

Özel tip mısır genotiplerinin farklı gelişme dönemlerinde fizyolojik özellikler ile kalite özellikleri için heterosis, kalıtım derecesi ve gen etkilerinin incelenmesi

Investigation of heterosis, heritability and genetic effects for physiological and quality traits in different developmental stages of specialty maize genotypes

Fatih KAHRIMAN¹, Cem Ömer EGESSEL²

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çanakkale

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Çanakkale

Sorumlu yazar (Corresponding author): F. Kahrıman, e-posta (e-mail): fkahrıman@hotmail.com

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 06 Nisan 2017
Düzeltilme tarihi 05 Eylül 2017
Kabul tarihi 05 Eylül 2017

Anahtar Kelimeler:

Genetik analizler
Dominans gen etkisi
Eklemeli gen etkisi
Varyasyon

ÖZ

Mısır bitkisi genetik araştırmalarda kullanılan en önemli model bitkilerden birisidir. Normal tane yapısına sahip mısır genotiplerinde çeşitli özelliklerin kalıtımını konu edinen çok sayıda araştırma bulunmasına karşın, özel tip mısır genotiplerinde bu araştırmalar sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu çalışma özel tip (yüksek yağlı, yüksek proteinli) mısır genotiplerinde bazı agronomik, fizyolojik ve kalite özelliklerinin kalıtımını konu edinmektedir. İki yıllık (2011 ve 2012) olarak yürütülen araştırmada ekimden itibaren 40., 60., 82., 100 ve 122. günlerde 13 agronomik, 9 fizyolojik ve 7 kalite özelliği olmak üzere toplam 29 özellik incelenmiştir. Elde edilen veriler Düzeltilmiş Sapmasız Hesaplama (Adjusted Unbiased Prediction) yöntemiyle eklemeli ve dominans model (Additive + Dominance) kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir özellik için vejetasyon evrelerine göre heterosis, kalıtım dereceleri hesaplanarak bu hesaplamalardaki değişim incelenmiştir. Ayrıca heterosis neden olan gen etkileri polar grafik yöntemi ile gösterilmiştir. Araştırma bulguları heterosis ve kalıtım derecesinin vejetasyon süresinde özellik gruplarına göre değişim gösterdiğini ortaya koymuştur. Bitkisel özellikler ve fizyolojik özelliklerin büyük kısmında pozitif yönde ve yüksek derecede heterosis (>50) olduğu saptanmıştır. Tane protein, karbonhidrat ve yağ içeriğinde de bazı örneklem tarihlerinde pozitif yönde heterosis olduğu belirlenmiştir. İncelenen özelliklerden 18'inde kalıtım derecesi yüksek bulunmuştur. Heterosis neden olan gen etkilerine ilişkin analizler, bitkisel özellikler ile fizyolojik özelliklerin çoğunda üstün dominans gen etkilerinin rol oynadığını, kalite özelliklerinde ise heterosisin dominant ve eklemeli gen etkileriyle ortaya çıktığını göstermiştir. Yüksek yağlı ve yüksek proteinli mısır genotipleri arasında bazı özellikler için heterosis ve kalıtım derecesi ile gen etki hesaplamalarında farklılıklar olduğu saptanmıştır. Ayrıca incelenen bazı özelliklerle ilgili heterosisin farklı gelişim evrelerinde değişim gösterdiği anlaşılmıştır.

ARTICLE INFO

Received 06 April 2017
Received in revised form 05 September 2017
Accepted 05 September 2017

Keywords:

Genetic analyses
Dominance gene effect
Additive gene effects
Variation

ABSTRACT

Maize is one of the most important model crops used in genetic research. Although there are numerous studies regarding the heritability of various traits in maize, such studies are rather limited on specialty maize genotypes. This study focuses on the heritability of some agronomic, physiological, and quality traits in specialty (high oil, high protein) maize. Data were collected on the 40th, 60th, 82th, 100th, and 122th days from the planting for 13 agronomic, 9 physiological, and 7 quality traits in a 2-year study (2011 and 2012). Additive + Dominance model of the Adjusted Unbiased Prediction method was utilized to analyze the data. For each trait, heterosis and heritability values were computed based on vegetative stages and the variation of these values were investigated. The gene effects inducing heterosis were shown with polar graphics. The results indicated that heterosis and heritability values varied based on trait groups during vegetation period. High (>50%) and positive heterosis values were common for agronomic and physiological traits. Grain protein, carbohydrate and oil contents yielded positive heterosis for some sampling stages. The analyses of the gene effects causing heterosis showed that overdominance effects played a major role on agronomic and physiological traits, while the heterosis for quality traits were mainly under the control of dominance and additive gene effects. High oil and high protein maize genotypes had differences for heterosis, heritability and gene effect computations for some traits. It was understood that heterosis for some traits showed changes in different growth stages.

1. Giriş

Heterosis, Shull tarafından 1908 yılında hibrit mısırdaki deklare edildiğinden bu yana halen güncel ve çözülmemiş bir konu olarak karşımızda durmaktadır. Heterosisin genetik nedenlerini açıklamak için farklı yaklaşımlar ve teoriler ortaya atılmıştır. Bu yaklaşımlar; dominans (dominance), tamamlayıcılık (complementation), üstün dominans (overdominance) ve sözde üstün dominans (pseudo-overdominance) olarak bilinir (Veita ve Vaiman 2010). Yaygın kullanılan yöntemlere göre heterosis anaç ortalamalarına göre ve üstün anaca göre kıyaslamalar yapılarak hesaplanmaktadır. İstatistiksel hesaplama ve tahminleme yöntemlerinin gelişmesi ile eklemeli-dominans modeller ile heterosis analizleri daha detaylı hale getirilmiştir (Zhu 2003). İlk yaklaşımlarda her bir hibrite ait heterosis hesaplaması kendi ebevenleri üzerinden yapıldığı için heterosis değerlerinin kıyaslanması pek bir şey ifade etmemektedir. Yeni genetik modellerde ise popülasyon genetiğine dayalı ve her bir genotipin popülasyona olan genetik etkisi üzerinden yapılan hesaplamalar kullanılarak heterosis belirlenmektedir. Bu nedenle elde edilen değerler birbirleri ile kıyaslanabilir hale gelmiştir. Daha karmaşık modellerde ise ana ve baba ebevenlerin heterosis olan katkısını tespit etmek dahi mümkündür. Diğer taraftan heterosis neden olan gen etkisinin tipini ortaya koymak ve grafiksel yöntemler ile bunu göstermek amacıyla farklı grafiksel metotlar geliştirilmiştir (Swanson-Wagner ve ark. 2006). Yeni geliştirilen yöntemlerin birbirine göre avantaj ve dezavantajları bulunmasına karşın, eski yöntemlere göre önemli üstünlükleri vardır.

İslah çalışmalarında incelenen özellik üzerine genetik etkilerin bilinmesi ve bu genetik etkilerin birbirlerine olan oranları, ele alınan özelliği kontrol eden genlerin etki durumlarını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Bitki ıslahında eklemeli, dominans ve epistatik gen etkileri ele alınan başlıca etkilerdir. Bir özelliğin değişimine hükmeden genetik etkilerin tespitinde bahsedilen genetik etkilerin birbirlerine oranlarından faydalanılmaktadır (Gardner 1963).

Mısırdaki tane kalite özellikleri (Römisch-Margl ve ark. 2010), tarımsal özellikler, protein ve yağ oranı (Oliveira ve ark. 2006; Yusuf ve ark. 2009), tane verimi ve fizyolojik bazı özellikler (Tollenaar ve ark. 2004) için kullanılan hibrit kombinasyonların ebevenlerine göre farkları değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda özellikle yağ oranının negatif yönde heterosisine sahip olduğu, bazı kombinasyonların ise bu özellik bakımından pozitif yönde heterosis gösterdikleri saptanmıştır. Yüksek yağ ve yüksek proteinli mısır tiplerinde heterosis analizlerinin literatürde fazlaca yer bulmadığı dikkat çekmektedir. Belirtilen literatür kaynaklarında kullanılan popülasyonların özelliklerine göre hesaplanan değerler de farklılık göstermiştir. Mısır ıslah setleri oluşturularak incelenen özellikler üzerine etkili olan genetik etki tipinin tespiti amacıyla farklı araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarda bitkisel özellikler ve kuru madde birikiminin dominans ve üstün dominans (Rood ve Major 1981), yağ oranının eklemeli, tane veriminin eklemeli ve dominans (Rosulj ve ark. 2002; Mittelman ve ark. 2003), protein oranının ise eklemeli etkilerin yanı sıra kısmi dominans (Watto ve ark. 2009) gen etkilerinin kontrolünde olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgulara karşın protein ve yağ oranının eklemeli olmayan (Shanthi ve ark. 2002) ve dominant gen etkilerinin (Orhun 2011) kontrolü ile değişim gösterdiğini bildiren araştırmalar da mevcuttur. Bu durum kullanılan popülasyonlar ve ıslah dizaynının gen etkilerinin tespitinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Heterosis, kalıtım derecesi ve genetik etki tipinin biyokimyasal

özellikler başta olmak üzere bitkisel ve fizyolojik özelliklerde zamana bağlı değişimini inceleyen araştırma sayısı sınırlıdır. Vejetasyon süresince yapılan ölçümlere dayalı yapılacak hesaplamalarla heterotik genlerin fonksiyonel olarak etkin olduğu dönemler tespit edilebilir. Bu sayede ıslah çalışmalarında incelenen özelliklerde heterosis ve gen etki durumları dikkate alınarak farklı planlama ve düzenlemeler yapılabilir. Özellikle seleksiyon amaçlı araştırmalarda verim ya da kalite özelliklerine ilişkin gözlemlerin erken dönemde yapılabilmesi tek bitki seçiminde ve seçilen bitkilerin birbirleri ile tozlanarak eşleştirilmelerinde faydalı olabilir. Diğer taraftan özellikler üzerine etkili olan gen etkilerinin dönemlere göre değişim gösterip göstermediği dikkate alınarak ıslah araştırmalarına yönelik özel bazı önermelerde bulunulabilir. Özel tip mısırlarda heterosis, kalıtım derecesi ve gen etkilerindeki değişimin anlaşılması ile normal bir mısır genotipinin özel tip mısıra dönüştürülmesi amacıyla yürütülecek çalışmalarda kullanılacak temel fikirlerin elde edilmesi mümkün olabilir.

Bu çalışmanın başlıca amacı; yüksek yağlı ve yüksek proteinli mısır genotiplerinde ölçülen agronomik ve fizyolojik özelliklere ait heterosisin zamana ve genotiplere göre değişiminin incelenmesi, kalıtım derecelerinin tespiti, özelliklerin değişiminde rol oynayan ve heterosisin neden olan gen etki tiplerinin tespit edilmesidir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki Materyali ve Denemenin Organizasyonu

Bu çalışmada dört ebeveyn ve bunlarla oluşturulan dört hibritten oluşan toplam sekiz genotiplik bir set materyal olarak kullanılmıştır. İHO ve İHP ebevenleri Illinois Uzun Süreli Seleksiyon çalışmasının 70. nesilden üretilen kendilenmiş saf hatlardır. İHO yüksek yağlı (~% 12), İHP ise yüksek proteinli (~% 22) hattır. Diğer ebevenler mısırdaki Stiff Stalk ve Lancaster heterotik gruplarının önemli temsilcileri olan B73 ve Mo17 kendilenmiş saf hatlardır. Bu ebevenlerden nitelikli olanlar ana, normal hatlar baba olarak kullanılarak 2010 yılında dört melez kombinasyon (İHO×B73, İHO×Mo17, İHP×B73, İHP×Mo17) oluşturulmuştur.

Genotipler 2011 ve 2012 yıllarında ÇOMÜ Dardanos Araştırma ve Uygulama biriminde 3 tekerrürlü olarak tarla denemesine alınmıştır. Tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülen denemede yıllara göre sıcaklık, yağış durumları ile deneme alanının toprak özellikleri ile ilgili genel bilgiler Çizelge 1'de sunulmuştur. Bitkilerin durumuna göre 7-10

Çizelge 1. Denemenin yürütüldüğü yıllarda genel iklimsel özellikler ile deneme alanının toprak özellikleri.

Table 1. Soil characteristics of the experimental area and general climatic characteristics during the years when the experiment was conducted.

	2011	2012
Ortalama Sıcaklık	22.3 °C	22.9 °C
Min-Mak. Sıcaklık	5.5-35.14 °C	7.8-37.3 °C
Toplam Yağış	164.8 mm	111.8 mm
pH	7.93	7.82
EC	0.62 mS cm ⁻¹	0.60 mS cm ⁻¹
Kireç	11.1 %	13.7 %
Org Madde	1.26 %	1.28 %
P	38.2 kg ha ⁻¹	37.4 kg ha ⁻¹
K	557.8 kg ha ⁻¹	524.1 kg ha ⁻¹

günlük aralıklarla sulama yapılmış ve birinci yıl 420 mm ikinci yıl 417 mm su verilmiştir. Gübreleme işlemi toprak özellikleri dikkate alınarak 17 kg da⁻¹ saf azot hesabı ile gerçekleştirilmiştir.

2.2. Örnekleme Yapılması ve Ölçümler

Her yılda ekim tarihinden itibaren 40. (ESG1), 60. (ESG2), 82. (ESG3), 100. (ESG4), ve 122. (ESG5) günlerde örnekleme ve ölçümler yapılmıştır. Bir genotip için her bir tekrarda tesadüfi olarak seçilen 3'er adet bitki üzerinde bitkisel gözlemler yapılmıştır. Örnekleme yapılan bitkiler kontrollü tozlama esaslarına uygun olarak çoğaltılmıştır. Seçilen bitkilerin yapraklarından 10 adet yaprak diski alınarak klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri UV-VIS Spektrofotometre (PG Instruments, İngiltere) cihazında 645 nm ve 663 nm'deki absorpsiyon değerleri alınmak suretiyle Hiscox ve Israelstam (1979)'un belirttiği yöntemle uygun şekilde tespit edilmiştir. Yaprak disklerinin alınmasının ardından seçilen bitkiler kök boğazından kesilerek organ bazında (yaprak, sap ve koçan) ağırlıkları alınmıştır. Yaprak alanını belirlemek amacıyla hasat sonrasında her bitki örneğine ait yapraklar masaüstü tarayıcıda taranmış ve bmp formatında kaydedilmiştir. Kaydedilen resimler CompuEye programına (Bakr 2005) aktararak örneklere ait toplam ve yeşil yaprak alanları belirlenmiştir. Elde edilen değerler toplam yaprak alanı, yaprak yeşil alanı, yaprak alan indeksi, yeşil yaprak alan indeksi ve yeşillik indeksi ile ilgili hesaplamaların yapılmasında kullanılmıştır. Bu ölçümlerin ardından tüm bitki kısımları 80 °C'de 72 saat süreyle kurutulmuş ve kuru madde içerikleri belirlenmiştir (Wyss ve ark. 1991).

Kurutma sonrasında örnekler öğütülmüş ve protein, yağ ve karbonhidrat oranlarının tespiti için NIR ölçümleri yapılmıştır. Öğütme işleminde sap ve yapraklar ile tane örnekleri 0,5 mm elek çapında laboratuvar tipi değirmenlerde (Retsch, Fritsch, Almanya) öğütülmüştür. Öğütme sonrasında örnekler NIR spektroskopisi (Spectrastar 2400D, Unity Scientific, Amerika) cihazında analiz edilmiştir. Analizlerde 1200-2400 nm arasında her bir nm'de spektrumlar alınmış ve yaprak sap örnekleri için Grass Silage and Forage kalibrasyon modeli, tane örnekleri için ise lokal bir kalibrasyon modeli kullanılarak örneklerin protein, karbonhidrat ve yağ içerikleri tespit edilmiştir.

2.3. İstatistik Analizler

2.3.1 Genetik model

Genetik analizlerde Zhu (2003) tarafından önerilen eklemeli-dominans model (Model 3) kullanılmıştır. Bu model her bir gözlem tarihinde alınan verilere ayrı ayrı uygulanmıştır. Tahminleme yöntemi olarak AUP (Adjusted Unbiased Prediction) ve MINQUE1 (Minimum Quadratic Unbiased Estimation) metodları kullanılmış, blok etkisi modele dâhil edilmiş ve Jackknife prosedüründe hücre değeri 1 alınmıştır. İncelenen özellikler ile ilgili eklemeli ve dominans etkilerin hesaplanması için aşağıdaki istatistik modelden faydalanılmıştır:

Model 1:

$$Y_{hijk} = \mu + E_h + G_i + GE_{hij} + B_{hk} + e_{hijk}$$

Burada; Y_{hijk} : gözlemlenen değer, μ : genel ortalama, E_h : yıl etkisi h ($h = 1, 2$), G_i : genotip etkisi i ($i = 1, 2, \dots, 8$), GE_{hij} : yıl \times genotip etkisi, B_{hk} : h . yılda k . tekrarin etkisi ($k = 1, 2, 3$; $h = 1, 2$), e_{hijk} : tesadüfi hata olarak tanımlanmıştır.

2.3.2 Heterosis analizi

Heterosis analizlerinde yine Zhu (2003) tarafından önerilen aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

Herhangi bir melez kombinasyonu (F_n) için anaç ortalamalarına göre genel heterosis; $HM(F_n) = (1/2)n - 1\Delta D$, anaç ortalamalarına göre interaksiyon heterosis; $HME(F_n) = (1/2)n - 1\Delta DE$ formüllerine göre hesaplanmıştır. Heterosis analizlerinde kullanılan formüllerde ΔD : dominans heterosisi, ΔDE : DE interaksiyon heterosisi, ωG : ebeveynlerin genotipik farkını, ωGE : ebeveynlerin interaksiyon etkisine bağlı farkını göstermektedir (Zhu 2003). Heterosis değerlerinin önem testleri tek yönlü t testi kullanılarak yapılmıştır. Heterosis analizleri QGASStation V.2 programında gerçekleştirilmiştir (Chen ve ark. 2012).

2.3.3 Kalıtım derecelerinin tahmini

İncelenen özelliklere ait kalıtım derecelerinin tespitinde Zhu (2003) tarafından önerilen varyans modelinde hesaplanan varyans bileşenleri kullanılmıştır. Bu bileşenlerin tespiti için AUP (Adjusted Unbiased Prediction) yöntemi kullanılmış ve tahminleme yöntemi olarak MINQUE1 (Minimum Norm Quadratic Unbiased Estimate) metodundan faydalanılmıştır. Geniş anlamda kalıtım derecesi (H), dar anlamda kalıtım derecesi (h^2), çevreye bağlı geniş anlamda kalıtım derecesi (HE) ve çevreye bağlı dar anlamda kalıtım derecesi (h^2E) fenotipik varyans içerisinde genetik etkilerin payları olarak hesaplanmıştır. Kalıtım derecelerinin tahmini QGASStation V.2 programında gerçekleştirilmiştir (Chen ve ark. 2012).

2.3.4. Gen etkilerinin gösterimi

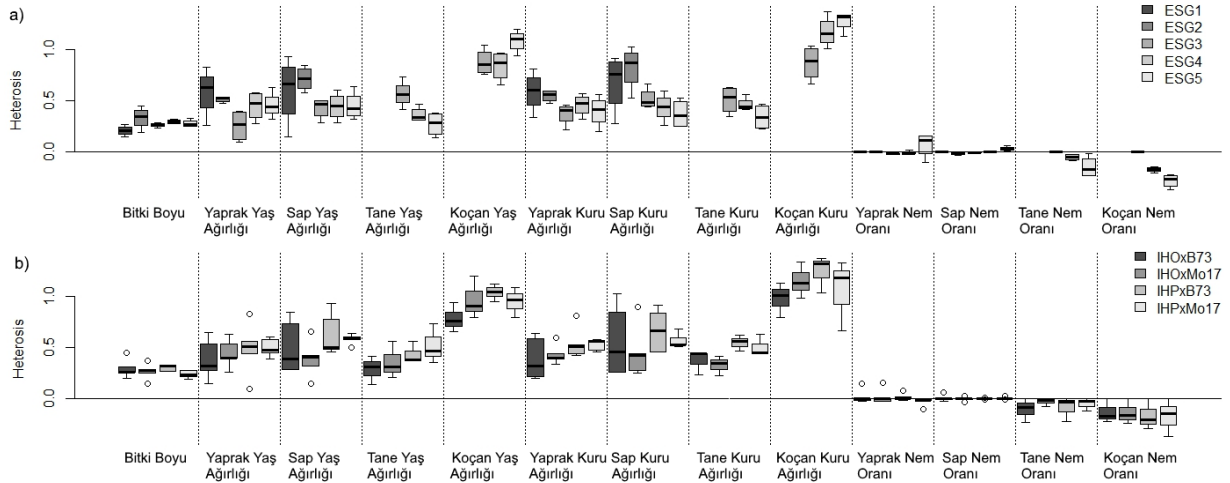
İncelenen özelliklerdeki değişime etkili olan genlerin etki durumlarını belirlemek ve görsel olarak sunmak amacıyla Swanson-Wagner ve ark. (2006) tarafından geliştirilen metoda göre oluşturulan polar grafik yönteminden yararlanılmıştır (Lisec ve ark. 2011). Bu grafiklerde gen etkisinin tipi 360 derecelik bir dairesel grafik üzerinde hibritler ve ebeveynlere ait tekrür ortalamaları kullanılarak gösterilmiştir. Ölçülen değerlere dayalı olarak her bir melezin anaçlarından farkı belirlenmiştir. Bu fark değerleri önce dereceye daha sonra da radyana dönüştürülerek genotipler arasındaki ayrım daha net hale getirilmeye çalışılmıştır. Polar grafikler PolarPlot kodları (Lisec ve ark. 2011) kullanılarak R.2.12 programında oluşturulmuştur (R Development Core Team 2012).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Heterosis Analizleri

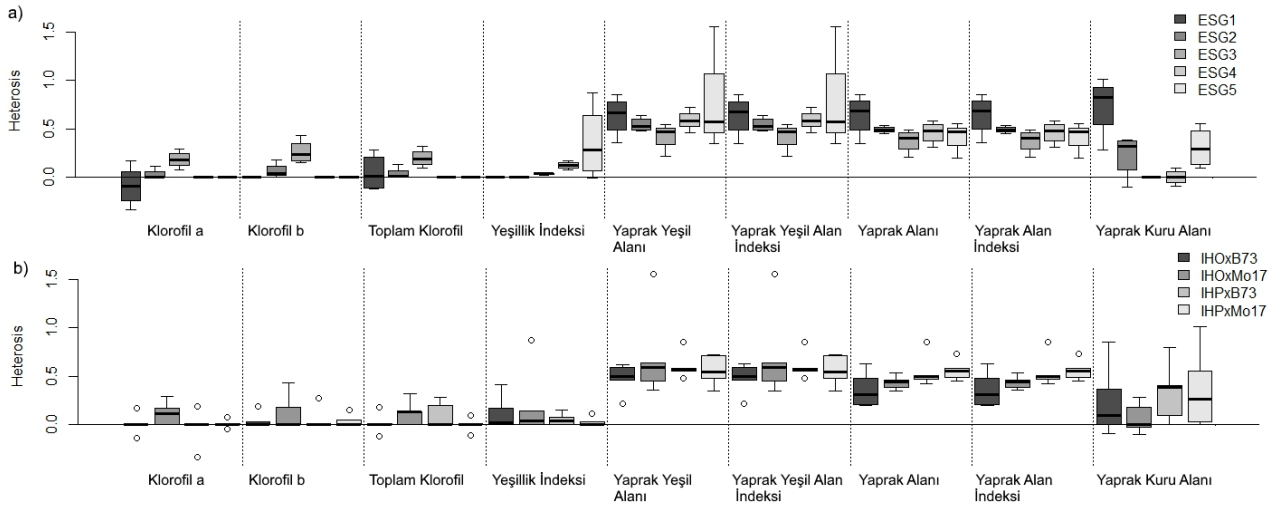
İncelenen özellik gruplarına göre heterosis değerlerinin örnekleme tarihlerine ve genotiplere göre değişimi Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'te sunulmuştur.

Örnekleme tarihleri dikkate alındığında bitkisel özelliklerden bitki boyu ile yaş ve kuru ağırlıkların tamamında pozitif yönde heterosis gözlemlenmiştir. Genotipler dikkate alındığında ise IHP ile oluşturulan hibritlerin IHO hibritlerine göre nispeten daha yüksek heterosis değerlerine sahip oldukları görülmektedir (Şekil 1). Yaprak, sap, tane ve koçan nem oranlarında gözlemlenen heterosisin ise çok düşük veya negatif yönde olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 1).



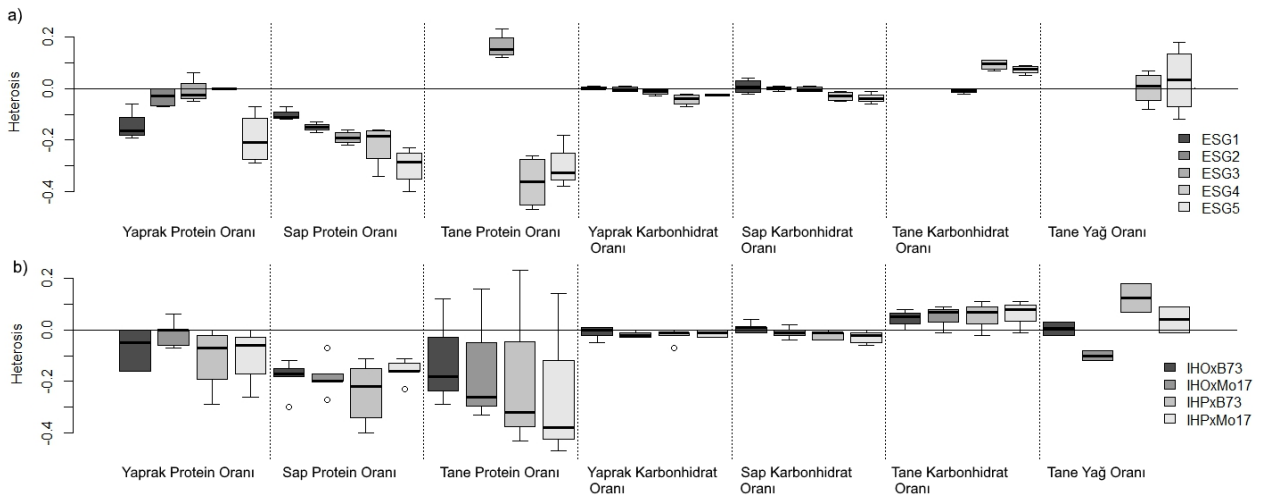
Şekil 1. ESG (a) ve hibritlere (b) göre bitkisel özellikler için heterosis değerleri.

Figure 1. Heterosis values for plant traits for ESG (a) and hybrids (b).



Şekil 2. ESG (a) ve hibritlere (b) göre fizyolojik özellikler için heterosis değerleri.

Figure 2. Heterosis values for physiological traits for ESG (a) and hybrids (b).



Şekil 3. ESG ve hibritlere göre kalite özellikleri için heterosis değerleri.

Figure 3. Heterosis values for quality traits for ESG (a) and hybrids (b).

Fizyolojik gözlemlerden klorofil içerikleri için yalnızca ekimin ardından 82. günde yapılan örneklemelerde heterosis değerleri önemli bulunmuştur. Bu bulgular heterosisin ele alındığı çalışmalarda, ilgili özellikler için hangi dönemlerde incelemelerin yapılabileceğini ortaya koymuştur. Yaprak alanı ve yaprak alan indeksine ait heterosis değerlerinin vejetatif gelişim ilerledikçe düştüğü görülmüştür. Hesaplanan heterosis değerleri bakımından yüksek yağlı ve yüksek proteinli hibritler arasında önemli farklar tespit edilmiştir. Yaprak alanı ve yaprak alan indeksi için IHP melezlerinin IHO melezlerine heterosis değerleri bakımından üstünlük sağladığı görülmektedir (Şekil 2). Bununla birlikte IHO×B73 melezinde yaprak yeşil alanı, yaprak yeşil alan indeksine, yaprak alanı ve yaprak alan indeksi için hesaplanan heterosis değerlerindeki değişkenlik diğer hibritlerden yüksek bulunmuştur (Şekil 2). Bitkisel özellikler üzerine heterosis gözlemleri yapılan önceki çalışmalarda da bitki boyu ve yaprak alanı gibi özelliklerde pozitif heterosis olduğu tespit edilmiştir (Mahmood ve ark. 2016). Pozitif yönde heterosis tespit edilen bitki boyu gibi özelliklerde üstün dominans gen etkilerinin ve farklı lokuslardaki dominant veya epistatik allelerin etkisiyle heterosisin ortaya çıktığı vurgulanmıştır (Hallauer ve Miranda 1981). Bu konuda çalışmamızda heterosis neden olan gen etkilerini göstermek amacıyla yapılan analizler söz konusu bulguyu desteklemektedir.

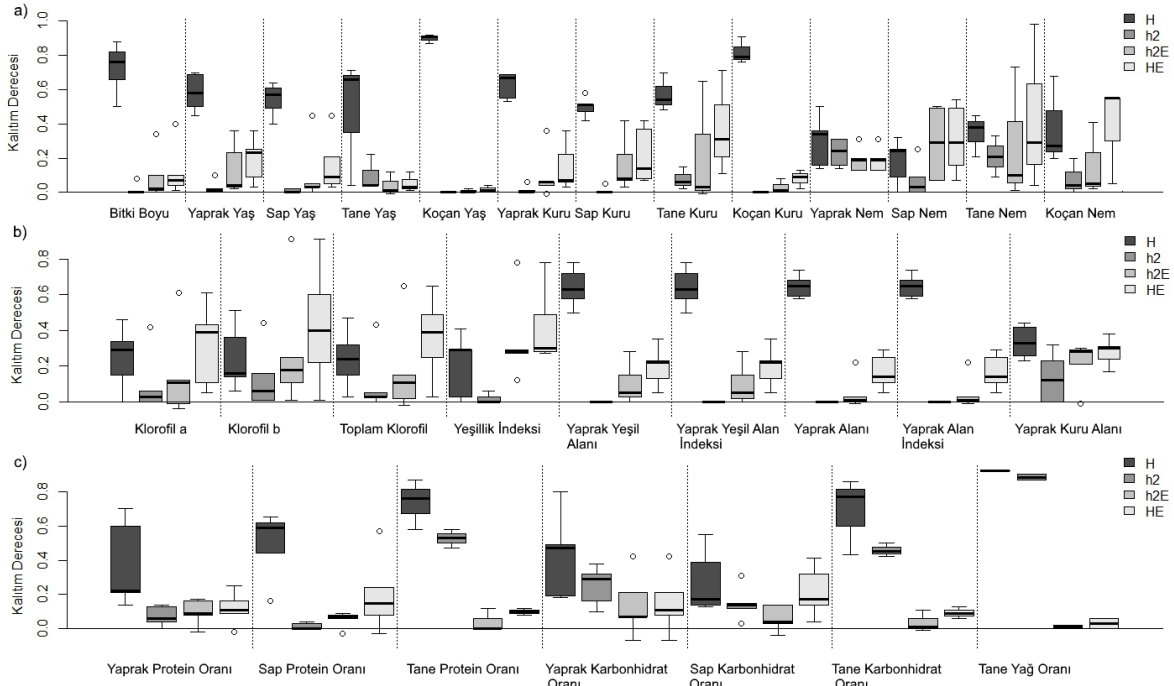
Kalite özelliklerine ilişkin heterosis analizi sonuçları yaprak, sap ve tane protein oranının negatif yönde heterosis değerlerine sahip olduğunu göstermiştir. Tane karbonhidrat oranı ve tane yağ oranında pozitif yönde heterosis gözlemlenmiştir (Şekil 3). Kalite özellikleri ile ilgili heterosis analizi sonuçlarında dikkat çeken hususlar şunlardır: Sap protein oranına ait heterosis değerleri vejetasyonun ilerleyen evrelerinde devamlı düşüş göstermiştir. Yüksek proteinli hibritlerde tane yağ içeriği, yüksek yağlı hibritlerde ise tane protein içeriğine ilişkin heterosis değerleri diğerlerinden yüksek

bulunmuştur. Yaprak, sap ve tane protein içeriğinde hesaplanan heterosis değerlerinin karbonhidrat içeriği ile ilgili değerlere göre daha yüksek değişime sahip olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 3). Werle ve ark. (2014) 64 farklı hibritte protein ve yağ oranı için heterosis durumunu değerlendirmiş ve bu genotiplerden 4'ünde protein oranı için, 31'inde ise yağ oranı için pozitif yönde heterosis olduğunu saptamışlardır. Bekele ve Rao (2013) protein ve yağ oranı bakımından 24 ayrı hibritte heterosis hesaplamaları yapmış ve kullanılan materyalin büyük kısmında bu özellikler için negatif yönde heterosis olduğunu belirlemişlerdir. Bu bulgulara dayanarak kullanılan materyale bağlı olarak kalite özelliklerinde heterosis değerlerinin değişebileceği söylenebilir. Diğer taraftan çalışmamızda yağ ve karbonhidrat oranı için pozitif yönde heterosis tespit edilmiş olmasının nedenlerinden birisi de kullanılan hesaplama yönteminin popülasyon ortalaması üzerinden yapılmış olması ve kullanılan ebeveynlerin nitelikli genotiplerden oluşmasıdır.

3.2. Kalıtım Dereceleri

Çalışmada kalıtım derecelerinin genotipik olarak hesaplanması mümkün olmadığından, özelliklere göre geniş anlamda kalıtım derecesi (H), dar anlamda kalıtım derecesi (h^2), dar anlamda kalıtım derecesinin çevre ile interaksyonu (h^2E) ve geniş anlamda kalıtım derecesinin çevre ile interaksyonu (HE) değerleri hesaplanmıştır. Söz konusu hesaplamalar grafiksel olarak Şekil 4'te sunulmuştur.

Çalışmada bitkisel özelliklerden yaş ve kuru ağırlıklara ilişkin incelenen özelliklerin geniş anlamda kalıtım derecesinin yüksek (>0.60) olduğu, hesaplanan diğer değerlerin ise düşük olduğu dikkat çekmektedir (Şekil 4a). Schön ve ark (1993) bitki boyu gibi özelliklerde kalıtım derecesinin oldukça yüksek olduğunu ($h^2>0.80$) bildirmiştir. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar bu bulguları destekler niteliktedir. Yaprak, sap ve tane nem oranında ise hesaplanan kalıtım derecelerinin çevre ile olan



Şekil 4. Bitkisel özellikler (a), fizyolojik özellikler (b) ve kalite özellikleri (c) için kalıtım derecesi değerlerinin değişimi.

Figure 4. Variation of heritability values for plant traits (a), physiological traits (b) and quality traits (c).

etkileşimleri yüksek bulunmuş, bu durum söz konusu özelliklerin çevresel etkilerden yüksek oranda etkilendiğini ortaya koymuştur. Nitekim nem oranı ile ilgili ölçümlerde geniş ve dar anlamda kalıtım derecesinin düşük bulunması (<0.50) bu durumu doğrulamaktadır (Şekil 4a).

Fizyolojik özelliklerden yaprak rengi ile ilişkili olan pigment içerikleri ve yeşillik indeksinde geniş anlamda kalıtım derecesinin çevre ile olan etkisi nispeten yüksek bulunmuştur (Şekil 4b). Yaprak kuru alanı dışında kalan yaprak büyümesine ilişkin özelliklerde ise geniş anlamda kalıtım derecesi 0.60'ın üzerinde bulunmuştur (Şekil 4b). Yaprak kuru alanında ise hesaplamaların tamamı 0.50'nin altındadır.

Kalite özelliklerine ilişkin yapılan hesaplamalara ait sonuçlar, tane yağ içeriğinin hem geniş (H) hem de dar anlamda kalıtım derecesinin (h^2) çok yüksek olduğunu göstermiştir. Rosulj ve ark. (2002) yağ oranı için yapılan seleksiyon çalışmasında başlangıç materyalinde yağ oranı için kalıtım derecesinin % 70'in üzerinde bulunmuşlardır. Araştırmamızda kullanılan materyalin yarısı yüksek yağlı IHO genotipleri ile ilişkili materyallerdir. Yağ oranı için kalıtım derecesinin yüksek bulunmuş olması bu sebeptir. Kalıtım derecelerinin yüksekliği dikkate alındığında yağ oranını tane protein içeriği ve tane karbonhidrat içeriği izlemiştir. Yaprak ve sapta protein ile karbonhidrat içeriklerine ait kalıtımda genetik etkinin kısmen düşük paya sahip olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4c). Bununla birlikte yaprak protein ve karbonhidrat içeriği için hesaplanan geniş anlamda kalıtım derecesinde önemli bir varyasyon olduğu dikkat çekmektedir (Şekil 4c).

Çalışmada kalıtım derecelerinin ESG'lere göre değişimi her tarihte yalnızca bir değer hesaplandığından grafik üzerinde gösterilememiştir. Ancak kalıtım dereceleri ile ilgili grafiklerde her bir hesaplama için değişim görülebilmektedir. İncelenen çoğu özelliğe, geniş anlamda kalıtım derecesi başta olmak üzere önemli varyasyonların olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum toplam varyans içerisindeki genotipik payın vejetasyon süresince önemli değişimler gösterdiğine işaret etmektedir.

3.3. Gen Etkileri

Heterosise neden olan gen etkilerinin grafiksel olarak gösterimi polar grafikler ile Şekil 5'te gösterilmiştir. İncelenen bitkisel özelliklerden büyük kısmının değişiminde pozitif yönde üstün dominans gen etkilerinin rol oynadığı görülmektedir (Şekil 5a). Benzer şekilde fizyolojik özelliklerle ilgili hibritlerin ebeveynlerden farklılaşması pozitif yönde olmuş ve üstün dominans gen etkilerinin kontrolü ile bu farklılıkların oluştuğu anlaşılmıştır (Şekil 5b). İncelenen tane kalite özelliklerinde negatif yönde üstün dominans ve dominant gen etkilerinin hibrit ve ebeveyn farklılıklarında etkili olduğu anlaşılır iken, bazı özelliklerin değişiminde eklemeli gen etkilerinin rol oynadığı saptanmıştır (Şekil 5c). Bu özelliklerde intermediyer kalıtımın var olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan önceki araştırmalarda verim ve bitkisel özelliklerde üstün dominans veya kısmi dominans gen etkilerinin baskın olduğu bildirilmiştir (Zare ve ark. 2011). Protein ve yağ oranı gibi kalite özelliklerinde ise eklemeli gen etkilerinin rol oynadığı yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir (Rosulj ve ark. 2002; Watto ve ark. 2009). Araştırmamızda elde edilen sonuçlar bu bulguları destekler niteliktedir.

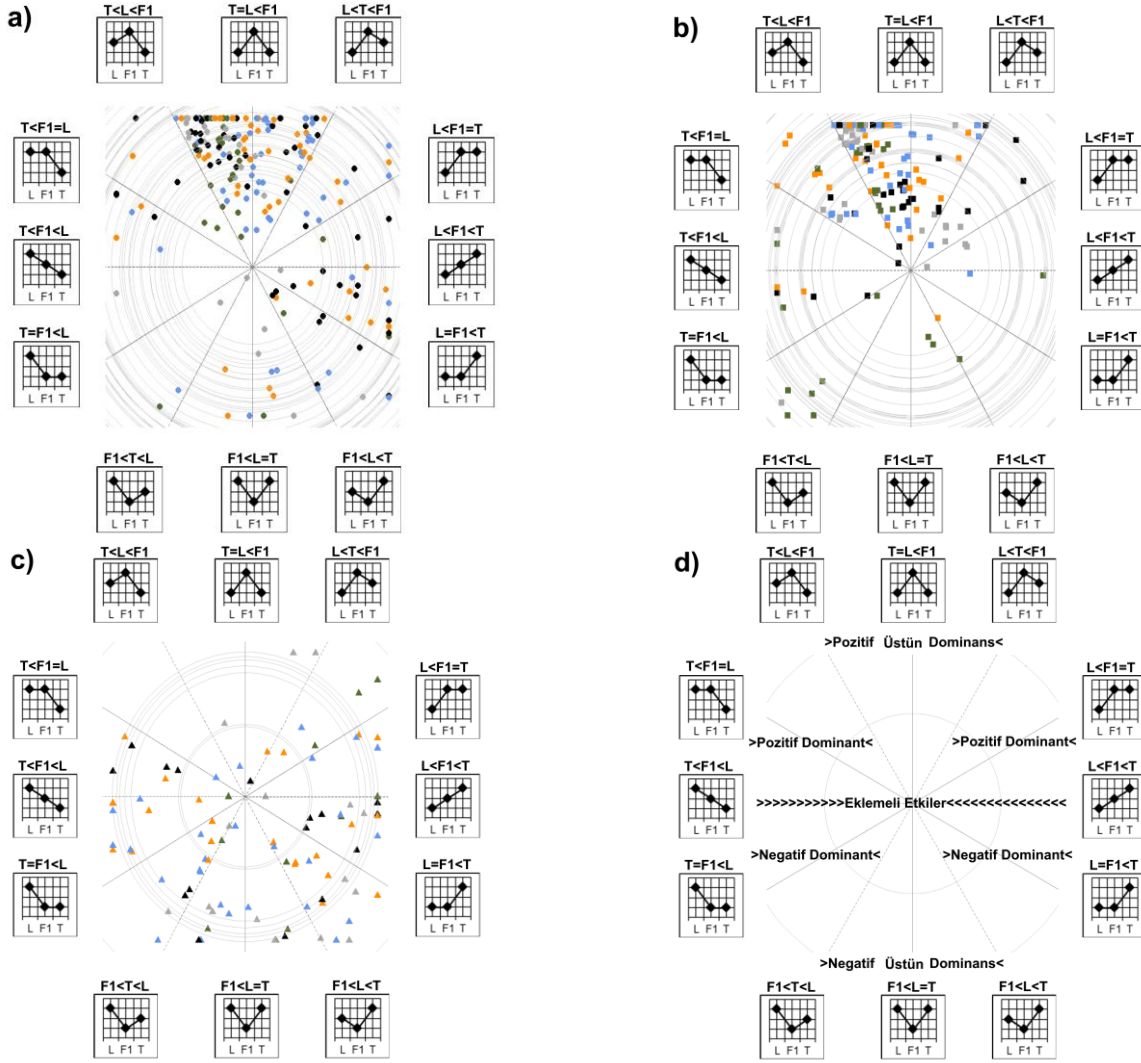
Gen etkilerinin vejetasyon süresince değişimi de polar grafikler üzerinde izlenebilmektedir (Şekil 5). Her hibrite ait ortalama değerler ve ebeveyn verileri üzerinden hesaplanan değerlerin vejetasyon dönemlerine göre değişimleri farklı renklerle ifade edilmiştir. Polar grafikler üzerindeki sembollerin

ve renklerin dağılımları dikkate alındığında, bitkisel özellikler ile fizyolojik özelliklerin büyük kısmında etkili olduğu saptanan üstün dominans gen etkilerinin gözlem alınan dönemlerin büyük kısmında değişim göstermediği anlaşılmaktadır (Şekil 5a). Ne yazık ki polar grafikler üzerinde genotipik farklılıkları göstermek için sembol yetersiz kaldığından grafikler üzerinde söz konusu farklar görülememektedir. Bu nedenle yüksek yağlı ve yüksek proteinli melezlerde heterosise neden olan gen etkilerinin hibritlere göre değişimi konusunda net bir yargıya varmak mümkün olmamıştır. Buna karşın grafiklerde farklı sembollerle gösterilen özellik gruplarındaki değişimler dikkate alınarak nem oranı dışında bitkisel özelliklerin büyük kısmında hem yüksek yağlı hem de yüksek proteinli hibritlerde üstün dominans gen etkilerinin rol oynadığı anlaşılmaktadır (Şekil 5a). Benzer şekilde fizyolojik özelliklerde de yüksek yağlı ve yüksek proteinli hibritlerde gen etkilerinin benzer olduğu (Şekil 5b), buna karşın kalite özelliklerinde melez kombinasyonlar arasında önemli bir varyasyon olduğu görülmektedir (Şekil 5c).

Çalışmada elde edilen bulgulara göre, % 50'si saf hatlardan % 50'si hibrit kombinasyonlardan oluşan bir popülasyonda incelenen özelliklerde ortaya çıkan heterosisin dominans gen etkilerinin kontrolünde olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada ele alınan özelliklerin büyük kısmında heterosisin ortaya çıkışı ana hattın özelliklerine göre şekillenmiştir. Buna karşın aynı ana hattın farklı babalar ile melezlenmesi sonucu elde edilen melezlerde farklılıklar gözlenmiş olması baba hattın da önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak gen etkilerinin oluşumunda paternal ve maternal etkilerin özelliklere göre değişim gösterdiği söylenebilir. Ayrıca vejetasyonun farklı dönemlerinde heterosise neden olan gen etkilerinin bazı özelliklerde önemli değişimler gösterdiği anlaşılmıştır.

4. Sonuç

Dönemsel ölçümler ve hesaplamalar neticesinde, vejetasyon süresince özel tip hibritlerin ebeveynlerine göre farklılaşmasına neden olan genlerin fonksiyonel olarak hangi dönemlerde aktif hale geldiği belirlenmiştir. Bu bulgulara göre bitkisel özelliklere ilişkin genlerin vejetasyonun tüm evrelerinde fonksiyonel olduğu, buna karşın tane kalite özellikleri ve yaprak pigment içeriklerine ilişkin genlerin ifade dönemlerinde değişimler olduğu saptanmıştır. Bitkisel özelliklerden bitki boyu, yeşil ve kuru ağırlıklar ile yaprak alanının bütün ölçümlerde pozitif yönlü heterosise sahip olduğu görülmüştür. Nem oranında ise heterosise değeri düşük bulunmuştur. Fizyolojik özelliklerden yaprak alanı ile ilgili özellikler yüksek düzeyde pozitif heterosise sahip olurken, klorofil içeriği ve yeşillik karakterlerine ilişkin ölçümlerde heterosise değerleri vejetasyonun farklı evrelerinde değişim göstermiştir. Nem içeriği ve yaprak pigment içeriği ile yeşillik karakterleri dışındaki tüm özelliklerde geniş anlamda kalıtım derecesi yüksek bulunmuştur. Özel tip mısırların kullanıldığı bu araştırmada en yüksek kalıtım derecesi tane yağ, protein ve karbonhidrat içeriğinde hesaplanmıştır. Bu durum kalite özelliklerine yönelik olarak ıslah edilen ebeveynlerin incelenen özelliklerle ilgili kalıtım derecelerine etkisini ortaya koymaktadır. Yaprak ve sap kalite özelliklerinde tane içeriğine ilişkin özelliklere göre heterosise değerinin düşük olduğu görülmüştür. İncelenen özelliklerin büyük kısmında heterosisin üstün dominans etkilerle ortaya çıktığı görülmüştür. Özel tip mısır geliştirme amacıyla yürütülecek çalışmalarda, çalışmada tespit ettiğimiz ıslah parametrelerindeki değişimin dikkate alınmasında yarar vardır.



Şekil 5. Bitkisel (a), fizyolojik (b), kalite özellikleri (c) için heterosis neden olan gen etkilerinin polar grafikler üzerinde gösterimi ile gen etkilerine ilişkin bölgeler (d). Her şekilde işaretler farklı özellikleri (Bitkisel özellikler=●, Fizyolojik özellikler: ■, Kalite özellikleri: ▲), işaret renkleri (ESG1:Yeşil, ESG2:Gri, ESG3:Siyah, ESG4:Turuncu, ESG5:Mavi) ise farklı ESG'lere ait hesaplamaları göstermektedir.

Figure 5. Representation of gene effects causing heterosis to physiological (b) quality traits (c) and regions related with gene effects (d) on the polar graphs. Signs showed different characteristics (vegetable properties = ●, physiological properties: ■, quality properties: ▲), and sign colors (ESG1: Green, ESG2: Gray, ESG3: Black, ESG4: Orange, ESG5: Blue) indicates the values for different ESGs.

Teşekkür

Çalışmanın yürütülmesi için BAP 2011/56 nolu proje ile destek sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Bakr EM (2005) A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology* 129(3): 173-175.
- Bekele A, Rao TN (2013) Heterosis study for grain yield, protein and oil improvement in selected genotypes of maize (*Zea mays* L). *Journal of Plant Sciences* 1(4): 57-63.
- Chen G, Zhu Z, Zhang F, Zhu J (2012) Quantitative genetic analysis station for the genetic analysis of complex traits. *Chinese Science Bulletin* 57(21): 2721-2726.
- Gardner CO (1963) Estimation of genetic parameters in cross-pollinated plants and their implications in plant breeding. *Statistical Genetics*

and Plant Breeding, NASNRS Washington D. C. Publication, 982: 228-234.

Hallauer AR, Miranda JB (1981) Quantitative genetics in maize breeding. Iowa St. Univ. Press, Ames, IA.

Hiscox JD, Israelstam GF (1979) A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany* 57: 1332-1334.

Lisee J, Römissh-Margl L, Nikoloski Z, Piepho H-P, Giavalisco P, Selbig J, Gierl A, Willmitzer L (2011) Corn hybrids display lower metabolite variability and complex metabolite inheritance patterns. *The Plant Journal* 68: 326-336.

Mahmood S, Malik SI, Hussain M (2016) Heterosis and combining ability estimates for ear traits and grain yield in maize hybrids. *Asian J Agri Biol.* 4(4): 91-98.

Mittelmann A, Miranda-Filho JB, Monterio de Lima GJJ, Hara-Klein C, Tanaka RT (2003) Potential of the ESA23B Maize population for protein and oil content Improvement. *Scientia Agricola* 60(2): 319-327.

- Oliveira JP, Chaves LJ, Duarte JB, Oliveira-Ribeiro K, Brasil EM (2006) Heterosis for oil content in maize populations and hybrids of high quality protein. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: 113-120.
- Orhun GE (2010) Mısırdada (*Zea mays*) yağ kalitesi ve tane verimi ile ilgili özelliklerde kalıtım analizleri, Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 192 s.
- R Development Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rood SB, Major DJ (1981) Diallel analysis of leaf number, leaf development rate, and plant height of early maturing maize. *Crop Science* 21: 867-873.
- Rosulj M, Trifunovic S, Husic I (2002) Nine cycles of mass selection for increasing oil content in two maize (*Zea mays* L.) synthetics. *Genetics and Molecular Biology* 25: 449-461.
- Römisch-Margl L, Spielbauer G, Schützenmeister A, Schwab W, Piepho H.P, Genschel U, Gierl A (2010) Heterotic patterns of sugar and amino acid components in developing maize kernels. *Theoretical Applied Genetics* 120: 369-381.
- Schön CC, Lee M, Melchinger AE, Guthrie WD, Woodman WL (1993) Mapping and characterization of quantitative trait loci affecting resistance against second-generation European corn borer in maize with the aid of RFLPs. *Heredity* 70: 648-659.
- Shanthi P, Satyanarayana E, Reddy GJM (2002) Genetic studies for grain yield and oil improvement in maize. *Research on Crops* 3(3): 588-591.
- Swanson-Wagner RA, Jia Y, DeCook R, Borsuk LA, Nettleton D, Schnable PS (2006) All possible modes of gene action are observed in a global comparison of gene expression in a maize F1 hybrid and its inbred parents. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 103: 6805-6810.
- Tollenaar M, Ahmadzadeh A, Lee EA (2004) Physiological basis of heterosis for grain yield in maize. *Crop Science* 44: 2086-2094.
- Veita RA, Waiman D (2010) Exploring the mechanistic bases of heterosis from the perspective of macromolecular complexes. *The FASEB Journal* 25: 1-7.
- Watto FM, Saleem M, Ahsan M, Sajjad M, Ali W (2009) Genetic analysis for yield potential and quality traits in maize (*Zea mays* L.). *American-Eurasian Journal of Agriculture Environment Science* 6(6): 723-729.
- Werle AJS, Ferreira FRA, Pinto RJB, Mangolin CA, Scapim CA, Gonçalves LSA (2014) Diallel analysis of maize inbred lines for grain yield, oil and protein content. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 14: 23-28.
- Wyss CS, Czyzewicz JR, Below FE (1991) Source-sink control of grain composition in maize strains divergently selected for protein concentration. *Crop Science* 31: 761-766.
- Yusuf M, Ado SG, Ishiyaku MF (2009) Heterosis in single crosses of quality protein maize inbred lines, African Crop Science Conference Proceedings Vol. 9. pp. 439 - 445.
- Zare M, Choukan R, Bihanta MR, Majidi Heravan E, Kamelmanesh MM (2011) Gene action for some agronomic traits in maize (*Zea mays* L.). *Crop Breeding Journal* 1(2): 133-141.
- Zhu J (2003) Diallel analysis for an additive-dominance model with genotype-by- environment interaction effects. In: Kang, M.S., Ed., *Handbook of formulas and software for plant geneticists and breeders*, Food Products Press, The Haworth Reference Press, Oxford, pp. 39-50.