGATTCAGCGTGGTAT	418
B7	TGCATAGATCTAGTCATAAGAACTCA	ATTAATGCACGGCCCATCT	449
X3	TGGAGCAAAGACACATGGTAA	AAAGAATGCTGGAGTAAATGTGG	301
X6	TGACTCTGCCAAATCAGCAA	GCCCGTTGAATGGTCTAAACT	287
X7	GCAGGACAATGAAGCCCTTA	GGCTCGGATGCTCTAACAAG	199
Ö13	TGATTCGTTTCCGAGTGTTG	TCACAAGTCAGGTGCTAAACC	224
Ö15	TCATACGTGGTAAGATCATATGAGAA	GAGGAATTAATTGGTGATGAAACA	431

Üretilen PCR ürünüde SNP bölgesinin bulunup bulunmadığının belirlenmesi için NEB cutter V2. enzim programı kullanılarak uygun enzimler belirlenmiştir (Şekil 3.25 ve Çizelge 3.5). Yine aynı program kullanılarak SNP olduğunda/olmadığında her bir markerde kullanılan enzimlerin ilgili bölgeyi nereden keseceğine ve sonrasında oluşan bant uzunlukları dair görüntüler elde edilmiştir.



NEBcutter V2.0

Try the updated [NEBcutter V3.0](#)



This tool will take a DNA sequence and find the large, non-overlapping open reading frames using the E.coli genetic code and the sites for all Type II and commercially available Type III restriction enzymes that cut the sequence just once. By default, only enzymes available from NEB are used, but other sets may be chosen. Just enter your sequence and "submit". Further options will appear with the output. **The maximum size of the input file is 1 MByte, and the maximum sequence length is 300 KBases.**

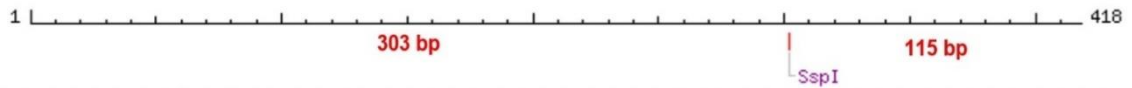
[What's new in V2.0](#) [Citing NEBcutter](#)

Şekil 3.25. NEB cutter V2. enzim programı

Çizelge 3.5. PCR ürünlerinin kesiminde kullanılan enzimler ve kesim bölgeleri

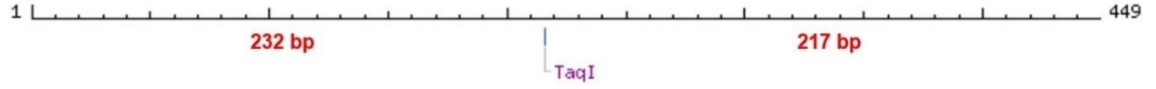
Marker Adı	Restrüksiyon Enzim Adı	Enzimin Kesim Bölgesi
B1	<i>SspI</i>	AAT↓ATT
B7	<i>TagI</i>	T↓CGA
X3	<i>SspI</i>	AAT↓ATT
X6	<i>AflIII</i>	C↓TTAA↓G
X7	<i>TaqI</i>	T↓CGA
Ö13	<i>SexAI</i>	A↓CCWGG↓T
Ö15	<i>Hpy188I</i>	TC↓N↓GA

B1 markeri için geliştirilen bölgede bulunan SNP'i kesmesi için en uygun enzim *SspI* olarak belirlenmiştir. PCR ürünü 418 bp'dir. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi AAT↓ATT şeklindedir. *SspI* enzimi SNP olduğu takdirde bölgeyi keserek agaroz jelde 303 ve 115 bazlık iki farklı boyda bant oluşturmaktadır (Şekil 3.26).



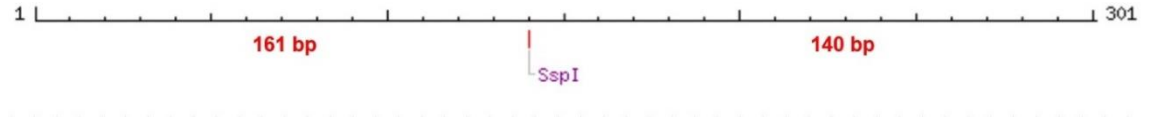
Şekil 3.26. B1 markeri analizinde kullanılan *SspI* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

B7 markeri için belirtilen bölgedeki SNP'in tanımlanması için en uygun enzim *TaqI* olarak belirlenmiştir. Oluşan PCR ürünü 449 bp'dır. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi T[↓]CGA şeklindedir. *TaqI* enzimi ilgili bölgede SNP olmadığı takdirde kesim işlemini gerçekleştirerek 232 ve 217 bp uzunluğunda iki bant oluşturmaktadır. (Şekil 3.27).



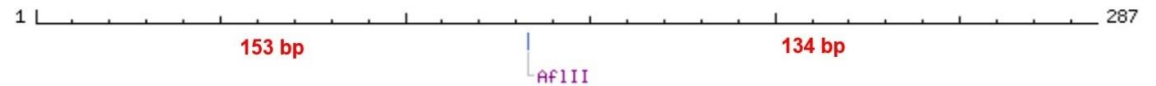
Şekil 3.27. B7 markeri analizinde kullanılan *TaqI* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

X3 markeri için en uygun enzim *SspI* olarak belirlenmiştir. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi AAT[↓]ATT şeklindedir. PCR ürünü 301 bp uzunluğunda olup enzim SNP olduğu takdirde ürünü kesmekte ve 161 ile 140 bp uzunluğunda iki bant elde edilmektedir (Şekil 3.28).



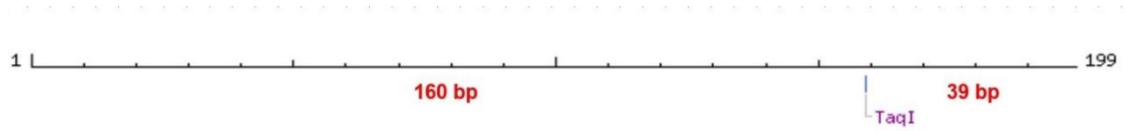
Şekil 3.28. X3 markeri analizinde kullanılan *SspI* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

X6 markerinin geliştirildiği bölgede bulunan SNP'in tanımlanması için en uygun enzim *AflIII* olarak belirlenmiştir. Oluşan PCR ürünü 287 bp olup, enzimin kesim bölgesindeki sekans dizilimi C[↓]TTAA.G şeklindedir. *AflIII* enzimi ilgili bölgede SNP var ise kesim işlemini gerçekleştirmekte ve 153 ile 134 bp uzunluğunda iki bant oluşturmaktadır (Şekil 3.29).



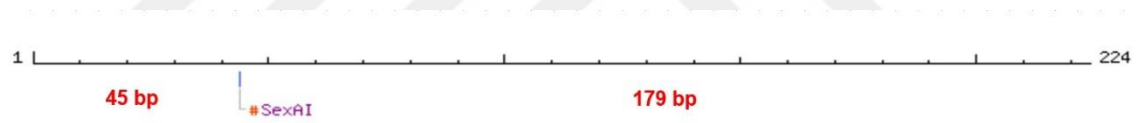
Şekil 3.29. X6 markeri analizinde kullanılan *AflIII* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

X7 markerinde kullanılan ve ilgili bölgedeki SNP'in belirlenmesi için en uygun enzim yine *TaqI* olmuştur. Oluşan PCR ürünü 199 bp'dır. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi T[↓]CGA şeklindedir. *TaqI* enzimi ilgili bölgede SNP olduğu takdirde kesim işlemini gerçekleştirmekte ve 160 ile 39 bp uzunluğunda iki bant elde edilmektedir (Şekil 3.30).



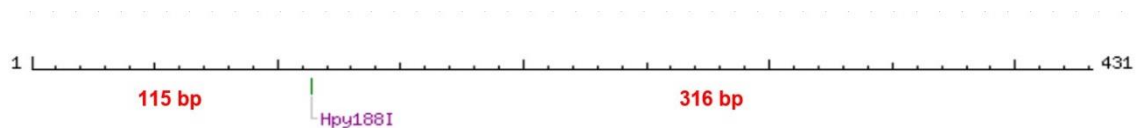
Şekil 3.30. X7 markeri analizinde kullanılan *TaqI* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

Ö13 markerinin ilgili bölgesindeki SNP'in belirlenmesi için en uygun enzim *SexAI* olarak tanımlanmıştır. PCR ürünü 224 bp'dır. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi A[↓]CCWGGT şeklindedir. *SexAI* enzimi ilgili bölgede SNP olmadığı takdirde kesim işlemini gerçekleştirmekte ve 179 ile 45 bp uzunluğunda iki bant elde edilmektedir (Şekil 3.31).

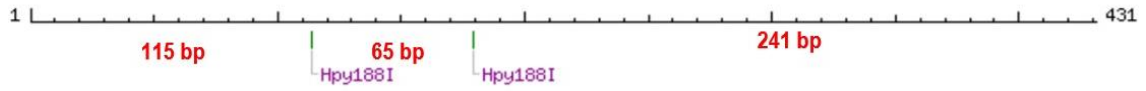


Şekil 3.31. Ö13 markeri analizinde kullanılan *SexAI* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)

Ö15 markeri ile üretilen PCR ürünüde SNP'in belirlenmesi için en uygun enzim *Hpy188I* olarak belirlenmiştir. Enzimin kesim bölgesine ait sekans dizilimi TCAN[↓]GA'dır. PCR ürünü 431 bp olup diğerlerinden farklı olarak *Hpy188I* enzimi SNP varken tek bölgeden (115 ve 316 bp) (Şekil 3.32) SNP yokken iki bölgeden (241, 115 ve 65 bp) (Şekil 3.33) kesim yapmaktadır.



Şekil 3.32. Ö15 markeri analizinde kullanılan *Hpy188I* enziminin kesimden sonra oluşturduğu bant uzunlukları (bp)



Şekil 3.33. Ö15 markeri analizinde kullanılan *Hpy188I* enziminin kesimden sonra oluşturduğu SNP'siz bölgeye ait bant uzunlukları (bp)

3.13. Geliştirilen CAPS Markerlerinin Optimizasyonu ve Analizi

Her bir karakter için geliştirilen CAPS markerleri kullanılarak farklı oranlarda PCR karışımında kullanılan kimyasallar, denemeler yapılarak çizelge 3.6'da yer alan oranların optimum koşullar olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.6. CAPS markerlerinin analizlerinde kullanılan PCR kimyasalları ve oranları

PCR Kimyasalları	Miktar (µl)	Yoğunluk
MgCl ₂	1.5	2.5 mM
dNTP	1.25	0.05 mM
10xPCR Buffer	1.5	1/10
Primer Forward	1	10 ng
Primer Reverse	1	10 ng
Taq Polymerase	0.2	1 Ünite
ddH ₂ O	7.05	-
DNA	1.5	20 ng
Toplam	15	

PCR mix'in içerisine her bir genotip için 1,5 µl 2,5 mM MgCl₂, 1,25 µl 0.05 mM dNTP, 1,5 µl 1/10 oranında yoğunluğu bulunan 10xPCR Buffer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA), 1'er µl 10 ng forward ve reverse primerler, 0,2 µl 1 ünite Taq Polymerase enzimi (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA), 7,05 µl ddH₂O ve 1,5 µl 20 ng DNA eklenmiştir. Her bir genotip için toplam hacim 15 µl olacak şekilde hazırlanan mix, 1 dakika 9000 devirde santrüfjü yapılmıştır. Gradyant PCR kullanılarak, 55 °C bağlanma sıcaklığının geliştirilen bütün CAPS markerleri için optimum sıcaklık olduğu belirlenmiş ve ürünler, aşağıda belirtilen koşullarda programlanan PCR cihazına koyulmuştur (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. CAPS markerlerinin analizlerinde kullanılan PCR koşulları

1. Sıcaklık	94 °C	05,00 dakika	} 30 döngü
2. Sıcaklık	94 °C	00,45 dakika	
3. Sıcaklık	55 °C	00,45 dakika	
4. Sıcaklık	72 °C	01,00 dakika	
5. Sıcaklık	72 °C	10,00 dakika	

Her bir marker için PCR analizleri ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri elde edildikten sonra 10 µl ürünün içerisine 18 µl ddH₂O, 2 µl buffer ve 1 µl kesim enzimi her bir genotip için ayrı ayrı eklenmiştir (Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9). Her bir marker için kullanılan enzimler, tampon çözeltiler, inkübasyon sıcaklıkları ve süreleri çizelge 3.9’da verilmiştir. B1 ve X3 markerleri için *SspI* enzimi ve Tango Buffer kullanılarak kesim işleminin gerçekleşmesi için 37 °C’de 180 dakika inkübasyonda bekletilmiştir. B7 ve X7 markerleri için *TaqI* enzimi ve Buffer *Taq I* kullanılmış ve kesim işlemi için 65 °C’de 180 dakika inkübasyonda bekletilmiştir. X6 markeri için *AflIII* enzimi ile Tango Buffer kullanılmış ve 37 °C’de 180 dakika inkübasyonda bekletilmiştir. Ö13 markeri için *SexAI* enzimi ve Fast Digest Buffer kullanılarak kesim işleminin gerçekleşmesi için 37 °C’de 180 dakika inkübasyonda bekletilmiştir. Ö15 markeri için *Hpy188I* enzimi ve cut smart buffer kullanılmış ve kesim işlemi için 65 °C’de 180 dakika inkübasyonda bekletilmiştir.

Çizelge 3.8. Kesim işleminde kullanılan kimyasallar

Kimyasallar	Miktar (µl)	Yoğunluk
ddH ₂ O	18	-
Enzim	1	1 Ünite
Buffer	2	1/10
PCR ürünü	10	-

Çizelge 3.9. Restriksiyon enzimlerinde kullanılan tampon çözelti, kesim sıcaklıkları ve inkübasyon süresi

Marker Adı	Restriksiyon Enzim Adı	Tampon Çözelti	Kesim Sıcaklığı °C	İnkübasyon Süresi (Dakika)
B1	<i>SspI</i>	Tango Buffer	37	180
B7	<i>TaqI</i>	Buffer <i>Taq I</i>	65	180
X3	<i>SspI</i>	Tango Buffer	37	180
X6	<i>AflIII</i>	Tango Buffer	37	180
X7	<i>TaqI</i>	Buffer <i>Taq I</i>	65	180
Ö13	<i>SexAI</i>	Fast Digest Buffer	37	180
Ö15	<i>Hpy188I</i>	Cut Smart	65	180

3.14. Erdurmuş Çeşidinde Bulunmayan SNP QTL’lerin Belirlenmesi

Ana, baba ve bunların dışında sekans verileri olan 8 hatta ve 1 çeşite ait BAM dosyaları ile sorgum referans genom IGB (Integrated Genome Browser) programına tekrar yüklenmiş ve daha önce her bir özellik için belirlenen SNP bölgelerinin pozisyonları programa girilmiştir. Her bir pozisyon için 8 hat ve 3 çeşitte olan/olmayan SNP’ler belirlenmiştir.

3.15. Melezlerin İlgili Karakterler Açısından Değerlendirilmesi

Farklı generasyonda olan melezler, 2021 yılının mayıs ayında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü’nün araştırma ve uygulama arazisine sıra üzeri 15 ve sıra arası 70 cm mesafe ile ekilmiştir. Her bir meleze ait farklı sayılarda bitkiler seçilmiş; bitki boyu, Brix ve bitki öz suyu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Eylül ayı içerisinde tek bitki hasadı yapılan bitkilere ait tohumlar harmanlandıktan sonra uygun koşullarda saklanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. F₂ Popülasyonunda Yapılan Gözlemler

Erdurmuş ve Öğretmenoğlu çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilen F_{1:2} bitkisinde bulunan bütün tohumlar ile ebeveynleri ekilmiş ve gözlemler yapılmadan her bir bitki etiketlenmiştir. Ebeveynler hariç 429 adet F₂ bitkisi etiketlenmiş ve gözlem alınabilecek olgunluğa 377 adet bitki erişmiştir. Bu bitkilerde bitki boyu (Şekil 4.1), bitki öz suyu (Şekil 4.2) ve Brix (Şekil 4.3) ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca, meleze katılan ebeveynlerden 10 adet baba (Öğretmenoğlu) ve 8 adet anaya (Erdurmuş) ait bitkide aynı ölçümler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1. F₂ popülasyonunda bitki boyu ölçümleri



Şekil 4.2. F₂ popülasyonunda bitki öz suyu ölçümleri için bitki saplarının sıkımı



Şekil 4.3. F₂ popülasyonunda Brix ölçümleri

Çizelge 4.1. F₂ popülasyonuna ait bitkilerde yapılan gözlemler

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
1	1	119,00	11,50	150,00
2	2	217,00	12,50	120,00
3	3	151,00	12,00	160,00
4	4	186,00	10,30	110,00
5	5	183,00	13,20	50,00
6	7	212,00	13,30	310,00
7	8	170,00	13,10	350,00
8	9	170,00	11,80	90,00
9	10	145,00	2,10	10,00
10	11	180,00	11,40	170,00
11	12	155,00	14,00	340,00
12	13	168,00	8,10	50,00
13	14	135,00	12,80	260,00
14	15	215,00	14,30	480,00
15	16	200,00	16,00	420,00
16	17	106,00	6,40	80,00
17	18	95,00	9,90	80,00
18	19	213,00	13,60	300,00
19	20	210,00	12,90	290,00
20	21	200,00	13,30	510,00
21	22	185,00	12,50	170,00
22	23	239,00	13,00	200,00
23	24	252,00	15,10	370,00
24	25	230,00	12,70	240,00
25	26	230,00	14,60	260,00
26	28	245,00	13,40	310,00
27	29	240,00	13,40	200,00
28	30	210,00	12,90	180,00
29	31	224,00	14,40	350,00
30	32	205,00	10,10	60,00
31	33	265,00	15,10	600,00
32	34	140,00	9,40	140,00
33	35	200,00	15,00	460,00
34	36	200,00	13,90	160,00
35	37	260,00	15,00	340,00
36	38	187,00	14,30	510,00
37	39	240,00	14,50	400,00
38	40	186,00	8,50	70,00
39	41	112,00	7,30	50,00
40	42	146,00	5,80	30,00
41	43	219,00	10,80	220,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
42	44	140,00	5,10	30,00
43	45	210,00	14,50	340,00
44	46	227,00	10,50	180,00
45	47	207,00	15,00	190,00
46	48	225,00	10,70	80,00
47	49	158,00	8,50	130,00
48	50	124,00	7,10	20,00
49	51	238,00	13,80	180,00
50	53	214,00	12,80	160,00
51	55	242,00	15,70	400,00
52	56	122,00	13,30	220,00
53	57	220,00	15,30	280,00
54	58	206,00	14,80	270,00
55	59	160,00	14,00	310,00
56	61	145,00	8,70	80,00
57	62	224,00	11,50	160,00
58	63	190,00	11,80	160,00
59	64	197,00	11,90	180,00
60	65	130,00	13,20	270,00
61	67	144,00	12,10	140,00
62	68	226,00	14,30	310,00
63	69	194,00	13,60	140,00
64	70	155,00	14,20	220,00
65	71	150,00	6,10	70,00
66	72	150,00	9,00	70,00
67	73	215,00	11,80	130,00
68	74	170,00	10,10	60,00
69	75	193,00	13,90	140,00
70	77	190,00	6,80	60,00
71	78	180,00	7,60	80,00
72	79	158,00	10,20	160,00
73	82	185,00	11,70	110,00
74	83	186,00	11,70	100,00
75	84	200,00	10,20	120,00
76	85	150,00	9,50	170,00
77	86	206,00	14,60	320,00
78	87	164,00	8,50	140,00
79	88	223,00	15,30	400,00
80	89	130,00	8,70	50,00
81	90	165,00	9,80	120,00
82	91	265,00	15,10	290,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
83	92	245,00	14,80	180,00
84	93	157,00	10,80	230,00
85	94	102,00	8,10	90,00
86	95	174,00	12,10	130,00
87	96	166,00	7,70	80,00
88	97	197,00	8,30	70,00
89	98	155,00	6,70	40,00
90	99	220,00	9,80	120,00
91	100	228,00	10,50	40,00
92	101	224,00	8,70	100,00
93	102	160,00	9,10	160,00
94	104	210,00	11,60	60,00
95	105	190,00	12,30	160,00
96	106	222,00	14,40	140,00
97	107	223,00	13,90	240,00
98	108	160,00	13,70	200,00
99	109	240,00	15,10	440,00
100	110	160,00	8,80	70,00
101	111	172,00	10,90	140,00
102	112	230,00	13,40	140,00
103	113	245,00	13,80	230,00
104	115	221,00	12,40	260,00
105	116	194,00	11,70	160,00
106	117	165,00	9,20	100,00
107	118	192,00	12,90	120,00
108	119	242,00	13,80	410,00
109	120	135,00	11,50	160,00
110	121	120,00	8,90	90,00
111	122	195,00	12,90	260,00
112	125	205,00	13,80	360,00
113	126	245,00	14,10	270,00
114	127	163,00	9,90	100,00
115	128	200,00	12,00	150,00
116	129	229,00	14,20	160,00
117	130	226,00	15,20	350,00
118	132	210,00	15,70	300,00
119	133	265,00	16,30	560,00
120	134	246,00	13,70	400,00
121	135	208,00	12,10	140,00
122	136	150,00	5,30	20,00
123	137	250,00	16,70	260,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
124	138	195,00	11,20	60,00
125	139	240,00	13,70	160,00
126	140	143,00	11,90	90,00
127	141	162,00	8,50	80,00
128	142	224,00	14,00	150,00
129	143	160,00	7,00	80,00
130	144	230,00	12,80	250,00
131	145	210,00	14,80	600,00
132	146	210,00	13,70	220,00
133	147	213,00	13,30	360,00
134	149	210,00	13,40	360,00
135	150	210,00	13,20	350,00
136	151	190,00	14,50	150,00
137	154	148,00	9,70	110,00
138	155	200,00	9,10	140,00
139	156	250,00	15,20	470,00
140	157	240,00	12,30	200,00
141	158	230,00	13,90	830,00
142	160	189,00	9,10	120,00
143	161	223,00	12,70	170,00
144	162	210,00	12,50	120,00
145	163	165,00	10,10	80,00
146	164	245,00	11,90	160,00
147	165	182,00	11,40	120,00
148	169	247,00	14,90	550,00
149	170	194,00	11,50	110,00
150	171	116,00	9,90	210,00
151	172	218,00	14,30	660,00
152	173	234,00	11,00	110,00
153	174	200,00	14,10	350,00
154	175	202,00	14,70	560,00
155	176	200,00	14,80	470,00
156	177	250,00	14,30	300,00
157	178	200,00	9,90	80,00
158	179	205,00	16,80	550,00
159	181	210,00	14,50	340,00
160	182	149,00	11,90	200,00
161	183	172,00	10,00	150,00
162	184	175,00	15,30	350,00
163	185	162,00	6,10	40,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
164	186	203,00	10,80	150,00
165	187	204,00	13,80	180,00
166	189	160,00	11,70	110,00
167	190	200,00	15,00	280,00
168	191	164,00	13,40	160,00
169	192	230,00	14,40	210,00
170	193	205,00	12,10	160,00
171	194	235,00	8,90	210,00
172	195	180,00	17,00	50,00
173	197	190,00	14,40	260,00
174	198	147,00	15,00	320,00
175	199	164,00	11,50	150,00
176	200	177,00	8,80	70,00
177	201	146,00	12,80	150,00
178	202	189,00	14,60	790,00
179	203	149,00	7,20	90,00
180	204	230,00	7,80	60,00
181	205	220,00	16,70	900,00
182	206	232,00	13,70	260,00
183	207	240,00	13,60	200,00
184	208	210,00	9,80	100,00
185	209	170,00	10,50	80,00
186	210	178,00	8,50	60,00
187	211	180,00	10,20	110,00
188	212	200,00	13,30	200,00
189	213	220,00	16,40	210,00
190	214	145,00	8,30	120,00
191	216	173,00	13,80	250,00
192	217	160,00	10,50	140,00
193	218	195,00	13,40	250,00
194	219	247,00	15,00	310,00
195	221	168,00	7,90	110,00
196	222	157,00	9,10	70,00
197	223	131,00	12,00	250,00
198	224	224,00	12,10	140,00
199	225	136,00	10,60	90,00
200	226	224,00	13,60	300,00
201	227	202,00	13,80	250,00
202	228	195,00	16,00	200,00
203	229	189,00	14,40	500,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
204	230	185,00	12,00	110,00
205	231	213,00	13,70	310,00
206	232	146,00	10,70	110,00
207	233	80,00	14,50	210,00
208	234	216,00	12,20	260,00
209	235	177,00	8,20	60,00
210	236	152,00	11,70	160,00
211	237	173,00	12,00	140,00
212	238	254,00	16,40	510,00
213	239	242,00	13,50	160,00
214	240	185,00	11,00	150,00
215	241	234,00	14,30	280,00
216	242	170,00	11,00	200,00
217	244	198,00	11,30	110,00
218	245	163,00	8,30	60,00
219	246	153,00	10,20	80,00
220	247	200,00	10,20	110,00
221	248	232,00	13,40	250,00
222	250	215,00	12,60	110,00
223	251	239,00	14,90	500,00
224	254	192,00	11,50	250,00
225	255	190,00	12,60	210,00
226	256	180,00	12,00	240,00
227	257	177,00	8,20	140,00
228	258	244,00	10,50	160,00
229	259	187,00	13,10	500,00
230	260	142,00	11,70	150,00
231	262	136,00	11,10	150,00
232	263	220,00	12,40	110,00
233	264	180,00	12,60	150,00
234	265	137,00	8,20	40,00
235	266	232,00	13,20	120,00
236	267	111,00	6,40	80,00
237	268	127,00	9,50	30,00
238	269	250,00	13,10	260,00
239	271	190,00	13,90	270,00
240	272	193,00	8,70	100,00
241	273	172,00	14,60	240,00
242	274	200,00	13,70	150,00
243	275	185,00	12,10	120,00
244	276	288,00	8,60	70,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
245	277	204,00	12,90	210,00
246	278	204,00	10,90	140,00
247	279	180,00	9,00	80,00
248	280	177,00	13,20	280,00
249	281	145,00	6,50	80,00
250	282	240,00	14,90	450,00
251	284	194,00	11,60	110,00
252	286	155,00	3,30	40,00
253	287	229,00	14,90	440,00
254	288	149,00	7,70	200,00
255	289	190,00	6,90	260,00
256	290	73,00	5,70	60,00
257	291	182,00	11,70	110,00
258	293	257,00	14,80	510,00
259	295	197,00	11,80	130,00
260	296	243,00	14,70	150,00
261	297	178,00	16,90	350,00
262	298	215,00	13,00	220,00
263	299	156,00	11,00	210,00
264	300	176,00	13,20	140,00
265	301	189,00	6,30	50,00
266	302	196,00	15,10	350,00
267	303	140,00	9,50	80,00
268	304	212,00	14,00	210,00
269	305	263,00	15,30	300,00
270	306	153,00	13,30	110,00
271	308	233,00	14,30	310,00
272	309	123,00	4,40	50,00
273	310	169,00	8,90	70,00
274	311	214,00	11,50	220,00
275	312	218,00	12,50	200,00
276	314	166,00	8,80	80,00
277	315	230,00	13,70	210,00
278	316	210,00	13,40	210,00
279	317	164,00	8,70	80,00
280	318	155,00	5,00	30,00
281	319	206,00	12,50	160,00
282	320	184,00	9,30	110,00
283	321	158,00	8,90	50,00
284	322	170,00	10,90	90,00
285	323	198,00	13,40	220,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
286	324	213,00	11,50	120,00
287	325	222,00	13,70	250,00
288	326	192,00	11,50	150,00
289	328	218,00	11,00	170,00
290	329	140,00	2,00	10,00
291	331	211,00	11,70	120,00
292	332	215,00	12,60	200,00
293	333	260,00	14,70	550,00
294	334	251,00	13,40	420,00
295	335	110,00	8,10	70,00
296	336	230,00	13,70	350,00
297	337	105,00	8,10	90,00
298	338	200,00	13,80	180,00
299	339	215,00	12,60	100,00
300	341	205,00	4,00	60,00
301	342	210,00	12,00	230,00
302	343	238,00	14,30	250,00
303	344	236,00	14,50	270,00
304	345	123,00	6,10	60,00
305	346	230,00	11,20	110,00
306	347	205,00	6,70	70,00
307	348	210,00	4,00	40,00
308	349	218,00	10,50	150,00
309	350	180,00	10,00	120,00
310	351	278,00	9,30	150,00
311	352	275,00	8,70	70,00
312	353	207,00	11,40	290,00
313	354	148,00	7,50	80,00
314	356	206,00	14,10	180,00
315	357	200,00	13,30	250,00
316	358	217,00	11,20	160,00
317	359	190,00	3,70	50,00
318	360	185,00	11,20	120,00
319	361	180,00	10,60	100,00
320	363	140,00	10,50	150,00
321	364	235,00	14,60	280,00
322	365	237,00	15,10	200,00
323	366	174,00	6,80	80,00
324	367	249,00	10,00	80,00
325	368	200,00	11,10	200,00
326	369	222,00	12,90	160,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
327	370	134,00	9,60	150,00
328	371	207,00	14,40	320,00
329	372	192,00	8,80	40,00
330	374	155,00	11,20	20,00
331	375	160,00	6,00	30,00
332	376	197,00	13,70	260,00
333	379	190,00	11,30	120,00
334	380	150,00	8,60	80,00
335	382	160,00	10,40	110,00
336	383	160,00	12,20	150,00
337	384	205,00	11,40	190,00
338	385	210,00	8,70	90,00
339	386	145,00	9,80	60,00
340	387	150,00	5,10	50,00
341	388	120,00	6,90	90,00
342	389	200,00	9,00	110,00
343	390	163,00	11,20	150,00
344	391	200,00	11,20	150,00
345	392	240,00	12,80	210,00
346	393	142,00	10,30	90,00
347	394	210,00	8,60	80,00
348	395	185,00	8,90	140,00
349	396	150,00	5,70	80,00
350	397	150,00	3,10	60,00
351	398	158,00	7,60	10,00
352	399	158,00	8,00	100,00
353	401	177,00	10,50	50,00
354	403	260,00	15,30	250,00
355	404	196,00	13,30	370,00
356	405	202,00	9,50	100,00
357	407	200,00	11,20	120,00
358	408	224,00	12,60	180,00
359	409	170,00	13,40	140,00
360	410	143,00	9,90	110,00
361	411	210,00	14,60	160,00
362	412	270,00	16,30	240,00
363	413	148,00	7,10	80,00
364	414	174,00	6,70	90,00
365	415	220,00	15,50	500,00
366	416	198,00	10,10	80,00
367	417	182,00	6,30	20,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
368	418	160,00	11,50	120,00
369	420	202,00	7,40	50,00
370	421	225,00	11,60	110,00
371	422	227,00	12,10	110,00
372	424	156,00	4,20	50,00
373	425	194,00	11,40	110,00
374	426	190,00	9,30	70,00
375	427	195,00	11,90	160,00
376	428	224,00	9,40	140,00
377	429	120,00	7,50	60,00
Ortalama $\pm$ Std sapma		191,88 $\pm$ 37,72	11,46 $\pm$ 2,94	189,04 $\pm$ 137,53
Minimum		73,00	2,00	10,00
Maksimum		288,00	17,00	900,00
Ebeveynler				
Öğretmenoğlu (Baba)				
Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
1	Ö03	113,00	9,30	100,00
2	Ö06	101,00	6,10	20,00
3	Ö09	120,00	9,30	80,00
4	Ö12	96,00	3,70	40,00
5	Ö16	118,00	5,60	80,00
6	Ö19	107,00	3,90	40,00
7	Ö22	105,00	5,80	70,00
8	Ö26	105,00	5,40	40,00
9	Ö30	112,00	5,00	90,00
10	Ö35	102,00	3,10	10,00
Ortalama $\pm$ Std sapma		107,90 $\pm$ 7,69	5,72 $\pm$ 2,13	57,00 $\pm$ 30,93
Minimum		96,00	3,10	10,00
Maksimum		120,00	9,30	100,00
Erdurmuş (Ana)				
1	E03	240,00	17,10	260,00
2	E08	250,00	18,00	300,00
3	E16	220,00	17,10	200,00
4	E18	175,00	14,60	150,00
5	E31	275,00	15,30	150,00
6	E35	225,00	17,50	230,00
7	E40	240,00	16,30	220,00

Çizelge 4.1.'in devamı

Sıra No	Genotip No	Bitki Boyu (cm)	Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)
8	E48	258,00	13,70	140,00
Ortalama $\pm$ Std sapma		235,37 $\pm 30,07$	16,20 $\pm 1,52$	206,25 $\pm 57,55$
Minimum		175,00	13,70	140,00
Maksimum		275,00	18,00	300,00

377 adet F₂ bitkisinde belirtilen gözlemler yapılmış ve bitki boyu ortalaması 191,88 cm olarak belirlenmiştir. En yüksek bitki boyu değeri 288,00 cm ile 276 nolu bitkide gözlenmiştir. Ebeveyn olarak kullanılan çeşitlerde bitki boyu değerleri Öğretmenoğlu çeşidinde 96,00 ile 120,00 cm, Erdurmuş çeşidinde ise 175,00 ile 275,00 cm arasında olmuştur.

Bitki öz suyu gözlemleri F₂ popülasyonunda bitki başına ölçümler olarak değerlendirilmiştir. En yüksek değere 900 ml ile 205 nolu bitki sahip olurken en düşük değer ise 10 ml ile 10, 329 ve 398 nolu bitkilerde gözlenmiştir. Öğretmenoğlu çeşidine ait ortalama öz su miktarı 57 ml olurken Erdurmuş çeşidinde bu değer 206,25 ml olarak belirlenmiştir.

F₂ bitkilerinde ortalama Brix değeri %11,46 olarak belirlenmiştir. En yüksek Brix değerine %17,00 ile 195 nolu bitki sahip olmuştur. Bu değer Öğretmenoğlu çeşidinde %3,10 ile 9,30, Erdurmuş çeşidinde ise %13,70 ile 18,00 arasında belirlenmiştir. 377 adet bitkiden 190 adet F₂ ve 2 ana (Erdurmuş) 2 baba (Öğretmenoğlu) olmak üzere toplamda 194 adet bitki F₃ generasyonunda yetiştirilmek üzere belirlenmiştir.

4.2. F₃ Popülasyonunda Yapılan Gözlemler

190 adet F_{2:3}, 2 ana (Erdurmuş) ve 2 baba (Öğretmenoğlu) olmak üzere toplamda 194 adet bitkiye ait tohumlar 3 tekerrürlü olarak tesadüf blokları deneme desenine göre 2019 yılında 2 Mayıs'ta Antalya'da, 16 Mayıs'ta Konya'da ekilmiştir. F₃ popülasyonunda bitki boyu, Brix ve öz su karakterlerine ait gözlemler tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her iki lokasyonda da 9 adet (90, 98, 104, 110, 183, 195, 211, 233, 347) hatta ait çıkışlar gözlemler için yeterli sayıda olmaması sebebiyle bu aşamalara dahil edilmemiştir. Kullanılan 181 bitkiye ait belirtilen gözlem değerleri ve istatistiki değerlendirme sonuçları ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Antalya ve Konya lokasyonlarında, F₃ popülasyonuna ait bitkilerde yapılan gözlemler

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar					Lokasyonların Ortalaması				
		Antalya		Konya		Brix (%)	Lokasyonların Ortalaması		Brix (%)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)			
1	1	135,70	62,00	142,67	84,67	8,60	139,17	73,33	8,95	8,78	8,78
2	3	191,00	120,70	168,89	121,33	11,95	179,94	121,00	10,70	11,33	11,33
3	5	177,20	174,70	191,00	273,33	9,78	184,11	224,00	9,48	9,63	9,63
4	10	163,80	118,00	157,89	91,00	7,67	160,83	104,50	5,92	6,79	6,79
5	13	216,60	210,00	234,33	142,67	11,97	225,44	176,33	9,17	10,57	10,57
6	14	152,90	113,30	165,67	114,00	8,73	159,28	113,67	8,45	8,59	8,59
7	15	221,00	150,00	243,89	166,67	10,97	232,44	158,33	10,02	10,49	10,49
8	16	222,80	201,30	261,33	192,00	9,70	242,06	196,67	9,42	9,56	9,56
9	17	144,30	54,00	165,00	48,00	9,43	154,67	51,00	7,02	8,23	8,23
10	18	233,20	175,30	298,33	316,00	11,58	265,78	245,67	11,33	11,46	11,46
11	20	216,10	125,30	223,33	102,00	10,47	219,72	113,67	7,45	8,96	8,96
12	21	218,90	139,30	236,89	124,67	11,68	227,89	132,00	9,42	10,55	10,55
13	31	225,30	125,30	218,33	123,33	11,37	221,83	124,33	8,73	10,05	10,05
14	32	210,40	147,30	216,44	118,00	10,68	213,44	132,67	7,80	9,24	9,24
15	33	245,30	159,30	267,11	240,00	11,70	256,20	199,67	9,20	10,45	10,45
16	34	203,00	93,30	219,33	86,67	11,60	211,17	90,00	8,55	10,08	10,08
17	35	255,20	224,00	292,56	311,33	11,78	273,89	267,67	10,72	11,25	11,25
18	37	264,30	178,70	306,44	140,00	12,05	285,39	159,33	10,35	11,20	11,20
19	39	188,00	139,30	264,56	275,33	9,93	226,28	207,33	9,82	9,88	9,88
20	40	192,70	88,00	233,00	110,00	10,57	212,83	99,00	8,68	9,63	9,63
21	42	133,00	94,00	177,33	120,67	10,55	177,33	107,33	9,48	10,02	10,02

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar						Lokasyonların Ortalaması			
		Antalya			Konya			Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)				
22	44	168,10	71,30	9,73	186,44	94,67	8,82	177,28	83,00	9,28	8,82
23	45	222,40	138,67	11,27	250,44	166,67	8,32	236,44	152,67	9,79	8,32
24	48	220,40	143,30	11,75	240,33	120,67	8,42	230,39	132,00	10,08	8,42
25	49	188,40	77,30	8,32	167,78	94,67	8,28	178,11	86,00	8,30	8,28
26	50	193,80	138,00	9,07	194,00	221,00	8,00	193,89	179,50	8,53	8,00
27	55	236,10	151,30	10,15	261,22	222,00	9,03	248,67	186,67	9,59	9,03
28	56	189,70	74,70	10,38	172,44	116,67	10,07	181,06	95,67	10,23	10,07
29	57	196,20	149,30	12,48	215,44	217,33	9,15	205,83	183,33	10,82	9,15
30	59	180,80	79,30	11,90	190,78	128,67	9,85	185,78	104,00	10,88	9,85
31	61	145,20	122,00	7,95	199,56	189,00	8,35	172,39	155,50	8,15	8,35
32	63	203,90	191,30	9,58	243,89	192,67	7,53	223,89	192,00	8,56	7,53
33	65	153,40	120,30	8,42	182,33	147,33	9,22	167,86	133,83	8,82	9,22
34	67	176,00	104,00	10,28	211,00	196,67	8,47	193,50	150,33	9,38	8,47
35	68	220,30	166,70	10,88	288,33	190,67	9,68	254,33	178,67	10,28	9,68
36	71	153,40	73,30	9,57	200,67	119,33	8,18	177,06	96,33	8,88	8,18
37	72	213,60	159,30	11,38	258,33	188,67	8,13	235,94	174,00	9,75	8,13
38	74	216,20	150,70	11,92	252,56	145,33	8,68	234,39	148,00	10,30	8,68
39	77	205,60	124,00	11,02	265,33	160,00	8,88	235,44	142,00	9,95	8,88
40	78	190,90	119,30	10,22	221,00	139,33	9,37	205,94	129,33	9,79	9,37
41	79	183,00	142,70	11,67	202,44	193,33	7,97	192,72	168,00	9,82	7,97
42	83	196,80	182,70	9,28	225,89	186,00	7,90	211,33	184,33	8,59	7,90

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar						Lokasyonların Ortalaması			
		Antalya			Konya			Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)				
43	85	167,20	119,30	12,55	185,89	112,00	9,02	176,56	115,67	10,78	10,78
44	87	180,40	96,70	9,53	205,00	117,33	8,18	192,72	107,00	8,86	8,86
45	88	219,30	126,00	12,60	237,56	132,00	10,47	228,44	129,00	11,53	11,53
46	89	148,20	126,7	10,10	181,56	101,33	8,68	164,89	114,00	9,39	9,39
47	92	241,30	138,70	12,67	266,22	196,67	11,35	253,78	167,67	12,01	12,01
48	94	181,00	98,70	8,88	114,67	74,67	7,57	147,83	86,67	8,23	8,23
49	96	184,80	107,30	11,10	215,56	112,00	9,68	200,17	109,67	10,39	10,39
50	97	214,60	115,30	11,15	258,22	89,33	8,88	236,39	102,33	10,02	10,02
51	100	235,70	219,30	14,17	261,44	176,67	9,23	248,56	198,00	11,70	11,70
52	109	210,30	219,30	10,98	235,56	266,67	7,57	222,94	243,00	9,28	9,28
53	115	209,20	158,00	10,65	216,22	144,67	8,10	212,72	151,33	9,38	9,38
54	119	221,60	146,00	11,58	239,67	125,33	9,27	230,61	135,67	10,43	10,43
55	120	179,30	153,30	10,88	170,67	169,00	8,47	175,00	161,17	9,68	9,68
56	121	166,00	99,30	11,85	167,44	99,33	10,45	166,72	99,33	11,15	11,15
57	125	219,10	139,30	11,40	228,11	169,33	8,30	223,61	154,33	9,85	9,85
58	126	238,70	136,70	12,90	281,44	149,33	9,50	260,06	143,00	11,20	11,20
59	127	243,40	137,30	10,23	245,33	110,00	8,68	244,39	123,67	9,46	9,46
60	130	227,80	194,70	11,33	244,00	228,67	8,27	235,89	211,67	9,80	9,80
61	132	236,00	150,70	10,53	229,56	101,33	7,53	232,78	126,00	9,03	9,03
62	133	226,60	198,70	10,25	273,78	221,33	7,45	250,17	210,00	8,85	8,85
63	134	233,80	136,70	12,10	280,78	162,00	8,58	257,28	149,33	10,34	10,34

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar				Lokasyonların Ortalaması			
		Antalya		Konya		Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)				
64	136	195,70	82,70	205,00	104,67	8,92	200,33	93,67	9,89
65	137	229,90	107,30	259,11	124,67	8,45	244,50	116,00	10,04
66	138	222,70	134,00	265,89	152,67	8,70	244,28	143,33	10,50
67	140	176,10	86,70	153,89	88,67	6,47	165,00	87,67	9,18
68	141	173,30	84,00	207,00	149,33	8,53	190,17	116,67	8,81
69	143	215,60	103,30	191,50	145,00	6,40	203,53	124,17	8,00
70	145	178,10	142,70	235,22	200,67	7,37	206,67	171,67	9,09
71	147	187,10	108,00	216,56	205,33	9,37	201,83	156,67	9,70
72	149	173,20	129,30	180,78	142,33	7,18	177,00	135,83	8,93
73	150	200,00	142,70	250,44	180,00	7,92	225,22	161,33	9,60
74	156	256,40	188,70	287,89	180,00	6,30	272,17	184,33	9,47
75	158	246,60	265,30	273,33	291,33	7,13	259,94	278,33	9,53
76	162	245,80	173,30	266,78	170,00	8,28	256,28	171,67	10,21
77	163	186,20	70,70	220,44	90,67	7,58	203,33	80,67	7,93
78	164	224,20	115,30	288,44	151,33	8,05	256,33	133,33	10,05
79	169	214,60	133,30	216,11	242,33	7,00	215,33	187,83	9,04
80	171	154,30	83,30	134,22	80,67	7,18	144,28	82,00	8,12
81	172	192,30	123,30	249,89	180,67	7,70	221,11	152,00	9,19
82	174	199,90	154,00	260,56	169,33	8,65	230,22	161,67	9,80
83	175	217,80	127,30	249,00	128,67	7,52	233,39	128,00	8,45
84	176	210,90	175,30	258,22	290,00	8,25	234,56	232,67	9,26

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar				Lokasyonların Ortalaması			
		Antalya		Konya		Bitki Boyu		Brix (%)	
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Brix (%)
85	177	236,70	122,00	272,78	134,67	254,72	128,33	8,20	9,87
86	179	230,10	212,70	263,56	224,67	246,83	218,67	8,23	9,78
87	181	213,80	166,70	238,00	206,00	225,89	186,33	9,53	10,61
88	184	195,70	121,30	178,22	171,33	186,94	146,33	7,45	9,22
89	185	198,80	182,00	227,11	256,33	212,97	219,17	8,57	8,98
90	190	210,70	180,70	250,67	199,33	230,67	190,00	9,40	10,13
91	197	201,10	151,30	250,67	188,67	225,89	170,00	8,48	9,28
92	200	177,40	112,70	196,56	110,67	187,00	111,67	7,12	8,38
93	202	206,20	107,30	283,44	252,67	244,83	180,00	7,48	9,77
94	203	170,70	46,70	210,33	63,33	190,50	55,00	7,43	7,88
95	205	227,70	193,30	246,00	258,67	236,83	226,00	7,45	9,42
96	206	229,90	126,00	266,67	142,67	248,28	134,33	9,17	10,48
97	210	202,60	187,30	266,45	315,00	234,50	251,17	6,95	8,50
98	213	225,00	164,00	254,22	140,67	239,61	152,33	10,30	10,66
99	214	174,80	131,30	205,00	130,00	189,89	130,67	12,77	12,10
100	217	224,30	96,70	230,56	66,67	227,44	81,67	9,57	10,64
101	219	231,90	90,70	268,44	137,33	250,17	114,00	8,97	10,34
102	221	209,10	87,30	245,56	72,67	227,33	80,00	8,85	10,28
103	222	169,70	168,00	205,11	214,67	187,39	191,33	8,12	9,32
104	223	183,10	108,70	155,95	122,00	169,53	115,33	6,45	8,20
105	225	168,90	88,70	172,89	120,67	170,89	104,67	8,63	9,93

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar				Lokasyonların Ortalaması			
		Antalya		Konya		Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)				
106	228	208,70	186,70	264,56	282,67	12,80	236,61	234,67	9,08
107	229	208,00	197,30	240,11	263,33	10,87	224,06	230,33	7,23
108	235	223,40	138,00	235,67	163,33	10,05	229,56	150,67	6,37
109	238	242,30	165,30	297,44	212,00	11,08	269,89	188,67	9,25
110	239	203,00	106,00	287,56	344,00	10,53	245,28	225,00	11,03
111	245	182,10	139,00	172,11	248,67	9,78	177,08	193,83	5,95
112	246	214,10	138,00	205,33	230,67	11,53	209,72	184,33	9,20
113	251	233,80	208,70	231,89	283,33	12,15	232,83	246,00	7,93
114	257	184,00	112,00	218,11	193,33	10,92	201,06	152,67	7,60
115	258	221,00	104,70	253,56	152,00	12,00	237,28	128,33	8,18
116	259	223,90	202,00	233,89	228,67	12,45	228,89	215,33	8,03
117	260	170,22	138,70	153,00	146,00	11,72	161,61	142,33	5,93
118	262	168,60	96,70	163,33	107,33	9,07	165,94	102,00	6,67
119	264	179,30	178,70	165,22	122,00	11,08	172,28	150,33	6,27
120	265	148,00	90,70	172,11	132,33	11,08	160,06	111,50	8,23
121	267	123,30	62,70	136,56	98,67	11,12	129,94	80,67	9,18
122	268	146,00	68,70	125,89	118,00	9,90	135,94	93,33	6,62
123	269	203,80	134,00	222,00	161,67	11,58	212,89	147,83	9,40
124	271	190,40	104,00	230,33	103,33	9,93	210,39	103,67	8,45
125	275	201,70	70,70	167,00	74,67	9,58	184,33	72,67	8,67
126	276	180,00	112,70	169,89	166,00	9,88	174,94	139,33	8,97

Çizelge 4.2.'nin devamı

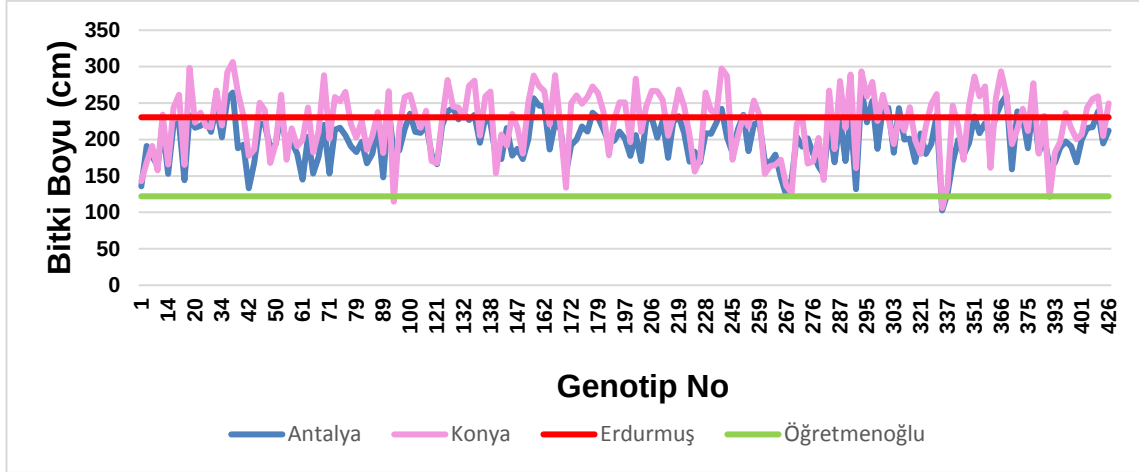
Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar						Lokasyonların Ortalaması					
		Antalya			Konya			Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)						
127	279	163,10	57,30	9,53	202,22	56,00	9,22	182,67	56,67	56,67	9,38	182,67	56,67
128	281	151,90	71,00	8,90	144,67	135,33	8,85	148,28	103,17	103,17	8,88	148,28	103,17
129	282	221,10	194,00	11,52	267,33	196,67	8,72	244,22	195,33	195,33	10,12	244,22	195,33
130	286	168,70	84,00	9,73	186,78	97,33	9,12	177,72	90,67	90,67	9,43	177,72	90,67
131	287	229,20	172,00	11,72	280,44	143,33	9,43	254,83	157,67	157,67	10,58	254,83	157,67
132	288	170,30	113,30	11,13	215,78	181,33	8,33	193,06	147,33	147,33	9,73	193,06	147,33
133	289	231,60	94,70	11,97	289,33	93,33	9,15	260,44	94,00	94,00	10,56	260,44	94,00
134	290	131,80	38,70	8,13	161,00	55,33	7,10	146,39	47,00	47,00	7,62	146,39	47,00
135	293	269,20	292,00	10,93	293,33	288,00	8,73	281,28	290,00	290,00	9,83	281,28	290,00
136	295	223,80	102,70	10,90	258,78	108,00	7,90	241,28	105,33	105,33	9,40	241,28	105,33
137	296	253,10	232,70	10,73	279,22	181,33	9,23	266,17	207,00	207,00	9,98	266,17	207,00
138	297	187,20	140,70	9,95	225,56	136,00	8,32	206,39	138,33	138,33	9,13	206,39	138,33
139	301	244,00	114,00	11,37	261,44	105,33	7,60	252,72	109,67	109,67	9,48	252,72	109,67
140	302	243,40	266,70	11,95	230,89	218,00	7,98	237,17	242,33	242,33	9,97	237,17	242,33
141	303	181,80	89,30	8,82	193,67	138,00	9,28	187,72	113,67	113,67	9,05	187,72	113,67
142	305	242,80	162,70	9,75	229,56	178,67	7,65	236,17	170,67	170,67	8,70	236,17	170,67
143	309	199,90	84,70	9,63	212,22	91,33	7,50	206,06	88,00	88,00	8,57	206,06	88,00
144	310	201,10	164,0	10,97	244,33	244,67	8,52	222,72	204,33	204,33	9,74	222,72	204,33
145	318	169,00	62,00	8,08	198,44	62,00	8,72	183,72	62,00	62,00	8,40	183,72	62,00
146	321	208,30	91,30	8,95	180,00	175,67	9,78	194,17	133,50	133,50	9,37	194,17	133,50
147	329	180,00	104,00	9,28	217,89	130,67	9,63	198,94	117,33	117,33	9,46	198,94	117,33

Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar						Lokasyonların Ortalaması					
		Antalya			Konya								
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
148	333	193,70	122,00	9,33	248,66	237,33	9,53	221,16	179,67	9,43			
149	334	233,90	143,30	10,83	262,44	205,33	8,47	248,17	174,33	9,65			
150	335	102,70	44,70	8,97	105,89	47,33	7,85	104,28	46,00	8,41			
151	337	126,10	98,00	10,53	135,67	99,33	8,18	130,89	98,67	9,36			
152	338	168,40	132,00	9,48	246,44	193,33	7,95	207,44	162,67	8,72			
153	341	199,40	146,70	9,12	218,78	175,33	6,55	209,11	161,00	7,83			
154	345	178,60	192,70	11,10	172,11	143,33	8,35	175,33	168,00	9,73			
155	348	195,30	130,70	10,53	246,67	157,33	7,72	221,00	144,00	9,13			
156	351	231,40	218,00	12,23	286,56	328,00	9,58	259,00	273,00	10,91			
157	352	208,70	125,30	10,38	259,44	140,67	8,07	234,06	133,00	9,23			
158	354	222,30	142,70	10,73	272,89	210,00	7,95	247,61	176,33	9,34			
159	363	203,80	134,00	9,73	161,22	125,33	6,60	182,50	129,67	8,17			
160	365	232,60	129,30	10,75	256,78	124,67	8,90	244,67	127,00	9,83			
161	366	249,30	218,70	9,42	293,44	302,00	9,23	271,39	260,33	9,33			
162	367	261,00	234,00	10,15	260,67	194,00	7,87	260,83	214,00	9,01			
163	370	158,90	114,00	9,97	193,56	162,67	8,77	176,22	138,33	9,37			
164	371	238,40	250,70	10,53	214,15	187,00	8,85	226,30	218,83	9,69			
165	372	229,80	111,30	10,88	242,22	129,33	10,27	236,00	120,33	10,58			
166	375	187,90	98,70	10,52	211,78	85,33	10,10	199,83	92,00	10,31			
167	385	246,60	112,00	10,37	277,44	150,67	9,43	262,00	131,33	9,90			
168	386	181,30	148,00	10,03	180,56	143,33	7,00	180,94	145,67	8,52			

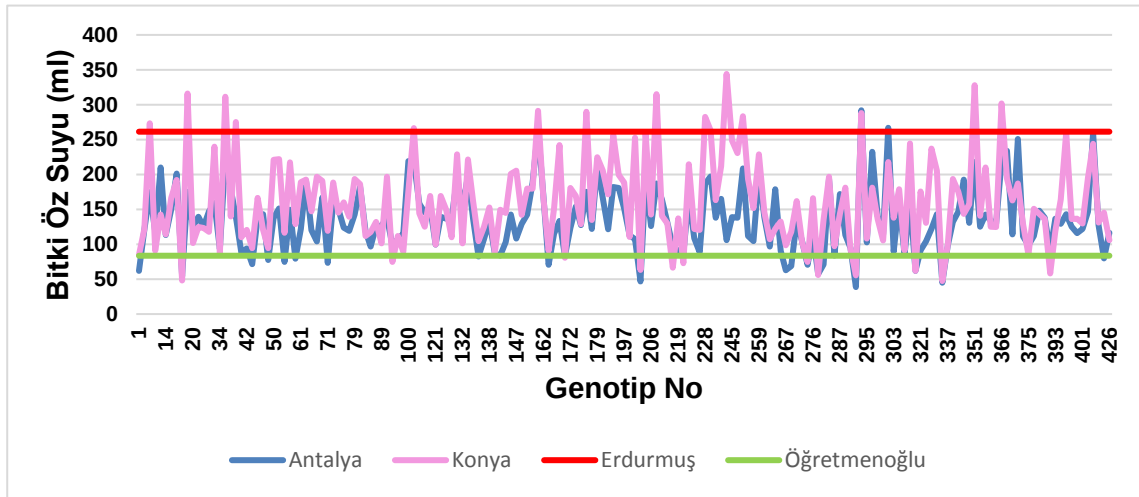
Çizelge 4.2.'nin devamı

Sıra No	Genotip No	Lokasyonlar						Lokasyonların Ortalaması					
		Antalya			Konya								
		Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)	Bitki Boyu (cm)	Bitki Öz Suyu (ml)	Brix (%)
169	387	203,20	138,00	12,20	232,56	136,00	10,57	217,89	137,00	11,38			
170	388	161,30	90,00	9,45	121,33	58,00	7,52	141,33	74,00	8,48			
171	393	168,20	136,70	9,47	182,11	118,67	8,32	175,17	127,67	8,89			
172	396	188,90	129,30	9,53	196,67	164,00	7,92	192,78	146,67	8,73			
173	397	197,20	143,30	9,58	236,22	260,00	8,33	216,72	201,67	8,96			
174	398	190,70	125,30	10,55	215,56	136,00	9,13	203,11	130,67	9,84			
175	399	168,70	116,00	10,80	200,22	136,67	7,55	184,44	126,33	9,18			
176	401	199,40	122,00	12,57	207,00	129,67	9,55	203,22	125,83	11,06			
177	403	215,70	146,70	11,32	244,00	195,33	6,80	229,83	171,00	9,06			
178	404	217,00	260,00	11,08	255,78	244,00	7,15	236,39	252,00	9,12			
179	420	238,80	127,30	10,17	259,22	131,33	6,15	249,00	129,33	8,16			
180	424	194,70	80,00	11,18	204,78	145,33	7,17	199,72	112,66	9,18			
181	426	212,20	116,70	10,15	249,78	106,00	7,92	231,00	111,33	9,03			
Erdurmuş		235,37	241,00	10,27	225,67	281,67	10,03	230,52	261,33	10,15			
Öğretmenoğlu		121,77	82,50	7,51	122,33	84,67	6,93	122,05	83,58	7,20			
Ortalama		200,95	134,98	10,66	223,67	160,99	8,46	212,31	147,99	9,56			
±Std Sapma		±37,86	±58,65	±1,71	±47,12	±70,61	±1,65	±44,21	±66,17	±2,01			
Minimum		101,33	28,00	4,15	102,33	20,00	4,25	101,33	20,00	4,15			
Maksimum		298,67	366	17,55	325,00	400,00	19,15	325,00	400,00	19,15			
CV		13,26	32,45	14,40	10,71	24,99	17,18	13,80	31,83	20,41			
LSD		42,08**	70,33**	2,46**	38,49**	62,62**	2,33**	33,22**	53,36**	2,21**			



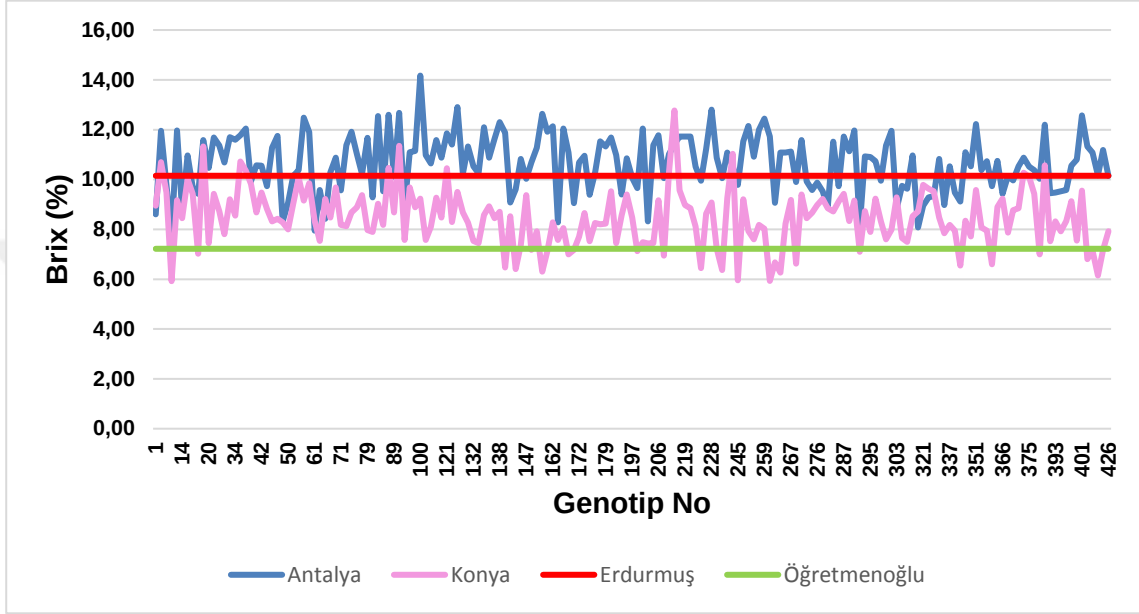
Şekil 4.4. F₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında bitki boyu dağılım grafiği

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi Antalya lokasyonunda bitki boyu 102,7 (335) ile 269,2 (293) cm arasında değişmiştir. Konya lokasyonun da ise 105,9 (335) ile 306,44 (37) cm arasında belirlenmiştir. Dağılım grafiğine baktığımızda Konya lokasyonundaki bitki boyunun Antaya lokasyonundan daha uzun olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). Her iki lokasyonun ortalama değerlerine baktığımızda en düşük değer 104,28 cm ile 335, en yüksek değer ise 285,39 cm ile 37 nolu bitki sahip olmuştur. Erdurmuş çeşidinde iki lokasyona ait boy değerleri ortalaması 230,52 cm ve Öğretmenoğlu için 122,05 cm olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5. F₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında bitki öz suyu dağılım grafiği

Bitki öz suyu ölçümleri 5 bitki üzerinden değerlendirilmiş ve verilerin ortalaması alınmıştır. Antalya lokasyonunda bitki başına düşen öz su miktarı 38,70 (290) ile 292,00 (293) ml arasında değişmiştir. Konya lokasyonunda ise 47,33 (335) ile 344,00 (239) ml arasında belirlenmiştir. Bitki öz suyu dağılım grafiğine baktığımızda, en yüksek değer Antalya lokasyonunda gözlense de Konya lokasyonuna ait bitki öz suyu değerleri daha yüksek belirlenmiştir (Şekil 4.5). Erdurmuş ve Öğretmenoğlu çeşitlerine ait iki lokasyonun ortalaması ise sırasıyla 261,33 ve 83,60 ml olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6. F₃ popülasyonunda Antalya ve Konya lokasyonlarında Brix dağılım grafiği

Antalya lokasyonunda en yüksek Brix değerine %14,17 ile 100 nolu hat sahip olmuştur. Yine bu lokasyona ait Brix değeri ortalaması ise %10,65 olarak belirlenmiştir. Konya lokasyonunda ise Brix değerleri %5,92 (10) ile %12,77 (214) arasında değişmiştir. Dağılım grafiğinde de görüldüğü üzere Antalya lokasyonunda Brix değerleri Konya lokasyonununundan daha yüksektir (Şekil 4.6). Ebeveynlere ait iki lokasyon ortalaması Erdurmuş için %10,15 ve Öğretmenoğlu için ise %7,22 olarak belirlenmiştir.

4.3. Bağlantı Haritasının Oluşturulması

F₂ popülasyonundaki 181 genotip ve iki ebeveyne (Erdurmuş ve Öğretmenoğlu) ait DNA'ların yeni nesil sekanslaması ve sonrasında yapılan biyoinformatik analizler neticesinde 85162 adet SNP lokusu belirlenmiştir. TASSEL programının filtreleme opsiyonu kullanılarak heterozigotluk açılımı 0,2 ile 0,8 arasında olan lokusların seçimi yapılmıştır. Filtreleme sonrası tüm genotipler arasında farklılık gösteren 2189 lokus bulunmuştur. Bu lokuslar içerisinde 1:2:1 açılımına uygun olmayan SNP'lerde çıkartılarak toplamda 1847 SNP'e ulaşılmış ve haritalamada kullanılmıştır. Oluşturulan bağlantı haritasının toplam uzunluğu 4739,8 cM olup markerler arası ortalama uzaklık

2,417 cM'dır (Çizelge 4.3). Ortalama marker sayısı 184,7'dir. Harita, her bir kromozomu temsil eden 10 bağlantı grubundan oluşmaktadır.

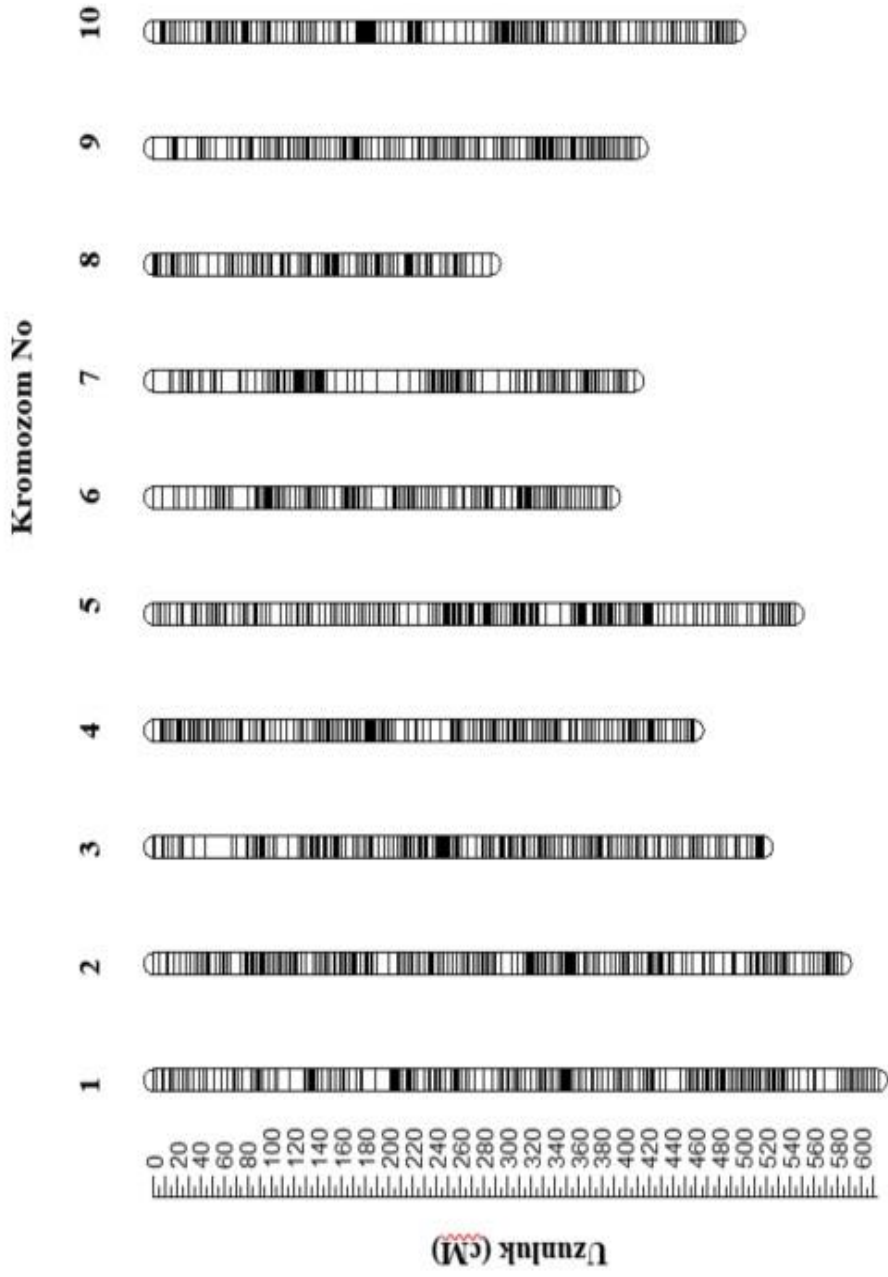
Çizelge 4.3. Erdurmuş X Öğretmenoğlu popülasyonu için bağlantı haritalama sonucunda elde edilen veriler

Popülasyon (F ₂)	Harita Uzunluğu (cM)	Toplam Marker Sayısı	Toplam Bağlantı Grubu	Ortalama Marker Sayısı	Maksimum Marker Sayısı	Minimum Marker Sayısı	Markerler Arası Ort. Uzaklık (cM)
Erdurmuş X Öğretmenoğlu	4739,8	1847	10	184,7	255	116	2,417

Çizelge 4.4. Bağlantı grupları, toplam uzunluk, marker sayısı, ortalama mesafe ve en uzun boşluk

Bağlantı Grupları (LG) Kromozom Numarası	Toplam Uzunluk (cM)	Marker Sayısı	Ortalama Uzaklık (cM)	En Uzun Boşluk (cM)
Kromozom 1 (LG4)	625,5	243	2,57	12,95
Kromozom 2 (LG1)	584,4	255	2,29	9,60
Kromozom 3 (LG3)	503,5	209	2,40	23,43
Kromozom 4 (LG7)	480,0	185	0,98	9,08
Kromozom 5 (LG6)	552,5	204	2,70	11,67
Kromozom 6 (LG10)	400,9	144	2,78	13,05
Kromozom 7 (LG9)	399,8	142	2,81	17,24
Kromozom 8 (LG5)	287,0	116	2,47	8,54
Kromozom 9 (LG8)	411,8	161	2,55	12,50
Kromozom 10 (LG2)	494,4	188	2,62	9,39

Sonuçlar incelendiğinde, markerler 625,5 cM ile 1. kromozomda (LG4) en uzun bölgeye dağılırken, en kısa bölge 287,0 cM ile 8. kromozomdadır (LG5). En fazla marker sayısına sahip olan 2. kromozom (LG1) iken en az marker sayısına sahip olan kromozom 8 (LG5)'dir. En yüksek marker yoğunluğuna sahip olan 4. kromozom (LG7), en düşük marker yoğunluğuna sahip olan ise 7. kromozom (LG9)'dur. En uzun boşluk 23,43 cM ile 3. kromozomda belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Erdurmuş x Öğretmenoğlu melezinden oluşturulan F₂ popülasyonundan elde edilen yüksek yoğunluklu bağlantı haritası

4.4. Biyoenerji ile İlişkili Özelliklerin QTL Analizi

1847 SNP markeri ile F₃ bitkilerinin Antalya-Konya lokasyonlarına ait fenotipleme verileri bütünleşik olarak MapQTL programına girilmiş ve analizi gerçekleştirilmiştir. Analizlerde Interval Mapping (IM) kullanılmıştır. Çalışmada bitki boyu, Brix ve öz su karakterlerine ait QTL'ler analiz edilmiştir. Belirlenen QTL bölgelerinde isimlendirme Weng vd. (2015) göre gerçekleştirilmiştir. Örnek vermek gerekirse qPH1.1 adlı QTL bitki boyu karakteri ile ilişkili olduğu için PH (Plant Height) kısaltmasını alıp sonrasında kromozom numarası, nokta (.) ve belirlendiği kromozom üzerinde kaçınıcı QTL sırasında olduğu belirtilmiştir.

4.4.1. Bitki boyu QTL'leri

Interval Mapping analiz sonucunda bitki boyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL program görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.8).

MapQTL 6 - Sorghum10XKonya_Batem_corr

File Edit Calculate Options Help

Analysis ? (Ctrl+Y)

Populations Maps Sessions

Session 1 (IM)

Populations

Maps

Sessions

Project Notes Population Traits Genotypes Map Session Results Results (config) Results Charts

2022 9 96.407 16.25 1 240.721 221.523 181.826 878.961 34.8 29.4477 10.2501 0.951

2020 9 94.693 SCM000766.3_59610235 16.23 1 240.150 221.481 181.482 879.296 34.8 29.3342 10.6648 0.978

2023 9 97.407 16.17 1 240.614 221.773 181.142 880.671 34.7 29.7361 10.8954 0.932

2019 9 94.239 SCM000766.3_59610262 16.12 1 240.304 221.664 181.378 881.804 34.6 29.4631 10.8235 0.973

2018 9 93.910 16.02 1 240.315 221.791 181.186 884.077 34.4 29.5645 11.0406 0.962

2021 9 95.407 SCM000766.3_59803007 16.02 1 240.563 221.082 183.011 884.194 34.4 28.7762 9.29521 0.985

2024 9 98.407 15.75 1 240.271 221.742 181.108 890.392 33.9 29.5816 11.0527 0.925

2017 9 92.910 15.59 1 240.264 222.056 180.868 894.301 33.6 29.6976 11.4905 0.935

2025 9 99.407 14.99 1 239.730 221.372 181.810 908.382 32.6 28.9598 10.6021 0.933

2016 9 91.910 14.94 1 240.092 222.105 181.008 909.717 32.5 29.5417 11.5552 0.918

2037 9 107.873 SCM000766.3_62304850 14.38 1 235.127 222.353 182.390 923.149 31.5 26.3683 13.5945 0.995

2036 9 107.748 14.37 1 235.294 222.295 182.074 923.418 31.5 26.6098 13.6107 0.984

2038 9 108.873 14.36 1 235.415 222.601 181.548 923.669 31.5 26.9336 14.1190 0.955

2039 9 109.873 14.29 1 235.665 222.819 180.780 925.373 31.3 27.4428 14.5965 0.919

2033 9 104.839 SCM000766.3_61486262 14.21 1 236.357 221.393 182.756 927.431 31.2 26.8004 11.8371 0.992

2040 9 110.873 14.17 1 235.874 223.000 180.107 928.400 31.1 27.8833 15.0094 0.887

2015 9 90.910 14.09 1 239.807 221.910 181.649 930.208 31.0 29.0791 11.1815 0.909

2029 9 103.394 14.09 1 237.345 220.884 182.871 930.219 31.0 27.2373 10.7761 0.974

2030 9 104.249 SCM000766.3_61522709 14.06 1 236.644 220.730 183.269 930.931 30.9 26.6875 10.7741 1.000

2031 9 104.263 SCM000766.3_61487354 14.06 1 236.638 220.726 183.283 931.099 30.9 26.6778 10.7653 1.000

2041 9 111.873 13.98 1 236.036 223.132 179.551 932.880 30.8 28.2425 15.3384 0.859

2026 9 100.407 13.95 1 239.033 220.663 183.237 933.803 30.7 27.8982 9.52855 0.955

2034 9 105.839 13.75 1 236.167 221.147 182.131 938.690 30.4 27.0183 11.9976 0.965

2042 9 112.873 13.74 1 236.151 223.207 179.135 938.922 30.3 28.5080 15.5642 0.835

2028 9 102.394 13.63 1 237.944 220.531 183.503 941.479 30.1 27.2207 9.80801 0.968

2032 9 104.543 SCM000766.3_61486085 13.56 1 236.316 220.621 183.299 943.323 30.0 26.5087 10.8137 1.000

2043 9 113.873 13.43 1 236.215 223.215 178.879 946.604 29.8 28.6679 15.6680 0.814

2014 9 89.910 13.09 1 239.412 221.474 182.783 955.157 29.1 28.3142 10.3764 0.910

2044 9 114.873 13.05 1 236.226 223.148 178.802 955.963 29.1 28.7120 15.6342 0.798

2027 9 101.394 SCM000766.3_60782164 12.72 1 238.230 219.692 185.233 964.318 28.5 26.4987 7.96051 0.990

2045 9 115.873 12.62 1 236.182 223.002 178.918 966.992 28.3 28.6320 15.4518 0.785

2035 9 106.748 SCM000766.3_62075852 12.30 1 235.497 219.738 184.067 975.134 27.7 25.7150 9.95577 0.993

2046 9 116.873 12.12 1 236.081 222.775 179.236 979.625 27.3 28.4222 15.1167 0.776

2013 9 88.910 11.97 1 238.900 220.836 184.350 983.509 27.0 27.2746 9.21132 0.920

2047 9 117.873 11.58 1 235.918 222.470 179.758 993.745 26.3 28.0800 14.6325 0.771

2803 U 534 SCM000766.3_62842099 11.29 1 234.110 221.689 187.456 1001.33 25.7 23.3268 10.9055 0.994

2804 U 535 SCM000766.3_62842128 11.29 1 234.110 221.689 187.456 1001.33 25.7 23.3268 10.9055 0.994

Pop: konya_batemF3_corr

Map: CombineMapkosambi

Session: Session 1 (IM)

licensed to: Akdeniz University, Seed and Agricultural Biotechnology Research Center, Antalya, Turkey

Şekil 4.8. Bitki boyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı

Bitki boyu karakteri ile ilişkili 1., 7. ve 9. kromozomlar üzerinde 3 adet majör QTL bölgesi belirlenmiştir (Çizelge 4.5). 1. kromozom üzerinde 64,500,453-64,959,843 kb lokasyonları arasında yer alan *qPH1.1* QTL bölgesi 4,34 LOD skoruna ve %10,80 fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahiptir. Bitki boyu karakteri ile ilişkili en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranına (%34,80) sahip olan QTL bölgesi ise *qPH7.1* olup 7. kromozom üzerinde 57,913,968-64,806,414 kb lokasyonları arasında yer almaktadır.

Diğer majör QTL bölgesi ise 9. kromozom üzerinde 3,266,334-3,610,075 kb lokasyonları arasında yer alan *qPH9.1*'dir. Bu QTL 5,50 LOD skoruna ve %13,50 fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahiptir (Şekil 4.11). Belirlenen 3 QTL bölgesinde artan eklemeli etkide *qPH1.1* ile *qPH7.1* QTL'lerine Erdurmuş allelleri ve *qPH9.1* QTL'ine ise Öğretmenoğlu allelleri katkıda bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Bitki boyu karakteri ile ilişkili majör QTL bölgeleri, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranları ve eklemeli etki

QTL Adı	Kromozom No	Bağlantı Grubu	LOD Skoru	Lokasyon (kb)	Fenotipik Varyasyonu Açıklama Oranı (%)	Eklemeli Etki
<i>qPH1.1</i>	1	4	4,34	64,500,453-64,959,843	10,80	13,64
<i>qPH7.1</i>	7	9	16,23	57,913,968-64,806,414	34,80	29,33
<i>qPH9.1</i>	9	8	5,50	3,266,334-3,610,075	13,50	20,07

4.4.2. Brix QTL'leri

Interval Mapping analiz sonucunda Brix karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL program görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.9).

Nr	Group	Position	Locus	LOD	# Iter	mu_A	mu_H	mu_B	Variance	% Expl	Additive	Dominance	GIC
2008	9	84.046	SCM000766.3_57982334	3.90	1	10.0001	9.58301	9.17386	0.737763	9.7	0.413117	-0.00396335	0.977
2009	9	85.046		3.74	1	9.99593	9.58476	9.17295	0.740803	9.4	0.411491	0.000318502	0.950
2006	9	83.133		3.50	1	9.95305	9.60614	9.17091	0.745406	8.8	0.391067	0.0441563	0.961
2007	9	83.204	SCM000766.3_58231698	3.51	1	9.95506	9.60241	9.17222	0.745282	8.8	0.391419	0.0387689	0.969
2010	9	86.046		3.46	1	9.97154	9.58920	9.18123	0.746246	8.7	0.395158	0.0128166	0.948
2015	9	90.910		3.45	1	9.94825	9.60738	9.15790	0.746411	8.7	0.395176	0.0542975	0.909
2016	9	91.910		3.45	1	9.94439	9.60678	9.15998	0.746538	8.7	0.392204	0.0545935	0.918
613	3	93.037	SCM000762.3_55215755	3.42	1	9.88988	9.51176	9.14650	0.747061	8.6	0.371692	-0.00643669	0.986
2014	9	89.910		3.42	1	9.95007	9.60574	9.16120	0.746996	8.6	0.394434	0.0501044	0.910
2017	9	92.910		3.41	1	9.93857	9.60410	9.16712	0.747348	8.6	0.385729	0.0512600	0.935
2021	9	95.407	SCM000766.3_59803007	3.40	1	9.90358	9.61388	9.17996	0.747408	8.6	0.361813	0.0721117	0.985
614	3	93.737	SCM000762.3_56344886	3.37	1	9.85720	9.53444	9.10776	0.747978	8.5	0.374720	0.0519595	0.982
2013	9	88.910		3.36	1	9.94972	9.60206	9.16967	0.748262	8.5	0.390023	0.0423596	0.920
2018	9	93.910		3.33	1	9.93089	9.59977	9.17853	0.748763	8.4	0.376178	0.0450631	0.962
2019	9	94.239	SCM000766.3_59610262	3.30	1	9.92797	9.59808	9.18305	0.749343	8.3	0.372458	0.0425695	0.973
2022	9	96.407		3.28	1	9.91550	9.60361	9.18346	0.749723	8.3	0.366023	0.0541282	0.951
603	3	88.382		3.27	1	9.90682	9.49764	9.15966	0.750009	8.2	0.373579	-0.0356015	0.937
604	3	89.382		3.26	1	9.89898	9.49616	9.16697	0.750305	8.2	0.366007	-0.0368084	0.951
612	3	92.863	SCM000762.3_55215782	3.23	1	9.87037	9.52026	9.14735	0.750152	8.2	0.361508	0.0113965	0.985
2012	9	87.910		3.26	1	9.94707	9.59678	9.18260	0.750731	8.2	0.382232	0.0319412	0.939
602	3	87.382		3.22	1	9.90654	9.50143	9.15819	0.751027	8.1	0.374176	-0.0309378	0.943
605	3	90.382		3.18	1	9.88425	9.49700	9.17917	0.751775	8.0	0.352540	-0.0347053	0.984
608	3	91.159	SCM000762.3_54356532	3.15	1	9.87187	9.50502	9.17298	0.752323	8.0	0.349444	-0.0174102	0.993
609	3	91.255	SCM000762.3_54181011	3.18	1	9.86699	9.51603	9.15579	0.751880	8.0	0.355601	0.00463649	0.998
606	3	90.713	SCM000762.3_54475333	3.15	1	9.87818	9.49771	9.18411	0.752479	7.9	0.347037	-0.0334349	1.000
607	3	90.785	SCM000762.3_54475313	3.13	1	9.87811	9.49488	9.18211	0.752781	7.9	0.348001	-0.0352300	1.000
2003	9	80.351		3.12	1	9.95912	9.59651	9.17665	0.752905	7.9	0.391234	0.0286298	0.813
2011	9	86.910	SCM000766.3_58549529	3.14	1	9.94203	9.59052	9.18997	0.752489	7.9	0.371529	0.0200208	0.967
2020	9	94.693	SCM000766.3_59610235	3.12	1	9.89812	9.60580	9.18609	0.752981	7.9	0.356011	0.0636955	0.978
2023	9	97.407		3.13	1	9.92299	9.59146	9.19369	0.752821	7.9	0.364648	0.0331205	0.932
601	3	86.382	SCM000762.3_53332506	3.10	1	9.98909	9.50694	9.16322	0.753344	7.8	0.367435	-0.0237110	0.969
2002	9	79.351		3.08	1	9.98054	9.56402	9.18028	0.753929	7.8	0.400182	-0.0164404	0.768
2004	9	79.351		3.08	1	9.92903	9.61916	9.19325	0.753782	7.8	0.367886	0.0580238	0.684
615	3	94.737		3.06	1	9.86381	9.51969	9.13955	0.754182	7.7	0.361930	0.0178020	0.852
939	4	118.142	SCM000760.3_64361388	3.03	1	9.83326	9.61622	9.11474	0.754698	7.7	0.359257	0.142221	1.000
618	3	97.528		3.02	1	9.91228	9.46991	9.22076	0.755047	7.6	0.345760	-0.0866150	0.957
619	3	98.133	SCM000762.3_56471845	3.02	1	9.91481	9.46244	9.24345	0.754963	7.6	0.335676	-0.116689	0.992

Şekil 4.9. Brix karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı

Brix karakteri ile ilişkili 3., ve 7. kromozomlar üzerinde 2 QTL bölgesi belirlenmiştir (Çizelge 4.6). 3. kromozom üzerinde 55,215,755 kb lokasyonunda yer alan *qBX3.1* QTL bölgesi 3,42 LOD skoruna ve %8,60 fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahiptir. 7. kromozom üzerinde 57,982,334 kb lokasyonunda yer alan *qBX7.1* QTL bölgesi ise 3,90 LOD skoruna ve %9,70 fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahiptir (Şekil 4.11). Çalışmamızda, Brix karakteri ile ilgili belirlenen en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranına sahip olan QTL bölgesi *qBX7.1*'dir. Belirlenen her iki QTL'de artan eklemeli etkiye Erdurmuş allelleri katkıda bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Brix karakteri ile ilişkili QTL bölgeleri, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranları ve eklemeli etki

QTL Adı	Kromozom No	Bağlantı Grubu	LOD Skoru	Lokasyon (kb)	Fenotipik Varyasyonu Açıklama Oranı (%)	Eklemeli Etki
<i>qBX3.1</i>	3	3	3,42	55,215,755	8,60	0,37
<i>qBX7.1</i>	7	9	3,90	57,982,334	9,70	0,41

4.4.3 Bitki öz suyu QTL'i

Interval Mapping analiz sonucunda bitki öz suyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL program görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.10). Bitki öz suyu karakteri ile ilişkili 1 adet majör QTL bölgesi belirlenmiştir. *qPJ6.1* QTL'i 6. kromozom üzerinde 50,628,405 kb lokasyonunda yer almaktadır (Şekil 4.11). Bu QTL'in LOD skoru 11,44 ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %26,00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bitki öz suyu karakterindeki artan eklemeli etkiye Öğretmenoğlu alleli katkıda bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Bitki öz suyu karakteri ile ilişkili majör QTL bölgesi, kromozom no, LOD skoru, lokasyon, fenotipik varyasyonu açıklama oranı ve eklemeli etki

QTL Adı	Kromozom No	Bağlantı Grubu	LOD Skoru	Lokasyon (kb)	Fenotipik Varyasyonu Açıklama Oranı (%)	Eklemeli Etki
<i>qPJ6.1</i>	6	10	11,44	50,628,405	26,00	37,68

MapQTL 6 - Sorghum10XXKonya_Batem_corr

File Edit Calculate Options Help

Analysis ? (Ctrl+Y)

Populations Maps Sessions

Session 1 (IM)

konya_batemF3_corr

bb

Group 1

Group 2

Group 3

Group 4

Group 5

Group 6

Group 7

Group 8

Group 9

Group 10

Unmapped

ya

Group 1

Group 2

Group 3

Group 4

Group 5

Group 6

Group 7

Group 8

Group 9

Group 10

Unmapped

osu

Group 1

Group 2

Group 3

Group 4

Group 5

Group 6

Group 7

Group 8

Pop: konya_batemF3_corr

Map: CombinedMapkosambi

Session: Session 1 (IM)

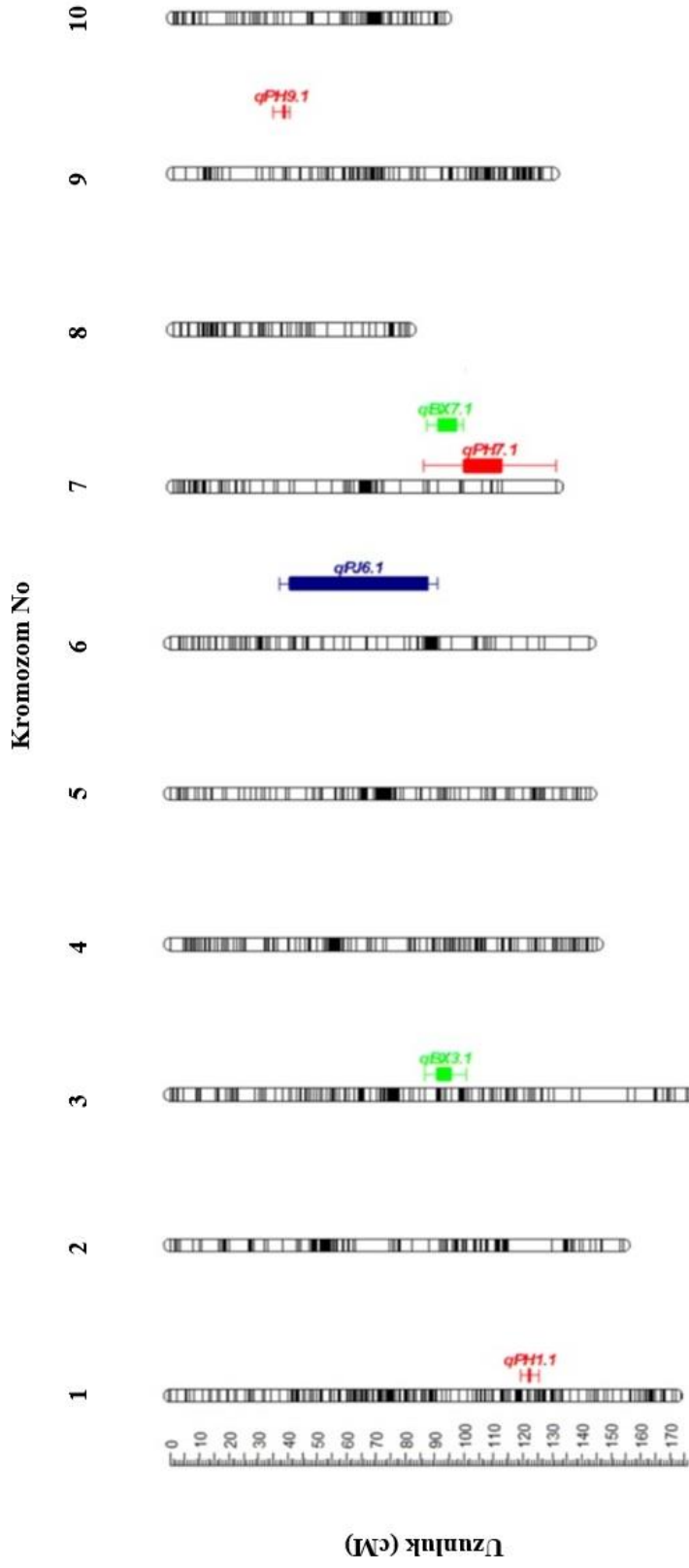
Project Notes Population Traits Genotypes Map Session Results Results (cont'd) Results Charts

Nr	Group	Position	Locus	LOD	# Iter	mu_A	mu_H	mu_B	Variance	% Expl.	Additive	Dominance	GIC
2136	10	53.905		11.71	1	192.041	144.404	114.224	2101.90	26.5	38.9087	-8.72785	0.942
2137	10	54.905		11.69	1	191.122	145.084	113.908	2102.90	26.5	38.6069	-7.43161	0.956
2139	10	56.681		11.45	1	191.374	145.767	114.7	2116.41	26.0	38.3361	-7.27075	0.918
2138	10	55.681	SCM000765.3_50628405	11.44	1	189.661	145.738	114.293	2116.83	26.0	37.6839	-6.23946	0.986
2135	10	52.905		11.36	1	191.697	144.024	115.417	2121.38	25.8	38.1400	-9.53343	0.955
2140	10	57.681		10.84	1	191.331	145.678	117.006	2150.29	24.8	37.1624	-8.49030	0.902
2134	10	51.905	SCM000765.3_51075114	10.68	1	190.128	143.979	117.358	2159.67	24.5	36.3846	-9.76395	0.996
2144	10	60.967		10.26	1	190.527	147.540	117.922	2183.69	23.7	36.3023	-6.68468	0.976
2145	10	61.204	SCM000765.3_47447032	10.21	1	190.215	147.749	117.897	2186.39	23.6	36.1591	-6.30760	0.993
2146	10	62.204		10.10	1	190.606	148.121	117.123	2192.81	23.3	36.7413	-5.74354	0.958
2143	10	59.967		10.09	1	190.564	146.605	119.110	2193.53	23.3	35.7271	-8.23168	0.940
2132	10	50.993		9.89	1	190.056	143.776	119.205	2204.59	22.9	35.4252	-10.8542	0.976
2133	10	51.271	SCM000765.3_51171383	9.88	1	189.916	143.539	119.970	2205.21	22.9	34.9731	-11.4040	0.991
2147	10	63.204		9.78	1	189.988	148.827	116.656	2210.94	22.7	36.6662	-4.49523	0.939
2131	10	49.993		9.77	1	189.656	145.007	116.580	2211.53	22.7	36.5380	-8.11078	0.941
2141	10	58.681		9.75	1	189.407	145.755	120.534	2212.78	22.6	34.4367	-9.21550	0.939
2130	10	48.993		9.43	1	187.831	146.718	114.384	2231.93	22.0	36.7236	-4.39023	0.932
2142	10	58.967	SCM000765.3_47994701	9.38	1	188.549	145.846	121.651	2234.37	21.9	33.4493	-9.25446	0.960
2148	10	64.204		9.30	1	188.443	149.763	116.602	2239.48	21.7	35.9205	-2.75979	0.936
2124	10	45.298	SCM000765.3_52482454	9.02	1	184.217	148.378	111.968	2255.83	21.1	36.1245	0.285043	0.987
2129	10	47.993		8.90	1	184.845	148.600	112.983	2263.08	20.9	35.9311	-0.314421	0.949
2725	U	456	SCM000765.3_46493451	8.89	1	187.155	148.976	119.381	2263.46	20.9	33.8869	-4.29198	1.000
2123	10	44.693		8.87	1	184.611	148.178	112.101	2264.95	20.8	36.2552	-0.177655	0.969
2125	10	46.075	SCM000765.3_52102500	8.84	1	184.025	148.971	114.024	2266.61	20.8	35.0009	-0.0538338	0.981
2126	10	46.350	SCM000765.3_52102467	8.70	1	183.402	149.316	114.666	2274.88	20.5	34.3676	0.282406	0.992
2149	10	65.204		8.68	1	186.178	150.773	117.056	2276.26	20.4	34.5613	-0.843915	0.949
2727	U	458	SCM000765.3_47421306	8.52	1	188.413	146.935	119.079	2285.93	20.1	34.6671	-6.81073	0.967
2122	10	43.693		8.33	1	184.311	147.845	113.545	2297.01	19.7	35.3825	-1.08287	0.966
2128	10	46.993	SCM000765.3_52367937	8.25	1	181.173	150.298	112.666	2301.78	19.5	34.2538	3.37807	0.994
2150	10	66.204		7.97	1	183.458	151.696	118.068	2318.83	18.9	32.6951	0.933200	0.978
2127	10	46.722	SCM000765.3_52308650	7.93	1	179.531	151.713	112.644	2321.57	18.8	33.4437	5.62570	0.992
2151	10	66.651	SCM000765.3_45662181	7.64	1	182.163	152.046	118.700	2339.12	18.2	31.7317	1.61467	0.996
2121	10	42.693	SCM000765.3_53005219	7.51	1	182.795	147.596	116.315	2347.27	17.9	33.2399	-1.95911	0.998
2722	U	453	SCM000765.3_45972073	7.40	1	181.645	148.836	118.218	2354.10	17.7	31.7137	-1.09625	0.899
2719	U	450	SCM000765.3_45487674	7.27	1	182.160	150.498	120.534	2362.01	17.4	30.8127	-0.848663	1.000
2152	10	67.093	SCM000765.3_45496443	7.25	1	181.320	150.966	119.985	2363.23	17.4	30.6674	0.313872	0.996
2724	U	455	SCM000765.3_46059493	7.25	1	181.895	150.182	113.133	2363.70	17.4	34.3809	2.66833	0.879

licensed to: Akdeniz Universit . Seed and Agricultural Biotechnology Research Center, Antalya, Turkey

114.224

Şekil 4.10. Bitki öz suyu karakterine ilişkin sonuçların yer aldığı MapQTL programı



Şekil 4.11. Bitki boyu, Brix, bitki öz suyu ve yeşil ağırlık karakterlerine ait QTL bölgelerinin kromozomlar üzerindeki lokasyonu

4.5. Gen/Protein Fonksiyonlarının Belirlenmesi

IGB programından alınan ilgili özelliklere ait SNP QTL bölgelerinin yakınındaki sekanslar F GENESH2 programına yüklenmiştir. Olası gen/protein mRNA sekans dizilimleri blast yapılarak ilgili SNP bölgesindeki değişimler analiz edilmiştir. 7. kromozom üzerinde ve 59,803,007 kb'de yer alan bitki boyu SNP QTL'ine ait mRNA sekans dizilimi referans genom ile karşılaştırıldığında SNP olarak tanımlanmış olduğumuz guanin yerine sitozin nükleotidinin olması durumunda 4. exonda yer alan 120. amino asit Glutamat (E) yerine Aspartat (D) olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12). Bu bölgede belirlenen hypothetical protein varsayımsal bir protein olup varlığı tahmin edilen ancak deneysel kanıt bulunmayan bir proteindir.

hypothetical protein SORBI_3007G163500 [Sorghum bicolor]

Sequence ID: [KXG25355.1](#) Length: 968 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 780 [GenPept](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
1589 bits(4114)	0.0	Compositional matrix adjust.	779/780(99%)	780/780(100%)	0/780(0%)
Query 1	MASLRHRRGIGAAGYDDYIHDDDDGSGTTAPD	DDTATDPEEEEEADDDDEEEEEEEEEEE	60		
Sbjct 1	MASLRHRRGIGAAGYDDYIHDDDDGSGTTAPD	DDTATDPEEEEEADDDDEEEEEEEEEEE	60		
Query 61	VEDGRRRLHLGLHSMTAKGIQHLCS	ELLEIKKASEEDFSANVYLSYLSFIRM	FQEA	LD	120
Sbjct 61	VEDGRRRLHLGLHSMTAKGIQHLCS	ELLEIKKASEEDFSANVYLSYLSFIRM	FQEA	LD	120
Query 121	KDVHHLKQVMHRRLLVQHL	SINCLYSPSSASMLPSSGGSK	EEEEAA	MDGIFLPD	180
Sbjct 121	KDVHHLKQVMHRRLLVQHL	SINCLYSPSSASMLPSSGGSK	EEEEAA	MDGIFLPD	180
Query 181	GERDELELDELLESEHRMDEAIQL	LELRGQALQTMQQQADDDG	AIFASSVR	ALSATKA	240
Sbjct 181	GERDELELDELLESEHRMDEAIQL	LELRGQALQTMQQQADDDG	AIFASSVR	ALSATKA	240
Query 241	RVAARLASLAENPRTPRPELLK	ALSGLCRLGDPEQANHLLFQV	HRA	SVRGVEEL	300
Sbjct 241	RVAARLASLAENPRTPRPELLK	ALSGLCRLGDPEQANHLLFQV	HRA	SVRGVEEL	300
Query 301	HQQSIAGGGGGNYIKDLARVVF	ASIVRTSRSFVALHGHPS	SPYTPRL	VRWAREE	360
Sbjct 301	HQQSIAGGGGGNYIKDLARVVF	ASIVRTSRSFVALHGHPS	SPYTPRL	VRWAREE	360
Query 361	AFSEYVTSMSPPATAAHLAL	AAEACAVSYSPLLRAVDV	VASEQDV	VALVPCV	420
Sbjct 361	AFSEYVTSMSPPATAAHLAL	AAEACAVSYSPLLRAVDV	VASEQDV	VALVPCV	420
Query 421	AMYGRHLKDVVRLLVASDAW	VLGRFLMPSGVVQGAAGAP	QPEYCL	LTN	480
Sbjct 421	AMYGRHLKDVVRLLVASDAW	VLGRFLMPSGVVQGAAGAP	QPEYCL	LTN	480
Query 481	VVEDVAMPLHRLGIGTND	SVGLQLVAELFREYMH	SI	VVLP	540
Sbjct 481	VVEDVAMPLHRLGIGTND	SVGLQLVAELFREYMH	SI	VVLP	540
Query 541	ANGGGGGDERYTQ	LAVLINCTTLVSLFRT	MASGVFRTAPPP	STPSGFP	600
Sbjct 541	ANGGGGGDERYTQ	LAVLINCTTLVSLFRT	MASGVFRTAPPP	STPSGFP	600
Query 601	LISLIKEAAGQVNSCF	CQQFIRDTMSSLAQV	HFRFGSGT	PPPPQEQ	660
Sbjct 601	LISLIKEAAGQVNSCF	CQQFIRDTMSSLAQV	HFRFGSGT	PPPPQEQ	660
Query 661	FLRVRLNEVYGAILSG	EDGTMKKLLREL	MEAIISW	SSNLV	720
Sbjct 661	FLRVRLNEVYGAILSG	EDGTMKKLLREL	MEAIISW	SSNLV	720
Query 721	EFAELGGFSSSIRSSAM	DLAKAQEKVAGGEL	DDVT	CDEGAGG	780
Sbjct 721	EFAELGGFSSSIRSSAM	DLAKAQEKVAGGEL	DDVT	CDEGAGG	780

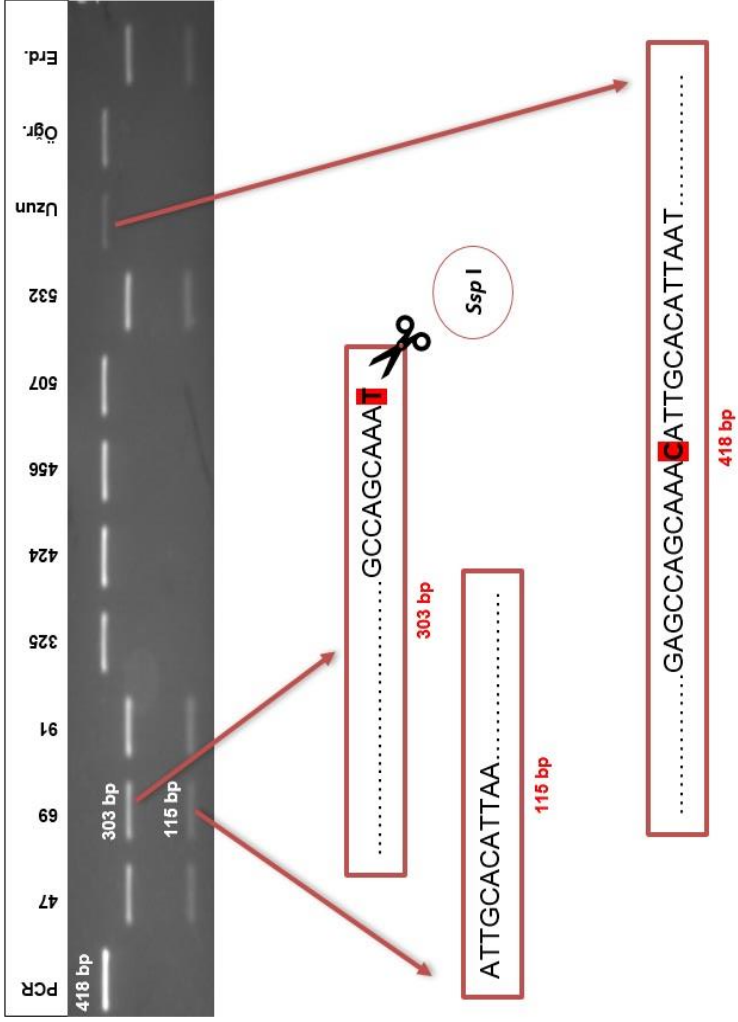
Şekil 4.12. 7. kromozom üzerinde ve 59,803,007 kb'de yer alan bitki boyu SNP QTL'ine ait mRNA sekans dizilimi

4.6. Geliştirilen Markerlerin Sekansı Bilinen Çeşit ve Hatlarda Analizi

Geliştirilen CAPS markerlerinin analizinde 47, 69, 91, 325, 424, 456, 507 ve 532 hatları; Uzun, Öğretmenoğlu ve Erdurmuş çeşitleri kullanılmıştır. İlgili QTL bölgelerinde sekans verilerine sahip olduğumuz bu çeşit ve hatlarda SNP olup olmadığı referans genom baz alınarak belirlenmiş ve genomik düzeyde ön bilgi oluşturulmuştur. Geliştirilen her bir marker için yukarıda belirtilen hat ve çeşitler kullanılmış, elde edilen her bir PCR ürününde uygun enzim kullanılarak analizler tamamlanmıştır. Çeşit ve hatların sekans verileri sayesinde, geliştirilen CAPS markerlerinin etkinliği tam ve gerçek manada belirlenmiştir. Enzim ürünleri %2,5 oranında agaroz içeren jele ayrımın gözlemlenebilmesi için bir adet ilgili PCR ürünü ile yüklenmiştir.

4.6.1. Bitki Boyu Markerlerinin Analizi

B1 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,6 olup 418 baz çiftinden oluşan bölgede SNP olduğu taktirde SspI enzimi kesim bölgesini tanımakta ve ürünü kesmektedir.



Şekil 4.13. Çeşit ve hatlarda B1 markeri ve SspI enzim analizleri

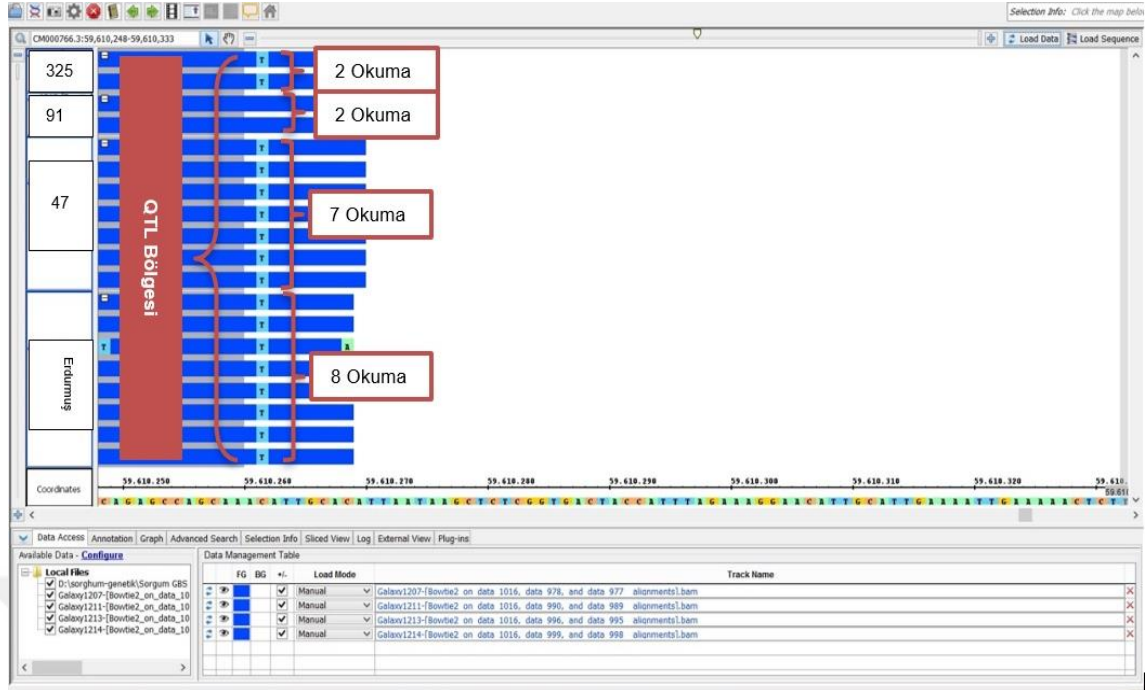
PCR ürünü 418 bp olup, enzim kesim işlemini gerçekleştirmediği hat veya çeşitlerde de aynı uzunlukta ürün vermiştir. Jelden görüldüğü üzere 47, 69, 91, 532,

Erdurmuş çeşit veya hatlarında enzim kesim işlemini gerçekleştirmiş, 303 ve 115 bp uzunluğunda iki bant oluşturmuştur. Bu çeşit veya hatlarda enzim değerlendirmesine göre SNP olduğu anlaşılmaktadır. 325, 424, 456, 507, Uzun, Öğretmenoğlu çeşit veya hatlarında enzim kesim işlemini gerçekleştirmemiştir (Şekil 4.13). Bu çeşit veya hatlarda ise ilgili bölgede SNP bulunmamaktadır.

Genomik sekans verileri sayesinde veriler değerlendirilmiş ve kolaylıkla ilgili lokusta SNP olup olmama durumu belirlenebilmiştir. İlgili bölgenin sekans verileri kullanılarak CAPS markeri geliştirilmiş ve geliştirilen markerin hat veya çeşitler üzerinde etkinliği tanımlanmıştır. Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda sitozin (C) olan nükleotit timin (T) nükleotine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Timin olan bu bölgelerde SspI enzimi kesim bölgesini tanımladığı için kesim işlemini gerçekleştirmiş ve SNP olduğunu bildirmiştir. Fakat 91 ve 325 nolu hatlarda ilgili bölgedeki dizilimde yer alan nükleotit ile enzimin kesim noktasında yer alan nükleotit eşleşmemektedir. Bu farklılığın sebebinin anlaşılması için tekrar sekans verileri değerlendirilmiştir. Görülmüştür ki bu iki hatta ait okumalarda diğer çeşit veya hatlara göre daha düşük tekrarlı okumalar yapılmıştır (Şekil 4.14). Bu sonuçların okumadan kaynaklı eksikliklerden dolayı uyuşmadığı anlaşılmıştır. Bu sebepten 91 ve 325 nolu hatlar marker etkinliğine dahil edilmemiş ve sonuçlar tekrar değerlendirilmiştir. Böylece sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.

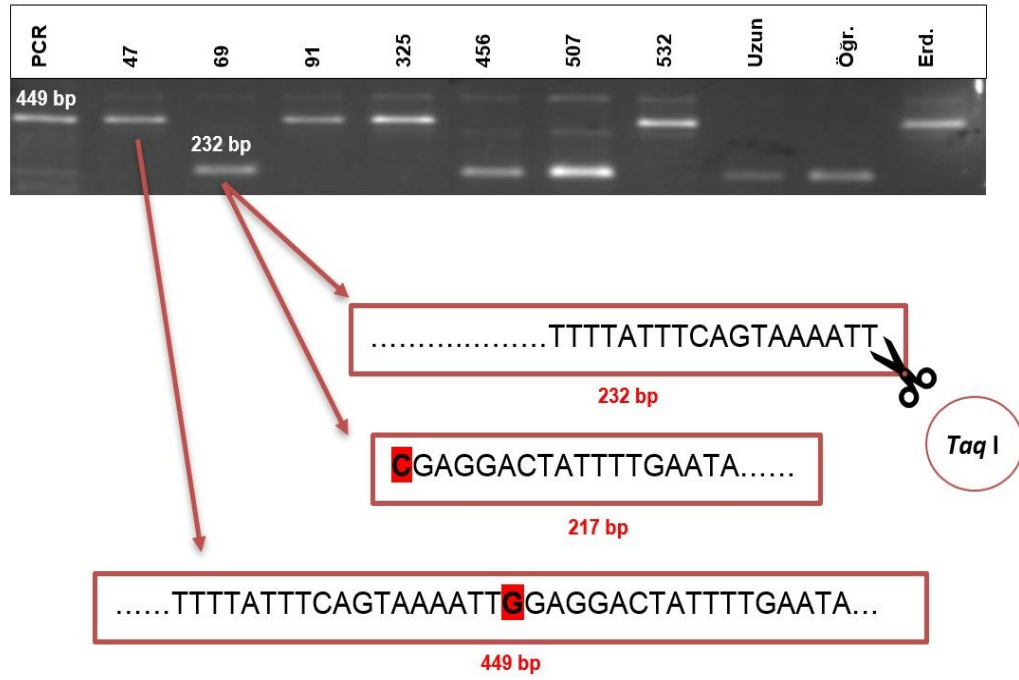
Çizelge 4.8. B1 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesim Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			CAAA C ATTGC
Erdurmuş	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA T ATTGC
Öğretmenoğlu	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
47	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA T ATTGC
69	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA T ATTGC
91	Yok	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA C ATTGC
325	Var	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA T ATTGC
424	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
456	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
507	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
532	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA T ATTGC
Uzun	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC



Şekil 4.14. B1 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri

B7 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %30,0 olup 449 bp uzunluğunda PCR ürünü oluşturmaktadır. İlgili bölgede SNP olmadığı takdirde sekans diziliminde *TaqI* enzimi kesim bölgesini tanımakta ve ürünü kesmektedir. PCR sonucu üretilen ürün 449 bp olup, enzim kesim işlemini gerçekleştirmediği hat veya çeşitlerde de aynı uzunlukta ürün vermiştir. Jelden görüldüğü üzere 69, 456, 507, Uzun ve Öğretmenoğlu çeşit veya hatlarında enzim kesim işlemini gerçekleştirmiş, 232 ve 217 bp (agaroz jelde 15 bp'lık fark çok uzun bir mesafe olmadığı için bantlar üst üste gelmiştir ve bu yüzden 2. bant çok net görünmemektedir) uzunluğunda iki bant oluşturmuştur (Şekil 4.15). Bu çeşit veya hatlarda enzim değerlendirmesine göre SNP olmadığı anlaşılmaktadır. Geriye kalan çeşit veya hatlarda ise (47, 91, 325, 532 ve Erdurmuş) enzim kesim işlemini gerçekleştirmemiş ve böylece ilgili bölgede SNP bulunmadığı belirlenmiştir. Analizlerin tekrarlanmasına rağmen bant oluşturmaması sebebiyle 424 hattı sonuç değerlendirilmesinde kullanılmamıştır. Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda sitozin (C) olan nükleotit guanin (G) nükleotidine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Guanin olan bu bölgelerde *TaqI* enzimi kesim bölgesini tanımlayamadığı için kesim işlemini gerçekleştirmemiş ve bize SNP olduğunu bildirmiştir. Kapsamlı bir şekilde, sonuçlar değerlendirildiğinde, sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.



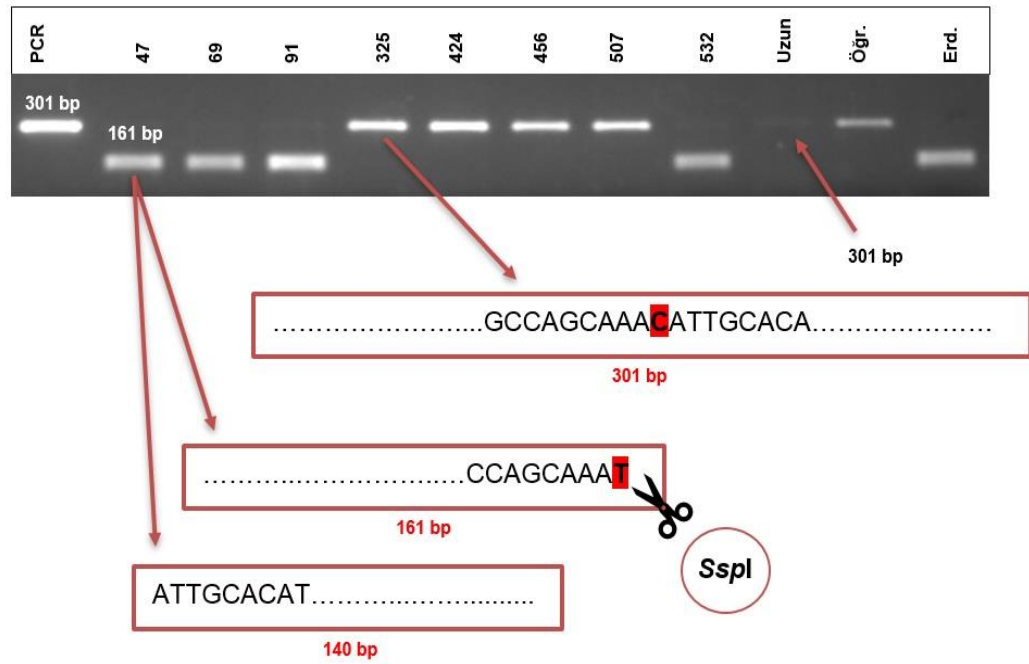
Şekil 4.15. Çeşit ve hatlarda B7 markeri ve *TaqI* enzim analizleri

Çizelge 4.9. B7 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesim Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			AAATT C GAGG
Erdurmuş	Var	Kesilmemiş	AAATT G GAGG	AAATT G GAGG
Öğretmenoğlu	Yok	Kesilmiş	AAATT C GAGG	AAATT C GAGG
47	Var	Kesilmemiş	AAATT G GAGG	AAATT G GAGG
69	Yok	Kesilmiş	AAATT C GAGG	AAATT C GAGG
91	Var	Kesilmemiş	AAATT G GAGG	AAATT G GAGG
325	Var	Kesilmemiş	AAATT G GAGG	AAATT G GAGG
456	Yok	Kesilmiş	AAATT C GAGG	AAATT C GAGG
507	Yok	Kesilmiş	AAATT C GAGG	AAATT C GAGG
532	Var	Kesilmemiş	AAATT G GAGG	AAATT G GAGG
Uzun	Yok	Kesilmiş	AAATT C GAGG	AAATT C GAGG

4.6.2. Brix markerlerinin analizi

X3 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,3 olup 301 bp uzunluğunda PCR ürünü oluşturmaktadır. İlgili bölgede SNP olduğu taktirde sekans diziliminde *SspI* enzimi kesim bölgesini tanımakta ve ürünü kesmektedir.



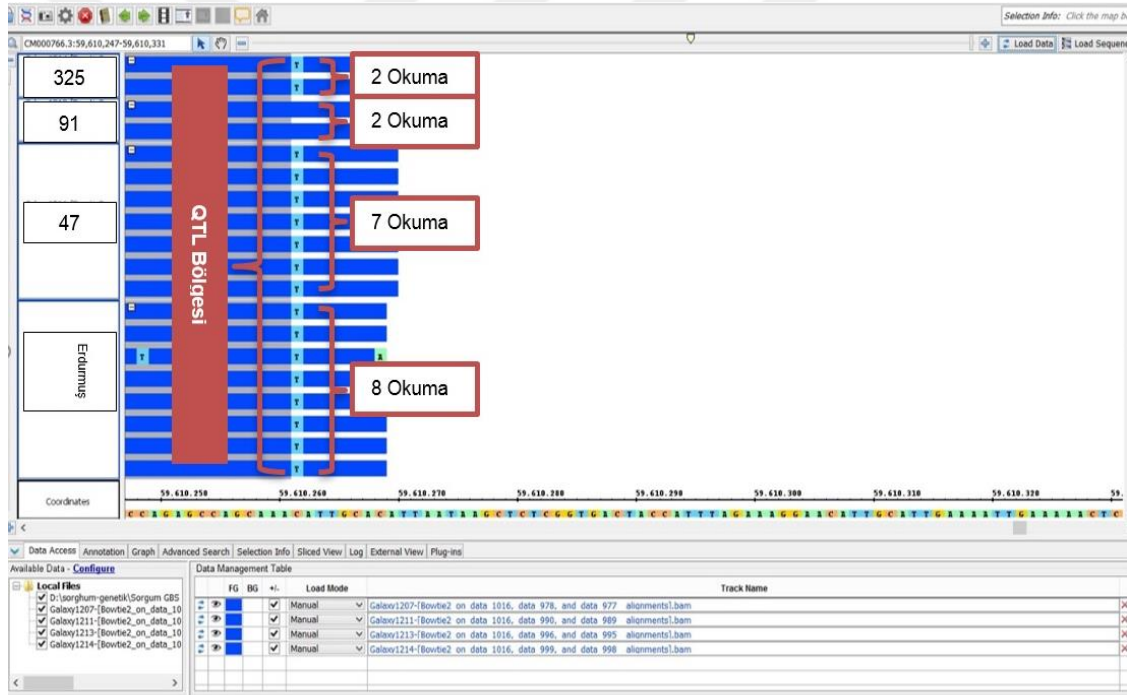
Şekil 4.16. Çeşit ve hatlarda X3 markeri ve *SspI* enzim analizleri

PCR sonucu elde edilen ürün 301 bp olup, enzim kesim işlemini gerçekleştirmediği çeşit veya hatlarda da aynı ürünü vermiştir. Agaroz jel değerlendirildiğinde 47, 69, 91, 532, Erdurmuş çeşit veya hatlarında enzimin kesim işlemini gerçekleştirdiği görülmektedir. 161 ve 140 (agaroz jelde 21 bp'lık fark çok uzun bir mesafe olmadığı için bantlar üst üste gelmiştir ve bu yüzden 2. bant çok net görünmemektedir) bp uzunluğunda iki bant oluşmuştur (Şekil 4.16). Bu durum bize bu çeşit ve hatlarda SNP olduğunu açıklamaktadır. 325, 424, 456, 507, Uzun, Öğretmenoğlu çeşit ve hatlarda ise enzimin kesim işlemini gerçekleştirmediği görülmektedir. Bu sonuca dayanarak belirtilen çeşit ve hatlarda SNP bulunmamaktadır.

Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda sitozin (C) olan nükleotit timin (T) nükleotidine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Timin olan bu bölgelerde *SspI* enzimi kesim bölgesini tanımladığı için kesim işlemini gerçekleştirmiş ve bize SNP olduğunu bildirmiştir. Fakat 91 ve 325 nolu hatlarda ilgili bölgedeki dizilimde yer alan nükleotit ile enzimin kesim noktasında yer alan nükleotit eşleşmemektedir. Bu farklılığın sebebinin anlaşılması için tekrar sekans verileri değerlendirilmiştir. Görülmüştür ki B1 markerinin geliştirildiği bölgedeki gibi, bu iki hatta ait okumalarda diğer çeşit veya hatlara göre daha düşük tekrarlı okuma yapılmıştır (Şekil 4.17). Yine bu sebepten kaynaklı analizlerden elde edilen sonuçlarda yanlış payı olmaması adına 91 ve 325 nolu hatlar değerlendirilmeye dahil edilmemiştir. Bu kapsamda sonuçlar değerlendirildiğinde sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.10. X3 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

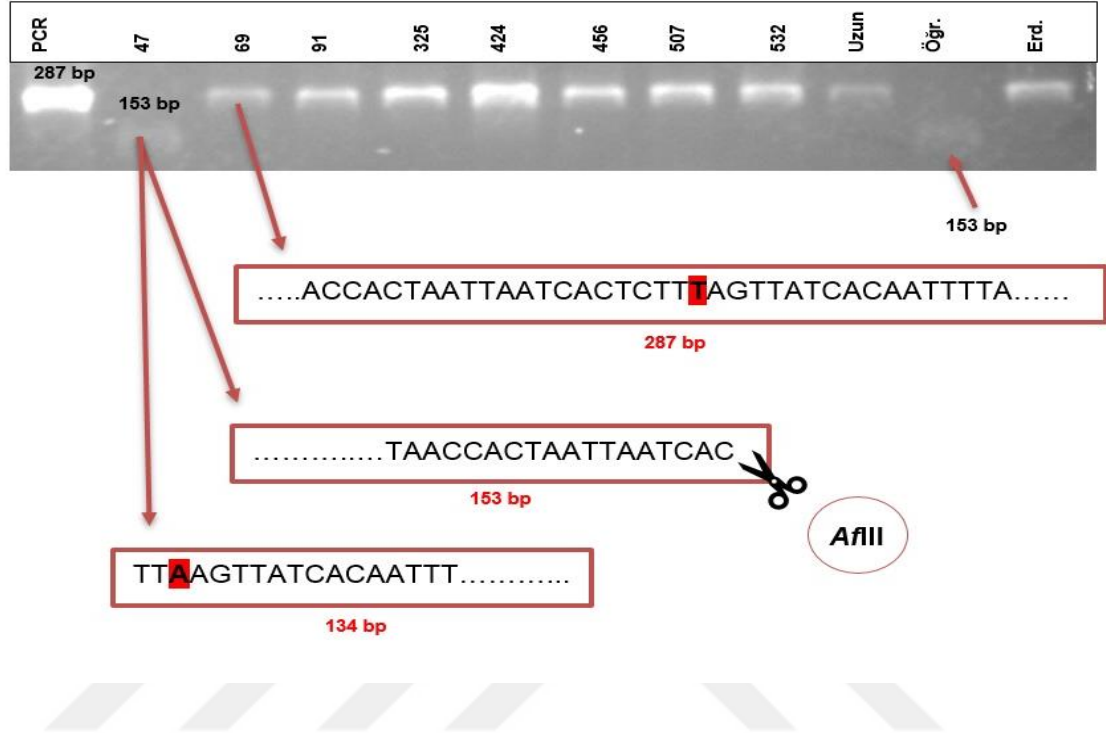
Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesme Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			CAAA C ATTGC
Erdurmuş	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAAT T ATTGC
Öğretmenoğlu	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
47	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAAT T ATTGC
69	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAAT T ATTGC
91	Yok	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAA C ATTGC
325	Var	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAAT T ATTGC
424	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
456	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
507	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC
532	Var	Kesilmiş	CAAAT T ATTGC	CAAAT T ATTGC
Uzun	Yok	Kesilmemiş	CAAA C ATTGC	CAAA C ATTGC



Şekil 4.17. X3 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri

X6 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,5 olup 287 bp uzunluğunda ürün oluşturmaktadır. Oluşan bu ürün SNP olma durumunda AfIII enzimi tarafından kesilmektedir. PCR sonucu üretilen ürün 287 bp olup, enzimin kesim işlemini gerçekleştirmediği çeşit ve hatlarda da aynı uzunlukta ürün vermiştir. Jel değerlendirildiğinde; 47 ve Öğretmenoğlu çeşit ve hattında enzim kesim işlemini gerçekleştirmiş, 153 ve 134 bp (Agaroz jelde 19 bp'lık fark çok uzun bir mesafe olmadığı için bantlar üst üste gelmiştir) uzunluğunda iki bant oluşturmuştur (Şekil 4.18). Bu çeşit

ve hatlarda enzim değerlendirmesine göre SNP olduğu anlaşılmaktadır. Geriye kalan çeşit ve hatlarda ise (69, 91, 325, 424, 456, 507, 532, Uzun ve Erdurmuş) enzim kesim işlemini gerçekleştirmemiş ve ilgili bölgede SNP bulunmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.18. Çeşit ve hatlarda X6 markeri ve AfIII enzim analizleri

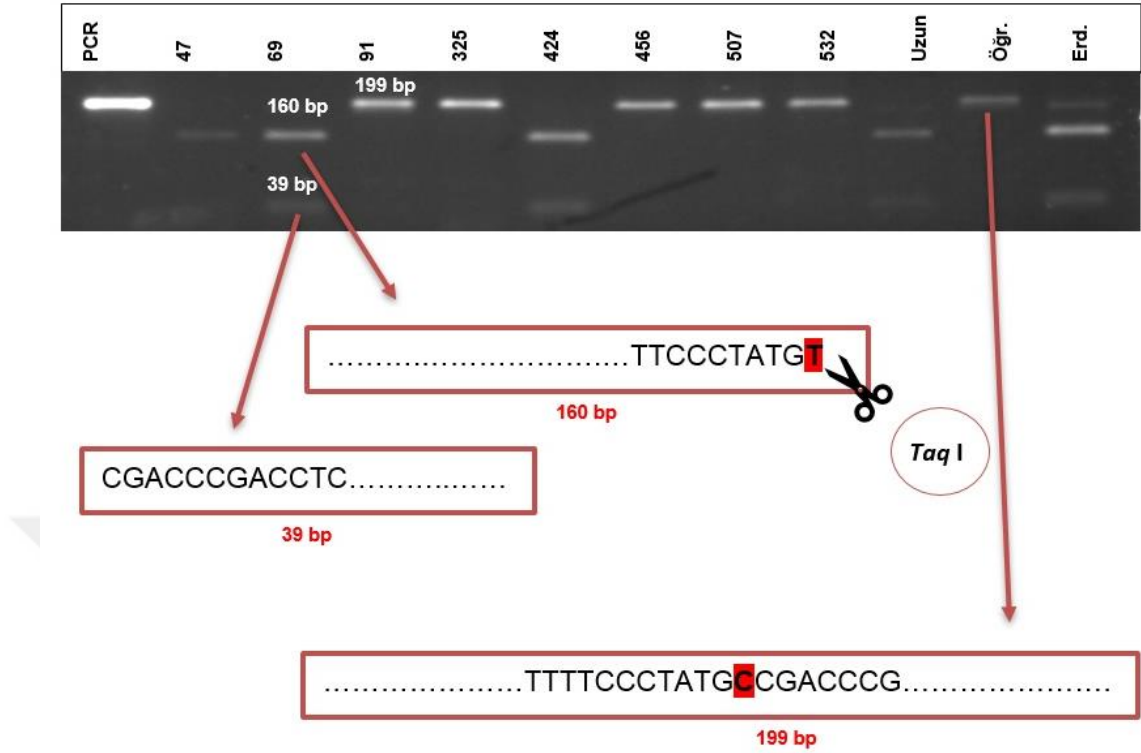
Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.11’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda timin (T) olan nükleotit adenin (A) nükleotidine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11. X6 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesme Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			ACTCTTTAGT
Erdurmuş	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
Öğretmenoğlu	Var	Kesilmiş	ACTC TTAAGT	ACTCTTAAGT
47	Var	Kesilmiş	ACTC TTAAGT	ACTCTTAAGT
69	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
91	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
325	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
424	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
456	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
507	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
532	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT
Uzun	Yok	Kesilmemiş	ACTCTTTAGT	ACTCTTTAGT

X7 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,6 olup 199 bp uzunluğunda ürün oluşturmaktadır. *TaqI* enzimi, bu ürünü SNP olma durumunda kesmektedir. PCR sonucu üretilen ürün 199 bp olup, enzimin kesim işlemini gerçekleştirmediği çeşit ve hatlarda da aynı boyda ürün vermiştir. Jel değerlendirildiğinde; 47, 69, 424, Uzun, Erdurmuş çeşit ve hatlarında enzim kesim işlemini gerçekleştirmiş, 160 ve 39 bp uzunluğunda iki bant oluşturmuştur (Şekil 4.19). Bu çeşit ve hatlarda enzim değerlendirmesine göre SNP olduğu anlaşılmaktadır. 91, 325, 456, 507, 532, Öğretmenoğlu çeşit ve hatlarında ise enzim kesim işlemini gerçekleştirmemiş ve ilgili bölgede SNP bulunmadığı belirlenmiştir.

Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.12’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda sitozin (C) olan nükleotit timin (T) nükleotine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.19. Çeşit ve hatlarda X7 markeri ve *TaqI* enzim analizleri

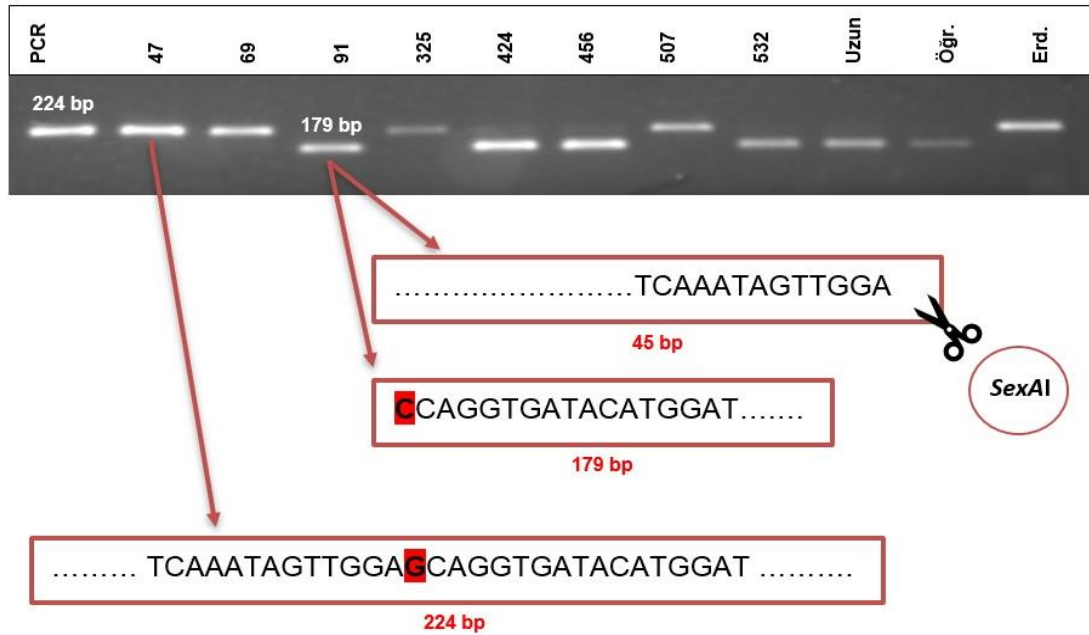
Çizelge 4.12. X7 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesme Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			CTATGCCGAC
Erdurmuş	Var	Kesilmiş	CTATGTCGAC	CTATGTCGAC
Öğretmenoğlu	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
47	Var	Kesilmiş	CTATGTCGAC	CTATGTCGAC
69	Var	Kesilmiş	CTATGTCGAC	CTATGTCGAC
91	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
325	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
424	Var	Kesilmiş	CTATGTCGAC	CTATGTCGAC
456	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
507	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
532	Yok	Kesilmemiş	CTATGCCGAC	CTATGCCGAC
Uzun	Var	Kesilmiş	CTATGTCGAC	CTATGTCGAC

4.6.3. Bitki öz suyu markerlerinin analizi

Ö13 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %18,2 olup 224 baz çiftinden oluşan bölgeyi SNP olmadığı taktirde SexAI enzimi kesmekte, 45 ve 179 bp uzunluğunda iki bant oluşturmaktadır. Agaroz jel incelendiğinde 91, 424, 456, 532, Uzun, Öğretmenoğlu çeşit ve hatlarında enzim kesim işlemini gerçekleştirmiş; 179 ve 45 (Jelde görünmeyen) iki bant oluşturmıştır (Şekil 4.20). 47, 69, 325, 507, Erdurmuş çeşit ve hatlarında ise enzim kesim işlemini gerçekleştirilmeyip 224 bp uzunluğunda tek bant oluşmuştur. Enzim kesim durumuna göre iki bant oluşan çeşit ve hatlarda SNP olmadığı, tek bant oluşan çeşit ve hatlarda ise SNP olduğu skorlaması yapılmıştır.

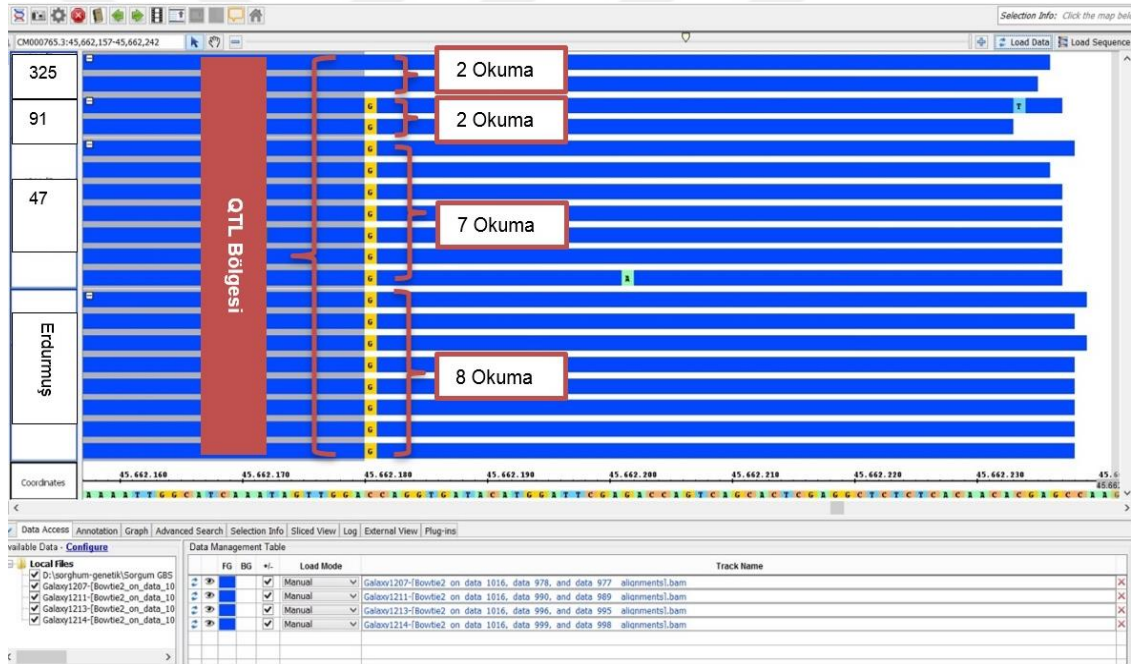
Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.13'te verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda guanin (G) olan nükleotit sitozin (C) nükleotidine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Fakat 91 ve 325 nolu hatlarda ilgili bölgedeki dizilimde yer alan nükleotit ile enzimin kesim noktasında yer alan nükleotit eşleşmemektedir. Bu farklılığın sebebinin anlaşılması için diğer marker analizlerinde gözlenen eşleşmelerde olduğu gibi tekrar sekans verileri değerlendirilmiştir. Görülmüştür ki Ö13 markerinin geliştirildiği bölgede bu iki hatta ait okumalarda diğer çeşit veya hatlara göre daha düşük tekrarlı okuma yapılmıştır (Şekil 4.21). Yine bu sebepten kaynaklı analizlerden elde edilen sonuçlarda yanlışma payı olmaması adına 91 ve 325 nolu hatlar değerlendirilmeye dahil edilmemiştir. Bu kapsamda sonuçlar değerlendirildiğinde sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.



Şekil.4.20. Çeşit ve hatlarda Ö13 markeri ve SexAI enzim analizleri

Çizelge 4.13. Ö13 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesme Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			TGGAC C AGG
Erdurmuş	Var	Kesilmemiş	TGGAG C AGG	TGGAG C AGG
Öğretmenoğlu	Yok	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAC C AGG
47	Var	Kesilmemiş	TGGAG C AGG	TGGAG C AGG
69	Var	Kesilmemiş	TGGAG C AGG	TGGAG C AGG
91	Var	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAG C AGG
325	Yok	Kesilmemiş	TGGAG C AGG	TGGAC C AGG
424	Yok	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAC C AGG
456	Yok	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAC C AGG
507	Var	Kesilmemiş	TGGAG C AGG	TGGAG C AGG
532	Yok	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAC C AGG
Uzun	Yok	Kesilmiş	TGGA C AGG	TGGAC C AGG

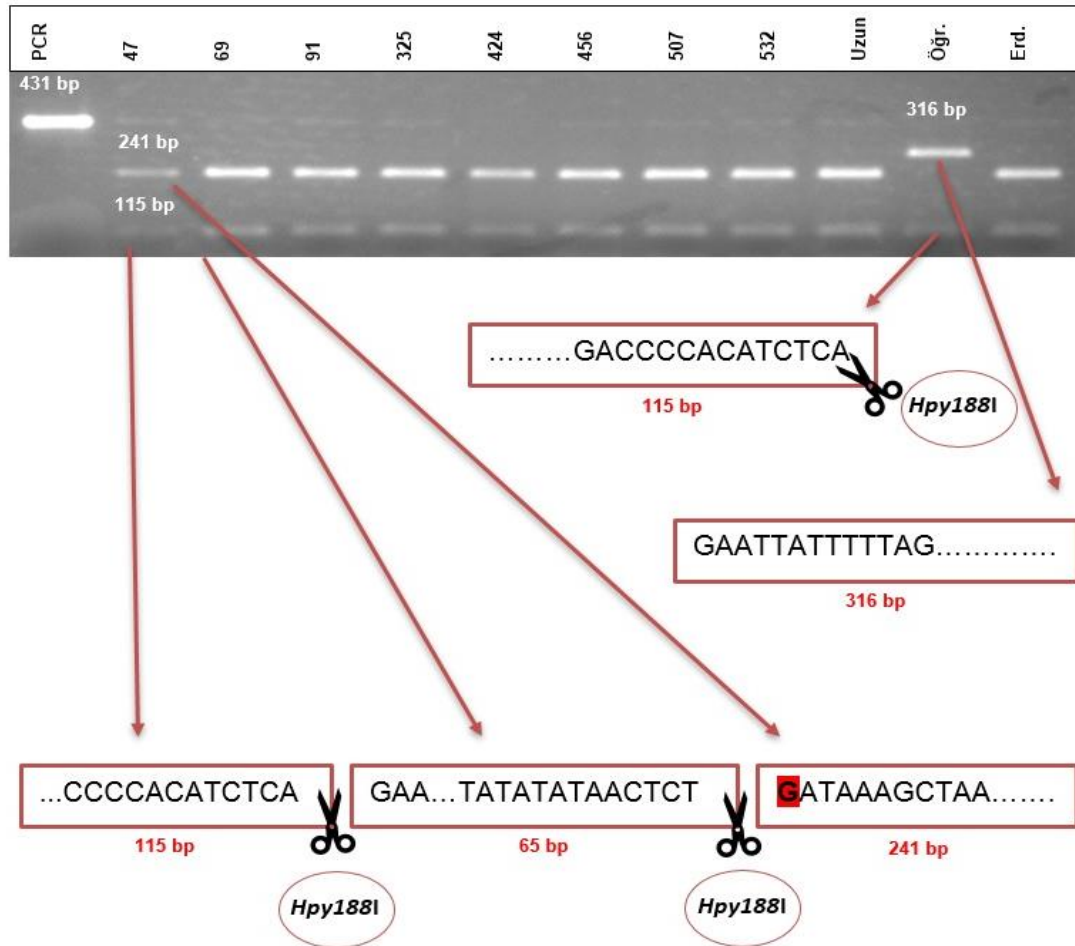


Şekil 4.21. Ö13 markerinin geliştirildiği QTL bölgesinde IGB programında 91 ve 325 hatlarına ait sekans ve okuma verileri

Ö15 markerinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı %17,7 olup 431 bp PCR ürünü oluşturmaktadır. SNP olmadığı takdirde, *Hpy188I* enzimine ait kesim bölgesi (TC Δ N Δ GA) 2 farklı yerde oluşmakta ve PCR ürünü bu bölgelerden kesmektedir. 115, 65 ve 241 bp olmak üzere üç bant oluşturmaktadır. SNP olduğu takdirde ise kesim bölgelerinden birine ait sekans dizilimi değiştiği için bir bölgede enzim kesim noktasını tanımlayamayıp tek bölgeden kesmektedir. Bu durumda 115 ve 316 bp uzunluğunda iki bant oluşturmaktadır.

Agaroz jel görüntüsü incelendiğinde; 47, 69, 91, 325, 424, 456, 507, 532, Uzun, Erdurmuş çeşit ve hatlarında enzim iki bölgeden kesmiş, 115 (agaroz jelde görünmeyen), 65 (agaroz jelde görünmeyen) ve 241 bp uzunluğunda 3 bant oluşturmuştur (Şekil 4.22). Bu durum belirtilen çeşit ve hatlarda ilgili bölgede SNP olmadığını göstermektedir. Öğretmenoğlu çeşitinde ise enzim tek bölgeden kesim işlemini gerçekleştirmiş, 115 ve 316 bp uzunluğunda iki bant oluşturmuştur. Bu durumda bize Öğretmenoğlu çeşitinde SNP olduğunu desteklemektedir.

Sekans verilerinden elde etmiş olduğumuz SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim çizelge 4.14'te verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, ilgili bölgede referans genomda guanin (G) olan nükleotit timin (T) nükleotitine dönüşmüş ve SNP bölgesi olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.



Şekil.4.22. Çeşit ve hatlarda Ö15 markeri ve *Hpy188I* enzim analizleri

Çizelge 4.14. Ö15 markeri için çeşit ve hatlarda SNP olma durumu, enzimin kesim durumu, enzim kesim bölgesi ve ilgili bölgedeki dizilim

Referans Genom/Çeşit/Hat	SNP	Enzimin Kesme Durumu	Enzim Kesim Bölgesi	İlgili Bölgedeki Dizilim
Referans Genom	Yok			ACTCT G ATAA
Erdurmuş	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
Öğretmenoğlu	Var	Tek Bölgeden kesilmiş	ACTCT T ATAA	ACTCT T ATAA
47	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
69	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
91	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
325	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
424	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
456	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
507	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
532	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA
Uzun	Yok	İki Bölgeden Kesilmiş	ACTCT G ATAA	ACTCT G ATAA

4.7. Erdurmuş Çeşidinde Bulunmayan SNP QTL'lerin Belirlenmesi

Daha önce belirlenen SNP QTL bölgeleri IGB (Integrated Genome Browser) programına girilmiş ve her bir çeşit ya da hatlar için tek tek ilgili bölgelerdeki SNP QTL'ler değerlendirilmiştir. Her bir SNP QTL bölgesinde bulunan sekanslar hizalanmış ve ilgili bölgelerde oluşan tek nükleotit farklılıkları belirlenmiştir. Her bir çizelgede ilgili SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşidinden farklı nükleotit içeren hatlar ve çeşitlerde bulunan nükleotitler, renklendirilerek verilmiştir. Bu sayede Erdurmuş çeşidinden farklı SNP QTL içeren hatlar belirlenerek melezlerin seçimi genetik analizler ile de desteklenmiştir.

Çizelge 4.15. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan bitki boyu ile ilişkili 7. kromozomdaki (SCM000766.3) SNP QTL'ler

SNP QTL Bölgeleri	Referans Genom	Hatlar ve Çeşitler							
		47	69	91	325	424	456	507	
SCM000766.3:59610235	CCAT T GTT	CCAT C GTT		CCAT T GTT		CCAT T GTT	CCAT T GTT	CCAT T GTT	
SCM000766.3:59803007	TGGA G AAG	TGGA C AAG	TGGA G AAG	TGGA G AAG		TGGA G AAG			
SCM000766.3:62304850	CAAA T TAC	CAAA C TAC		CAAA T TAC	CAAA T TAC	CAAA T TAC	CAAA T TAC	CAAA T TAC	
SCM000766.3:61486262	TCT T CTTA	TCT C CTTA					TCT T CTTA	TCT T CTTA	
SCM000766.3:61522709	CCA A AGCT	CCA G AGCT	CCA A AGCT	CCA A AGCT	CCA A AGCT	CCA A AGCT	CCA A AGCT	CCA A AGCT	
SCM000766.3:61487354	AAG T TTG	AAG C TTG	AAG T TTG			AAG T TTG	AAG T TTG	AAG T TTG	
SCM000766.3:58231698	TATT G CAC	TATT T CAC		TATT G CAC	TATT G CAC	TATT G CAC	TATT G CAC		
SCM000766.3:60782164	TTAC A GCC	TTAC G GCC	TTAC A GCC	TTAC A GCC	TTAC A GCC	TTAC A GCC	TTAC A GCC	TTAC A GCC	
SCM000766.3:62842099	AAAA A AAT	AAAA T AAT	AAAA A AAT	AAAA A AAT	AAAA A AAT				
SCM000766.3:62842128	CTTT G GAC	CTTT A GAC	CTTT G GAC	CTTT G GAC	CTTT G GAC	CTTT G GAC			
SCM000766.3:63004840	AACA G AGT	AACAT A GT	AACA G AGT	AACA G AGT		AACA G AGT	AACA G AGT	AACA G AGT	
SCM000766.3:59112587	ACAT G AAA	ACAT A AAA				ACAT G AAA	ACAT G AAA		
SCM000766.3:59112614	AGAC T GGT	AGAC C GGT				AGAC T GGT	AGAC T GGT		
SCM000766.3:58549529	TTTT T CCC	TTTT C CCC	TTTT T CCC	TTTT T CCC	TTTT T CCC	TTTT T CCC	TTTT T CCC	TTTT T CCC	
SCM000766.3:59119826	ATT A CATG	ATT G CATG	ATT A CATG	ATT A CATG	ATT A CATG	ATT A CATG	ATT A CATG		
SCM000766.3:57982334	GCCT G CCT	GCCT A CCT	GCCT G CCT	GCCT G CCT	GCCT G CCT	GCCT G CCT			
SCM000766.3:61403481	GGTT T TAC	GGTT C TAC				GGTT T TAC	GGTT T TAC	GGTT T TAC	
SCM000766.3:64806414	TGAA T CGC	TGAA C CGC		TGAA T CGC		TGAA T CGC	TGAA T CGC	TGAA T CGC	
SCM000766.3:57913968	CTCA T TAA	CTCA T TAA	CTCA C TAA	CTCA T TAA	CTCA C TAA	CTCA T TAA	TGAA T CGC	TGAA T CGC	
SCM000766.3:62075852	CATA C CTA	CATA T CTA		CATA C CTA	CATA C CTA	CATA C CTA	CATA C CTA	CATA C CTA	

Çizelge 4.15.' in devamı

SNP QTL Bölgeleri	Referans Genom	Hatlar ve Çeşitler	
		Erdurmuş	532
SCM000766.3:59610235	CCAT T GTT	CCAT T GTT	
SCM000766.3:59803007	TGGAGAA G	TGGAGAA G	
SCM000766.3:62304850	CAAA T TAC	CAAA T TAC	
SCM000766.3:61486262	TCT T CTTA	TCT T CTTA	
SCM000766.3:61522709	CCAAAGCT	CCAAAGCT	
SCM000766.3:61487354	AAG T TTTG	AAG T TTTG	
SCM000766.3:58231698	TATT G CAC	TATT T CAC	
SCM000766.3:60782164	TTACAGCC	TTACAGCC	
SCM000766.3:62842099	AAAA A AAT	AAAA T AAT	
SCM000766.3:62842128	CTTT G GAC	CTTT A GAC	
SCM000766.3:63004840	AACA G AGT	AACA T AGT	
SCM000766.3:59112587	ACAT G AAA	ACAT A AAA	
SCM000766.3:59112614	AGACT T GTT	AGAC C GGT	
SCM000766.3:58549529	TTTT T CCC	TTTT T CCC	
SCM000766.3:59119826	ATT A CATG	ATT A CATG	
SCM000766.3:57982334	GCCT G CCT	GCCT A CCT	
SCM000766.3:61403481	GGTT T TAC	GGTT C TAC	
SCM000766.3:64806414	TGAA T CGC	TGAA T CGC	
SCM000766.3:57913968	CTCA T TAA	CTCA T TAA	
SCM000766.3:62075852	CATA C CTA	CATA T CTA	
			TTACAGCC
			AACA G AGT
			TTTT T CCC
			TTACAGCC

Çizelge 4.15'te bitki boyu karakteri ile ilişkili 7. kromozom üzerindeki SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşitinde ve diğer hatlarda/çeşitte bulunan nükleotitler verilmiştir. 47 nolu hat 2 SNP QTL bölgesinde, 69 nolu hat 10 SNP QTL bölgesinde, 91 nolu hat 12 SNP QTL bölgesinde, 325 nolu hat 8 SNP QTL bölgesinde, 424 nolu hat 15 SNP QTL bölgesinde, 456 nolu hat 15 SNP QTL bölgesinde, 507 nolu hat 11 SNP QTL bölgesinde, 532 nolu hat 9 SNP QTL bölgesinde Erdurmuş çeşidi ile polimorfizm göstermiştir. Uzun ve Erdurmuş çeşitleri arasında ise CM000766.3:60782164 ve CM000766.3:58549529 bölgelerinde tek nükleotit bazında polimorfizm belirlenmiştir.

Çizelge 4.16'da Brix karakteri ile ilişkili 7. ve 3. kromozomdaki SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşitinde ve diğer hatlarda/çeşitte polimorfizm oluşturan nükleotitler verilmiştir. 47 nolu hatta Brix karakteri ile ilişkili çizelge 4.19'da belirtilen bölgelerde Erdurmuş çeşitinden farklı nükleotide sahip olmadığı belirlenmiştir. 5 SNP QTL bölgesinde 69 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında nükleotit farklılığı belirlenmiştir. 91 nolu genotip için çizelge 4.16'da belirtilen bütün SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşiti ile arasında nükleotit bazında farklılık belirlenmiştir. 325 nolu hatta ise bu farklılıklar 4 SNP QTL bölgesinde belirlenmiştir. 424 nolu hatta ise nükleotit farklılığı 5 SNP QTL bölgesinde belirlenmiştir. 4 SNP QTL bölgesinde ise 456 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında tek nükleotit bazında polimorfizm belirlenmiştir. 507 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında 4 SNP QTL bölgesinde farklılık belirlenmiştir. 5 SNP QTL bölgesinde 532 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında nükleotit farklılığı belirlenmiştir. Uzun çeşiti ile farklılık ise SCM000762.3:54475333 SNP QTL bölgesinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan Brix ile ilişkili 7. (SCM000766.3) ve 3. (SCM000762.3) kromozomdaki SNP QTL'ler

SNP QTL Bölgeleri	Referans Genom	Hatlar ve Çeşitler							
		Erdurmuş	47	69	91	325	424	456	507
SCM000766.3:57982334	CCTG CCTT	CCTACCTT		CCTGCCTT	CCTGCCTT		CCTGCCTT		
SCM000766.3:58231698	ATTGCACA	ATTTCACA		ATTGCACA	ATTGCACA	ATTGCACA	ATTGCACA	ATTGCACA	
SCM000766.3:59803007	GGA GAAG	GGA GAAG		GGA GAAG	GGA GAAG		GGA GAAG		
SCM000766.3:58549529	TTTTTCCC	TTTTTCCC		TTTTTCCC	TTTTTCCC	TTTTTCCC	TTTTTCCC	TTTTTCCC	TTTTTCCC
SCM000762.3:55215782	GTCG GGTG	GTCAGGTG		GTCG GGTG	GTCG GGTG	GTCG GGTG	GTCG GGTG	GTCG GGTG	GTCG GGTG
SCM000762.3:54181011	GCA GTGG	GCA GTGG		GCA GTGG	GCA GTGG	GCA GTGG	GCA GTGG	GCA GTGG	GCA GTGG
SCM000762.3:54475333	TTTCTAA	TTTCTAA		TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA
SNP QTL Bölgeleri		Hatlar ve Çeşitler							
	Referans Genom	Erdurmuş	532	Uzun					
SCM000766.3:57982334	CCTG CCTT	CCTACCTT	CCTGCCTT						
SCM000766.3:58231698	ATTGCACA	ATTTCACA							
SCM000766.3:59803007	GGA GAAG	GGA GAAG							
SCM000766.3:58549529	TTTTTCCC	TTTTTCCC	TTTTTCCC						
SCM000762.3:55215782	GTCG GGTG	GTCAGGTG	GTCG GGTG						
SCM000762.3:54181011	GCA GTGG	GCA GTGG	GCA GTGG						
SCM000762.3:54475333	TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA	TTTCTAA					

Çizelge 4.17. Erdurmuş çeşidinde bulunmayan bitki öz suyu ile ilişkili 6. (SCM000765.3) kromozomdaki SNP QTL'ler

SNP QTL Bölgeleri	Referans Genom	Hatlar ve Çeşitler							
		Erdurmuş	47	69	91	325	424	456	507
SCM000765.3:51075114	TTG G CAAA	TTGGCAAA				TTG A CAAA			
SCM000765.3:47994701	AATG C CTT	AATG T CTT		AATG C CTT		AATG C CTT	AATG C CTT	AATG C CTT	AATG C CTT
SCM000765.3:52482454	TTG C TTG	TTGC T TTG		TTGC C TTG		TTGC C TTG	TTGC C TTG		
SCM000765.3:46493451	CCT A CCCC	CCT C CCCC		CCT A CCCC		CCT A CCCC	CCT A CCCC	CCT A CCCC	
SCM000765.3:52102500	AATA A CTT	AATA G CTT		AATA A CTT		AATA A CTT	AATA A CTT		
SCM000765.3:52102467	TTC T GTGC	TTC G GTGC		TTC T GTGC		TTC T GTGC	TTC T GTGC		
SCM000765.3:52308650	CGT C CTAG	CGT T CTAG		CGT C CTAG		CGT C CTAG	CGT C CTAG		
SCM000765.3:53005219	CTC T CTTC	CTC T CTTC		CTC C CTTC		CTC C CTTC	CTC C CTTC		
SCM000765.3:45487674	GCT T GCCT	GCT T GCCT		GCT G GCCT		GCT G GCCT	GCT G GCCT		
SNP QTL Bölgeleri	Referans Genom	Hatlar ve Çeşitler			Uzun				
		Erdurmuş	532						
SCM000765.3:51075114	TTG G CAAA	TTGGCAAA							
SCM000765.3:47994701	AATG C CTT	AATG T CTT	AATG C CTT						
SCM000765.3:52482454	TTG C TTG	TTGC T TTG	TTGC C TTG						
SCM000765.3:46493451	CCT A CCCC	CCT C CCCC	CCT A CCCC		CCT A CCCC				
SCM000765.3:52102500	AATA A CTT	AATA G CTT	AATA A CTT						
SCM000765.3:52102467	TTC T GTGC	TTC G GTGC	TTC T GTGC						
SCM000765.3:52308650	CGT C CTAG	CGT T CTAG	CGT C CTAG						
SCM000765.3:53005219	CTC T CTTC	CTC T CTTC	CTC C CTTC						
SCM000765.3:45487674	GCT T GCCT	GCT T GCCT	GCT G GCCT						

Çizelge 4.17’de bitki öz suyu karakteri ile ilişkili 6. kromozom üzerinde SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşitinde ve diğer hatlarda/çeşitte polimorfizm oluşturan nükleotitler verilmiştir. 47 ve 91 nolu hatlarda bitki öz suyu karakteri ile ilişkili çizelge 4.17’de belirtilen bölgelerde Erdurmuş çeşitinden farklı nükleotide sahip olmadığı belirlenmiştir. 8 SNP QTL bölgesinde 69 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında tek nükleotit farklılığı belirlenmiştir. 325 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında 5 SNP QTL bölgesinde farklılık belirlenmiştir. 424 nolu hatla 1 SNP QTL bölgesi dışında çizelgede belirtilen bütün bölgelerde nükleotit farklılığı belirlenmiştir. 456 ve 507 hatları ile Erdurmuş çeşiti arasında sırasıyla 2 ve 1 SNP QTL bölgelerinde farklılıklar belirlenmiştir. 532 nolu hat ile Erdurmuş çeşiti arasında 1 SNP QTL bölgesi dışında çizelgede belirtilen bütün QTL bölgelerinde nükleotit farklılığı belirlenmiştir. Uzun çeşitinde ise Erdurmuş çeşitinden farklı nükleotide sahip 1 SNP QTL bölgesi belirlenmiştir.

4.8. Farklı SNP QTL Bölgelerinin Erdurmuş Çeşidinde Piramitlemesi

Bir önceki bölümde belirtilen ilgili SNP QTL bölgeleri Erdurmuş çeşidinde bulunup diğer hat ve çeşitlerin bazılarında yok ise ve o çeşit ve hatlar halihazırda yüksek şeker, bitki öz suyu ve bitki boyu karakterine sahip olduklarından, Erdurmuş çeşidinde olmayan başkaca QTL bölgeleri içermeleri hipotetik olarak mümkündür. İlgili QTL bölgelerini içermeyen çeşit/hatlarla Erdurmuş çeşidinin melezlenmesi neticesinde, ilave QTL bölgelerinin Erdurmuş çeşidinde piramitlemesi ve böylece ilgili karakterler bakımından daha üst değerlere ulaşılması hedeflenmiştir. Şeker sorgumda bu karakterler çoğunlukla eklemeli gen etkisinde olduğundan, başkaca QTL içeren bu hatlarla yapılan piramitleme şeklindeki melezleme çalışmaları ile çok sayıda QTL’in bir bireyde toplayacak melez kombinasyonları SNP verileri kullanılarak seçilmiştir. Böylece olası QTL’ler olarak belirlenen bu farklılıklar, Erdurmuş çeşidinde piramitlenebilmiştir.

Analizler sonucu 532 hattı değerlendirilen bölgeler arasından bitki boyu için 9, Brix için 5 ve bitki öz suyu için 8 SNP QTL bölgelerinde Erdurmuş çeşitinden farklı nükleotitler içerdiği belirlenmiştir. 424 hattı ile Erdurmuş çeşiti arasında bitki boyu için 15, Brix için 5 ve bitki öz suyu için 8 SNP QTL bölgesinde farklılık bulunmaktadır. 69 hattı bitki boyu için 10, Brix için 5 ve bitki öz suyu için 8 SNP QTL bölgesinde Erdurmuş çeşitinden farklı nükleotide sahip olduğu belirlenmiştir. 507 hattı bitki boyu için 11, Brix için 4 ve bitki öz suyu için 1 SNP QTL bölgesinde Erdurmuş çeşiti ile arasında polimorfizm gözlenmiştir. 47 hattı ise sadece bitki boyu karakteri için 2 SNP QTL bölgesinde Erdurmuş çeşiti ile arasında polimorfizm gözlenmiştir. Bunların dışında 2’li melezlerde kullanılan 532 hattı ile Erdurmuş çeşiti arasında bitki boyu için 9, Brix için 5 ve bitki öz suyu için ise 8 SNP QTL bölgesinde nükleotit farklılığı gözlenmiştir. Erdurmuş çeşitinde farklı nükleotide sahip olan belirtilen bu SNP QTL bölgeleri, olası QTL’ler olması sebebiyle daha önce yapılmış olan 532 hattı ile Erdurmuş çeşiti melezi ve resiprokali, 424 hattı ile Erdurmuş melezi ve resiprokali seçilmiştir. Bu melezler F₄ generasyonunda olan melezlerdir. Ekimi yapılmış ve melezler F₅ generasyonuna ulaşmıştır. 69 hattı ile Erdurmuş çeşiti melezi yine seçimi yapılan melezler arasında yer almıştır. F₁ generasyonunda olan bu meleze ait tohumların ekimi gerçekleştirilmiş ve hasattan sonra F₂ generasyonuna ulaşmıştır. 507 hattı ile Erdurmuş çeşiti ve Erdurmuş çeşiti ile 47 hattı melezleri yukarıda belirtilen sebeplerden dolayı seçilmiş ve ekimi yapıldıktan sonra F₃ generasyonuna ulaşmıştır (Çizelge 4.18). Piramitleme etkisinin daha

etkin oluşması için yapılan 2'li melezlerde seçime dahil edilmiş ve hasadı yapıldıktan sonra F₃ generasyonuna ulaşmıştır.

Çizelge 4.18. Erdurmuş çeşitinde projeye konu olan özelliklerin piramitletmesi amacıyla seçilen melezler

Kombinasyon	Generasyon	İlave QTL Karakterleri
532 X Erdurmuş	F ₄ :F ₅	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
Erdurmuş X 532	F ₄ :F ₅	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
424 X Erdurmuş	F ₄ :F ₅	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
Erdurmuş X 424	F ₄ :F ₅	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
69 X Erdurmuş	F ₁ :F ₂	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
507 X Erdurmuş	F ₂ :F ₃	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
Erdurmuş X 47	F ₂ :F ₃	Bitki boyu
(424 x Erdurmuş) X (Öğretmenoğlu x 532)	F ₂ :F ₃	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu
(424 x Erdurmuş) X (507 x Erdurmuş)	F ₂ :F ₃	Bitki boyu, Brix, Bitki öz suyu

4.9. Seçilen Melezlerin Değerlendirilmesi

Seçilen melezler Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nün araştırma ve uygulama arazilerine sıra arası 70 ve sıra üzeri 15 cm olacak şekilde 4 sıra halinde ekilmiş ve gözlemleri alınıp tek bitki hasadı gerçekleştirilmiştir. Her bir melez kombinasyonu için bitki boyu, Brix ve bitki öz suyu için sıraları temsil eden 5 bitkide gözlem yapılmıştır. Ebeveyn olarak kullanılan hatlarda 3 bitkinin ortalaması alınmıştır.

532 X Erdurmuş melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 280,00 ile 305,00 cm, bitki öz suyu değerleri 190,00 ile 340,00 ml ve Brix değerleri %16,40 ile 17,10; resiprokal melezinde ise sırasıyla 302,00 ile 323,00 cm, 160,00 ile 210,00 ml ve %17,90 ile 18,60 arasında değişmiştir (Çizelge 4.19). 532 hattı ile yapılan melezlerde Erdurmuş çeşitinin ana ebeveyn olarak kullanılması durumunda gözlemi yapılan 5 bitkinin boyunun (1 bitki dışında) ve Brix değerinin hem ana hem de baba ebeveyninden yüksek olduğu gözlenmiştir. 532 hattında bitki boyu için 9 ve Brix için 5 SNP QTL bölgesi Erdurmuş çeşitinden farklılık göstermiştir. Melezleme sonucu oluşan bitkilere Erdurmuş çeşitinden farklı bitki boyu ve Brix SNP QTL'lerinin en az birinin aktarılmış olması bitki boyunda ve Brix değerinde oluşan bu artışı açıklamaktadır. Brix özelliği için ise 532 hattının ana ebeveyn olarak kullanılması ile elde edilen bireylerde gözlenen değerler hem anadan hem de babadan yüksektir. Brix karakteri ile ilişkili SNP QTL bölgelerinin 532 hattının

melezlemede ana olarak kullanılmasıyla en az birinin yeni bireylere aktarıldığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.19. 532 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler

Özellikler	532 X Erdurmuş (F _{4:5})	Erdurmuş X 532 (F _{4:5})	532 (Ortalama)	Erdurmuş (Ortalama)
Bitki Boyu (cm)	280,00	313,00	300,00	306,00
	301,00	307,00		
	296,00	323,00		
	301,00	308,00		
	305,00	302,00		
Bitki Öz Suyu (ml)	190,00	210,00	180,00	357,00
	300,00	180,00		
	340,00	200,00		
	280,00	160,00		
	270,00	190,00		
Brix (%)	16,40	18,60	13,30	14,40
	17,00	18,00		
	16,80	17,90		
	17,00	18,00		
	17,10	18,20		

424 X Erdurmuş melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 340,50 ile 375,50 cm, bitki öz suyu değerleri 100,00 ile 200,00 ml ve Brix değerleri %11,20 ile 11,80; resiprokal melezinde ise sırasıyla 332,00 ile 361,50 cm, 100,00 ile 180,00 ml ve %18,00 ile 18,60 arasında değişmiştir (Çizelge 4.20). Bitki boyu (2 bitki dışında) ve bitki öz suyu değerlerinde melezleme sonucu oluşan bireylerde alınan gözlemlerde önemli bir farklılıklar görülmemiştir. Fakat Brix değerlerine bakıldığında Erdurmuş X 424 melezinden oluşan bireylerde önemli düzeyde artış gözlenmiştir. Bu durum Erdurmuş çeşitinde olmayan ve 424 hattında bulunan Brix karakteri ile ilişkili 5 SNP QTL'in en az birinin aktarılmış olması ile açıklanmaktadır.

Çizelge 4.20. 424 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler

Özellikler	424 X Erdurmuş (F _{4:5})	Erdurmuş X 424 (F _{4:5})	424 (Ortalama)	Erdurmuş (Ortalama)
Bitki Boyu (cm)	350,00	338,50	363,00	306,00
	345,00	337,50		
	375,00	359,00		
	375,50	361,50		
	340,50	332,00		
Bitki Öz Suyu (ml)	180,00	180,00	160,00	357,00
	150,00	100,00		
	100,00	150,00		
	200,00	100,00		
	100,00	150,00		
Brix (%)	11,60	18,60	13,20	14,40
	11,80	18,20		
	11,20	18,20		
	11,40	18,50		
	11,00	18,00		

69 X Erdurmuş melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 347,00 ile 373,00 cm, bitki öz suyu değerleri 290,00 ile 350,00 ml ve Brix değerleri %13,00 ile 14,10 arasında değişmiştir (Çizelge 4.21). Bitki boyu değerlerine bakıldığında melez sonucu oluşan bireylerin hem anadan hem babadan daha yüksek değerlerde olduğu gözlenmiştir. Bu melez, F₁ generasyonunda olduğu için heterosisten kaynaklı olabilmesi sebebiyle SNP QTL aktarımı için ileri generasyonlarda değerlendirme yapılmalıdır. Bitki öz suyu karakterinde de melezleme sonucu oluşan ve gözlemi yapılan bütün bireylerde hem anadan hem de babadan daha yüksek değerlere sahip olmuştur.

507 X Erdurmuş melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 331,00 ile 375,00 cm, bitki öz suyu değerleri 80,00 ile 110,00 ml ve Brix değerleri %18,00 ile 18,70 arasında değişmiştir (Çizelge 4.22). Bitki boyu değerlerine baktığımızda melezleme sonucu oluşan bireylerde gözlenen değerler hem anadan hem de babadan daha uzundur. Bu durum melezleme sonucu oluşan bireylere 507 hattında bulunan Erdurmuş çeşitinden farklı 11 SNP QTL'lerinden en az birinin aktarıldığını göstermektedir. Brix değerlerinde de aynı şekilde elde edilen değerler hem anadan hem babadan yüksektir. 507 hattında bulunan Erdurmuş çeşitinden farklı 4 SNP QTL'inin en az birinin aktarıldığını göstermektedir.

Çizelge 4.21. 69 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler

Özellikler	69 X Erdurmuş (F _{1:2})	69 (Ortalama)	Erdurmuş (Ortalama)
Bitki Boyu (cm)	347,00	310,00	306,00
	360,00		
	373,00		
	351,00		
	351,00		
Bitki Öz Suyu (ml)	300,00	200,00	357,00
	350,00		
	290,00		
	320,00		
	300,00		
Brix (%)	13,00	13,40	14,40
	14,10		
	13,40		
	13,00		
	14,00		

Çizelge 4.22. 507 hattı ile Erdurmuş çeşitinin melezlenmesi ile elde edilen bitkilerde alınan gözlemler

Özellikler	507 X Erdurmuş (F _{2:3})	507 (Ortalama)	Erdurmuş (Ortalama)
Bitki Boyu (cm)	375,00	280,00	306,00
	354,50		
	366,50		
	372,50		
	331,00		
Bitki Öz Suyu (ml)	110,00	120,00	357,00
	100,00		
	100,00		
	80,00		
	100,00		
Brix (%)	18,70	14,30	14,40
	18,00		
	18,20		
	18,40		
	18,70		

Çizelge 4.23. Erdurmuş çeşiti ile yapılan 2’li melezlerden elde edilen bitkilerde alınan gözlemler

Özellikler	(424 x Erdurmuş) X (Öğr. x 532) (F _{2:3})	(424 x Erdurmuş) X (507 x Erdurmuş) (F _{2:3})	424 (Ortalama)	Erdurmuş (Ortalama)	532 (Ortalama)	507 (Ortalama)
Bitki Boyu (cm)	328,00	322,00	363,00	306,00	300,00	280,00
	320,00	332,00				
	322,00	385,00				
	350,00	430,00				
	324,00	391,00				
Bitki Öz Suyu (ml)	100,00	160,00	160,00	357,00	180,00	120,00
	160,00	150,00				
	200,00	140,00				
	200,00	150,00				
	150,00	160,00				
Brix (%)	15,20	16,60	13,20	14,40	13,30	14,30
	15,00	17,70				
	15,10	17,20				
	15,00	17,00				
	15,20	16,80				

424 x Erdurmuş X Öğr. x 532 melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 320,00 ile 350,00 cm, bitki öz suyu değerleri 100,00 ile 200,00 ml ve Brix değerleri %15,00 ile 15,20 arasında değişmiştir. 424 x Erdurmuş X 507 x Erdurmuş melezinde gözlenen bitki boyu uzunlukları 322,00 ile 430,00 cm, bitki öz suyu değerleri 140,00 ile 160,00 ml ve Brix değerleri %16,60 ile 17,70 arasında değişmiştir (Çizelge 4.23). 424 x Erdurmuş X 507 x Erdurmuş melezinde gözlemi yapılan 3 bitkinin boyu her iki ebeveynden daha uzun olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde bu melez sonucu oluşan bireylerde gözlemi yapılan 5 bitkide elde edilen Brix değerleri her iki ebeveynden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durum meleze katılan ebeveynlerde bulunan bitki boyu için 424 hattında belirlenen 15 ve 507 hattında belirlenen 11 SNP QTL’den en az birinin bu 3 bitkiye aktarıldığı anlaşılmaktadır. Brix karakteri için ise 424 hattında 5 ve 507 hattında 4 SNP QTL’den en az birinin aktarıldığı sonucu çıkarılmaktadır.

5. TARTIŞMA

5.1. Tarla Gözlemlerinin Değerlendirilmesi

5.1.1. Bitki boyu

Sorgumun enerji bitkisi olarak kullanılması sürecinde ana amaçlardan biri biyokütle miktarının artırılmasıdır. Bitki boyu ile pozitif ilişki içerisinde olan bu özelliğin geliştirilmesine, uzun bitki boyu karakterine sahip genotiplerin ıslahı ile ulaşılabilmektedir (Murray vd. 2008a, b; Zhao vd. 2009). Şeker sorgum bitkisinin boyu 120 ile 400 cm arasında değişmektedir (Ekefre vd. 2017). Geniş bir aralıkta dağılım gösteren bitki boyu, yapılan çalışmalarda elde edilen verilerin farklılığı ile bu dağılımı desteklemektedir. Zou vd. (2011) çalışmalarında 436 adet bireyden oluşan şeker ve danelik sorgumun melezlenmesi ile elde ettikleri RIL popülasyonunu 3 farklı lokasyonda değerlendirmiş ve her bir lokasyon için ortalama bitki boyu değerlerini 295,00, 335,00 ve 205,00 cm olarak belirlemişlerdir. Rao vd. (2013a) tropikal koşullarda değerlendirdikleri 16 şeker sorgum genotipinde bitki boyunu 293,00-358,00 cm; Rao vd. (2013b) Hindistan koşullarında ve 5 farklı ekim zamanında değerlendirdikleri 4 adet ticari şeker sorgum çeşidinde bitki boyunu 288,00-332,00 cm arasında belirlediklerini ifade etmişlerdir. Ng'uni vd. (2016) 25 adet sorgum genotipini (22 tanesi dane ve 3 tanesi şeker sorgum) değerlendirdikleri çalışmalarında bütün materyale ait bitki boyu ortalamasını 161,93 şeker sorgumlara ait ortalamayı ise 207,00 cm olarak belirlemişlerdir. Ekefre vd. (2017) çalışmalarında bitki boyunu 236,00 ile 281,00 cm; Disasa vd. (2017) 259,00 ile 297,00 cm arasında belirlemişlerdir. Çevreden güçlü bir şekilde etkilenmesi sebebiyle bitki boyu karakterinde farklı lokasyonlarda istatistiki olarak önemli farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Çalışmamızda 181 genotip 2 farklı lokasyonda değerlendirilmiş, Antalya için bitki boyu ortalaması 200,23 cm ve Konya için ise 223,67 olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda lokasyonlar arası farklılık istatistiksel olarak da önemli çıkmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde 2 farklı lokasyonda aynı genotiplerin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise birinci lokasyonda (Antalya) 283,4 ve ikinci lokasyonda (Konya) 247,2 cm olarak belirlenmiştir (Guden vd. 2020b). Birçok sebebe bağlı olmakla birlikte bu farklılıkların genetik yapı, yetiştirildikleri çevre koşullarının farklı olması ve genotip x çevre etkileşiminin de neden olduğu bilinmektedir (Tosun ve Özbilen 1991).

Subhashini ve Selvi (2019) çalışmalarında tek bir ana sorgum hattını iki farklı baba hattı ile melezleyerek elde etmiş oldukları F₂ generasyonunda olan iki farklı popülasyona ait bitki boyu değerlerinin ortalamasını 199,30 ve 185,80 cm olarak belirlemişlerdir. Bu çalışma kapsamında F₂ popülasyonuna ait bireylerde de bitki boyu gözlemi alınmış ve ortalama boy değeri Subhashini ve Selvi (2019)'nin çalışmalarının belirlemiş oldukları bitki boyu değerlerine yakın değerler olarak belirlenmiştir (191, 88 cm).

5.1.2. Bitki öz suyu

Bitki öz suyu daha fazla etanol üretimi için birincil sınırlayıcı etmenlerden biridir (Carvalho vd. 2017). Şeker sorgumun saplarında bulunan bitki öz suyu biyoetanolle kolayca dönüştürülebilmesinden dolayı biyoenerji üretimini etkileyen önemli karakterler arasında yer almaktadır (Elangovan vd. 2014; Lekgari ve Dweikat 2014; Regassa ve Wortmann 2014; Tesfamichael vd. 2015; Mathur vd. 2017). Bununla birlikte, şeker sorgumun şeker verimliliğini esas olarak şeker konsantrasyonu ile birlikte bitki öz suyu belirlemektedir (Lv vd. 2013). Bitki öz suyu verimini arttırmak, şeker sorgumun yüksek etanol üretimini gerçekleştirmek için oldukça önemlidir (Wu vd. 2010). Aynı zamanda ekonomik önemde sahip olan bu karakter (Wu vd. 2010) birçok çalışmada geliştirilmesi gereken bir amaç haline gelmiştir. Ekefre vd. (2017) çalışmalarında üç şeker sorgum çeşitini Georgia koşullarında üç yıl boyunca değerlendirmişler ve ekimden sonraki üç farklı dönemde yapmış oldukları öz su gözlemlerinde, döneme bağlı farklılık olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca, bitki başına düşen ortalama öz su verimi 23,10 ile 61,60 g olarak belirlemişlerdir. Yine bitki başına düşen ortalama öz su miktarının değerlendirildiği başka bir çalışmada 117,03 g olarak belirlenmiştir (Lv vd. 2013). Çalışmamızda gerek F₂ (189,04 ml) gerekse F₃ (147,99 ml) popülasyonunda bitki başına düşen ortalama öz su miktarı oldukça yüksektir. Bandara vd. (2020) bitki başına düşen öz su miktarını 32,70 ile 299,70 g arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma kapsamında elde edilen bitki öz suyu değerleri F₂ popülasyonunda 10,00 ile 900,00 ml arasında değişmiştir. F₃ popülasyonunda iki lokasyona ait ortalama öz su miktarı ise 46,00 ile 290,00 ml arasında belirlenmiştir. Her iki popülasyonda da belirlenen en yüksek bitki öz suyu değerleri daha önce yapılan çalışmalardan oldukça yüksektir.

5.1.3. Brix

Bitkilerin barındırdığı şeker konsantrasyonu çözünabilir katı madde miktarı olarak tanımlanan Brix birimleri ile belirlenmektedir (Mathur vd. 2017). Yapılan çalışmalarda şeker sorgumda Brix değerleri %14,00 ile 23,00 arasında olduğu belirtilmiştir (Almodares ve Sepahi 1996; Vinutha vd. 2014). Cole vd. (2017) dört şeker sorgum çeşidini kullanmış oldukları çalışmalarında, Brix değerlerini %10,98 ile 13,01 arasında olduğunu bildirmişlerdir. F₃ popülasyonunu değerlendirmiş olduğumuz Antalya lokasyonunda, 100 nolu genotipe ait Brix değeri (%14,17) belirtilen çalışmadaki değerden yüksektir. Çalışmamıza benzer olarak F_{2:3} popülasyonunu iki farklı lokasyonda değerlendiren Disasa vd. (2018), Brix değerlerine ait lokasyonlar ortalamasını Melkassa için %8,88 ve Dhera için %9,10 olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen ortalama Brix değerleri nispeten bu çalışmaya göre daha yüksek olup; Antalya için %10,65 ve Konya için %8,45 olarak belirlenmiştir. Almodares ve Hadi (2009) 36 şeker sorgum genotipini kullanarak gerçekleştirmiş oldukları çalışmalarında Brix değerlerinin %11,16 ile 23,01 arasında belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucundan elde edilen veriler gibi, Brix değeri yapılan birçok çalışmada oldukça geniş bir aralıkta dağılım göstermiştir. Audilakshmi vd. (2010) çalışmalarında Brix değerlerini %11,2 ile 21,8; Kawahigashi vd. (2013) %2,8 ile 19,6; Dutra vd. (2013) %9,7 ile 18,27; Disasa vd. (2017) %15,10 ile 19,20 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamız ile aynı lokasyonların kullanıldığı bir başka çalışmada en yüksek Brix değerleri; Antalya için %17,03 ve Konya için %17,90 olarak belirlenmiştir (Guden vd., 2020a). Yapılan çalışmaların sonuçlarından görüldüğü üzere Brix değerleri geniş aralıkta varyasyon göstermektedir. Bu değişimin çevreden,

genotiplerden, boğum aralarının pozisyonlarından ve hasat tarihinden etkilenildiği bilinmektedir (Qazi vd. 2012).

5.2. Haritalama Popülasyonu

Etkin ve güvenilir bir haritalama çalışması gerçekleştirilmesi için ilk ve en önemli adım popülasyonların oluşturulmasıdır (Xu vd. 2016). Eşeyssel üreme ile oluşturulacak olan popülasyonlarda seçilen ebeveynler bir veya daha fazla ilgili özellik açısından farklılık göstermelidir (Collard vd. 2005). Diğer bir deyişle, fenotipik özellikler açısından birbirine zıt karakterde olan ebeveynlerden geliştirilmelidir (Dhingani vd. 2015). Bu bilgi dahilinde haritalama popülasyonu oluşturulurken seçilen ebeveynlerden ana olarak kullanılan Erdurmuş şeker sorgum çeşidinin bitki boyu oldukça uzun, bitki öz suyu ve Brix değerleri yüksektir. Baba olarak kullanılan Öğretmenoğlu çeşidinde ise bitki boyu danelik yetiştiriciliğe uygun olması sebebiyle kısa, bitki öz suyu ve Brix değerleri ise ana ebeveyne göre oldukça düşüktür.

Haritalama çalışmalarında kullanılan popülasyonlar arasında F_2 popülasyonları, geri melezleme ile elde edilen popülasyonlar, doubled haploitler, rekombinant kendilenmiş hatlar (RIL) ve yakın izogenik hatlar (NIL) yer almaktadır (Xu vd. 2016). Haritalama popülasyonlarının birbirlerine karşı birçok avantaj ve dezavantajları bulunmakla birlikte (Paterson 1996) seçiminde çalışmanın amacı, zaman ve kaynakların varlığı gibi birçok sebep bulunmaktadır. Haritalama popülasyonları arasında yer alan F_2 popülasyonu; iki adet saf hattı/çeşidin melezlemesi ile elde edilen F_1 bireyinin kendilenmesi ile oluşturulmaktadır (Schneider 2005). Bu popülasyonda eklemeli, dominans ve bütün epistatik etkiler tahmin edilebilmektedir (Zhang 2012). Ayrıca kısa zamanda ele edilebilir olması tercih edilme sebepleri arasında yer almaktadır. Bununla birlikte popülasyonu oluşturan birey sayısının en az 50 ile 250 bireyden oluşması uygun görülmektedir (Beavis 1994; Mohan vd. 1997). Sunulan bu çalışmada da zamanı etkin kullanmak adına iki çeşidin melezlenmesi ve sonrasında kendilenmesiyle elde edilen 181 adet bireyden oluşan F_2 popülasyonu haritalama popülasyonu olarak kullanılmıştır. F_2 popülasyonunun genetik materyal olarak kullanıldığı birçok çalışma literatürde mevcuttur. Guan vd. (2011) çalışmalarında tanelik ve şeker sorgumun melezlenmesi ile elde etmiş oldukları 186 bireyden oluşan F_2 popülasyonunu haritalama çalışmasında genetik materyal olarak kullanmışlardır. Harris-Shultz vd. (2015) kök ur nematoduna karşı dayanıklılık çalışmalarında 130 adet bireyden oluşan F_2 popülasyonunu genetik materyal olarak kullanmışlardır. Ji vd. (2017) çalışmalarında 130 adet bireyden oluşan F_2 popülasyonunu ve SLAF-seq yöntemini kullanarak yüksek yoğunluklu haritalama yapmışlardır. Disasa vd. (2018) tanelik ve şeker sorgumun melezlenmesi ile elde etmiş oldukları 192 bireyden oluşan F_2 popülasyonunu Brix, sap çapı ve bitki boyu özellikleri için 76 SSR marker kullanarak QTL haritalama yapmışlardır.

5.3. Yüksek Yoğunluklu Bağlantı Haritası

Bağlantı haritası oluşturmak ekonomik önemi olan özellikler için oldukça önemlidir (Zhang vd. 2019). Ayrıca gerek kantitatif gerekse kalitatif özelliklerin kalıtımını incelemek, moleküler çalışmalar için marker geliştirmek, haritalama tabanlı gen klonlama ve karşılaştırmalı genomik çalışmalar için temel bir ön koşuldur (Mace vd. 2009). Sorgumda yapılan genom haritalama çalışmaları 1994 yıllarına dayanmaktadır

(Chittenden vd. 1994; Xu vd. 1994; Lin vd. 1995; Pereira ve Lee 1995; Dufour vd. 1996; Ming vd. 1998; Tao vd. 1998; Boivin vd. 1999; Peng vd. 1999). Geçmişte, dönemin teknolojisi ile (AFLP ve SSR) (Bhatramakki vd. 2000; Haussmann vd. 2002; Menz vd. 2002; Ramu vd. 2009) birçok bağlantı haritası oluşturulmuş fakat çalışmalar düşük yoğunluklu ve az sayıda moleküler marker ile gerçekleştirilmiştir (Zhang vd. 2012) ve bu durum QTL'lerin belirlenmesinde sınırlayıcı olmuştur. Bu çalışmalara örnek olarak Lekgari (2010) çalışmasında 165 adet bitkiden oluşan RIL popülasyonunu dört farklı lokasyonda değerlendirmiş ve 1003 adet SSR markeri kullanarak analizlerini gerçekleştirmiştir. Elde etmiş oldukları haritanın uzunluğunun 1541,3 cM olduğunu bildirmişlerdir (Lekgari 2010). PAV ve SSR markerleri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada oluşturulan haritada markerler arası ortalama uzunluk 3,83 cM olarak belirlenmiştir (Shen vd. 2015). DArT markerleri geliştirilmek için gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise toplamda 596 adet marker kullanılmıştır. Oluşturulan harita 1431 cM uzunluğunda olup genel marker yoğunluğu 1/2,39 cM iken DArT marker yoğunluğu 1/3,9 cM olarak belirlenmiştir (Mace vd. 2009).

Tarımsal açıdan önemli özelliklerle ilişkili genleri ve QTL'leri tanımlamak ve yüksek yoğunluklu haritaların geliştirilmesinde “yeni nesil sekans” teknolojileri çok önemli bir araç olarak karşımıza çıkmaktadır (Nguyen vd. 2019). Özellikle azaltılmış dizileme teknolojileri hedef genomlarda düşük maliyetli ve esnek genotiplemeyi mümkün kılmaktadır (Yol vd. 2021). Yeni nesil sekanslama teknolojileri sayesinde genomik kütüphane oluşturulmasında birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlar arasında yer alan ddRAD-seq (Double-digest RAD sequencing) (Peterson vd. 2012) genom çapında SNP'lerin belirlenmesi için azaltılmış dizileme teknolojilerinden biridir. Bu yöntem, seçilen restriksiyon enzimleri ile DNA'nın kesilmesinden sonra belirli bir boyuta göre seçilmiş fragmentlerin dizilenmesini içerir (Aguirre vd. 2019). Bu protokolün genom kapsamına göre seçilen restriksiyon enzimleri ayarlanabilmekte, SNP'lerin belirlenmesinde yüksek verimlilik ve doğruluk sağlamak gibi birçok avantajı bulunmaktadır (Peterson vd. 2012). Ayrıca, biyoinformatik analizler sürecinde referans genom gerektirmemektedir (Peterson vd. 2012). ddRAD-seq, hedeflenen marker yoğunluğu ve fragman sayısı açısından RAD-seq ve 2b-RAD yöntemlerine göre (Baird vd. 2008) daha fazla esneklik sağlamaktadır (Robledo vd. 2018) Birçok bitkide bu yöntem kullanılarak analizler gerçekleştirilmiş (Davik vd. 2015; Chen vd. 2017; Konar vd. 2017; Yol vd. 2021) fakat, bildiğimiz kadarıyla ddRAD-Seq teknolojisi kullanılarak SNP'lerin tanımlanmasına dayalı şeker sorgumda genetik haritanın oluşturulması hakkında bir rapor bulunmamaktadır. Belirtilen avantajlar ve literatürde olan bu eksiklik sebebiyle çalışmamızda, *VspI* ve *MspI* restriksiyon enzimleri seçilerek analizlerde ddRAD-seq yöntemi kullanılmıştır. Erdurmuş ve Öğretmenoğlu çeşitlerinin melezlenmesi ile oluşturulan F₂ popülasyonunda elde edilen bağlantı haritası 10 farklı gruptan oluşmuştur. 1847 adet markeri içeren bu haritanın toplam uzunluğu 4739,8 ve markerler arası ortalama uzunluğu ise 2,41 cM olarak belirlenmiştir. Sekans analizlerine dayalı birçok çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sukumaran vd. (2016) 1414 SNP kullanarak 2225,3 cM uzunluğunda bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Markerler arası ortalama uzunluğu 1,5 cM olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise RAD-seq yöntemi kullanılarak elde edilen verilerden 3710 adet SNP markerinin belirlendiği ve oluşturulan bağlantı haritasının 1299,7 cM, 'lik uzunluğu kapsadığını ve ortalama marker mesafesini 0,4 cM olduğu bildirilmiştir (Kajiya-Kanegae vd. 2020). Jin vd. (2021) çalışmalarında 126 adet bitkiden oluşan RIL popülasyonunda RAD-seq yöntemini kullanarak elde etmiş

oldukları verilerde; 1065 markerden oluşan 1191,7 cM uzunluğunda bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Çalışmamızda elde edilen haritanın uzunluğu belirtilen çalışmalardan daha geniş alana yayılmış fakat belirlenen marker yoğunluğu daha azdır. Oluşan bu farklılıkların kullanılan popülasyonların farklı tipte olması, sekansı gerçekleştirilen genotip sayısının farklılığı, sekans metodu ve ebeveynlerin genetik yapısının farklı olması ile açıklanabilir (Yol vd. 2021).

5.4. QTL Analizi

QTL haritalama; genetik analizlerle tanımlanmış markerlerin var yok ilişkisine dayanan ve özelliklerin ilişkisinin belirlenmesinde fenotipik verilerin de dahil olduğu bir haritalamadır (Tanksley 1993). Basit bir ifadeyle tanımlamak gerekirse, genetik ve fenotipik verilerin ilişkisinin tanımlanmasıdır (Collard vd. 2005). Bu çalışmada fenotipik veriler F₃ generasyonunda olan 181 bitkinin üç tekerrürlü olarak iki farklı lokasyonda yetiştirilmesi ile elde edilmiştir. QTL haritalama tanımına uygun olarak ddRAD-seq yöntemi kullanılarak yeni nesil sekanslama yöntemlerinden elde edilen veriler ile genom boyunca SNP varyasyonu karakterize edilmiştir. 85000'den fazla SNP belirlenmekle beraber, monomorfik ve düşük kalitedeki okumaların elemine edilmesiyle 1847 adet polimorfik SNP'e ulaşılmış ve bunlar kullanılarak bağlantı haritası oluşturulmuştur. Bağlantı haritası ve fenotipik veriler birlikte kullanılarak biyoenerji ile ilişkili özelliklerin QTL analizi gerçekleştirilmiştir.

Şeker sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) biyoenerji kaynağı olarak kullanılmak için yüksek potansiyele sahip olan bir şeker bitkisidir (Regassa ve Wortmann 2014). Biyoenerji üretme potansiyelini arttırmak adına ilişkili birçok karakter haritalama çalışmasına konu olmuş ve bu karakterle ilgili farklı düzeylerde fenotipik varyasyonu açıklayan QTL'ler belirlenmiştir (Kajiya-Kanegae vd. 2020; Govindarajulu vd. 2021). Major ve minör olarak gruplandırılan bu QTL'ler şayet % fenotipik varyasyonu açıklama oranı 10'dan büyük ise 'major' küçük ise 'minör' olarak tanımlanmıştır (Collard vd. 2005). Bu çalışmada 3 adet bitki boyu, 1 adet bitki öz suyu karakteri ile ilişkili major QTL bölgeleri belirlenmiştir. Brix karakteri ile ilişkili 2 adet QTL belirlenmiş fakat QTL'ler % fenotipik varyasyonu açıklama oranı 10'dan küçük olduğu için minör grubuna dahil olmuştur. Belirlenen QTL'lerin literatürle olan kıyaslaması QTL atlas (<https://aussorgm.org.au/sorghum-qtl-atlas/>) ile gerçekleştirilmiştir (Mace vd., 2018).

5.4.1. Bitki boyu

Yakın zamana kadar, bitki boyu karakteri *Dw1*'den *Dw4*'e kadar olan dört bağımsız bodurluk geninin etkisinde olduğu bilinmekteydi (Quinby ve Karper 1954). Günümüze kadar üç tanesi izole edilmiş ve klonlanmıştır: *Dw1* (Sobic.009G230800) boğum aralarında hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı varsayılan membran proteinini kodlamaktadır (Hilley vd. 2016). *Dw2* (Sobic.006G067600)'nin ürünü ise boğum aralarının uzunluğunu düzenleyen bir protein kinazdır ve ilk olarak tanımlanan *Dw3* (Sobic.007G163800) mısırdaki *br2*'ye ortolog olan, oksin taşınımına da dahil olan adenosin trifosfat bağlayıcı kaset ailesinin bir fosfoglikoproteinini kodlamaktadır (Multani vd. 2003). *Dw5* geni Chen vd. (2019) tarafından yeni tanımlanmıştır. *Dw7a* (Sobic.007G137101) geni ise çeltik bitkisinde de karşılığı olan ve

sorgum bitkisinde sap uzunluğunun kontrol edildiği var sayılan yeni bir gendir (Hashimoto vd. 2021).

Bitki boyu, biyokütle miktarını direk etkilemektedir ve biyoyakıt hammaddesi olarak daha uzun çeşitler geliştirmeyi amaçlayan ıslah programlarının hedeflerinden biridir (Mathur vd. 2017). Gelişen teknoloji ile yapılan ıslah çalışmaları daha etkin bir şekilde yön veren genetik analizler sayesinde daha kapsamlı sonuçlar elde edilmiştir. Marker sistemleri ile başlayan bu süreç (Lin vd.1995; Pereira ve Lee 1995; Rami vd. 1998; Hart vd. 2001; Klein vd. 2000; Natoli vd. 2002; Feltus vd. 2006; Ritter vd. 2008; Murray vd. 2008ab; Shiringani vd. 2010; Lekgari 2010; Guan vd. 2011; Harris-Shultz vd. 2015; Felderhoff vd. 2016; Bai vd. 2017; Zhang vd. 2019) günümüzde yerini nükleotit bazlı analizlere bırakmıştır.

Yeni nesil sekanslama ile yapılan QTL haritalar, elde edilen verilerin etkinliği sayesinde daha efektif sonuçlar sağlamıştır. Bu sayede yapılan çalışmalardan elde edilen veriler derinlik kazanmış ve sonrasında yapılan çalışmalara yön vermiştir. Yeni nesil dizileme teknolojisinin geliştirilmesiyle birlikte, binlerce SNP uygun maliyet ile belirlenmiş ve genotipleme için çok sayıda metodoloji uygulanmıştır (Kajiya-Kanegae vd. 2020). Yapmış olduğumuz çalışmada ddRAD-seq yöntemi kullanılarak bitki boyu karakteri ile ilişkili 1., 7., ve 9. kromozomlar üzerinde 3 major QTL bölgesi belirlenmiştir. 7. kromozom üzerinde belirlemiş olduğumuz *qPH7.1* QTL bölgesinin bitki boyu karakterine ait fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,8 olarak belirlenmiştir. Faye vd. (2021), aynı kromozom üzerinde GBS yöntemini kullanarak belirlemiş oldukları QTL'in (Lokasyon; 59,400,476) en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranını %41 olduğunu ifade etmişlerdir. Belirlemiş oldukları diğer 2 QTL bölgesinden biri *SbHT7.1* bitki boyu QTL'i ile örtüşmekte olduğunu bir diğeri ise 2 lokasyon arasında olup (*S7_59955806* ve *S7_59402662*) *Dw3* geninden 125 ve 419 kb uzaklığında olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda 7. kromozom üzerinde belirlemiş olduğumuz QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,8'dir. Bu QTL (Lokasyon; *SCM766.3_59610235*) *Dw3* geninden yaklaşık 220 kb uzaklığında tanımlanmıştır. Ayrıca belirlemiş olduğumuz *SCM766.3_59803007* lokasyonundaki SNP QTL *Dw3* geninden yaklaşık 30 kb uzaklığında tanımlanmış ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,4 olarak belirlenmiştir. Bu bölgede yapılan analizlerde SNP olarak tanımlamış olduğumuz guanin yerine sitozin nükleotitinin olması durumunda 4. exonda yer alan 120. amino asitin Glutamat (E) yerine Aspartat (D) olduğu gözlenmiştir. 7. kromozom üzerinde bitki boyu ile ilişkili QTL'in belirlendiği başka bir çalışmayı da Kajiya-Kanegae vd. (2020) gerçekleştirmiştir. 3 farklı yıla ait verileri ayrı ayrı değerlendirmiş ve 7. kromozom üzerinde aynı lokasyonda her bir yıl için farklı fenotipik varyasyonu açıklama oranları belirlemişlerdir. Bu oranlar ilk lokasyonda sırasıyla üç yıl için %40,51, 27,97 ve 28,45; ikinci lokasyonda iki yıl için %26,6 ve 20,6 olduğunu bildirmişlerdir. Belirledikleri QTL'in marker aralığı (Chr07.59407685–Chr07.60042098), çalışmamızda belirlenen *qPH7.1* QTL'nin lokasyonunu da (*SCM766.3_59610235*) içerisine almaktadır. Bununla birlikte belirlemiş olduğumuz diğer bir SNP QTL'de bu bölgede yer almaktadır (*SCM766.3_59610262*) ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,6'dır. Kajiya-Kanegae vd. (2020) çalışmalarında belirlemiş oldukları QTL bölgesinde daha kapsamlı analizler gerçekleştirmiş ve kuvvetle muhtemel *Dw3* geninden sorumlu QTL olduğunu bildirmişlerdir. Daha kapsamlı analizler yapılarak, çalışmamızda belirlenen ve *Dw3* genine çok yakın olduğu bilinen bu bölgelerin (*SCM766.3_59610262* ve

SCM766.3_59610235) olası gen olma ihtimalleri değerlendirilebilir. Govindarajulu vd. (2021) çalışmalarında *Sorghum propinquum* ve *Sorghum bicolor* Tx7000 melezlenmesiyle elde etmiş oldukları 191 adet F_{3:5} bitkisinin bulunduğu popülasyonu genetik materyal olarak kullanmış ve 7. kromozom üzerinde bitki boyu ile ilişkili QTL belirlemişlerdir. Üç farklı lokasyona ait verileri ayrı ayrı değerlendirmiş buna ek olarak lokasyonlar arasında hesaplanmış en iyi doğrusal tahmin (BLUP) adı altında bir değerlendirme daha yapmışlardır. 7. kromozom üzerinde belirlemiş oldukları QTL'in her bir lokasyon ve BLUP için bulmuş oldukları fenotipik varyasyonu açıklama oranlarını %29,87 (Lokasyon; S07_59741453), 24,87 (Lokasyon; S07_59741453), 30,55 (Lokasyon; S07_59830664) ve (Lokasyon; S07_597828717) 20,18 olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda belirlenen QTL bölgesinin fenotipik varyasyonu açıklama oranı daha yüksek olup aynı zamanda LOD (16,23) skoru da belirtilen bu çalışmadan (14,68) yüksektir.

Çalışmada bir diğer majör QTL bölgesi ise 9. kromozom üzerinde ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %13,5 olarak tanımlanmıştır. Faye vd. (2021) çalışmalarında 9. kromozom üzerinde bitki boyu ile ilişkili QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %20,9 (Lokasyon; 38942669); Kajiya-Kanegae vd. (2020) ise en yüksek oranın %24,32 (Lokasyonu; Chr09,56571248–Chr09,57681027) olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda belirlenen QTL'lerin fenotipik varyasyonu açıklama oranları yapılan çalışmada belirlenenden oldukça yüksektir (%13,5). Çalışmada belirlenen QTL'in lokasyonuna (SCM768.3610075) en yakın lokasyonda belirlenen çalışma Wang vd. (2014)'e ait. Bu çalışma DArT, RFLP ve SSR markerleri ile gerçekleştirilmiş olup belirlenen QTL'in lokasyonu 3081469-3358112 kb arasında belirlenmiş ve fenotipik varyasyonu 2 farklı popülasyonda %11,4 ve %16,38 olarak belirlenmiştir. Çalışmada 9. Kromozom üzerinde belirlenen QTL'in lokasyonu farklı yerde tanımlanmıştır (SCM768.3610075). Bu durum, yeni nesil sekanslama çalışmalarında genomik kütüphane oluşturulmasında kullanılan yöntemlerin dezavantajlarından biri olan restriksiyon enzimlerinin kesmesiyle oluşan ürünlerin sekanslanması ve eksik bölgelerin varlığı ile açıklanabilir (Yol vd. 2021). Yukarıda belirtilen ve 9. kromozom üzerinde belirlenen QTL'lerin fenotipik varyasyonu açıklama oranı çalışmamızdan yüksek olsa da Jin vd. (2021), Govindarajulu vd. (2021) ve de Souza vd. (2021) çalışmalarında bulunan QTL bölgelerinde belirlenen fenotipik varyasyonu açıklama oranlarından yüksektir (Sırasıyla; %8,92, %8,68 ve %12,03). Ayrıca, çalışmamızda bitki boyu karakteri için 4 LOD skorundan daha düşük değere sahip bölgeler elimine edilmiş ve değerlendirmeye katılmamıştır. Jin vd. (2021) çalışmasında LOD skorunu 4'ün altında (3,58) ve Govindarajulu vd. (2021) neredeyse 4'e yakın belirlemişlerdir. Gelli vd. (2017) GBS yöntemi ile oluşturdukları genomik kütüphanede 9. kromozom üzerinde fenotipik varyasyonu açıklama oranı %18 olan bitki boyu ile ilişkili QTL belirlemişlerdir. Her ne kadar %18 oranı çalışmamızda belirlenen fenotipik varyasyonu açıklama oranından yüksek olsa da belirledikleri QTL'in LOD skoru (3,3) çalışmamızda belirlenen QTL'in LOD skorundan oldukça (5,5) düşüktür. Luo vd. (2020) çalışmalarında genomik kütüphane oluştururken çalışmamızda kullanılan yöntemle çok benzeyen fakat IIIB (BsaXI veya Alfi) restriksiyon enzimlerinin kullanılmasıyla ddRAD-seq yönteminden ayrılan 2bRAD-seq yöntemini kullanmışlardır. Belirlemiş oldukları QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %11,3 olduğunu bildirmişlerdir (Lokasyon; S9_56656748). Sunulan bu çalışmaya en yakın yöntemin kullanıldığı bu çalışmada belirlenen fenotipik varyasyonu açıklama değeri sunulan çalışmada belirlenenden oldukça düşüktür (%13,5).

Son majör QTL bölgesi olan *qPH1.1* 1. kromozom üzerinde ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %10,8 olarak belirlenmiştir. Aynı kromozom üzerinde ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %4,91 olan QTL'in belirlendiği çalışma de Souza vd. (2021)'e aittir. Bu çalışma GBS yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Hostetler vd. (2021) çalışmalarında tuz stresi altına sekans yöntemi ile elde edilen verilerden 1. kromozom üzerinde belirledikleri QTL'in en yüksek fenotipik varyasyonu açıklama oranını %10,6 olduğunu bildirmişlerdir. Techale vd. (2022) GBS yöntemi kullanarak belirlemiş oldukları QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı ise %15'tir (Lokasyon; 3171922). Görüldüğü üzere sekans teknolojilerini kullanarak 1. kromozom üzerinde bitki boyu ile ilişkili çok az QTL belirlenmiştir. Bunun dışında yapılan çalışmalar genomik sekans yöntemi yerine marker analizleri ile gerçekleştirilmiştir (Ritter vd. 2008; Liu vd. 2019).

Literatürde sorgum bitkisinde az sayıda RAD-seq yöntemi ile hazırlanan genomik kütüphane çalışmaları olsa da (Kajiya-Kanegae vd. 2020; Jin vd. 2021) ddRAD-seq yönteminin kullanıldığı bir çalışma mevcut değildir. Yapılan bu çalışma ddRAD-seq yöntemi kullanılarak şeker sorgum bitkisinde QTL haritalama ve bitki boyu QTL'lerinin belirlendiği ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

5.4.2. Bitki öz suyu

Ekstrakte edilebilen bitki öz suyu toplam biyokütlenin %78'ine ulaşabildiği için biyoetanol eldesi için oldukça kısıtlayıcı bir faktör olarak tanımlanmaktadır (Tesfamichael vd. 2015). Bu sebepten dolayı konu ile ilgili kapsamlı çalışmalar yapılması beklenirken literatürde bitki öz suyu içeriği ve haritalanması ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Geçmişte gerçekleştirilen ve 6. kromozom üzerinde belirlenmiş QTL'leri içeren markerler yardımıyla yapılmış QTL haritalama çalışmaları bulunsun da (Mace ve Jordan 2010; Burks vd. 2015; Mocoour vd. 2015) genomik sekans verileri kullanılarak yapılmış çalışmalar oldukça kısıtlıdır. de Souza vd. (2021) çalışmalarında 6. kromozom üzerinde bitki öz suyu verimi ile ilişkili QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,5 ve LOD skoru 2,10 olarak belirlemişlerdir (Lokasyon; 45,898,926 kb). Bu çalışmada, bu bölgeye yakın lokasyonda bulunan (Lokasyon; 45,972,073 kb) SNP QTL'in hem fenotipik varyasyonu açıklama oranı (%17,7) ve LOD (7,4) skoru oldukça yüksektir. Ayrıca çalışmamızda belirlenen *qPJ6.1* QTL'nin fenotipik varyasyonu açıklama oranı da bu çalışmada belirlenenden oldukça yüksektir (%26). Monkhan vd. (2021) sorgumda 6. kromozom üzerinde 47,675,803-47,893,354 kb lokasyonunda bitki öz suyunda Ambemohor sorgumdaki hindistan cevizi suyu benzeri kokudan sorumlu genin (*BADH1*) bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen iki SNP QTL (47,447,032 ve 47,994,701 kb), belirlenen bu genden sırasıyla yaklaşık 230 ve 102 kb uzaklıkta bulunmaktadır. Görüldüğü üzere bitki öz suyu özelliğini konu alan çok az çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda belirlenen 6. kromozom üzerindeki *qPJ6.1* QTL'i literatürdeki en yüksek fenotipik varyasyonu açıklayan bitki öz suyu karakteri ile ilişkili QTL'dir.

5.4.3. Brix

Biyoenerji komponentleri arasında önemli bir rolü olan Brix, sorgumun biyoenerji kaynağı olarak kullanılmasındaki kriterlerde öz su örneklerinde ölçülen bileşenler arasında yer almasıyla (Guden vd. 2020a) tamamlayıcı bir özellik olarak kabul görmektedir. Yeni nesil sekanslama teknolojilerinden önce, yapılan QTL haritalama çalışmaları moleküler markerler yardımıyla gerçekleştirilmiştir (Ritter vd. 2008; Murray vd. 2009; Guan vd. 2011; Bai vd. 2017; Felderhoff vd. 2016; Disasa vd. 2018). Genomik sekans teknolojisi ile QTL çalışmalarından elde edilen veriler daha güvenilir ve daha derinlikli bilgiler sağlamaktadır. Bu çalışmada, yeni nesil sekans metodolojilerinden olan ddRAD-seq yöntemi kullanılarak elde edilen verilerden Brix karakteri ile ilişkili 3. ve 7. kromozomlarda 2 adet QTL belirlenmiştir. Bu QTL'lerin fenotipik varyasyonu açıklama oranları %10'dan küçük olduğu için minör QTL olarak tanımlanmıştır. Çalışmada belirlenen kromozomlardan birini konu alan bir çalışma Kajiya-Kanegae vd. (2020)'e aittir. Çalışmalarında, RAD-seq yöntemini kullanarak Brix karakteri ile ilişkili 2 QTL belirlemişlerdir. 7. kromozom üzerinde yer alan QTL'in (Lokasyon; 57,982,334-59,803,007 kb) fenotipik varyasyonu açıklama oranı %13,7' dir. Çalışmamızda 7. kromozom üzerindeki aynı pozisyonda belirlediğimiz SNP QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %7,9'dur. Ayrıca bu kromozom üzerinde en yüksek QTL'in lokasyonu SCM766.3_57982334 kb ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %9,7'dir. Her ne kadar yapılan çalışmada elde etmiş olduğumuz QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı bizden yüksek olsa da Kajiya-Kanegae vd. (2020) çalışmalarında iki lokasyondan elde etmiş oldukları fenotipik verileri ayrı ayrı değerlendirmiştir. Buna karşılık, sunulan bu çalışmada iki farklı lokasyondan elde edilen veriler bütünleşik olarak değerlendirilmiştir. Bilinmektedir ki, çok lokasyondan geliştirilmiş QTL analizi, tek lokasyondan geliştirilmiş analizden daha güçlüdür (El-Soda vd. 2014).

3. kromozomda belirlenen ve Brix karakteri ile ilişkili olan QTL'i genomik sekans yöntemleri ile belirleyen çalışma Harris-Shultz vd. (2015)'e aittir. Çalışmada GBS yöntemi kullanılarak genomik kütüphane oluşturulmuş ve 130 bitkiden oluşan F₂ popülasyonu kullanılmıştır. Brix karakteri ile ilişkili (üst boğumlarda bulunan Brix içeriği) QTL'inin (Lokasyon; 68,255,519 kb) fenotipik varyasyonu açıklama oranı %19 olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada da tek lokasyon hatta sera koşullarında gerçekleştirildiği rapor edilmiştir. Sunulan bu çalışmada bu kromozom üzerinde belirlenen QTL'in fenotipik varyasyonu açıklama oranı %8,6'dır. Her ne kadar belirlemiş olduğumuz QTL bölgeleri fenotipik varyasyonu açıklama oranı yüksek olmayıp majör olarak tanımlanamasa da bitki boyu karakterinde olduğu gibi bu çalışma literatürde ddRAD-seq yöntemi kullanılarak Brix QTL'i belirlenmiş ilk çalışma özelliğindedir. Bunlar dışında 3. kromozomda belirlenmiş Brix ile ilişkili QTL'ler olup marker analizlerine dayanmaktadır (Murray vd. 2008a; Shiringani vd. 2010; Guan vd. 2011; Felderhoff vd. 2012).

5.5. Çoklu Özellik QTL'leri

Bir QTL ya da SNP QTL bölgesinin birden fazla özellik ile ilişkili olma durumu literatürde çoklu özellik QTL'i olarak tanımlanmıştır (Gomez vd. 2020). Lokasyon 57,982,334 ile 59,610,262 kb arasında kalan bölgede yer alan 5 SNP QTL, bitki boyu karakterine ait fenotipik varyasyonu %18,2-34,6 arasında açıklarken aynı bölge Brix

karakterini %7,9-9,7 arasında açıklamaktadır. Brix özelliği için en yüksek fenotipik varyasyonu açıklayan 7. kromozom üzerinde bulunan *qBX7.1* QTL'i ise bitki boyunda %18,5 oranında fenotipik varyasyonu açıklamaktadır. Bu şekilde multi özellik QTL'leri farklı bitkilerde de rapor edilmiştir (Assanga vd. 2017; Bhakta vd. 2017; Boer vd. 2007; Malosetti vd. 2013; Malosetti vd. 2008; Sukhwinder-Singh vd. 2012). Sorgum bitkisinde ise Carvalho vd. (2015) ve Gomez vd. (2020) çalışmalarında aynı QTL'in birden fazla özellik ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

5.6. Geliştirilen CAPS Markerleri

Geleneksel bitki ıslahının merkezinde üstün genetik yapıya sahip bitkilerin fenotipine dayalı seçimi vardır (Salgotra ve Stewart 2020). Aslında gerçekte genetik rekombinasyonda oluşan bireylerin çevre etkileşimlerine verdiği tepkiye dayanarak yapılmaktadır (Salgotra ve Stewart 2020). İşte bu aşamada moleküler markerler için söylenebilmektedir ki; çevreden, alınan örneğin döneminden ve bitkinin gelişim aşamalarından etkilenmezler (Winter ve Kahl 1995).

İlgili karakter ile ilişkili moleküler markerlerin geliştirilmesi için onun nükleotid dizisini ve fonksiyonel karakterizasyonunu etkileyen ilgili bir genin ya da QTL'in tanımlanması gerekir (Amom ve Nongdam 2017). Bu gen/QTL tanımlaması ise QTL haritalama gibi birçok yol kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Salgotra vd. 2014). Bu süreçte elde edilen verilerin ilgili özellikle bağlantısı net anlaşılmalıdır. DNA'da meydana gelen polimorfizmin deletion/insertion ya da SNP'ten mi meydana geldiği iyi tespit edilmeli ve etkin markerler bu şekilde geliştirilmelidir (Borevitz ve Nordborg 2003). Bu çalışmada geliştirilen markerlerin her biri ddRAD-seq yöntemi kullanılarak oluşturulmuş genomik kütüphanenin analizinden tanımlanan SNP bölgelerini kullanarak geliştirilmiştir. SNP'ler, ıslah sürecinde verimliliğini artırmak için oldukça önemlidir. Genom araştırmalarındaki ilerlemeyle birlikte, moleküler ıslah için değerli genetik kaynaklar sağlayan ve tarımsal açıdan önemli özelliklerden sorumlu çok sayıda marker tanımlanmıştır (Salgotra ve Stewart 2020). Çünkü mevcut sekans bilgilerini kullanımı kolay markerlere dönüştürmek oldukça önemlidir (Burow vd. 2019). Genomik sekans verilerinden türetilen polimorfizmlerin yüksek verimli genotipler için bir SNP-marker platformuna dönüştürülmesi, ıslah programlarında uygulanması için ilk adımdır (Mammadov vd. 2012). SNP bazlı CAPS markerleri QTL haritalama ya da bağlantı haritalamasının bir sonucu olarak geliştirilen ve genetik analizlerde oldukça yaygın kullanım alanına sahip markerlerdir (Amanullah vd. 2018). Bununla birlikte, diğer marker tipleri le karşılaştırıldığında CAPS markerleri SNP bölgesinde yer alan varyasyon hakkında bilgi almamıza olanak sağlamaktadır (Amanullah vd. 2018). Çalışmamızda bitki boyu karakteri ile ilişkili B1 ve B7; bitki öz suyu karakteri ile ilişkili Ö13 ve Ö15; Brix karakteri ile ilişkili X3, X6 ve X7 CAPS markerleri ilgili özelliklere ait SNP bölgelerinden geliştirilmiştir. Genomik sekans verileri olan 8 hat ve 3 çeşit ilgili karakterlerdeki fenotiplere göre seçilmiş ve analizler yapılmıştır. Elde edilen genomik sekans verilerinde bulunan SNP'lerin CAPS markerlerine dönüştürülmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Sekansı bilinen hat ve çeşitlerde yapılan konfirmasyonlar neticesinde CAPS markerlerinin %100 etkinlikle çalıştığı gösterilmiştir. Cruet-Burgos vd. (2020) ise belirlemiş oldukları 5 adet antrokozoya dayanıklılık (aday) gen bölgelerindeki SNP'lerden 5 KASP, 1 bölgeden IN-DEL markerleri geliştirmiş ve 1500

F₂ bireyinde genotiplemişlerdir. Chen vd. (2019) nişasta içeriği ile ilgili belirledikleri SNP bölgelerinden 7 KASP markeri geliştirmiş ve 100 bitkide genotiplemişlerdir.

Geliştirmiş olduğumuz CAPS markerleri ilgili SNP QTL bölgelerinin varlığını/yokluğunu açıklama konusunda oldukça başarılı olduğunu sekans verileri olan hatlar ve çeşitlerde yapılan validasyon ile daha net bir şekilde anlaşılmıştır. Geliştirilen bu markerler sayesinde sekans teknolojilerinden elde edilen veriler kullanılabilir ve ekonomik markerlere dönüştürülmüştür. Bu sayede fenotipik varyasyonu açıklama oranını bildiğimiz bu bölgeler hakkında PCR bazlı belirleme olanağı sağlanmıştır.

5.7. Piramitleme

Piramitleme, istenilen özellikleri rekombinant DNA teknolojisi veya geleneksel ıslah yöntemleri ile birleştirerek birden fazla genin/QTL'in tek bir genotipte birleştirilmesi sürecini ifade eder (Lombardo vd. 2016). Piamitleme geleneksel ıslah yöntemleriyle mümkün olsa da birden fazla gen/QTL içeren tek bir bitkinin fenotipik seçimi ve tanımlanması oldukça zordur (Salgatro ve Stewart 2020).

Sorgum bitkisinde piramitlemeyi konu alan çalışma oldukça kısıtlı olsa da de Silva vd. (2018) üç erkek steril hat (A; Bmr-6 aleli taşıyan, bitki boyu kısae ve fotoperiyoda duyarsız) ve on restorer (R; bmr-6 aleli taşıyan, uzun boylu, yüksek biyokütle verimine sahip ve fotoperiyoda duyarlı) hat kullanarak sorgum bitkisinde ikinci nesil biyoetanol üretimi için üstün melezler geliştirmeyi amaçlayan çalışmalarında piramitleme yaparak üstün hibritler geliştirmeyi amaçlamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada belirlemiş oldukları bitkinin yeşil kalmasını etkileyen QTL'lerden; Stg3 ve Stg1+2 QTL'lerini içeren hatların iyi sulanan koşullara kıyasla su stresli koşullarda verimi %10 azalttığını ve diğer Stg'lere kıyasla daha yüksek tolerans göstermekte olduğunu ve bu hatların sorgumda %18-23 orta tolerans gösterdiğini belirlemişlerdir (Kamal vd. 2017).

Bu çalışmada, bitki boyu, öz su ve Brix karakterleri ile ilgili farklı QTL bölgelerinin Erdurmuş çeşidinde piratmitlenmesi amacıyla ilgili karakterler açısından oldukça yüksek değerlere sahip hat ve çeşitler ile melezlemeler yapılmıştır. Melezlemede kullanılan bu hat ve çeşitlerin sekans verileri bilindiği için Erdurmuş çeşidinde olmayan QTL'ler belirlenmiş ve bu durum genetik olarak analizlere de olanak sağlamıştır. Aynı zamanda yapılan melezlere ait fenotip verileri alınmış ve bu değerlendirmeler her iki taraflı gerçekleştirilmiştir. 507 X Erdurmuş melezinde 5 bitki değerlendirilmiş ve bitki boyu değerleri 331,00 ile 375,00 cm arasında belirlenmiştir. Görülmüştür ki, bu değerler meleze katılan ebeveynlere ait bitki boyu değerlerinden oldukça yüksektir (Erdurmuş; 306,00; 507; 280,00 cm). Aynı şekilde Brix değerleri de meleze katılan ebeveynlerde %14,40 (Erdurmuş) ve %14,30 (507) iken, 507 X Erdurmuş melezinde %18,00 ile 18,70 arasında belirlenmiştir. Bu durum melezleme sonucu oluşan bireylere 507 hattında Erdurmuş çeşidinden farklı olarak bulunan bitki boyu ile ilişkili 11 SNP QTL'lerinden ve Brix ile ilişkili 4 SNP QTL'lerinden en az birinin aktarıldığını göstermektedir. (424 x Erdurmuş) X (507 x Erdurmuş) 2'li melezinde gözlemi yapılan 5 bitkide boy karakteri için meleze katılan ebeveynlerden (424: 363 cm; Erdurmuş: 306 cm; 507: 280 cm) 3 (385, 391, 430 cm) bitkinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Brix değerleri ebeveynlerde %13,20 ile 14,40 arasında iken, melez bitkilerde %16,60 ile 17,70 arasında olduğu

belirlenmiştir. Bu durum meleze katılan ebeveynlerde bulunan bitki boyu için 424 hattında belirlenen 16 ve 507 hattında belirlenen 11 SNP QTL'den en az birinin bu 3 bitkiye aktarıldığı anlaşılmaktadır. Brix karakteri için ise 424 hattında 5 ve 507 hattında 4 SNP QTL'den en az birinin aktarıldığı sonucu çıkarılmaktadır.



6. SONUÇLAR

Şeker sorgumda biyoenerji ile ilişkili yüksek şeker, bitki öz suyu ve bitki boyu karakterlerinin yeni nesil sekanslama yöntemi kullanılarak haritalanması gerçekleştirilmiş, elde edilen bilgiler kullanılarak biyoenerji üretimine uygun hat ve çeşit ıslahı için analizler yapılmış ve özetle aşağıda belirtilen sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmada Erdurmuş şeker sorgumu ile Öğretmenoğlu danelik sorgumun melezlenmesi ve F₁'in kendilenmesi neticesinde ulaşılan F₂ bitkileri, haritalama popülasyonu olarak kullanılmıştır. Her bir F₂ bireyinin izole bir şekilde kendilenmesi sonucunda oluşan F₃ popülasyonu, Antalya ve Konya lokasyonlarında bitki boyu, bitki öz suyu ve Brix karakterleri açısından fenotiplenmiştir. Elde edilen genomik ve fenotipik veriler kullanılarak QTL haritalama gerçekleştirilmiştir. Bitki boyu için 1., 7. ve 9. kromozomlar üzerinde 3 (*qPH1.1*, *qPH7.1* ve *qPH9.1*) major, bitki öz suyu için 6. kromozom üzerinde 1 (*qPJ6.1*) majör ve Brix için ise 3. ve 7. kromozomlar üzerinde minör etkili 2 (*qBX3.1* ve *qBX7.1*) QTL bölgesi belirlenmiştir. Belirlenen bu QTL'ler arasında *qPH7.1* QTL bölgesinin yakınında yer alan SCM_59803007 lokasyonundaki SNP QTL, *Dw3* geninden yaklaşık 30 kb uzağında tanımlanmış ve fenotipik varyasyonu açıklama oranı %34,4 olarak belirlenmiştir. Bu bölgede yapılan analizlerde belirlenen SNP'in bir sonucu olarak 4. exonda yer alan 120. amino asitin Glutamat (E) yerine Aspartat (D)'a dönüştüğü gözlenmiştir. Ayrıca, *qPJ6.1* bitki öz suyu QTL bölgesine çok yakın iki SNP QTL'in (SCM_47447032 ve SCM_47994701) Ambemohor sorgumdaki hindistan cevizi suyu benzeri kokudan sorumlu genin (*BADH1* Lokasyonu; 47,675,803-47,893,354) 230 ve 102 kb uzağında tanımlanmıştır. Belirlenen QTL bölgelerinde yer alan SNP QTL'lerin çalışmaya konu olan birden fazla karakter ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

QTL bölgelerinden ya da yakın lokasyonlarda bulunan SNP QTL bölgelerinden bitki boyu için 2 (B1 ve B7), bitki öz suyu için 2 (Ö13 ve Ö15) ve Brix için 3 (X3, X6, X7) CAPS markeri geliştirilmiştir. Bu markerlerin sekans verilerini bildiğimiz 8 hat ve 3 çeşitte validasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde, sekans verilerinin CAPS markerine dönüşüm etkinliği %100 olarak hesaplanmıştır.

Ana ebeveyn olarak kullanılan Erdurmuş çeşitinde olmayan ve daha önce meleze katılan 8 hatta ve Uzun çeşitinde olan ve projeye konu olan özellikler ile ilişkili SNP QTL'ler belirlenmiştir. Bitki boyu, bitki öz suyu ve Brix karakterleri için farklı QTL'lerin bir bireyde piramitlemesi amacıyla melezler seçilmiş ve tarla koşullarında değerlendirilmiştir. 507 X Erdurmuş melezinde ve (424 x Erdurmuş) X (507 x Erdurmuş) 2'li melezinde yapılan gözlemlerde bitki boyu ve Brix karakterleri için elde edilen değerlerin kullanılan ebeveynlerden oldukça yüksek olduğu ve piramitleme amacıyla seçilen bu melezlerde başarılı olunduğu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

- Abdurakhmonov, I.Y., Abdulkarimov, A. 2008. Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. *International Journal of Plant Genomics*, 2: 574927.
- Açıkgöz, E. 2001. Yembitkileri. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayınları: 182, Ders Kitabı, Bursa, 584 s.
- Agarwal, A., Rana, M., Park, J.H. 2018. Advancement in technologies for the depolymerization of lignin. *Fuel Processing Technology*, 181: 115-32.
- Aguirre, N.C., Filippi, C.V., Zaina, G., Rivas, J.G., Acuña, C.V., Villalba, P.V., Garcia, M.N., Gonzalez, S., Rivarola, M., Martinez, M.C. vd. 2019. Optimizing ddRADseq in non-model species: A case study in *Eucalyptus dunnii* Maiden. *Agronomy*, 9 (9): 484.
- Almodares, A., Sepahi, A. 1996. Comparison among sweet sorghum cultivars, lines and hybrids for sugar production. *Annual Review of Plant Biology*, 10: 50-55.
- Almodares, A., Taheri, R. Adeli, S. 2008. Stalk yield and carbohydrate composition of sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] cultivars and lines at different growth stages. *Malaysian Applied Biology*, 37: 31-36.
- Almodares, A., Hadi, M.R. 2009. Production of bioethanol from sweet sorghum: A Review. *African Journal of Agricultural Research*, 4: 772-780.
- Amanullah, S., Gao, P., Ose, B.A., Saroj, A., Yang, T., Liu, S., Weng, Y., Luan, F. 2021. Genetic linkage mapping and QTLs identification for morphology and fruit quality related traits of melon by SNP based CAPS markers. *Scientia Horticulturae*, 278: 109849.
- Amom, T., Nongdam, P. 2017. The use of molecular marker methods in plants: A Review. *International Journal of Current Research and Review*, 9: 1-9.
- Anglani, C. 1998. Sorghum carbohydrates - A Rev. *Plant Food Human Nutrition*, 52: 77-83.
- Appiah-Nkansah, N.B., Li, J., Rooney, W., Wang, D. 2019. A review of sweet sorghum as viable renewable bioenergy crop and its techno-economic analysis. *Renewable Energy*, 143: 1121e1132.
- Artschwager, E., McGuire, R.C. 1949. Cytology of reproduction in *Sorghum vulgare*. *Journal of Agricultural Research*, 78: 659-673.
- Arriola, P.E. 1995. Crop to weed gene flow in sorghum: implications for transgenic release in Africa. *African Crop Science Journal*, 3: 153-160.
- Assanga, S.O., Fuentealba, M., Zhang, G., Tan, C., Dhakal, S., Rudd, J.C., Ibrahim, A.M., Xue, Q., Haley, S., Chen, J., vd. 2017. Mapping of quantitative trait loci for grain yield and its components in a US popular winter wheat TAM 111 using 90K SNPs. *Plos One*, 12: e0189669.
- Audilakshmi, S., Mail, A.K., Swarnalatha, M., Seetharama, N. 2010. Inheritance of sugar concentration in stalk (brix), sucrose content, stalk and juice yield in sorghum. *Biomass and Bioenergy*, 34: 813-820.

- Bai, C., Wang, C., Wang, P., Zhu, Z., Cong, L., Li, D., Lui, Y., Zheng, W., Lu, X. 2017. QTL mapping of agronomically important traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Euphytica*, 213: 1-12.
- Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko W.A., Johnson E.A. 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One*, 3: e3376.
- Bandara, A.Y., Weerasooriya, D.K., Gobena, D.D., Hopper, D.J., Tesso, T.T., LittleFirst, C.R. 2020. Improving sweet sorghum for enhanced juice traits and Biomass. *Plant Breeding*, 139: 131-140.
- Barcelos, C.A., Maeda, R.N., Betancur, G.J.V., Pereira, Jr.N. 2011. Ethanol production from sorghum grains [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]: evaluation of the enzymatic Hydrolysis and the hydrolyzate fermentability. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28 (4): 597-604.
- Bayram, G., Turgut, İ. 2015. Biyoetanol kaynağı olarak şeker darı (*Sorghum bicolor* ssp. *saccharatum*) üretimi ve önemi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1: 147-155.
- Baytekin, H. 1990. Çukurova koşullarında 2. ürün olarak yetiştirilen tane ve silaj sorgum çeşitlerinde verim ve bazı tarımsal karakterler ile karakterler arasındaki ilişkilerin saptanması. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 266s.
- Bean, B., Mccollum, T., Pietsch, D., Rowland, M., Porter, B., Vanmeter, R. 2002. Texas Panhandle Forage Sorghum Silage Trial. The Agriculture Program of Texas A&M University System.
- Beavis, W.D. 1994. The power and deceit of QTL experiments: lessons from comparative QTL studies”, Proc. 49th Ann. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf., Washington, DC, American Seed Trade Association.
- Bennett, F.W. 1990. Modern grain sorghum production. Iowa City: University of Iowa Press.
- Bentley, D.R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H.P., Smith, G.P., Milton, J., vd. 2008. Accurate whole genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*, 456: 53-59.
- Bhakta, M.S., Gezan, S.A., Michelangeli, J.A.C., Carvalho, M., Zhang, L., Jones, J.W., Boote, K.J., Correll, M.J., Beaver, J., Osorno, J.M. vd. 2017. A predictive model for time-to-flowering in the common bean based on QTL and environmental variables. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7: 3901-3912.
- Bhatramakki, D., Dong, J., Chhabra, A.K., Hart, G.E. 2000. An integrated SSR and RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Genome*, 43: 988-1002.
- Boer, M.P., Wright, D., Feng, L., Podlich, D.W., Luo, L., Cooper, M., van Eeuwijk, F.A. 2007. A mixed-model Quantitative Trait Loci (QTL) analysis for multiple-environment trial data using environmental covariables for QTL-by-environment interactions, with an example in maize. *Genetics*, 177: 1801-1813.
- Boivin, K., Deu, M., Rami, J.F., Trouche, G., Hamon, P. 1999. Towards a saturated sorghum map using RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 320-328.

- Borevitz, J.O., Nordborg M. 2003. The impact of genomics on the study of natural variation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 132: 718-725.
- Borrell, A.K., Hammer, G.L., Douglas, A.C.L. 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? I. leaf growth and senescence. *Crop Science*, 40: 1026-1037.
- Bowers, J.E., Abbey, C., Anderson, S., Chang, C., Draye, X., vd. 2003. A high-density genetic recombination map of sequence-tagged sites for sorghum, as a Framework for comparative structural and evolutionary genomics of tropical grains and grasses. *Genetics*, 165: 367-386.
- Brown, P.J., Rooney, W.L., Franks, C., Kresovich, S. 2008. Efficient mapping of plant height Quantitative Trait Loci in a sorghum association population with introgressed dwarfing genes. *Genetics*, 180: 629-637.
- Burks, P. S., Kaiser, C. M., Hawkins, M. E., Brown, P. J. 2015. Genomewide association for sugar yield in sweet sorghum. *Crop Science*, 55: 2138-2148.
- Burow, G., Chopra, R., Sattler, S., Burke, J., Acosta-Martinez, V., Xin, Z. 2019. Deployment of SNP (CAPS and KASP) markers for allelic discrimination and easy access to functional variants for brown midrib genes bmr6 and bmr12 in *Sorghum bicolor*. *Molecular Breeding*, 39: 115.
- Carvalho, G., Schaffert, R.E., Malosetti, M., Viana, J.H.M., Menezes, C.B., Silva, L.A., Guimaraes, C.T., Coelho, A.M., Kochian, L.V., van Eeuwijk, F.A. vd. 2015. Back to acid soil fields: The citrate transporter SbMATE is a major asset for sustainable grain yield for Sorshum cultivated on acid soils. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6: 475-484.
- Carvalho Jr, G., Rooney, W.L. 2017. Assessment of stalk properties to predict juice yield in sorghum. *BioEnergy Research*, 10: 657-670.
- Casady, A. J. 1965. Effect of a single height (Dw) gene of sorghum on grain yield, grain yield components, and test weight. *Crop Science*, 5: 385-389.
- Chen, J., Wang, B., Zhang, Y., Yue, X., Li, Z., Liu, K. 2017. High-density ddRAD linkage and yield-related QTL mapping delimits a chromosomal region responsible for oil content in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Breeding Science*, 67: 296-306.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34: 884-890.
- Chen, B., Wang, C., Wang, P., Zhu, Z., Xu, N., Shi, G., Yu, M., Wang, N., Li, J., Hou, J., vd. 2019. Genome-wide association study for starch content and constitution in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Journal of Integrative Agriculture*, 18: 2446-2456.
- Chittenden, L.M., Schertz, K.F., Lin, Y.R., Wing, R.A., Paterson, A.H. 1994. A detailed RFLP map of *Sorghum bicolor* × *S. propinquum*, suitable for high-density mapping, suggests ancestral duplication of sorghum chromosomes or chromosomal segments. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 925-933.
- Chopra, R., Burow, G., Burke, J.J., Gladman, N., Xin, Z. 2017. Genomewide association analysis of seedling traits in diverse sorghum germplasm under thermal stress. *BMC Plant Biology*, 17: 12.

- Clegg, M.D., Gorz, H.J., Maranville, J.W., Haskins, F.A. 1986. Evaluation of agronomic and energy traits of wray sweet sorghum and the N39 × wray hybrid. *Energy in Agriculture*, 5: 49-54.
- Cole, M.R., Eggleston, G., Petrie, E., Uchimiya, S.M., Dalley, C. 2017. Cultivar and maturity effects on the quality attributes and ethanol potential of sweet sorghum. *Biomass and Bioenergy*, 96: 183-192.
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B., Pang, E.C.K. 2005. An introduction to markers, Quantitative Trait Loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, 142: 169-196.
- Crasta, O.R. Xu, W.W., Rosenow, D.T., Mullet, J., Nguyen, H.T. 1999. Mapping of post-flowering drought resistance traits in grain sorghum: association between QTLs influencing premature senescence and maturity. *Molecular Genetics and Genomics*, 262: 579-588.
- Cruet-Burgos, C.M., Cuevas, H.E., Prom, L.K. Knoll, J.E. Stutts, L.R. Vermerris, W. 2020. Genomic dissection of anthracnose (*Colletotrichum sublineolum*) resistance response in sorghum differential line SC112-14. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10: 1403-1412.
- Çeçen, S., Öten M., Erdurmuş, C. 2005. Batı Akdeniz sahil kuşağında sorgum (*Sorghum bicolor* L.), sudanotu (*Sorghum sudanense* Staph.) ve mısırın (*Zea mays* L.) ikinci ürün olarak değerlendirilmesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18: 337-341.
- Dahlberg, J. 2000. Classification and characterization of the world collection of sorghum. Sorghum: origin, history, technology, and production. Editör; Smith, C.W., Frederiksen, R.A. New York: Wiley Series in Crop Science.
- da Silva, M.J., de Souza Carneiro, P.C., de Souza Carneiro, J.E, Damasceno, C.M.B. vd. 2018. Evaluation of the potential of lines and hybrids of biomass sorghum. *Industrial Crops and Products*, 125: 379-385.
- Davik, J., Sargent, D.J., Brurberg, M.B., Lien, S., Kent, M., vd. 2015. A ddRAD based linkage map of the cultivated strawberry, *Fragaria xananassa*. *PLoS One* 10: e0137746.
- de Souza, V.F., da Silva Pereira, G., Pastina, M.M., da Costa Parrella, R.A., Simeone, M.L.F., de Almeida Barros, B., Noda, R.W., da Costa e Silva, L. de Magalhães, J.V. vd. 2021. QTL Mapping for bioenergy traits in sweet sorghum recombinant inbred lines. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 11: jkab314.
- Dhingani, R.M., Umrana, V.V., Tomar, R.S., Parakhia, M.V., Golakiya, B.A. 2015. Introduction to QTL mapping in plants. *Annals of Plant Sciences*, 4: 1072-1079.
- Disasa, T., Feyissa, T., Admassu, B. 2017. Characterization of Ethiopian sweet sorghum accessions for 0 Brix, morphological and grain yield traits. *Sugar Tech*, 19: 72-82.
- Disasa, T., Feyissa, T., Admassu, B., Fetene, M., Mendu, M. 2018. Mapping of QTLs associated with °Brix and biomass-related traits in sorghum using SSR markers. *Sugar Tech*, 20: 275-285.

- Dje, Y., Heuertz, M., Ater, M., Lefèbvre, C., Vekemans, X. 2004. In situ estimation of outcrossing rate in sorghum landraces using microsatellite markers. *Euphytica*, 138: 205-212.
- Doggett, H. 1965. Striga hermonthica on sorghum in East Africa. *East African Agricultural Journal*, 18: 155-159.
- Doggett, H. 1988. Sorghum. Longman Scientific and Technical (Second Edition). UK: Essex.
- Downes, R.W. 1972. Effect of temperature on the phenology and grain yield of *Sorghum bicolor*. *Australian Journal of Agricultural Research*, 23: 585-594.
- Dufour, P., Grivet, L., D'Hont, A., Deu, M., Trouche, G., Glaszmann, J.C., Hamon, P. 1996. Comparative genetic mapping between duplicated segments on maize chromosomes 3 and 8 and homoeologous regions in sorghum and sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics*, 92: 1024-1030.
- Dutra, D.E., Neto, A.G.B., de Souza, R.B., de Moraes Junior, M.A., Tabosa J.N., Menezes, R.S.C. 2013. Ethanol production from the stem juice of different sweet sorghum cultivars in the State of Pernambuco, Northeast of Brazil. *Sugar Tech*, 15: 316-321.
- Ekefre, D.E., Mahapatra, A.K., Latimore, J.M., Bellmer, D.D., Jena, U., Whitehead, J.G., Williams, A.L. 2017. Evaluation of three cultivars of sweet sorghum as feedstocks for ethanol production in the Southeast United States. *Heliyon*, 3: e00490.
- Elangovan, M., Perumalla, K.B., Seetharama, N., Patil, J.V. 2014. Genetic diversity and heritability characters associated in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Sugar Tech*, 16: 200-210.
- Ellstrand, N.C., Foster, K.W. 1983. Impact of population structure on the apparent outcrossing rate of grain sorghum (*Sorghum bicolor*). *Theoretical and Applied Genetics*, 66: 323-327.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., vd. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*, 6: e19379.
- El-Soda, M., Malosetti, M., Zwaan, B.J., Koornneef, M., Aarts M.G.M. 2014. Genotype × environment interaction QTL mapping in plants: lessons from Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 19: 390-398.
- Eren, Ö., Öztürk, H.H. 2011. Çukurova bölgesinde tatlı sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) üretiminde enerji kullanımı. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25: 70-79.
- Etuk, E.B., Ifeduba, A.V., Okata, U.E., Chiaka, I., Okoli, Ifeanyi, C., Okeudo, N.J., Esonu, B.O., Udedibie, A.B.I., Moreki, J.C. 2012. Nutrient composition and feeding value of sorghum for livestock and poultry: a review. *Journal of Animal Science Advances*, 2: 510-524.
- Falconer, D.S.M., Mackay, T.F.C. 1996. Quantitative trait loci. Introduction to quantitative genetics (4th ed.). England: Essex.

- Faye, J.M., Maina, F., Akata, E.A., Sine, B., Diatta, C., Mamadou, A., Marla, S., Bouchet, S., Teme, N., Rami, J. vd. 2021. A genomics resource for genetics, physiology, and breeding of West African sorghum. *The Plant Genome*, 14: e20075.
- Feltus, F.A., Hart, G.E., Schertz, K.F., Casa, A.M., Kresovich, S., Abraham, S., Klein, P.E., Brown, P.J., Paterson, A.H. 2006. Alignment of genetic maps and QTLs between inter- and intra-specific sorghum populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 112: 1295-1305.
- Felderhoff, T.J., Murray, S.C., Klein, P.E., Sharma, A., Hamblin, M.T., Kresovich, S., Vermerris, W., Rooney, W.L. 2012. QTLs for energy-related traits in a sweet x grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] mapping population. *Crop Science*, 52: 2040.
- Felderhoff, T. J., McIntyre, L. M., Saballos, A., Vermerris, W. 2016. Using genotyping by sequencing to map two novel anthracnose resistance loci in *Sorghum bicolor*. *Genes Genomes Genetics*, 6: 1935-1946.
- Feng, X., Yu, X., Fu, B., Wang, X., Liu, H., Pang, M., vd. 2018. A hgh-resolution genetic linkage map and QTL fine mapping for growth-related traits and sex in the yangtze river common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*). *BMC Genomics*, 19: 230.
- Fernandes, S.B., Dias, K.O.G., Ferreira, D.F., Brown, P.J. 2018. Efficiency of multi-trait, indirect, and trait-assisted genomic selection for improvement of biomass sorghum. *Theoretical and Applied Genetics*, 131: 747-755.
- Ferraris, R., Charles-Edwards, D. 1986. A comparative analysis of the growth of sweet and forage sorghum crops. II: accumulation of soluble carbohydrates and nitrogen. *Australian Journal of Agricultural Research*, 37: 513-533.
- Freudenthal, J.A., Ankenbrand, M.J., Grimm, D.G., Korte, A. 2019. GWAS-flow: a GPU accelerated framework for efficient permutation based genome-wide association studies. *BioRxiv*, 1: 783100.
- Garrison, E., Marth, G. 2012. Haplotype-based variant detection from short-read sequencing. arXiv.org [preprint] 1207.3907.
- Gelli, M., Mitchell, S., Liu, K., Clemente, T., Weeks, D., Zhang, C., Holding, D.R., Dweikat, I.M. 2016. Mapping QTLs and association of differentially expressed gene transcripts for multiple agronomic traits under different nitrogen levels in sorghum. *BMC Plant Biology*, 16: 16.
- Gelli, m., Konda, A. R., Liu, K., Zhang, C., Clemente, T.E., Holding, D.R., Dweikat, I.M. 2017. Validation of QTL mapping and transcriptome profiling for identification of candidate genes associated with nitrogen stress tolerance in sorghum. *BMC Plant Biology*, 17: 123.
- Girardot, C., Scholtalbers, J., Sauer, S., Su, S., Furlong, E.E.M. 2016. Je, a versatile suite to handle multiplexed NGS libraries with unique molecular identifiers. *BMC Bioinformatics*, 17: 419.
- Glaubitz, J. C., Casstevens, T. M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R.J. 2014. TASSEL-GBS: a high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS One*, 9: e90346.

- Gomez, F.E., Mullet, J.E., Muliana, A.H., Niklas, K.J., Rooney, W.L. 2020. The genetic architecture of biomechanical traits in sorghum. *Crop Science*, 60: ISSN 0011-183X.
- Govindarajulu, R., Hostetler, A.N., Xiao, Y., Chaluvadi, S.R., Mauro-Herrera, M., Siddoway, M.L. Whipple, C., Bennetzen, J.L., Devos, K.M., Doust, N.A. vd. 2021. Integration of high-density genetic mapping with transcriptome analysis uncovers numerous agronomic QTL and reveals candidate genes for the control of tillering in sorghum. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 11: jkab024.
- Graham, D., Lessmann, K.J. 1966. Effect of height on yield and yield components of two isogenic lines of *Sorghum vulgare* Pers. *Crop Science*, 6: 372-374.
- Guan, Y., Wang, H., Qin, L., Zhang, H., Yang, Y., Gao, F., Li, R., Wang, H. 2011. QTL mapping of bio-energy related traits in sorghum. *Euphytica*, 182: 431-440.
- Guiying, L., Weibin, G., Hicks, A., Chapman, K.R. 2000. A training manual for sweet sorghum. Thailand: FAO, CAAS/CAS.
- Guiying, L., Weibin, G., Hicks, A., Chapman, K. R., 2003. A training manual for sweet sorghum. Development of sweet sorghum for grain, sugar, feed, fiber, and value-added by-products, in the arid, saline-alkaline regions of China. FAO-TCP/CPR/0066.
- Guden, B., Erdurmus, C., Erdal, S., Uzun, B. 2020a. Evaluation of sweet sorghum genotypes for bioethanol yield and related traits. *Biofuels Bioproducts & Biorefining-biofpr*, 15: 545-562.
- Guden, B., Yol, E., Erdurmus, C., Uzun, B. 2020b. SSR marker analysis of plant height in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33: 405-410.
- Habyarimana, E., Lorenzoni, C., Redaelli, R., Alfieri, M., Amaducci, S., Cox, S. 2018. Towards a perennial biomass sorghum crop: a comparative investigation of biomass yields and overwintering of *Sorghum bicolor* × *S. halepense* lines relative to long term *S. bicolor* trials in Northern Italy. *Biomass Bioenergy*, 111: 187-195.
- Habyarimana, E., Lopez-Cruz, M., Baloch, F.S. 2020. Genomic selection for optimum index with dry biomass yield, dry mass fraction of fresh material, and plant height in biomass sorghum. *Genes*, 11: 61.
- Hagio, K., Sekimura, S., Ohta, K., Meguro R. 1987. Changes in heading times and sugar percentage (Brix%) of sweet sorghum cultivars (*Sorghum bicolor* M.) in Northern District of Japan. *Tohoku journal of agricultural research*, 40: 197-198.
- Han, Y., Lv, P., Hou, S., Li, S., Ji, G., Ma, X., Du, R., Liu, G. 2015. Combining next generation sequencing with bulked segregant analysis to fine map a stem moisture locus in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Plos One*, 10: e0127065.
- Hanna. W.W., Monson, W.G., Gaines, T.P. 1981. IVDMD, total sugars and lignin measurement of normal and brown midrib (bmr) sorghums at various stages of development. *Agronomy Journal*, 73: 1050-152.
- Hariprasanna, K., Patil, J.V. 2015. Sorghum: origin, classification, biology and improvement. In: Madhusudhana, R., Rajendrakumar, P., Patil, J.V. Sorghum Molecular Breeding. India: Springer.

- Harlan, J.R., De Wet, J.M.J. 1972. A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Science*, 12: 127-176.
- Harris-Shultz, K.R., Davis, R.F., Knoll, J.E., Anderson, W., Wang, H. 2015. Inheritance and identification of a major Quantitative Trait Locus (QTL) that confers resistance to *Meloidogyne incognita* and a novel QTL for plant height in sweet sorghum. *Analytical and Theoretical Plant Pathology*, 105: 1522-1528.
- Hart, G.E., Schertz, K.F., Peng, Y., Syed, N.Y. 2001. Genetic mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench QTLs that control variation in tillering and other morphological characters. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1232-1242.
- Hashimoto, S., Wake, T., Nakamura, H., Minamiyama, M., Araki-Nakamura, S., Ohmae-Shinohara, K., Koketsu, E., Okamura, S., Miura, K., Kawaguchi, H. vd. 2021. The dominance model for heterosis explains culm length genetics in a hybrid sorghum variety. *Scientific Reports*, 11: 4532.
- Hausmann, B.I.G., Hess, D.E., Seetharama, N., Welz, H.G., Geiger, H.H. 2002. Construction of a combined sorghum linkage map from two recombinant inbred populations using AFLPs, SSR, RFLP, and RAPD markers, and comparison with other sorghum maps. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 629-637.
- He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z.X., Liu, H., Li, Z. 2014. Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Frontiers in Plant Science*, 5: 484.
- Higgins, R.H., Thurber, C.S., Assaranurak, I., Brown, P.J. 2014. Multiparental mapping of plant height and flowering time QTL in partially isogenic sorghum families. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 4: 1593- 1602.
- Hilson, G.R. 1916. On the inheritance of certain stem characters in sorghum. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 11: 150.
- Hilley, J., Truong, S., Olson, S., Morishige, D., Mullet, J. 2016. Identification of Dw1, a regulator of sorghum stem internode length. *PLoS One*, 11: e0151271.
- Hilley, J.L., Weers, B.D., Truong, S.K., McCormick, R.F., Mattison, A.J., McKinley, B.A., Morishige, D.T., Mullet, J.E. 2017. Sorghum Dw2 encodes a protein kinase regulator of stem internode length. *Scientific Reports*, 7: 4616.
- Hirano, K., Kawamura, M., Araki-Nakamura, S., Fujimoto, S., Ohmae-Shinohara, K., Yamaguchi, M., Fujii, A., Sasaki, H., Kasuga, S., Sazuka, T. 2017. Sorghum DW1 positively regulates brassinosteroid signaling by inhibiting the nuclear localization of BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2. *Scientific Reports*, 7: 126.
- Hostetler, A.N., Govindarajulu, R., Hawkins J.S. 2021. QTL Mapping in an interspecific sorghum population uncovers candidate regulators of salinity tolerance. *Plant Stress*, 2: 100024.
- House, L.R. 1985. A guide to sorghum breeding (Second edition). Patancheru: ICRISAT.
- Hu, Z., Olatoye, M.O., Marla, S., Morris, G.P. 2019. An integrated genotyping-by-sequencing polymorphism map for over 10,000 sorghum genotypes. *Plant Genome*, 12: 180044.
- Hunter, E.L., Anderson, I.C. 1997. Sweet sorghum. *Horticulture Reviews*, 21: 73-104.

- Hulbert, S.H., Richter, T.E., Axtell, J.D., Bennetzen, J.L. 1990. Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 87: 4251-4255.
- Jackson, D.R., Arthur, M.F., Davis, M., Kresovich, S., Lawhon, W.T., Lipinsky, E.S., Price, M., and Rudolph, A. 1980. Research report on development of sweet sorghum as an energy crop volume 1: agricultural task. USDOE, Battele, Columbus. U.S. Department of Commerce.
- Ji, G., Zhang, Q., Du, R., Lv, P., Ma, X., Fan, S., Li, S., Hou, S., Han, Y., Liu, G. 2017. Construction of a high-density genetic map using specific-locus amplified fragments in sorghum. *BMC Genomics*, 18: 51.
- Jin, P., Wang, L., Zhao, W., Zheng, J., Wang, Y., Liu, Y., Meng, R., Dai, J., Zhou, L., Li, J. 2021. Construction of high density genetic map and QTL mapping in sorghum x sudangrass. *Euphytica*, 217: 162.
- Kajiya-Kanegae, H., Takanashi, H., Fujimoto, M., Ishimori, M., Ohnishi N., Wacera W.F., Omollo E.A., Kobayashi, M., Yano, K., Nakano, M., vd. 2020. RAD-seq-based high-density linkage map construction and QTL mapping of biomass-related traits in sorghum using the Japanese Landrace Takakibi NOG. *Plant and Cell Physiology*, 61: 1262-1272.
- Kamal, N.M., Gorafi, Y.S.A., Ghanim, A.M.A. 2017. Performance of sorghum stay-green introgression lines under post-flowering drought. *Int. J. Plant Res.* 7: 65-74.
- Kappes, S.M. 1999. Utilization of gene mapping information in livestock animals. *Theriogenology*, 51: 135-147.
- Karper, R.E., Quinby, J.R. 1947. Sorghum: its production, utilization and breeding. *Economic Botany*, 1: 355-371.
- Kawahigashi, H., Kasuga, S., Okuizumi, H., Hiradate, S., Yonemaru, J.I. 2013. Evaluation of Brix and sugar content in stem juice from sorghum varieties. *Grassland Science*, 59: 11-19.
- Kearsey, M.J., Pooni, H.S. 1998. The genetical analysis of quantitative traits. UK: Birmingham.
- Kim, M., Day, D.F. 2011. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38: 803e807.
- Kimber, C.T. 2000. Origins of domesticated sorghum and its early diffusion to India and China, In: Smith, C.W., Frederiksen, R.A. Sorghum: Origin, History, Technology, and Production, New York: Wiley Series in Crop Science.
- Klein, P.E., Klein, R.R., Cartinhour, S.W., Ulanich, P.E., Dong, J., Obert, J.A., Morigi, D.T., Schlueter, S.D., Childs, K.L. Ale, M. vd. 2000. A high-throughput AFLP-based method for constructing integrated genetic and physical maps: progress toward a sorghum genome map. *Genome Research*, 10: 789-807.
- Klein, R.R., Rodriguez-Herrera, R., Schlueter, J.A., Klein, P.E., Yu, Z.H., Rooney, W.L. 2001. Identification of genomic regions that affect grain-mould incidence and other traits of agronomic importance in sorghum. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 307-319.

- Klein, R. R., Mullet, J. E., Jordan, D. R., Miller, F. R., Rooney W. L., Menz, M.A., Franks, C.D., Klein, P.E. 2008. The effect of tropical sorghum conversion and inbred development on genome diversity as revealed by high-resolution genotyping. *Crop Science*, 48: 12-26.
- Konar, A., Choudhury, O., Bullis, R., Fiedler, L., Kruser, J.M., Stephens, M.T. 2017. High-quality genetic mapping with ddRADseq in the non-model tree quercus rubra. *BMC Genomics*, 18: 417.
- Kong, W.Q., Nabukalu, P., Cox, T.S., Goff, V.H., Robertson, J.S., Pierce, G.J., Lemke, C., Compton, R., Paterson, A.H. 2021. Quantitative trait mapping of plant architecture in two BC1F2 populations of *Sorghum bicolor* × *S. halepense* and comparisons to two other sorghum populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 134: 1185-1200.
- Koppen, S., Reinhardt, G., Gartner, S., 2009. Assessment of energy and greenhouse gas inventories of sweet sorghum for first and second generation bioethanol. Environment and Natural Resources Management Series, Rome: FAO.
- Kovarik, B., Singh, B.P. 2013. Biofuel crops: production, physiology and genetics. Singh, B.P. (Ed.), CABI: Nosworthy Way.
- Kumar, J., Pratap, A., Solanki, R. 2009. Basics of molecular genetic mapping and QTL analysis in plants, In: Koller, M. Sharjah (Ed.), Advances in biotechnology. Bentham.
- Lander, E. S. 1996. The new genomics: global views of biology. *Science*, 274: 536-539.
- Langmead, B., Salzberg, S.L. 2012. Fast gapped-read alignment with bowtie 2. *Nature Methods*, 9: 357-359.
- Lansac, A.R., Sullivan, C.Y., Johnson, B.E., Lee, K.W. 1994. Viability and germination of the pollen of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Annals of Botany*, 74: 27-33.
- Leder, I. 2009. Sorghum and millets. In: Fuleky, G. (Ed.), Cultivated Plants Primarily as Food Sources. Oxford, U.K: Eolss Publishers.
- Lekgari, A.L. 2010. Genetic mapping of quantitative trait loci associated with bioenergy traits, and the assessment of genetic variability in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), thesis, University of Nebraska at Lincoln, Agronomy and Horticulture Department, Lincoln, 93.
- Lekgari, A., Dweikat, I. 2014. Assessment of genetic variability of 142 sweet sorghum germplasm of diverse origin with molecular and morphological markers. *Open Journal of Ecology*, 4: 371-393.
- Li, X., Li, X., Fridman, E., Tesso, T.T., Yu, J. 2015. Dissecting repulsion linkage in the dwarfing gene Dw3 region for sorghum plant height provides insights into heterosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 112: 11823-11828.
- Lijavetzky, D., Martinez, M.C., Carrari, F., Hopp H.E. 2000. QTL analysis and mapping of pre-harvest sprouting resistance in sorghum. *Euphytica*, 112: 125-135.

- Lin, Y.R., Schertz, K.F., Paterson, A.H. 1995. Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across the poaceae, in reference to an interspecific sorghum population. *Genetics*, 141: 391-411.
- Liu, B.H. 1998. Statistical genomics. New York: CRC Press Boca Raton.
- Liu, H., Liu, H., Zho, L., Lin Z. 2019. Genetic architecture of domestication- and improvement-related traits using a population derived from *Sorghum virgatum* and *Sorghum bicolor*. *Plant Science*, 283: 135-146.
- Lobell, D.B., Burke, M.B., Tebaldi, C., Mastrandrea, M.D., Falcon, W.P., Naylor, R.L. 2008. Prioritizing climate change adaptation needs for food security in 2030. *Science*, 319: 607-610.
- Luo, F., Pei, Z., Zhao, X., Liu, H., Jiang, Y., Sun, S. 2020. Genome-wide association study for plant architecture and bioenergy traits in diverse sorghum and sudangrass germplasm. *Agronomy*, 10: 1602.
- Lv, P., Ji, G., Han, Y., Hou, S., Li, S., Ma, X., Du, R., Liu, G. 2013. Association analysis of sugar yield-related traits in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)]. *Euphytica*, 193: 419-431.
- Lynch, M., Walsh, B. 1998. Genetics and analysis of quantitative traits. USA. Sunderland.
- Ma, Z.H., Li, D., Ning, X.B. 1992. Study on Brix degree, total sugar content and their relationship in the juice of sweet sorghum stem. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 23: 187-191.
- Ma, J.F. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50: 11-18.
- Mace, E.S., Rami, J.F., Bouchet, S., Klein, P.E., Klein, R.R., Kilian, A., Wenzl, P., Xia, L., Halloran, K., Jordan, D.R. 2009. A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput diversity array technology (DArT) markers. *BMC Plant Biology*, 9: 13.
- Mace, E.S., Jordan, D.R. 2010. Location of major effect genes in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theoretical and Applied Genetics*, 121: 1339-1356.
- Mace, E.S., Innes, D., Hunt, C., Wang, X., Tao, Y., Baxter, J., Hassall, M., Hathorn, A., Jordan, D.R. 2018. The sorghum QTL atlas: a powerful tool for trait dissection, comparative genomics and crop improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 132: 751-766. Son erişim tarihi 15.01.22.
- Magness, J.R., Markle, G.M., Compton, C.C. 1971. Food and feed crops of the United States – a descriptive list classified according to potential for pesticides and residues. International Research Project IR – 4, IR. Bull 1 (Bulletin 828) New Jersey Agric.
- Malode, S.J., Prabhu, K.K., Mascarenhas, R.J., Shetti, N.P., Aminabhavi, T.M. 2021. Recent advances and viability in biofuel production. *Energy Conversion and Management*, 10: 100070.

- Malosetti, M., Ribaut, J.M., Vargas, M., Crossa, J., Van Eeuwijk, F.A. 2008. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica*, 161: 241-257.
- Malosetti, M., Ribaut, J.M., van Eeuwijk, F.A. 2013. The statistical analysis of multi-environment data: modeling genotype-by-environment interaction and its genetic basis. *Frontiers in Physiology*, 4: 44.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., Kumpatla, S. 2012. SNP markers and their impact on plant breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 11, ID728398.
- Massault, C., Bovenhuis, H., Haley, C., Koning, D. 2008. QTL mapping designs for aquaculture. *Aquaculture*, 285: 23-29.
- Mathur, S., Umakanth, A.V., Tonapi, V.A., Sharma, R. Sharma, M.K. 2017. Sweet sorghum as biofuel feedstock: recent advances and available resources. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 10: 146.
- Maunder, A.B. 2002. Sorghum worldwide. In: Leslie, J.F. Ames, IA. (Eds.), *Sorghum and Millet Diseases*, USA: Iowa State Press.
- McCormick, R.F., Truong, S.K., Sreedasyam, A., Jenkins, J., Shu, S.Q., Sims, D., Kennedy, M., Amirebrahimi, M., Weers, B.D., McKinley, B. vd. 2018. The *Sorghum bicolor* reference genome: improved assembly, gene annotations, a transcriptome atlas, and signatures of genome organization. *The Plant Journal*, 93: 338-354.
- Menz, M.A., Klein, R.R., Mullet, J.E., Obert, J.A., Unruh, N.C., Klein P.E. 2002. A high-density genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench based on 2926 AFLP(R), RFLP and SSR markers. *Plant Molecular Biology*, 48: 483-499.
- Ming, R., Liu, S.C., Lin, Y.R., Paterson, A.H., Da Silva, J., Wilson, W., Braga, D., Van Deynze, A., Sorrells, M.E. vd. 1998. Detailed alignment of saccharum and sorghum chromosomes: comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes. *Genetics*, 150: 1663-1682.
- Mocoeur, A., Zhang, Y.M., Liu, Z.Q., Shen, X., Zhang, L.M., Rasmussen, S.K., Jing, H.C. 2015. Stability and genetic control of morphological, biomass and biofuel traits under temperate maritime and continental conditions in sweet sorghum (*Sorghum bicolor*). *TAG. Theoretical and Applied Genetics*, 128: 1685-1701.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T.G., Yano, M., Bhatia, C.R., Sasaki, T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*, 3: 87-103.
- Morgil, H., Gercek, Y.C., Tulum, İ. 2020. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in plant genetics and breeding, In: Caliskan, M. (Ed.), *The recent topics in genetic polymorphisms*. IntechOpen Limited, London.
- Monkhan, T., Chen, X., Somta, P. 2021. ADH1 is associated with fragrance in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivar ‘Ambemohor’. *Journal of Genetics*, 100: 3.
- Morris, G.P., Rhodes, D.H., Brenton, Z., Ramu, P., Thayil, V.M., Deshpande, S., Hash, C.T., Acharya, C., Mitchell, S.E., Buckler, E.S. vd. 2013. Dissecting genome-

- wide association signals for loss-of-function phenotypes in sorghum flavonoid pigmentation traits. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 3: 2085-2094.
- Morton, N.E. 1955. Sequential tests for the detection of linkage. *American Journal of Human Genetics*, 7: 277-318.
- Multani, D.S., Briggs, S.P., Chamberlin, M.A., Blakeslee, J.J., Murphy, A.S., Johal, G.S. 2003. Loss of an MDR transporter in compact stalks of maize br2 and sorghum dw3 mutants. *Science*, 302: 81-84.
- Murray, S.C., Sharma, A., Rooney, W.L., Klein, P.E., Mullet, J.E., Mitchell, S.E., Kresovich, S. 2008a. Genetic improvement of sorghum as a biofuel feedstock: I. QTL for stem sugar and grain nonstructural carbohydrates. *Crop Science*, 48: 2165-2179.
- Murray, S.C., Rooney, W.L., Mitchell, S.E., Sharma, A., Klein, P.E., Mullet, J.E., Kresovich, S. 2008b. Genetic improvement of sorghum as a biofuel feedstock: II. QTL for stem and leaf structural carbohydrates. *Crop Science*, 48: 2180-2193.
- Murray, S. C., Rooney, W. L., Mitchell, S. E., Kresovich, S. 2009. Sweet sorghum diversity and association mapping for Brix and height. *Plant Genome*, 2: 48-62.
- Natoli, A., Gorni, C., Chegiani, F., Ajmone Marsan, P., Colombi, C., Lorenzoni, C., Marocco, A. 2002. Identification of QTLs associated with sweet sorghum quality. *Maydica*, 47: 311-322.
- Negro, M.J., Solano, M.L., Ciria, J.C. 1999. Composting of sweet sorghum bagasse with other wastes. *Bioresource Technology*, 67: 89-92.
- Ng'uni, D., Shargie, N.G., Andersson, S.C., van Biljon, A., Labuschagne, M.T. 2016. Genetic variation and trait associations of yield, protein and grain micronutrients for identification of promising sorghum varieties. *Research Communications*, 44: 681-693.
- Nguyen, K.L., Grondin, A., Courtois, B., Gantet, P. 2019. Next-generation sequencing accelerates crop gene discovery. *Trends Plant Science*, 24: 263-274.
- Norman, M.J.T., Pearson, C.J., Searle, P.G.E. 1995. Tropical food crops in their environment. Cambridge: University Press.
- O'Hara, I., Kent, G., Alberston, P., Harrison, M., Hobson, P., McKenzie, N., vd. 2013. Sweet sorghum: opportunities for a new, renewable fuel and food industry in Australia. Report No: RIRDC Publication N. 13/087, RIRDC Project No. PRJ-005254, Rural Industries Research and Development Corporation.
- Oliver, A.L., Grant, R.J., Pedersen, J. F., O'Rear, J. 2004. Comparison of brown midrib-6 and -18 forage sorghum with conventional sorghum and corn silage in diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 637-644.
- Ongom, P.O., Ejeta, G. 2018. Mating design and genetic structure of a multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) population of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *G3-Genes Genomes Genetics*, 8: g3.300248.2017.
- Oscar, H. 1884. Sorghum sugar. *American Journal of Pharmacy*, 56: 1-5.
- Özsensoy, Y., Kurar, E. 2013. Genetik bağlantı analizi ve uygulama alanları. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10: 53-62.

- Pacific Seeds. 2008. Grain sorghum agronomy guide 2008/09. Pacific Seeds.
- Passarge, E. 2000. Renkli genetik atlası. Çevirenler: Lülecı G, Sakızlı M, Alper Ö.G. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Paterson, A.H. 1996. Making genetic maps. In: Paterson, A.H. (Ed.), *Genome mapping in plants*. San Diego, Academic Press, California.
- Paterson, A.H., Bowers, J.E., Bruggmann, R., Dubchak, I., Grimwood, J., Gundlach, H., Haberer, G., Hellsten, U. Mitros, T., Poliakov, A. vd. 2009. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature*, 457: 551-556.
- Pedersen, J.F., Toy, J.J., Johnson, B. 1998. Natural outcrossing of sorghum and sudangrass in the central grass plains. *Crop Science*, 38: 937-939.
- Peng, Y., Schertz, K.F., Cartinhour, S., Hart, G.E. 1999. Comparative genome mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench using an RFLP map constructed in a population of recombinant inbred lines. *Plant Breeding*, 118: 225-235.
- Pereira, M.G., Lee, M. 1995. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 380-388.
- Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S., Hoekstra, H.E. 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One*, 7: e37135.
- Polburee, P., Yongmanitchai, W., Lertwattanasakul, N., Ohashi, T., Fujiyama, K., Limtong, S. 2015. Characterization of oleaginous yeasts accumulating high levels of lipid when cultivated in glycerol and their potential for lipid production from biodiesel-derived crude glycerol. *Fungal Biology*, 119: 1194-204.
- Purseglove, J.W. 1972. Sorghum. In: *Tropical Crops: Monocotyledons*, New York: Longman Scientific and Technical.
- Qazi, H.A., Paranjpe, S., Bhargava, S. 2012. Stem sugar accumulation in sweet sorghum-activity and expression of sucrose metabolizing enzymes and sucrose transporters. *Journal of Plant Physiology*, 169: 605-613.
- Qu, H., Liu, X.B., Dong, C.F., Lu, X.Y., Shen, Y.X. 2014. Field performance and nutritive value of sweet sorghum in Eastern China. *Field Crops Research*, 157: 84-88.
- Quinby, J. R., Karper, R. E. 1954. Inheritance of height in sorghum. *Agronomy Journal*, 211-216.
- Quinby, J. R. 1967. The maturity genes of sorghum. In: INorman, A. (Ed.), *Advances in agronomy XIX*. Academic Press, New York.
- Quinby, J. R. 1974. Sorghum improvement and the genetics of growth. Texas A & M Univ. Press College Station.
- Quinlan, A.R., Hall, I.M. 2010. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *In Bioinformatics*, 26: 841-842.
- Quintero, J.A., Montoya, M.I., Sanchez, O.J., Giraldo, O.H., Cardona, C.A. 2008. Fuel ethanol production from sugarcane and corn: comparative analysis for a colombian case. *Energy*, 33: 385-399.

- Rafalski, A. 2002. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 94-100.
- Rai, K.N., Murty, D.S., Andrews, D.J., Bramel-Cox, P.J. 1999. Genetic enhancement of pearl millet and sorghum for the semi-arid tropics of Asia and Africa. *Genome*, 42: 617-628.
- Rainey, T.J., O'Hara, I.M. 2013. Sweet sorghum a multiproduct crop, sweet sorghum: opportunities for a new, renewable fuel and food industry in Australia, Austrian government. In: O'Hara, I.M., Kent, G., Albertson, P., Harrison, M.D., Hobson, P., McKenzie, N., Moghaddam, L., Moller, D., Rainey, T.J., Stolz, W., Wong, H., Ellett B. (Eds.) Rural Industries Research and Development Corporation.
- Rains, G.C., Cundiff, J.S., Vaughan, D.H. 1990. Development of a whole-stalk sweet sorghum harvester. Transactions of the ASAE. *American Society of Agricultural Engineers*, 33: 56-62.
- Rajvanshi, A.K., Nimbkar, N. 2005. Sweet sorghum R&D at the Nimbkar Agricultural Research Institute (NARI). *Nimbkar Agricultural Research Institute*, 44: 1-11.
- Rami, J.F., Dufour, P., Trouche, G., Fliedel, G., Mestres, C., Davrieux, F., Blanchard, P., Hamon, P. 1998. Quantitative trait loci for grain quality, productivity, morphological and agronomical traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 97: 605-616.
- Ramu, P., Kassahun, B., Senthilvel, S., Kumar, C.A., Jayashree, B., Folkertsma, R.T., vd. 2009. Exploiting rice-sorghum synteny for targeted development of EST-SSRs to enrich the sorghum genetic linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 1193-1204.
- Rao, S.S., Patil, J.V., Prasad, P.V.V., Reddy, D.C.S., Mishra, J.S., Umakanth, A.V., Reddy, B.V.S., Kumar, A.A. 2013b. Sweet sorghum planting effects on stalk yield and sugar quality in semi-arid tropical environment. *Agronomy Journal*, 105: 1458-1465.
- Rao, S.S., Patil, J.V., Umakanth, A.V., Mishra, J.S., Ratnavathi, C.V., Prasad, G.S., Rao, B. D. 2013a. Comparative performance of sweet sorghum hybrids and open pollinated varieties for millable stalk yield, biomass, sugar quality traits, grain yield and bioethanol production in tropical Indian condition. *Sugar Technology*, 15: 250-257.
- Rao, P.S., Umakanth, A.V., Reddy, B.V.S., Dweikat, I., Sujata Bhargava, Kumar, C.G., Braconnier, S., Patil, J.V. 2013c. Sweet sorghum: genetics, breeding and commercialization. In: Singh, B.P. (Eds.) Biofuel crops: production, physiology and genetics. CABI.
- Ratnavathi, C.V., K. Suresh, B.S. Vijay Kumar, M. Pallavi, V.V. Komala, and N. Seetharama. 2010. Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice. *Biomass and Bioenergy*, 34: 947-952.
- Ray, S., Satya, P. 2014. Next generation sequencing technologies for next generation plant breeding. *Frontiers in Plant Science*, 5: 367.
- Reddy, B.V.S., Ramesh, S., Reddy, P.S., Ramaiah, B., Salimath, P.M., Kachapur, L. 2005. Sweet sorghum a potential alternative raw material for bio-ethanol and

- bioenergy. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*, 46: 79e86.
- Reddy, B.V.S., Ramesh, S., Ashok Kumar, A., Wani, S.P., Ortiz, R., Ceballos, H., Sreedevi, T.K. 2008. Biofuel crops research for energy security and rural development in developing countries. *Bioenergy Research*, 1: 248-258.
- Regassa, T.H. Wortmann, C.S. 2014. Sweet sorghum as a bioenergy crop: literature review. *Biomass Bioenergy*, 64: 348-355.
- Ritter, K.B., McIntyr, C.L., Dodwin, I.D., Jordan, D.R., Chapman, S.C. 2007. An assesment of the genetic relationship between sweet and grain sorghum, within *Sorghum bicolor* ssp. *bicolor* (L.) Moench, using AFLP markers. *Euphytica*, 157: 161-176.
- Ritter, K.B., Jordan, D.R., Chapman, S.C. vd. 2008. Identification of QTL for sugar related traits in a sweet x grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) recombinant inbred population. *Molecular Breeding*, 22: 367-384.
- Robledo, D., Palaiokostas, C., Bargelloni, L., Martínez, P., Houston, R. 2018. Applications of genotyping by sequencing in aquaculture breeding and genetics. *Reviews in Aquaculture*, 10: 670-682.
- Rooney, L.W., Blumenthal, J., Bean, B., Mullet, J.E. 2007. Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1: 147e157.
- Saballos, A. 2008. Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. In: Vermerris, W. (Eds.), Genetic improvement of bioenergy crops. Springer. New York.
- Sağlamtimur, T., Tansı V., Baytekin, H. 1988. Çukurova koşullarında ikinci ürün olarak yetiştirilebilecek silaj sorgum çeşitlerinin bazı tarımsal karakterlerinin saptanması üzerine bir araştırma. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3: 40.
- Salas Fernandez, M.G., Becraft, P.W., Yin, Y., Lubberstedt, T. 2009. From dwarves to giants? Plant height manipulation for biomass yield. *Trends in Plant Science*, 14: 454-461.
- Salgotra, R.K. Gupta, B.B. Stewart, C.N. 2014. From genomics to functional markers in the era of next-generation Sequencing. *Biotechnology Letters*, 36: 417-426.
- Salgotra, R.K., Stewart, C.N. 2020. Functional Markers for Precision Plant Breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 4792.
- SAS Institute, 2007. SAS/STAT User's guide. Version 9.2, NC: SAS Institute Inc.
- Schertz, K.F., Dalton, L.G. 1980. Sorghum. Hybridization of crop plants. In: Fehr, W.R., Hadley H., Wisconsin. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America Madison.
- Scheben, A. Batley, J., Edwards, D. 2017. Genotyping-by-sequencing approaches to characterize crop genomes: choosing the right tool for the right application. *Plant Biotechnology Journal*, 15: 149- 161.

- Schmidt, M. R., Bothma, G. 2005. Indications of bee pollination in sorghum and its implications for transgenic biosafety. *International Sorghum and Millets Newsletter*, 6: 72-75.
- Schmidt, M., Bothma, G. 2006. Risk assessment for transgenic sorghum in Africa: crop-to-crop gene flow in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Crop Science*, 46: 790-798.
- Schneider, K. 2005. Genetic and physical mapping. The handbook of plant genome mapping. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH and Co.
- Semagn, K., Bjørnstad, Å., Ndjiondjop, M.N. 2006a. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5: 2540-2568.
- Semagn, K., Bjørnstad, A., Ndjiondjop, M.N. 2006b. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. *African Journal of Biotechnology*, 5: 2569-2587.
- Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernandez, C., Perez-Carrillo, E., Heredia-Olea, E. 2012. Sorghum as a multifunctional crop for the production of fuel ethanol: current status and future trends. In: Lima, M.A.P., Natalense, A.P.P. Bioethanol, InTech.
- Shiringani, A.L., Frisch, M., Friedt, W. 2010. Genetic mapping of QTLs for sugar-related traits in a RIL population of *Sorghum bicolor* L. Moench. *Theoretical and Applied Genetics*, 121: 323-336.
- Shiringani, A.L., Friedt, W. 2011. QTL for fibre-related traits in grain $\times$ sweet sorghum as tool for the enhancement of sorghum as a biomass crop. *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 999-1011.
- Shen, X., Liu, Z.Q., Mocoeur, A., Xia, Y., Jing, H.C. 2015. PAV Markers in *Sorghum bicolor*: genome pattern, affected genes and pathways, and genetic linkage map construction. *Theoretical and Applied Genetics*, 128: 623-637.
- Singh, H., Deshmukh, R. K., Singh, A., Singh, A. K., Gaikwad, K. 2010. Highly variable SSR markers suitable for rice genotyping using agarose gels. *Molecular Breeding*, 25: 359-364.
- Skerman, P.J., Riveros, F. 1990. Tropical grasses. Rome: FAO plant production and protection series.
- Smith, G.A., Bagby, M.O., Lewellan, R.T., Doney, D.L., Moore, P.H., Hills, F.J., Campbell, L.G., Hogaboam, G.J., Coe, G.E., Freeman, K. 1987. Evaluation of sweet sorghum for fermentable sugar production potential. *Crop Science*, 27: 788-793.
- Srinivas, G., Satish, K., Madhusudhana, R., Reddy, R. N., Mohan, S. M., Seetharama, N. 2009. Identification of quantitative trait loci for agronomically important traits and their association with genic microsatellites markers in Sorghum. *Theoretical and Applied Genetics*, 118: 1439-1454.
- Solovyev, V., Kosarev, P., Seledsov, I., Vorobyev, D. 2006. Automatic annotation of eukaryotic genes, pseudogenes and promoters. *Genome Biology*, 7: 1-12.
- Song, J., Li, Q., Yu, Y., Wan, S., Han, L., Du, S. 2018. Mapping genetic loci for quantitative traits of golden shell color, mineral element contents, and growth-

- related traits in pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biotechnology*, 20: 666-75.
- Spenceley, J., Butler, G., Nicholas, A., Simpfendorfer, S., Holland, J., Kniepp, J. vd. 2005. Grain sorghum. NSW Department of Primary Industries.
- Stamenkovic, O.S., Siliveru, K., Veljkovic, V.B., Bankovic-Ilic, I.B., Tasic, M.B., Ciampitti, I.A., Dalovic, I.G., Mitrovic, P.M., Sikora, V.S., Prasad, P.V.V. 2020. Production of biofuels from sorghum. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 124: 109769.
- Stephens, J.C., Quinby, J.R. 1934. Anthesis, pollination, and fertilization in sorghum. *Journal of Agricultural Research*, 49: 123-136.
- Subhashini, S., Selvi, B. 2019. Association and variability studies in F₂ population of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Electronic Journal of Plant Breeding*, 10: 483-489.
- Spagnolli, F.C., Mace, E., Jordan, D., Borrás, L., Gambin, B.L. 2016. Quantitative trait loci of plant attributes related to sorghum grain number determination. *Crop Science*, 56: 3046-3054.
- Sukhwinder-Singh, M.V. Hernandez, Crossa, J., Singh, P.K., Bains, N.S., Singh, K., Sharma, I. 2012. Multi-trait and multi-environment QTL analyses for resistance to wheat diseases. *Plos One*, 7: e38008.
- Sukumaran, S., Li, X., Li, X., Zhu, C., Bai, G., Perumal, R. vd. 2016. QTL mapping for grain yield, flowering time, and stay-green traits in sorghum with genotyping-by-sequencing markers. *Crop science*, 56: 1429-1442.
- Tanksley, S.D. 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*, 27: 205- 233.
- Tao, Y.Z., Jordan, D.R., McIntyre, C.L., Henzell, R.G. 1998. Construction of a genetic map in a sorghum recombinant inbred line using probes from different sources and its comparison with other sorghum maps. *Australian Journal of Agricultural Research*, 49: 729-736.
- Taramino, G., Tarchini, R., Ferrario, S., Lee, M., Pe, E. 1997. Characterization and mapping of simple Sequence Repeats (SSRs) in *Sorghum bicolor*. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 66-72.
- Taylor, J.R.N. 2003. Overview: Importance of sorghum in Africa. In AFRIPRO Workshop on the proteins of sorghum and millets: enhancing nutritional and functional properties for Africa. 2-4 April 2003, Pretoria, South Africa.
- Techale, B., Dong, H., Mihrete, G., Aregash, G., Paterson, A.H., Kassahum, B. 2022. QTL analysis in multiple sorghum mapping populations facilitates dissection of the genetic control of agronomic and yield-related traits in sorghum (*Sorghum bicolor* (Moench)). *Euphytica*, 218: 24
- Tesfamichael, A., Githiri, S.M., Kasili, R., Araia, W., Nyende, A.B. 2015. Genetic variation among sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) landraces from Eritrea under post-flowering drought stress conditions. *Canadian Journal of Plant Science*, 6: 1410-1424.

- Thomas, R., Venkatraman, T.S. 1930. Sugarcane-sorghum hybrids. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 25: 164.
- Thudi, M., Li, Y., Jackson, S.A., May, G.D., Varshney, R.K. 2012. Current state-of-art of sequencing technologies for plant genomics research. *Briefing in Functional Genomics*, 11: 3-11.
- Tosun, F., Özbilen, C. 1991. Samsun ekolojik şartlarında yetiştirilen bazı silajlık sorgum çeşitlerinde değişik dozlarda azotlu gübrelemenin verim ve verim unsurlarına etkileri, Türkiye II. Çayır-Mera Yem Bitkileri Kongresi, s. 341-351, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- Tuck, G., Glendining, M.J., Smith, P., House, J.I., Wattenbach, M. 2006. The potential distribution of bioenergy crops in Europe under present and future climate. *Biomass and Bioenergy*, 30: 183-197.
- Untergasser, A., Nijveen, H., Rao, X., Bisseling, T., Geurts, R., Leunissen, J.A.M., Van Ooijen, J.W. 2011. multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species. *Genetics Research*, 93: 343-349.
- Upadhyaya, H.D., Wang, Y.H., Gowda C.L.L., Sharma, S. 2013. Association mapping of maturity and plant height using SNP markers with the sorghum mini core collection. *Theoretical and Applied Genetics*, 126: 2003-2015.
- Vanderlip, R.L. 1993. How a sorghum plant develops. Kansas State University, Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.
- Van Ooijen JW. 2009. MapQTL 6, software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Kyazma B V, Wageningen, Netherlands.
- Varshney, R.K., Nayak, S.N., May, G.D. Jackson, S.A. 2009. Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in Biotechnology*, 27: 522-530.
- Vinutha, K.S., Rayaprolu, L., Yadagiri, K., Umakanth, A.V., Srinivasa Rao, P. 2014. Sweet sorghum research and development in India: status and prospects. *Sugar Tech*, 16: 133-143.
- Wang, S., Meyer, E., McKay, J.K., Matz, M.V. 2012. 2b-RAD: A simple and flexible method for genome-wide genotyping. *Nature Methods*, 9: 808-810.
- Wang, X., Mace, E., Hunt, C., Cruickshank, A., Henzell, R., Parkes, H., Jordan, D. 2014. Two distinct classes of QTL determine rust resistance in sorghum. *BMC Plant Biology*, 14: 366.
- Wang, H., Wang, R., Liu, B., Yang, Y., Qin, L., Chen, E., Zhang, H., Guan, Y. 2020. QTL analysis of salt tolerance in *Sorghum bicolor* during whole-plant growth stages. *Plant Breeding*, 139: 455-465.
- Weng, Y., Colle, M., Wang, Y., Yang, L., Rubinstein, M., Sherman, A., Ophir, R. and Grumet, R. 2015. QTL mapping in multiple populations and development stages reveals dynamic quantitative trait loci for fruit size in cucumbers of different market classes. *Theoretical and Applied Genetics*, 128: 1747-1763.

- Wu, X., Staggenborg, S., Prophet, J.L., Rooney, W.L., Yu, J., Wang, D. 2010. Features of sweet sorghum juice and their performance in ethanol fermentation. *Industrial Crops and Products*, 31: 164-170.
- Whiteman, P.C., Wilson, G.L. 1965. Effects of water stress on the reproductive development of *Sorghum vulgare* Pers. The University of Queensland Press, 4, 233-239.
- Whitkus, R., Doebley, J., Lee, M. 1992. Comparative genome mapping of sorghum and maize. *Genetics*, 132: 1119-1130.
- Winter P., Kahl G. 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11: 438-448.
- Xu, G.W., Magill, C.W., Schertz, K.F., Hart, G.E. 1994. A RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Theoretical and Applied Genetics*, 89: 139-145.
- Xu, W., Subudhi, P.K., Crasta, O.R., Rosenow, D.T., Mullet, J.E., Nguyen, H.T. 2000. Molecular mapping of QTLs conferring staygreen in grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Genome*, 43: 461-469.
- Xu, Y., Li, P., Yang, Z., Xu, C. 2016. Genetic mapping of quantitative trait loci in crops. *The Crop Journal*, 5: 175-184.
- Xue, S.J., Chi, Z., Zhang, Y., Li, Y.F., Liu, G.L., Jiang, H., Hu, Z., Chi, Z. 2018. Fatty acids from Oleaginous Yeasts and yeast-like fungi and their potential applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38: 1049-60.
- Yadav, P., Priyanka, P., Kumar, D., Yadav, A., Yadav, K. 2019. Bioenergy crops: recent advances and future outlook. In: Rastegari, A.A., Yadav A.N., Gupta, A. (Eds.) *Prospects of Renewable Bioprocessing in Future Energy Systems*. Springer, Switzerland.
- Yu, J., Zhang, T., Zhong, J., Zhang, X., Tan, T. 2012. Biorefining of sweet sorghum stem. *Biotechnology Advances*, 30: 811-816.
- Yun-Long, B., Seiji, Y., Maiko, I., Hong-Wei, C. 2006. QTLs for sugar content of stalk and sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Agricultural Sciences in China*, 5: 736-744.
- Yol, E., Basak, M., Kızıllı, S., Lucas, S.J., Uzun, B. 2021. "A high-density SNP genetic map construction using ddRAD-Seq and mapping of capsule shattering trait in sesame. *Frontiers in Plant Science*, 12: 679659.
- Zegada-Lizarazu, W., Monti, A. 2012. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? a review on field management practices. *Biomass and Energy*, 40: 1-12.
- Zhang, H., Wang, R., Liu, B., Chen, E., Yang, Y., Qin, L., Li, F., Gao, F., Cao, P., Wang, H., 2019. Inclusive composite-interval mapping reveals quantitative trait loci for plant architectural traits in sorghum (*Sorghum bicolor*). *Crop & Pasture Science*, 70: 659-668.
- Zhang, Y.M. 2012. F₂ designs for QTL analysis. *Methods in Molecular Biology*, 871: 17-29.

- Zhao, Y.L., Dolat, A., Steinberger, Y., Wang, X., Osman, A., Xie, G.H. 2009. Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research*, 111: 55-64.
- Zou, G., Yan, S., Zhai, G., Zhang, Z., Zou, J., Tao, Y. 2011. Genetic variability and correlation of stalk yield-related traits and sugar concentration of stalk juice in a sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) population. *Australian Journal of Crop Science*, 5: 1232-1238.



ÖZGEÇMİŞ

BİRGÜL GÜDEN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2016-2022	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2013-2016	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Uludağ Üniversitesi
2007-2012	Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bursa

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi
2013-Devam Ediyor	Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Guden B., Yol, E., İkten C., Erdurmus C., Uzun B. (2019). Molecular and morphological evidence for resistance to sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari*) in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. 3 Biotech, 9(6), 245. Doi: 10.1007/s13205-019-1783-8
- 2- Guden B., Erdurmus C., Erdal S., Uzun B. (2020). Evaluation of sweet sorghum genotypes for bioethanol yield and related traits. Biofuels, Bioprod. Bioref. 15: 545-562. Doi: 10.1002/bbb.2169
- 3- Kizil, S., Basak M., Guden B., Tosun H.S., Uzun B., Yol E. (2020). Genome-Wide Discovery of InDel Markers in Sesame (*Sesamum indicum* L.) Using ddRADSeq. Plants (Basel), 9(10): 1262. Doi: 10.3390/plants9101262

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Guden B., Erdurmus C., Yol E., Ustun R., Ikten C., Akar T., Uzun B. 2014. Evaluation of a sorghum germplasm for plant height characteristic by using molecular markers. European Biotechnology Congress, cilt.185, 15-18 Mayıs, Lecce, İtalya.
- 2- Guden B., Yol E., Ikten C., Erdurmus C., Uzun B. 2015. Marker screening for resistance to sorghum aphid (*Melanaphis sacchari* (Zehntner)) in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). XXIIIrd EUCARPIA Maize and Sorghum Conference, ss. 80, 10-12 Haziran, Montpellier, Fransa.
- 3- Polat M., Ustun R., Guden B., Yol E., Uzun B. 2015. Identification of chlorophyll content in soybean (*Glycine max* (L.) merrill) by using soil plant analytical development (Spad)-502 meter. II. International Plant Breeding Congress and EUCARPIA – Oil And Protein Crops Section Conference, ss. 220, 1-06 Kasım, Antalya, Türkiye.
- 4- Guden B., Erdurmus C., Uzun B. 2017. Morphological observations for host-plant resistance against aphids in sweet sorghum. The International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, ss. 224, 15-17 Mayıs, Nevşehir, Türkiye.
- 5- Guden B., Erdurmus C., Uzun B. 2017. Molecular selection for sugar content in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). III. International Plant Breeding, ss. 77, 15-19 Ekim, Girne, Kıbrıs.
- 6- Uzun B., Yol E., Ustun R., Guden B. 2018. Integration of Molecular Tools to Oil and Energy Crops Breeding: Case Studies in Groundnut, Sesame, Soybean and Sweet Sorghum. International Congress on Oil and Protein Crops, ss.94, 20-24 Nisan, Kişinev, Moldova.

- 7- Uzun B., Yol E., Ustun R., Guden B. 2018. Yağ ve Enerji Bitkilerinde Moleküler Bitki Islahı ve Uygulamaları. Bitki Islahı ve Genetiği Öğrenci kongresi, ss.13, 25-26 Nisan, Niğde, Türkiye.
- 8- Guden B., Uzun B. 2018. Heterosis and Heterobeltiosis for Plant Height in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). I. International Agricultural Science Congress, ss.11, 9-12 Mayıs, Van, Türkiye.
- 9- Guden B., Uzun B. 2018. Assessment of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Genotypes as a Bio-energy Source by the Aid of Indirect Selection. I. International Agricultural Science Congress, ss.232, 9-12 Mayıs, Van, Türkiye.
- 10- Guden B., Uzun B. 2018. Improvement of New Sweet Sorghum Lines For Effective Sources of Bioenergy (Biofuels and Biomass). International Agricultural, Biological & Life Science Conference, ss.517, 2-05 Eylül, Edirne, Türkiye.
- 11- Guden B., Uzun B. 2018. Evaluation of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Genotypes for Salinity Tolerance. International Agricultural, Biological & Life Science Conference, ss. 297, 2-05 Eylül, Edirne, Türkiye.
- 12- Uzun B., Yol E., Ustun R., Guden B. 2019. Yağ Bitkilerinde Yüksek oleik Asit içeriğine sahip yeni çeşitlerin Geliştirilmesi ve Bitkisel yağ sanayisine Etkileri. YABİTED IV Ulusal yağ bitkileri kongresi, ss.10, 18-19 Nisan, İstanbul, Türkiye.
- 13- Yol E., Ustun R., Guden B., Guçlu V., Basak M., Kızıl S., Uzun B. 2019. Batı akdeniz iklim kuşağında Yürütülen yağ bitkileri ıslah çalışmaları ve yeni perspektifler. Bitki Islahı ve Genetiği Öğrenci kongresi, ss.11, 2-03 Mayıs, Niğde, Türkiye.
- 14- Guden B., Uzun B. 2019. Breeding for high sugar content, plant stalk juice and plant height characters in sweet sorghum. Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology conference, ss.221, 24-29 Haziran, Novosibirsk, Rusya.
- 15- Ustun R., Guden B., CAT A., Catal M., Uzun B. 2020. Determination and Molecular Characterization of Bacteria in Mix of Sweet Sorghum and Soybean Silage. International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, ss.167, 16-18 Aralık, Ankara, Türkiye.
- 16- Ustun R., Guden B., CAT A., Catal M., Uzun B. 2020. Identification of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* on Soybean Seed. International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, ss.166, 16-18 Aralık, Ankara, Türkiye.