

Pamukta İlişkilendirme Haritalaması Yöntemiyle Gossypol ile İlişkili Markörlerin Belirlenmesi

Adem BARDAK¹ M. Said FİDAN² Elif DAĞĞEÇEN³ Halil TEKEREK³
Sadettin ÇELİK³ Döne PARLAK³ Khezir HAYAT⁴

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kahramanmaraş,

²Bursa Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Bursa

³Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD, Kahramanmaraş

⁴Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ve Bilimleri ABD, Kahramanmaraş

✉: adembardak@ksu.edu.tr

Geliş (Received): 03.11.2017

Kabul (Accepted): 15.12.2017

ÖZET: Pamuk dünyada ve ülkemizde önemli bir tekstil hammaddesi olmakla birlikte aynı zamanda lifi alındıktan sonra yağ ve yem sanayisi ile birlikte birçok endüstri koluna hammadde sağlamaktadır. Pamuk tohumunun yem ve yağ kaynağı olarak insan ve hayvan beslenmesinde kullanımı tohumun içerdiği gossypol maddesinden dolayı sınırlı kalmaktadır. Pamuk ıslah hedeflerinden biri de tohumunda gossypol içermeyen çeşitlerin geliştirilmesidir. Böylece pamuktan elde edilen yağın kalitesi ve insan beslenmesinde kullanım yaygınlığı artabilecektir. Bu çalışma ile markör destekli seleksiyonu (MAS: Marker Asisted Selection) mümkün kılabilen gossypol ile ilişkili markör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma pamuk genetik stokumuzda bulunan ve yapılacak ıslah programlarında ebeveyn olarak kullanılabilen 48 adet pamuk genotipi ile yürütülmüştür. İlişkilendirme haritalaması çalışmalarında fenotipik veri olarak gövde (adet/cm²), yaprak (adet/cm²), koza (adet/cm²) ve tohumdaki (adet/mm²) gossypol beze sayıları ve tohum HPLC analizi verileri kullanılmıştır. Genotipik veri olarak genotipler arasında 37 adet SSR markörünün taranması sonucu elde edilen, 83 adet polimorfik bant kullanılmıştır. Genel Linear Modelde (GLM); gövdedeki gossypol ile ilişkili 1 adet, kozadaki gossypol ile ilişki 4 adet, yapraktaki gossypol ile ilişkili 3 adet, tohumdaki gossypol ile ilişkili 8 adet, tohum HPLC sonuçları ile ilişkili 4 adet markör belirlenmiştir. Karışık linear modelde (MLM) ise gövdedeki gossypol ile ilişkili 1 adet, kozadaki gossypol ile ilişki 12 adet, yapraktaki gossypol ile ilişkili 3 adet, tohumdaki gossypol ile ilişkili 3 adet markör belirlenmiştir. Her iki yöntemde de belirlenen 5 adet (BNL3130, BNL3627, JESPR7, BNL3449, BNL387, JESPER178) markör gossypol yönünden oluşturulmuş F2 popülasyonları gibi özel popülasyonlarda doğrulaması yapılarak, markör destekli seleksiyonda kullanımları mümkün olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Pamuk, Gossypol, İlişkilendirme haritalaması, Genetik stok, SSR

Association Mapping for Gossypol Contents in Cotton

ABSTRACT: Cotton is an important raw material for textile all over the globe and in our country; after fiber it also supplies raw materials to oil and feed industry. Cottonseed used as a fat in humans and as feed in animals is limited due to gossypol. The goal of cotton breeders is to develop cultivars without gossypol. Therefore, cottonseed oil quality matters a lot for increasing use in human diet. In this study it was aimed at to develop markers related to gossypol which will be useful for marker assisted selection (MAS). The study was carried out with 48 cotton genotypes that can be used as a resource in the breeding programs. Phenotypic data were used for association mapping studies. Gossypol number was counted in stem, leaf and boll at cm² while gossypol contents in seeds were measured by using HPLC. 37 SSRs were screened among the genotypes for getting of genotypic data and found 83 polymorphic alleles. Marker trait associations were observed using General Linear Model; 1, 4, 3, 8, 4 gossypol associations with stem, boll, leaf, seed and HPLC seed were determined. While Mixed Linear Model (MLM) resulted 1, 12, 3, 3 associations with stem, boll, leaf and seed respectively. As a whole five common SSR markers BNL3130, BNL3627, JESPR7, BNL3449, BNL387, JESPER178 were associated with gossypol, these will be verified in F2 population and ultimately used for marker assisted selection.

Keywords: Cotton, Gossypol, Association mapping, Germplasm, SSR

GİRİŞ

Pamuk lifinin yanında tohumundan elde edilen yağı insan beslenmesinde kullanılırken, yağı alındıktan sonra geriye kalan küspesi hayvan beslenmesinde önemli bir protein kaynağıdır (Cherry ve ark 1978; Cherry 1983; Cherry ve Leffler 1984). Bir yağ bitkisi olarak pamuk dünyada soya, kolza ve ayçiçeğinden sonra dördüncü sırada yer alırken (Anonim 2017) bitki protein kaynağı olarak soyadan sonra ikinci sırada yer almaktadır

(Benbouza ve ark., 2010). Yağ oranı tür, çeşit ve lokasyonlara göre (kabuklu olarak) havlı tohumlarda %17-24, havesiz tohumlarda %20-30; iç olarak ise %23-42 arasında değişmektedir (Sezer, 1981; Bölek ve ark., 2016). Tohum protein içeriği ise kabuklu olarak tür, çeşit ve çevre koşullarına göre %20-40 (Buser ve Abbas, 2001), iç olarak %34-46 (Bölek ve ark., 2016) arasında değiştiği bildirilmektedir. Ayrıca doymamış yağ asitleri ve "E" vitamini yönünden de oldukça zengin

olup bu vitamin anti-kanserojen özelliği yanında damar hastalıkları, katarakt, parkinson ve alzheimer hastalıklarını önleyici olarak kullanılmaktadır (Vroh Bi ve ark., 1998; Bölek ve ark., 2016).

Pamuk tohumunun tüm bu özelliklerine karşın insan ve hayvan beslenmesi yönünden bazı dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle, gossypol içeriği yüksek tohumların gıda hammaddesi olarak kullanımı sınırlı olmaktadır (Emiroğlu, 1974). Pamuk tohumunda bulunan gossypol, temelde terponeid aldehit olup tek mideli hayvanlar ve insanlar için zararlı ve toksiktir (Lusas ve Jividin 1987). Buna karşın gossypol ve ilgili terponeid aldehitler çeşitli zararlılar ile fungal ve bakteriyel hastalıklara karşı doğal toleranlık/dayanıklılık kazandırır (Stipanovic ve ark., 1994; Altman ve ark., 1987; Percy, 1996). Gossypol bezeleri içermeyen mutant pamuk genotipi Mc Michael (1954) tarafından keşfedilerek gossypolsüz tohuma sahip ticari çeşit geliştirmek için ebeveyn olarak kullanılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde gossypolsüz çeşitlerin böceklere hassas hale gelmesinden dolayı çabalar ticari başarısızlık olarak sonuçlanmıştır (Altman ve ark., 1987). İdeal bir pamuk çeşidi insan ve hayvan beslemesi açısından tohumunda gossypol bulundurmamalı, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık için ise vejetatif aksamında gossypol bulundurmalıdır (Benbouza ve ark., 2010).

Bitkinin değişik parçalarında ya da organlarında beze oluşumunun *gl1*, *gl2*, *gl3*, *gl4*, *gl5* ve *gl6* genleri tarafından yönlendirildiği (Pauly, 1979), ticari pamuk çeşitlerinde gossypol içeren bezelerin oluşumunun birbirlerinin homoloğu olan *Gl2* ve *Gl3* dominant genler tarafından kontrol edildiği bildirilmektedir (Vroh Bi ve ark., 1999). Resesif *gl1* ve *gl6* allellerinin gossypolsüz koza oluşumunda; *gl2*, *gl3*, *gl4* ve *gl5* allellerinin ise, gossypolsüz bitki oluşumunda etkili olduğu bildirilmektedir (Kohel, 1973). *Gl2* allelinin A genomunun 12. kromozomunda ve *Gl3* allelinin ise, D genomunun 26. kromozomda yer aldığı belirtilmektedir Çizelge 1. Çalışmada kullanılan genotipler

KOD	Cesit	Tür	KOD	Cesit	Tür	KOD	Cesit	Tür
1	2421-A	<i>G.hirsutum</i> L.	17	DPL-20	<i>G.hirsutum</i> L.	33	TAMCOT CABCS	<i>G.hirsutum</i> L.
2	308 (CAMPO)	<i>G.hirsutum</i> L.	18	ERŞAN-92	<i>G.hirsutum</i> L.	34	LİFSİZ	<i>G.hirsutum</i> L.
3	8106-2	<i>G.barbadense</i> L.	19	FİBERMAX 832	<i>G.hirsutum</i> L.	35	AŞKABAT 100	<i>G.barbadense</i> L.
4	919 (LİDER)	<i>G.hirsutum</i> L.	20	FİBERMAX 958	<i>G.hirsutum</i> L.	36	EGE 69	<i>G.hirsutum</i> L.
5	ACALA MAXA	<i>G.hirsutum</i> L.	21	G.B.58	<i>G.barbadense</i> L.	37	GOSSİPOLSÜZ 86	<i>G.hirsutum</i> L.
6	ACALA-552	<i>G.hirsutum</i> L.	22	GARANT	<i>G.hirsutum</i> L.	38	KURAK-1	<i>G.hirsutum</i> L.
7	ALEPPO 40	<i>G.hirsutum</i> L.	23	GİZA 70	<i>G.barbadense</i> L.	39	YEŞİL LİF	<i>G.hirsutum</i> L.
8	AŞKABAT-91	<i>G.barbadense</i> L.	24	GİZA-45	<i>G.barbadense</i> L.	40	ACALA ROYALE	<i>G.hirsutum</i> L.
9	AYDIN-110	<i>G.hirsutum</i> L.	25	GİZA-75	<i>G.barbadense</i> L.	41	ACALA PREMA	<i>G.hirsutum</i> L.
10	AZERBAYCAN 3038	<i>G.hirsutum</i> L.	26	KASHİNAT	<i>G.hirsutum</i> L.	42	SPNXHQBPIS-1-94	<i>G.hirsutum</i> L.
11	BAHAR 82	<i>G.barbadense</i> L.	27	LACHATA	<i>G.hirsutum</i> L.	43	YB162	<i>G.hirsutum</i> L.
12	BAHAR-14	<i>G.barbadense</i> L.	28	MARCEL LEAF (BROWN)	<i>G.hirsutum</i> L.	44	YB193	<i>G.hirsutum</i> L.
13	BELİ İZVOR-432	<i>G.hirsutum</i> L.	29	PAYMASTER 2379	<i>G.hirsutum</i> L.	45	YB194	<i>G.hirsutum</i> L.
14	CARMEN	<i>G.hirsutum</i> L.	30	STN 8A	<i>G.hirsutum</i> L.	46	YB195	<i>G.hirsutum</i> L.
15	DELTAOPAL	<i>G.hirsutum</i> L.	31	SUREGROW 125	<i>G.hirsutum</i> L.	47	YB196	<i>G.hirsutum</i> L.
16	DP-388	<i>G.hirsutum</i> L.	32	ŞAHİN 2000	<i>G.hirsutum</i> L.	48	W35	<i>G.barbadense</i> L.

Araziden toplanan bitki örneklerinde; Gövde, koza, yaprak gossypol sayıları (adet cm⁻¹) ve tohumdaki gossypol sayısı (adet mm⁻¹) mikroskop altında 2 yıl süreyle sayılmıştır. HPLC analizleri yöntemine göre tek

(Endrizzi, 1962; Samora ve ark., 1994). *Gossypium* cinsi içerisinde tohumu gossypolsüz ancak bitki yapısı gossypollü genotiplere sadece Avustralya kökenli yabancı türlerden *G. sturtia* ile *G. hibiscoidea* (C ve G genomları) türlerinde rastlanmaktadır (Altman ve ark., 1987; Rooney ve ark., 1991).

Pamuk tekstil endüstrisine olduğu kadar yağ ve yem sanayisine de önemli derecede hammadde sağlamaktadır. Verim ve lif kalitesinin artırılmasının yanında yağ ve yem kalitesinin de artırılması gerekmektedir. Yağ ve yem kalitesinin artırılmasının yolu tohumunda gossypol bulundurmayan, bitki aksamı gossypollü çeşitlerin geliştirilmesinden geçmektedir. Böyle bir çeşidin ıslahı geleneksel bitki ıslahı ile oldukça zor olup moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir.

Moleküler yöntemlerle istenilen özelliklere bağlı markörler tespit edilerek, erken açılım gösteren ıslah generasyonlarında markörlere dayalı seleksiyon (marker assisted selection) (MAS) mümkün olabilmektedir. Markörlere dayalı seleksiyon (MAS) yapabilmek için ilgilenilen özelliklerle ilişkili QTL'lerin (kantitatif özellik lokusu) geliştirilmesi gerekmektedir. QTL belirlemede yaygın olarak linkage haritalama (Linkage Mapping) ve ilişkilendirme haritalaması (Association Mapping) yöntemleri kullanılmaktadır (Bardak, 2016). Linkage haritalamada aynı ana ve babadan gelen spesifik popülasyonlara (F₂, BC₁, BC₂, RIL) ihtiyaç duyulurken, ilişkilendirme haritalaması direkt genetik stok materyallerinde uygulanabilmektedir (Zhu ve ark., 2008).

Bu çalışma ile markör destekli seleksiyonu (MAS: Marker Assisted Selection) mümkün kılabilir olan gossypol ile ilişkili markör geliştirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada 10 adet *G. barbadense* L. türüne ait, 38 adet *G. hirsutum* L. türüne ait, toplam 48 adet pamuk genotipi kullanılmıştır (Çizelge 1).

yıl analiz edilmiştir.

Her bir genotipi temsil eden yaprak örnekleri kuru buz içerisinde laboratuara getirilmiş ve Zhang ve Stewart (2000)'e göre DNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışmada

genotipleme 37 SSR DNA markörü kullanılarak Bardak ve Bölek (2012) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır.

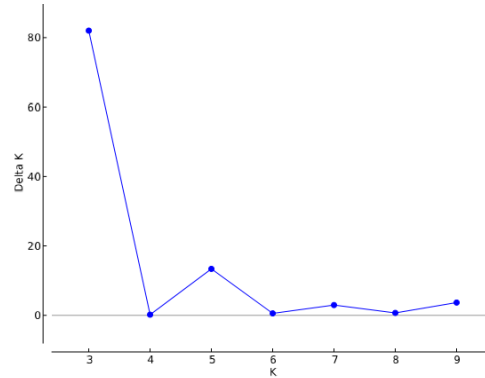
Kümeleme analizi Q-matriks verileri STRUCTURE paket programında analiz edilmiştir. Genotipik ve fenotipik veriler kullanılarak TASSEL 5.0 (Pritchard ve ark., 2000) paket programında ilişkilendirme haritalaması (association mapping) analizleri yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Genotiplerin genetik yapı analizi

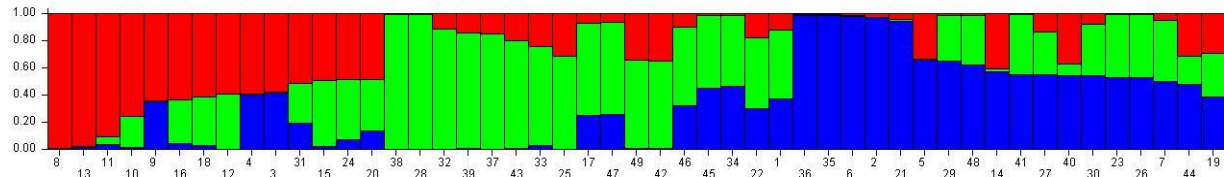
Bayesian yöntemini model alan STRUCTURE 2.3.4 yazılımı kullanılarak, dominant genotipik verilerle kümeleme analizi yapılmıştır (Pritchard ve ark. 2000). Kümeleme sayısını belirlemek amacıyla K değeri hesaplanmıştır. Program ayarları K değeri 2 ile 10 arasında çalıştırılmış ve permütasyon modülünde 1000-10.000 seçilip her bir K değeri için 5 tekrar yapılarak ideal K değeri hesaplanmış ve 3 olarak bulunmuştur

Şekil 2'ye bakıldığında genotiplerin genetik olarak 3 gruba ayrıldığı görülmektedir. Her bir rengin farklı bir genetik yapıyı temsil ettiği söylenebilir. Şekil 2 incelendiğinde genetik köken olarak birbirine yakın



Şekil 1. Genetik yapı analizi için ideal K değeri hesaplama grafiği (Şekil 1).

genotiplerin genetik olarak yakın oldukları görülmektedir. Genetik olarak birçok genotipin birbirinden etkilendiği görülmektedir.



Şekil 2. Genotiplerin genetik yapı analizi gruplandırma analizi

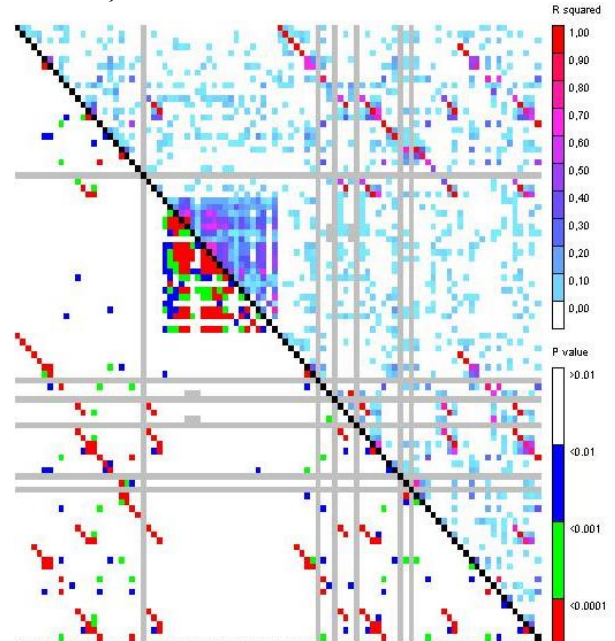
Bağlantı denksizliğinin (LD: Linkage Disequilibrium) belirlenmesi

37 adet SSR markör çiftinin oluşturduğu polimorfik lokuslar arasındaki ilişkilerin belirlenmesi bağlantı denksizliği (LD) yöntemine göre yapılmıştır (Şekil 3). Bağlantı denksizliği analizinde 4560 karşılaştırma sonucunda, analiz edilen SSR'ların % 11'i $r^2 \geq 0.1$ bulunurken, $r^2 \geq 0.1$ ve $p \leq 0.005$ önemlilik düzeyinde SSR markör çiftlerinin % 6' sını önemli bulunmuştur. Eğer $r^2 \geq 0.1$ olursa, genomda marker uzaklığı < 10 cM olduğu, $r^2 \geq 0.2$ olduğunda ise marker uzaklığının yaklaşık 1-2 cM daha azaldığı ve 6-8 cM'a düştüğü bildirilmektedir (Abdurakhmonov ve ark., 2008).

Gossypol ile ilişkili markörlerin belirlenmesi

İlişkilendirme analizleri genotipik, fenotipik ve Qmatriks verileri kullanılarak TASSEL paket programında genel linear model (GLM) ve 10000 permütasyon modülü seçilerek yapılmıştır (Çizelge 2). Yapılan ilişkilendirmede, $P < 0.05$ 'e göre 17 adet markör belirlenirken, $P < 0.01$ 'e göre iki adet markör belirlenmiştir. Gövdedeki gossypol sayısı ile bir (BNAL3103), kozadaki gossypol sayısı ile dört (BNL3103, BNL3871, BNL3627, JESPR7), yapraktaki gossypol sayısı ile üç (BNL3449, BNL3545, JESPR70), tohumdaki gossypol sayısı ile yedi (BNL2921, BNL3103, BNL3449, BNL387, NAU1162, NAU2173, MGHES24), tohumdaki HPLC oranı ile dört (BNL3860,

BNL3627, JESPR70, JESPR178) adet ilişkili markör belirlenmiştir.



Şekil 3. Bağlantı denksizliği (LD) grafiği

Çizelge 2. Genel linear model (GLM) de gossypol ile ilişkili markörler

Özellik	Markör	Kromozom	F	p
Gövde	BNL3103	10	5.807	0.020
Koza	BNL3103	10	4.807	0.034
Koza	BNL3871	7	5.443	0.025
Koza	BNL3627	8, 24	11.023	0.002
Koza	JESPR7	16, 20	5.213	0.028
Yaprak	BNL3449	7	5.166	0.028
Yaprak	BNL3545	2, 14	5.669	0.022
Yaprak	JESPR70	24	5.669	0.022
Tohum	BNL2921	1	4.508	0.040
Tohum	BNL3103	10	6.428	0.015
Tohum	BNL3449	7	4.106	0.049
Tohum	BNL387	4, 9	5.223	0.028
Tohum	NAU1162	-	4.888	0.033
Tohum	NAU2173	14	4.508	0.040
Tohum	MGHES24	2	4.508	0.040
HPLC	BNL3860	2, 4	5.523	0.026
HPLC	BNL3627	8, 24	12.402	0.001
HPLC	JESPR70	24	4.355	0.046
HPLC	JESPR178	18	5.523	0.026

Karışık linear model (MLM: mixed linear model) ilişkilendirme analizinde genotip, fenotip, Qmatriks ve kinship verileri kullanılarak TASSEL 5 programında yapılmıştır (Çizelge 3). Yapılan analiz sonucunda gövde ile bir (BNL3103), koza ile oniki (BNL2646, BNL3449, BNL387, BNL3492, BNL3535, BNL3627, BNL3895, NAU2714, NAU2761, NAU1302, JESPR178, JESPR230), yaprak ile üç (BNL3103, JESPR7, MUCS404) ve tohum ile üç (BNL3535, JESPR178, JESPR230) ilişkili markör belirlenmiştir.

Çizelge 3. Karışık linear model (MLM) de gossypol ile ilişkili markörler

Özellik	Markör	Kromozom	F	p
Gövde	BNL3103	10	8.4852	0.0046
Koza	BNL2646	-	9.9442	0.0022
Koza	BNL3449	7	8.6702	0.0042
Koza	BNL387	7	14.9775	0.0002
Koza	BNL3492	9	9.7826	0.0025
Koza	BNL3535	19	10.1035	0.0021
Koza	BNL3627	8, 24	7.4730	0.0076
Koza	BNL3895	11	13.2031	0.0005
Koza	NAU2714	-	9.9442	0.0022
Koza	NAU2761	-	8.2822	0.0051
Koza	NAU1302	-	8.2822	0.0051
Koza	JESPR178	18	16.4533	0.0001
Koza	JESPR230	9, 19, 22	7.7406	0.0066
Yaprak	BNL3103	10	8.7439	0.0040
Yaprak	JESPR7	16, 20	9.6225	0.0026
Yaprak	MUCS404	-	7.3521	0.0081
Tohum	BNL3535	19	7.2189	0.0087
Tohum	JESPR178	18	7.0981	0.0092
Tohum	JESPR230	9, 19, 22	6.9442	0.0100

Her iki yöntemde de BNL3130 (Kromozom 10), BNL3627 (Kromozom 8 ve 24), JESPR7 (Kromozom 16 ve 20), BNL3449 (Kromozom 7), BNL387 (Kromozom 4 ve 9) JESPER178 (Kromozom 18)

markörleri belirlenmiştir. Pamukta gossypol oluşumunun *gl1*, *gl2*, *gl3*, *gl4*, *gl5* ve *gl6* genleri tarafından kontrol edildiği (Pauly, 1979), birbirlerinin homoloğu olan *Gl2* ve *Gl3* dominant genleri tarafından kontrol edildiği bildirilmektedir (Vroh Bi ve ark., 1999). Liu ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada pamuk 2, 3, 5, 10, 18 ve 22. Kromozomlarında gossypol ile ilişkili markörler belirlenmiştir. Yu ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada 13. ve 19. kromozomlarda gossypol ile ilişkili markör belirlenmiştir. Bu çalışmada da benzer kromozomlarda markör belirlendiği görülmektedir.

SONUÇ

Genel linear modelde (GLM); gövdedeki gossypol ile ilişkili 1 adet, kozadaki gossypol ile ilişki 4 adet, yapraktaki gossypol ile ilişkili 3 adet, tohumdaki gossypol ile ilişkili 8 adet, tohum HPLC sonuçları ile ilişkili 4 adet markör belirlenmiştir. Karışık linear modelde (MLM) ise gövdedeki gossypol ile ilişkili 1 adet, kozadaki gossypol ile ilişki 12 adet, yapraktaki gossypol ile ilişkili 3 adet, tohumdaki gossypol ile ilişkili 3 adet markör belirlenmiştir. Her iki yöntemde de BNL3130, BNL3627, JESPR7, BNL3449, BNL387 ve JESPER178 markörleri belirlenmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda ilişkilendirme haritalaması çalışmalarının daha geniş popülasyonlar kullanılarak yapılması gerektiği, markör sayısının ve çeşitliliğinin artırılarak genomu daha fazla temsil edecek şekilde yapılması gerektiği düşünülmektedir. Öte yandan kullanılan markör ve genotip sayısının az olmasına karşın kullanılabilir markörlerin belirlendiğinin göz ardı edilmemesi gerektiği ve belirlenen markörlerin aynı ana ve babadan gelen özel popülasyonlarda (F_2 , BC_1 , BC , RIL) doğrulamasının yapılarak, uyumlu sonuç veren markörlerin markör destekli seleksiyonda kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdurakhmonov IY, Kohel RJ, Yu JZ, Pepper AE, Abdullaev AA, Kushanov FN, Jenkins JN 2008. Molecular diversity and association mapping of fiber quality traits in exotic *G. hirsutum* L. germplasm. *Genomics*, 92(6), 478-487.
- Altman DW, Stelly DM, Kohel RJ 1987. Introgression of Glanded-Plant and Glandless-Seed Trait from *Gossypium sturtianum* Willis into Cultivated Upland Cotton Using Ovule Culture. *Crop Science*, 27: 880-884.
- Anonim 2017. Oilseeds: World Markets and Trade 2017 <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/fas/oilseed-trade//2010s/2017/oilseed-trade-08-10-2017.pdf> (Erişim Tarihi:09.10.2017).
- Bardak A, Bölek Y 2012. Genetic diversity of diploid and tetraploid cottons determined by SSR and ISSR markers. *Turkish Journal of Field Crop* 17(2), 139-144.
- Bardak A 2017. Pamukta İlişkilendirme Haritalaması Yöntemiyle Markör Geliştirme. Bursa Tarım Kongresi, 13-15 Ekim 2016, sayfa1-10, Bursa.

- Benbouza H, Lacape JM, Jacquemin JM, Courtois B, Diouf FBH, Sarr D, Mergeai G 2010. Introgression of the low-gossypol seed & high-gossypol plant trait in upland cotton: Analysis of [(*Gossypium hirsutum* × *G. raimondii*)² × *G. sturtianum*] trispecific hybrid and selected derivatives using mapped SSRs. *Molecular breeding*, 25(2), 273-286.
- Bolek Y, Tekerek H, Hayat K, Bardak A 2016. Screening of cotton genotypes for protein content, oil and fatty acid composition. *Journal of Agricultural Science*, 8(5), 107.
- Buser MD, Abbas HK 2001. Update on the Impact of Dry Extruding Cottonseed to Reduce Aflatoxin and Gossypol Levels. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference*, 2: 1392-1403.
- Cherry JP, Simmons JG, Kohel RJ 1978. Cottonseed Composition of National Variety Test Cultivars Grown at Different Texas Locations. In: *Proceedings of the Beltwide Cotton Production Research Conference*, Brown, J.M. (Ed.). National Cotton Council of America, Memphis, Tenn., USA., pp: 47-50.
- Cherry JP 1983. Cottonseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60: 360-367.
- Cherry JP, Leffler HR 1984. Seed. In: *Cotton*, Kohel, R.J. and C.F. Lewis (Eds.). ASA Publishers, Madison, Wisconsin, pp: 511-569.
- Endrizzi JE 1962. The Diploid Like Cytological Behavior of Tetraploid Cotton. *Evolution*, 16: 325-329.
- Emiroğlu SH 1974. Gossypol Glandı Tasımayan Pamuk Islahı ve Glandsız Bazı İntrodüksiyon Pamuklarının Ticari Çesitlerle Karşılaştırmalı Verim ve Kaliteleri Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Doçentlik Tezi*, İzmir, 1-20.
- Kohel RJ 1973. Genetic Nomenclature in Cotton. *Journal of Heredity*, 65: 291-295.
- Liu G, Mei H, Wang S, Li X, Zhu X, Zhang T 2015. Association mapping of seed oil and protein contents in upland cotton. *Euphytica*, 205(2), 637-645.
- Lusas EW, Lividin GM 1987. Glandless Cottonseed: A Review of the First 25 Years of Processing and Utilization Research. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 64: 839-854.
- McMichael SC 1954. Glandless boll in upland cotton and its use in the study of natural crossing. *Agron. J.* 46:527.
- Pauly G 1979. Les Glandes à Pigments du Cotonnier: Aspect Génétique et Sélection des Variétés 'Glandless' et 'High Gossypol'. *Cotton Fibres Trop.* 34: 379-402.
- Percy RG, Calhoun MC, Kim HL 1996. Seed gossypol variation within *Gossypium barbadense* L. cotton. *Crop science*, 36(1), 193-197.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P 2000 Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Rooney WL, Stelly DM, Altman DW 1991. Identification of Four *Gossypium sturtianum* Monosomic Alien Addition Derivatives from a Backcrossing Program with *G.hirsutum* L. *Crop Science*. 31: 337-341.
- Samora PJ, Stelly DM, Kohel RJ 1994. Localization and Mapping of GL1 and GL2 Loci of Cotton (*G.hirsutum* L.). *Journal of Heredity*, 85:152-157.
- Sezer Ö 1981. Bölgede Ekilen Islah, Deneme ve Araştırma Projelerinde Denenen Pamuk Çesitlerinin Koza, Tohum, Lif ve İplik Özelliklerinin Tayini. Adana Bölge Pamuk Araştırma Enstitüsü, Pamuk Araştırma Proje ve Sonuçları, 183-189.
- Stipanovic RD 1994. Gossypol in Cotton. *Proceedings, The Biochemistry of Cotton Workshop*, 23-27.
- Vroh Bi I, Baudoin JP, Hau B, Mergeai G 1999. Development of High Gossypol Cotton Plants with Low Gossypol Seeds Using Trispecies Bridge Crosses and In Vitro Culture of Seed Embryos. *Euphytica*, 106: 243-251.
- Yu J, Yu S, Fan S, Song M, Zhai H, Li X, Zhang J 2012. Mapping quantitative trait loci for cottonseed oil, protein and gossypol content in a *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross inbred line population. *Euphytica*, 187(2), 191-201.
- Zhang J, Stewar, McD 2000. Economical and Rapid Method for Extracting Cotton Genomic DNA. *The Journal of Cotton Science*, 4,193-201.
- Zhu C, Gore M, Buckler ES, Yu J 2008. Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome* 1, 5-20. doi: 10.3835/plantgenome2008.02.0089.