

Kendilenmiş mısır hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi

Şekip ERDAL¹

¹ Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Antalya

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: sekip.erdal@tarim.gov.tr

Makale Bilgisi/Article Info
Derim, 2018/35(1): 73-80
doi: 10.16882/derim.2018.409862

Araştırma Makalesi/Research Article
Geliş Tarihi/Received: 27.03.2018
Kabul Tarihi/Accepted: 25.05.2018



Öz

Mısırdaki farklı genetik tabanlı materyallerin birbirleri ile melezlenmesi, yüksek düzeyde heterosis için temel koşullardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, mısır hatlarının genetik uzaklıklarını SSR markırları yardımı ile tespit etmek, heterotik grupları bilinmeyen hatları heterotik gruplarına ayırmak, gelecek dönem melezleme programları için veri elde etmektir. Çalışmada at dişi, sert ve her iki tane tipinde varyasyona sahip, yurt içinde ve yurt dışında ıslah edilmiş 20 adet mısır hattı kullanılmıştır. Araştırmada, 21 adet SSR markırı kullanılmış ve toplam 51 adet allel üretilmiştir. Ortalama SSR lokusu başına 2.42 allel saptanmıştır. Çalışmada polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri 0.15 ile 0.92 arasında değişmiştir. Veri analizleri sonucunda tartışız eşli grup metoduna göre dört ana ve sekiz alt küme oluşmuştur. Yapılan analizler ile hatların Lancaster, Stiff-Stalk, Tropikal kökenli ve net olarak tanımlanmayan genetik geçmişe sahip olduğu anlaşılmıştır. Moleküler karakterizasyon ile hatların farklı heterotik gruplardan geldiği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Mısır; Heterotik grup; Moleküler markırlar; Islah

Determination of the genetic distances of maize inbred lines

Abstract

Crossing of genetically different maize materials is regarded as one of the basic conditions for high level heterosis. The objectives of this study were to identify the genetic distances of maize inbred lines with the SSR markers, to assign lines to the heterotic groups and to obtain data for crossing programs for future studies. In the study, twenty maize inbred lines which were dent, semi dent, flint and semi flint types both developed in Turkey and in abroad were used. In the research, 21 SSR markers were used and a total of 51 alleles were produced. Average of 2.42 alleles was found per mean SSR locus. Polymorphism information content (PIC) values ranged from 0.15 to 0.92. As a result of the data analysis, four main and eight sub-groups were formed according to the unweighted pair group method with arithmetic mean method (UPGMA). It was understood that the inbreds were belong to Lancaster, Stiff- Stalk, Tropical and unrelated genetic background. Molecular characterization shows that lines have wide genetic diversity.

Keywords: Maize; Heterotic groups; Molecular markers; Breeding

1. Giriş

Heterosis, modern mısır ıslahının temelini oluşturmuştur. Shull (1908) mısırdaki hat-hibrit teorilerini arazide test ederek heterosis ya da hibrit gücü kavramlarının önemini ortaya koymuş ve ardından ilk kez heterosis kavramını ortaya atmıştır (Shull, 1914). Shull (1908;1911) ve East (1908) iki germplasm melezlendiğinde ortaya çıkan değişikliğin daha çok genetik farklılıktan kaynaklanan bir uyarıcı sayesinde olabileceğini düşünmüşlerdir (Crow, 1948). Hibrit çeşidin performans bakımından ebeveynlerden üstün olması ya da melez azmanlığı şeklinde ifade edilen heterosis; hibriti

oluşturan ebeveynlerin kombinasyon gücü ile de önemli bir ilişki göstermektedir (Tan, 2005). Mısırdaki heterosisin en önemli varsayımlarından biri, ebeveynlerin farklı genetik tabanlı materyalden seçilmesidir. (Hallauer ve Miranda, 1981). Hallauer ve Carena (2009) heterosisi 'heterotik model' terimine yakın bulmuşlardır. Heterotik modelde, melezlendiğinde yüksek heterosis veren ebeveynlerin birbirine heterotik olduğu kabul edilir (Hallauer vd., 2010). Heterotik gruplara dayalı melezleme ve ıslah programları tüm dünyada yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Morfolojik karakterizasyon ile genetik uzaklıklar belirlenebilmektedir. Morfolojik karakterizasyon çalışmalarında

karakterize edilecek genotipler, kalıtım derecesi yüksek karakterler bakımından tarandıktan sonra elde edilen verilerle birbirlerinden yakınlık ve uzaklıkları bakımından gruplandırılırlar. Erdal vd. (2011) mısırdaki yaptıkları bir araştırmada, toplam 99 adet kendilenmiş mısır hattını Antalya koşullarında denemiştir. Çalışmada yer alan hatlar 34 adet agro-morfolojik özellik bakımından tanımlanmıştır. Hatların incelenen özellikler bakımından uzaklıkları cluster analizi ile saptanmıştır. Çalışmada kullanılan hatlarda incelenen özellikler yönüyle geniş varyasyon olduğu tespit edilmiş ve hatlar 6 adet ana küme altında toplanmıştır.

Pedigri ve morfolojik bilgilerle kıyaslandığında, moleküler markırlar genotipler arasındaki farklılıkları belirlemede oldukça güvenilir araçlar olarak tanımlanmışlardır (Cömertpay 2008). Morfolojik karakterizasyon çalışmalarında dikkate alınan karakterlerin kantitatif doğasından dolayı çevreden etkilenmeleri ve uzun skorlama süreci bu tip karakterizasyonu DNA markır ile yapılan çalışmalara kıyasla dezavantajlı kılmaktadır (Jonah vd., 2011). Mısır ıslahında farklı PCR-tabanlı DNA markırlar içinde SSR markırları, genetik uzaklık çalışmaları için kullanılmıştır (Warburton vd. 2002; Kostova vd. 2006; Cömertpay, 2008; Nelson vd. 2008; Shiri 2011) . SSR markırları kodominant ve yüksek varyasyon gösteren

markırlar olup, bitki genomuna homojen olarak dağılmışlardır (Powel vd., 1996 a,b). Kendilenmiş mısır hatlarının genetik benzerlik veya uzaklıklarının bilinmesi, pedigr ve/veya agro-morfolojik verilerle birlikte ıslah programlarının yürütülmesinde yol gösterici olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, mısır hatlarının genetik uzaklıklarını SSR markırları yardımı ile tespit etmek, heterotik grupları bilinmeyen hatları heterotik gruplarına ayırmak, gelecek dönem melezleme programları için veri elde etmektir.

2. Materyal ve Yöntem

Araştırmada 20 adet kendilenmiş (saf) mısır hattı bitkisel materyali oluşturmuştur. Genetik uzaklıkları araştırılan kendilenmiş mısır hatları ve bazı özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Saf hatların tamamı sarı at dişi, sert ve orta mısır tiplerinden oluşmuştur. Araştırmada kullanılan hatlara ilişkin bilgiler yayınlanmış çalışmalardan, pedigr bilgilerinden ve tarla defteri kayıtlarından elde edilmiştir. Araştırmada 13 adet hat Amerika Birleşik Devletleri'nden getirilen public olarak nitelenen hatlardır. Araştırmada 13 adet hat Amerika Birleşik Devletleri'nden getirilen public olarak nitelenen hatlardır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan mısır saf hatları ve özellikleri

No	Adı	Orijin	Tane rengi	Tane tipi
1	Ant İ-05	A.B.D	Sarı	At dişi
2	Ant İ-08	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
3	Ant İ-09	A.B.D	Sarı	At dişi
4	Ant İ-39	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
5	Ant İ-42	A.B.D	Sarı	Sert gibi
6	Ant İ-44	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
7	Ant İ-46	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
8	Ant İ-47	A.B.D	Sarı	At dişi
9	Ant İ-81	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
10	Ant İ-69	A.B.D	Sarı	At dişi
11	Ant İ-98	Meksika	Sarı	Sert
12	Ant İ-82	A.B.D	Sarı	At dişi
13	Ant İ-84	A.B.D	Sarı	At dişi gibi
14	Ant İ-89	A.B.D	Sarı	At dişi
15	TK 12	Türkiye	Sarı	At dişi gibi
16	TK 72	Türkiye	Sarı	At dişi gibi
17	TK 56	Türkiye	Sarı	At dişi gibi
18	Ant-24702	Türkiye	Sarı	At dişi gibi
19	Ant-24698	Türkiye	Sarı	Orta
20	Ant 910255	Türkiye	Sarı	Sert

Ant İ-98 hattı Meksika'da bulunan Uluslararası Buğday ve Mısır Geliştirme Merkezi (CIMMYT)'nden temin edilmiştir. 6 adet hat ise BATEM tarafından geliştirilmiş ticari ve ticari olmayan mısır saf hatlarıdır. Materyalin tamamı sarı renkli tane yapısına sahiptir.

Çalışma Antalya Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü'nün 30° 50' doğu boylamı 36° 52' kuzey enleminde yer alan ve deniz seviyesinden 15 m yükseklikte olan, damla sulama sistemi kurulmuş 2 numaralı deneme arazisinde ve Enstitü laboratuvarlarında yürütülmüştür.

DNA izolasyonu için 3-4 haftalık mısır bitkilerinden, her hattan 4-5 bitkiden olmak üzere alınan yaprak örnekleri etiketli torbalara konularak buz kütusunda laboratuvara taşınmıştır. Hatlara ait 0.5 g yaprak sıvı zotta dondurularak ezilmiştir. DNA izolasyonu CTAB yöntemine göre yapılmıştır (Doyle ve Doyle, 1987). DNA konsantrasyonu % 1'lik agaroz jelde DNA'ların yürütülmesi ile belirlenmiş, kontrol olarak λ DNA kullanılmıştır.

Araştırmada, Warburton vd. (2002), Kostova vd. (2006), Cömertpay (2008), Shiri (2011) tarafından belirlenmiş olan polimorfik markırların yanısıra <http://www.maizegdb.org/> web sitesinden seçilen toplam 21 adet SSR markırı kullanılmıştır. Warburton vd. (2002)'nin yapmış oldukları çalışmaya göre PCR reaksiyon koşulu belirlenmiştir. PCR reaksiyonu toplam hacim 10 μ l olacak şekilde aşağıdaki bileşenlerden meydana gelmiştir. Reaksiyon koşulu 2.0 μ l DNA (20 ng DNA), 1.0 μ l dNTP (0.1 mM dNTPs), 1.0 μ l MgCl₂ (2.5 mM MgCl₂), 0.2 μ l Taq polimeraz (0.6 U Taq DNA polymerase), 1.0 μ l her bir markırı (0.3 μ M her bir markırı), 1.0 μ l (1 X) PCR buffer ve 3.8 μ l ddH₂O şeklinde oluşturulmuştur. PCR programları da Warburton vd. (2002)'nin yapmış oldukları çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir. PCR protokolü, 94 °C'de 2 dk, ardından 30 döngü olacak şekilde, 94°C'de 1 dk, annealing derecesi (52-60°C markıra bağlı olarak) x 30 sn, 72°C'de 1dk ve son olarak 72°C'de 5 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir (Warburton vd. (2002). PCR ürünleri, % 2.5'lik yüksek çözünürlüklü agaroz jelde yürütülmüş ve 50-100 bp Ladder DNA kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri belirlenmiştir. Jel, ethidium bromide 0.2 (μ g/ml) ile boyanarak, Kodak GelLogic 200 sistemi ile

görüntülenmiştir. Jel görüntüleme sistemi kullanılarak elde edilen görüntüler, bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek skorlanmıştır. Herbir hat için oluşturulan markır verileri NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA, Rohlf 1993) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Benzerlik matrisleri Dice (1945)'e göre oluşturulmuş ve hatların benzerlik oranlarını gösteren, aritmetik ortalamalar kullanılarak elde edilen tartısız eşli grup metodu (UPGMA) analizine göre dendogram elde edilmiştir.

Çalışmada kullanılan markırların polimorfizm bilgi içerikleri (PIC, Polymorphism Information Content) Laborda vd. (2005)'na göre aşağıdaki Eşitlik 1 yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bantların sayıları tespit edilmiştir. Daha sonra bu bantların ayrı ayrı frekansları hesaplanmıştır. Eşitliğe göre f_i , i bandının frekansdır.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2 \quad (1)$$

3. Bulgular ve Tartışma

Araştırmada kullanılan markırlar, baz dizilimleri, tekrarlama tipleri, buldukları kromozom segmentleri, allel büyüklükleri, allel sayıları ve polimorfizm bilgi içerikleri (PIC) ile ilgili ayrıntılı bilgiler Çizelge 2'de verilmiştir. Araştırmada, 20 kendilenmiş mısır hattı için 21 adet markır kullanılmış ve toplam 51 adet allel üretilmiştir. Ortalama SSR lokusu başına 2.42 allel saptanmıştır. En az allel sayısı 1 ile Umc 1862, Umc 1432 ve Phi 328175 markırlarından tespit edilirken, en fazla allel 4 adet ile Phi 113 ve Phi 065 markırlarından elde edilmiştir. Okumuş vd. (2009) yaptıkları çalışmada at dişi mısır hatlarında SSR markırları ile çalışmış ve ortalama allel sayısını 2.31 olarak tespit etmişlerdir. Kozhukhova ve Sivolap (2004), 17 tek melez ve 23 mısır saf hattında 10 SSR markırı kullanarak yaptıkları çalışmada ortalama allel sayısını 2.8 olarak tespit etmişlerdir. Cömertpay (2008), yerel mısır popülasyonlarında yaptığı bir çalışmada SSR markırlarını kullanmış ve SSR lokusu başına ortalama allel sayısını 4.09 olarak bulmuştur.

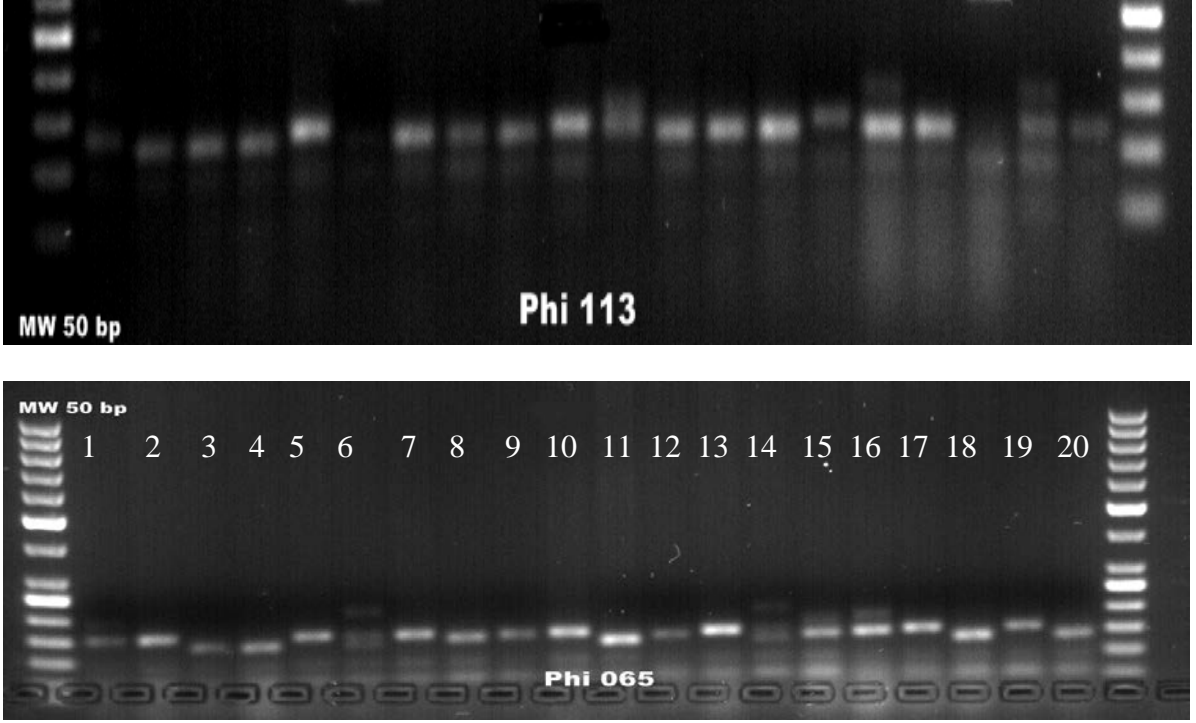
Çizelge 2. Çalışmada kullanılan SSR'ların, tekrarlamaya tipi, kromozom yeri, allel büyüklüğü (bç), allel sayısı ve PIC değerleri

Markır adı	Tekrarlamaya tipi	Kromozom / segmenti	Allel büyüklüğü (bp)	Allel sayısı (adet)	PIC
Phi 127	AGAC	2.07	75-150	3	0.49
Phi 090	ATATC	2.08	140-160	2	0.68
Bnlğ 197	di-repeat	3.06	100-155	3	0.84
Nc 135	AG	4.01	120-270	3	0.29
Phi 113	GTCT	5.02	130-300	4	0.87
Umc 1178	(GGC)6	6.02	135-175	3	0.42
Umc 1014	(GA)12	6.04	100-150	3	0.86
Phi 034	CCT	7.02	80-150	3	0.50
Bnlğ 1176	AG(37)	8.05	170-260	3	0.72
Umc1862	(GA)8	1.1	150	1	0.28
Umc1719	(GCG)5	4.10-4.11	70-110	2	0.00
Umc1447	(CTT)4	5.03	80-130	2	0.15
Umc1432	(AG)6	10.02	120	1	0.00
Phi402893	AGC	2.00	220-450	3	0.61
Phi085	AACGC	5.06	230-240	2	0.74
Phi093	AGCT	4.08	300-310	2	0.72
Phi053	ATAC	3.05	190-200	2	0.79
Phi041	AGCC	10.00	220-250	2	0.52
Phi328175	AGG	7.04	330	1	0.00
Phi065	CACTT	9.03	140-170	4	0.92
Phi015	AAAC	8.08	90-110	2	0.80

Warburton vd. (2002) ise ortalama SSR başına 4.9 allel saptamıştır. Araştırmada elde edilen allel sayısı Okumuş vd (2009) ile Kozhukhova ve Sivolap (2004) ile benzer olurken, Cömertpay (2008) ve Warburton vd. (2002)'a göre daha az olmuştur. Kullanılan genotiplerin ve markırların farklılığı, jel sistemlerinin ayrı olması ve bant skorlama (var, yok ya da genotyper programları gibi) işlemleri farklı allel sayılarının elde edilmesine neden olabilmektedir.

Çalışmada kullanılan SSR markırlarında yaklaşık allel uzunlukları 70 ile 450 bç arasında değişmiştir. Allel büyüklüğü en uzun 450 bç ile Phi402893 markırından elde edilirken, en kısa allel uzunluğu ise 70 bç ile UMC 1719 lokusundan elde edilmiştir (Çizelge 4.104). Cömertpay (2008), 20 yerel mısır popülasyonunda genetik çeşitliliği araştırdığı çalışmada SSR markır sistemini kullanmış ve bant uzunluklarını 84 bç ile 221 bç arasında bulmuştur. Yukarıda allel sayıları için bahsedilen konular aynı zamanda bant

uzunluklarının farklı olarak tespit edilmesinde etkili olduğu düşünülmüştür. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) allelik çeşitliliği ölçen bir parametre olup herhangi bir markır hakkında temel bilgi veren ve markırın etkinlik derecesini ifade eden bir parametredir. Çalışmada PIC değerleri 0.15 ile 0.92 arasında değişmiştir. 0.00 değerleri monomorfik bantlardan elde edilmiş olup bu değer haricinde en düşük PIC değeri 0.15 ile Umc 1447 SSR lokusundan elde edilirken en yüksek değeri 0.92 ile Phi 065 markırında saptanmıştır (Çizelge 2). Warburton vd. (2002) PIC değerini 0.17 ile 0.85, Okumuş vd. (2009) PIC değerlerini 0.04 ile 0.66 arasında ve Cömertpay (2008) 0.52 ile 0.95 arasında bulmuşlardır. Çalışmada elde edilen değerler önceki çalışmalar ile uyumludur. Bazı primerlere ait jel görüntüleri Şekil 1'de verilmiştir. Benzerlik matrisleri Dice (1945)'e göre oluşturulmuş ve hatların benzerlik oranlarını gösteren, aritmetik ortalamalar kullanılarak elde edilen tartısız eşli grup metodu (UPGMA) analizine göre elde edilen dendrogram (UPGMA) Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Kendilenmiş mısır hatlarına ait Phi 113, Phi 093, ve Phi 065 SSR primerlerinin amplifikasyon Ürünleri (1. Ant-24698, 2. Ant-24702, 3. Ant 910255, 4. Ant İ-05, 5. Ant İ-08, 6. Ant İ-09, 7. Ant İ-39, 8. Ant İ-42, 9. Ant İ-44, 10. Ant-İ46, 11. Ant İ-47, 12. Ant İ-69, 13. Ant İ-81, 14. Ant İ-82, 15. Ant İ-84, 16. Ant İ-89, 17. Ant İ-98, 18. TK 12, 19. TK 56, 20. TK 72), MW:Moleküler Weight

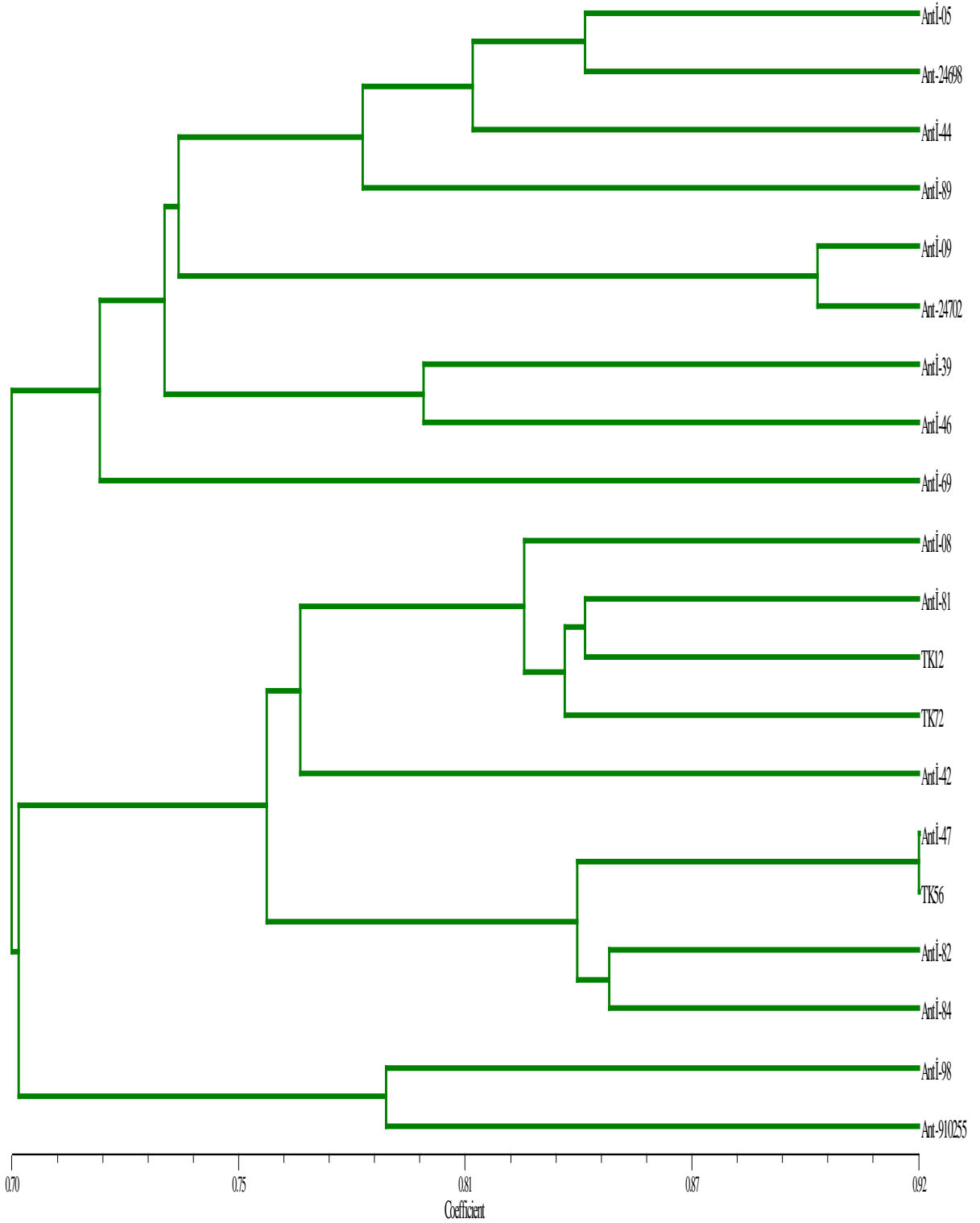
2 temel kümeden meydana gelen dendrogram 4 ana ve 8 alt küme veya grup (cluster) oluşturmuştur. Dendrogram Çizelge 3'te özetlenmiştir. Çalışmada ana gruplar, tropikal kökenli, Stiff-Stalk, karışık ve Lancaster heterotik gruplarından oluşmuştur. I.Ana grup (Tropikal) Ant 910255 ve Ant İ -98 hatlarından oluşmuştur. Ant İ -98 hattı CIMMYT DTPY popülasyonundan geliştirilmiş tropikal bir hattır. Diğer taraftan Türkiye'de geliştirilen Ant 910255 hattının pedigre verileri bu hattın CIMMYT kökenli olabileceğini ortaya koymuştur.

II. Ana grupta Ant İ -84, Ant İ -82, Ant İ-47, Ant İ -42, Ant İ -81 ve Ant İ -08 hatlarının ağırlıklı olarak Stiff-Stalk heterotik grubunda yer aldığını Mikel (2006), Mikel ve Dudley (2006) ve Nelson vd. (2008) tarafından yapılan pedigre ve SSR analizleri sonuçları da doğrulamıştır. Diğer taraftan bu ana grupta yer alan TK 12, TK 56 ve TK 72 hatları Türkiye'de geliştirilmiş ve pedigri bilgilerine dayanarak heterotik grupları hakkında bilgi üretilmiştir. Bu grubun alt grupları incelendiğinde beklenildiği gibi TK 56 hattı ve TK 12 hatları Stiff-Stalk grubunda yer almıştır. Ancak Lancaster heterotik grubunda yer alması

gereken TK 72 (FRMo17) hattı bu ana grupta yer almıştır. TK 72 hattının seleksiyonla (kendileme) Türkiye'de geliştirildiği bilinmektedir. Bu farklılığın daha çok seleksiyondan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca II.Ana grup, IV.alt grupta yer alan diğer hatların karışık veya Maize Amargo genetik geçmişi olduğu ortaya konulmuştur.

Ant İ-69 hattı çalışmada yer alan diğer hatlardan farklı olup tek başına III. Grubu oluşturmuştur. Nelson vd. (2008) SSR analizleri sonucu bu hattın karışık genetik yapıya sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

VI. Ana grubunda ağırlıklı olarak Lancaster heterotik grubundan hatlar yer almıştır. Türkiye'de geliştirilen ve daha önce herhangi bir şekilde heterotik grubu belirlenmeyen Ant-24702 ve Ant-24698 hatları bu grupta yer almıştır. Bu hatlardan Ant-24702 hattı İodent grubundan Antİ-09 hattı ile aynı alt kümede (VII) yer almıştır. Ant 24698 ise Ant İ-89, Ant İ-44, Ant İ-05 gibi Lancaster genetik geçmişine sahip hatlar ile VIII. alt kümede bulunmuştur.



Şekil 2. Aritmetik ortalamalar kullanılarak oluşturulan tartışız eşli grup metodu (UPGMA) analizine göre, genotiplerin benzerlik oranlarını gösteren dendrogram

Çizelge 3. UPGMA dendogramına göre hatların yer aldığı kümeler ve heterotik grupları

Ana grup (Cluster)	Alt grup (Cluster)	Hatlar	Kaynak populasyon	Heterotik grup
I.Grup (Tropikal kökenli)	I.Grup	Ant-910255 Ant İ -98	Missiori ECB DTPYC9 (CIMMYT, Tropikal)	Tropikal
	II.Grup	Ant İ -84, Ant İ -82, TK 56, Ant İ -47	B73	Stiff-Stalk
II.Grup (Stiff-Stalk)	III.Grup	Ant İ -42	B73	Stiff-Stalk
	IV.Grup	TK 72, TK 12 Ant İ -81, Ant İ -08	FRMo17 veya karışık, A632, B73/Karışık	Stiff-Stalk,karışık
III.Grup (Karışık)	V.Grup	Ant İ -69	Karışık	Bilinmiyor
	VI.Grup	Ant İ -46, Ant İ -39	Mo17	Lancaster
VI.Grup (Lancaster)	VII.Grup	Ant İ -09, Ant 24702	Ph207, Bilinmiyor	lodent, Lancaster
	VIII.Grup	Ant İ -89, Ant İ -44 Ant 24698, Ant İ -05	Mo17 Oh43,Bilinmiyor, Karışık	Lancaster

4. Sonuç

Bu çalışma ile mısır hatları moleküler yöntemlerle karakteriz edilmiş ve genetik uzaklıkları belirlenmiştir. Tartısız eşli grup metoduna göre 2 ana ve 8 alt küme oluşmuştur. Hatların Lancaster, Stiff-Stalk, Tropikal kökenli ve net olarak tanımlanmayan genetik geçmişe sahip olduğu anlaşılmıştır. Ant İ-69 hattı, diğer hatlardan ayrılarak ayrı bir alt küme oluşturmuştur. Elde edilen moleküler veriler mısır çeşitlerinin ıslah edilmesi için melezleme çalışmalarında kullanılacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı 090-D-12 No'lu Projesi ile desteklenmiş ve Şekip Erdal'ın doktora tezinden hazırlanmıştır.

Kaynakça

- Cömertpay, A. (2008). Yerel mısır populasyonlarının morfolojik ve DNA moleküler işaretleyicilerinden SSR tekniği ile karakterizasyonu. Çukorova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana.
- Crow, J.F., (1948). Alternative hypotheses of hybrid vigor. *Genetics*, 33 (5): 477-487.
- Dice, L.R. (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26 (3):297-302.
- Doyle, J.J., & Doyle, J.L., (1987). A Rapid DNA Isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bulletin*, 19:11-15.
- East, E.M., (1908). Inbreeding in corn. Report of the Connecticut Agricultural Experiment Station, pp. 419-428.

- Erdal, Ş., Pamukçu, M., & Savur, O. (2011). Yeni mısır (*Zea mays* L.) germplasm kaynaklarında karakterizasyon ve Cluster analizi. *Türkiye IV. Tohumculuk Kongresi*, 2:312-317.
- Hallauer, A.R., & Carena, M.J., (2009). Maize breeding. In handbook of Plant Breeding: Cereals, M.J. Carena (ed). 3-98, Springer, New York, NY.
- Hallauer, A.R., & Miranda, J.B., (1981). Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press, Ames, USA.
- Hallauer, A.R., Miranda, J.B., & Carena, M.J., (2010). Quantitative genetics in maize breeding. 3rd ed., Springer, New York, 663p.
- Jonah, P.M., Bello, L.L., Lucky, O., Midau, A., & Moruppa, S.M., (2011). The importance of molecular markers in plant breeding programmes. *Global Journal of Science Frontier Research*, 11(5):5-12.
- Kostova, A., Todorovska, E., Christov, N., Sevov, V., & Atanassov, A.I., (2006). Molecular characterization of bulgarian maize germplasm collection via SSR markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 20(2):29-36.
- Kozhukhova, N.E., & Sivolap, Y.U.M., (2004). Identification and registration of maize genotypes with the use of molecular markers. *Russian Journal of Genetics*, 40(1):49-55.
- Laborda, P.R., Oliveira, K.M, Garcia, A.A.F., Paterniani, M.E.A.G.Z., & Souza, A.P., (2005). Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theoretical and Applied Genetics*, 111(7):1288-1299.
- Mikel, M.A., (2006). Availability and analysis of proprietary dent corn inbred lines with expired U.S. plant variety protection. *Crop Science*, 46(6):2555-2560.
- Mikel, M.A., & Dudley, J.W., (2006). Evaluation of North American dent corn from public to

- proprietary germplasm. *Crop Science*, 46(3):1193-1205.
- Nelson, P.T., Coles, N.D., Holland, J.B., Bubeck, D.B., Smith, S., & Goodman, M.M. (2008). Molecular characterization of maize inbreds with expired U.S. plant variety protection. *Crop Science*. 48(5):1673-1685.
- Okumuş, A., Öz, A., Mercan, L., & Kapar, H. (2009). Kendilenmiş At Dişi Mısır Hatlarında Moleküler Genetik Analiz (SSR) Yöntemi İle Yüksek Verimli Muhtemel Hibrit Anaçlarının Belirlenmesi. TÜBİTAK, TOVAG-105O504 Nolu Proje Raporu. Samsun.
- Powel, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., & Rafalski, A. (1996a). The Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3):225-238.
- Powell, W., Machray, G.C., & Provan, J., (1996b). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7):215-221.
- Rohlf, F.J., (1993). NTSYS-pc. version 1.X0. Excter Software: Setaukct, New York.
- Shiri, M., (2011). Identification of informative simple sequence repeat (SSR) markers for drought tolerance in maize. *African Journal of Biotechnology*, 10(73):16414-16420.
- Shull, G.H. (1908). The composition of field maize. Report of the American Breeders Association. 4, 296-301.
- Shull, G.H. (1911). The genotypes of maize. *The Amerikan Naturalist*. 45(532):234-252.
- Shull, G.H. (1914). Duplicate genes for capsule form in bursa bursa-pastoris. *Z.Ver-erbungslehre* 12: 97-149.
- Tan. Ş.A., (2005). Heterosis ve kombinasyon gücü, teori ve pratik. Bitki ıslahında istatistik ve genetik metodlar. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No,121, 33-71s.
- Warburton, L.M., Xianchun, X., Crossa, J., Franko, J., Melchinger, A.E., Frisch, M., Bohn, & M., Hoisington, D. (2002). Genetic Characterization of CIMMYT Inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Science*, 42(6):1832–1840.