T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİNDE YÜKSEK OLEİK YAĞ ASİDİ ÖZELLİĞİNİN MOLEKÜLER MARKIRLAR KULLANILARAK BELİRLENMESİ

ÇAĞLAR ÇOLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. YALÇIN KAYA

EDİRNE-2017

Öğrencinin ÇAĞLAR ÇOLAK'ın hazırladığı "AYÇİÇEĞİNDE YÜKSEK OLEİK YAĞ ASİDİ ÖZELLİĞİNİN MOLEKÜLER MARKIRLAR KULLANILARAK BELİRLENMESİ" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):	İmza
Prof Dr Yalçın KAYA	.....
Doç Dr Semra HASANÇEBİ	.....
Yrd Doç Dr Orhan Onur AŞKIN.	.....
.....	.....
.....	.....

Tez Savunma Tarihi: 07/12/2017

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

(Prof. Dr. Yalçın KAYA)
Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof.Dr. Nusret YURTCAN
(Ünvan, Ad, Soyad)
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

14/12/2017

ÇAĞLAR ÇOLAK



Yüksek Lisans Tezi

Ayçiçeğinde Yüksek Oleik Yağ Asidi Özelliğinin Moleküler Markırlar Kullanılarak Belirlenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Ayçiçeği (*Helianthus annuus*), *Compositae (Asteraceae)* familyasına ait tek yıllık bir yağ bitkisidir. Ayçiçeği dünyada yenebilir bitkisel yağ bakımından 4. sırada yer almakta olup, dünyadaki ayçiçeği ekim alanlarının yaklaşık 60% ı Karadeniz bölgesi ülkelerinde bulunmaktadır.. Ayçeğini ülkemizde önemli kılan kısım ise ülkemizin birçok bölgesinde yetiştirilebilir olmasıdır. Ürettiğimiz bitkisel yağ artan nüfusa yetmemekte ve zaten olan yağ açığımız yıldan yıla artmaktadır. Bu yağ açığı verim artışına alternatif olarak yağ kalitesi iyileştirme çalışmalarıyla azaltılabilir. Oleik asit içerikli ayçiçeği yağı üreterek özellikle kızartma sanainde yağ tüketimini azaltmak mümkündür. Yüksek oleik asit içeren çeşitler geliştirmek için klasik yöntemlerle yapılan ıslah hem zor hemde biyotik ve abiyotik stres koşullarından etkilendiği için doğruluk derecesi düşük olmaktadır. Ancak yüksek oleik asit içerikli bitki ıslahında biyoteknolojik yöntemler ile moleküler markır destekli seleksiyon (MAS) kullanılarak daha hızlı ve daha tutarlı sonuçlar elde etmek mümkündür. MAS yöntemi iş gücünü azaltma, daha hassas ve güvenilir sonuçlar elde etme gibi birçok avantaj sunmaktadır. Bu çalışmada F3 kademesindeki 40 birey ve genetik çeşitliliğe olan seçiciliğini ölçmek için 55 adet yüksek oleik, orta oleik ve linoleik patentli çeşitler oleik asit ile bağlantılı olduğu saptanan FAD2 gen bölgesinden 3 SSR ve 6 İNDEL markırı olmak üzere toplamda 9 markır ile tarama yapılmıştır. Markırların seleksiyon etkinliğini saptamak için tüm örneklerin yağ asitleri bakımından analizi Gas Kromotografi (GC) cihazında yapılarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda 4 yüksek oleik asit karakterini selekte edebilen 4 markır tespit edilmiştir.

Yıl : 2017

Sayfa Sayısı : 45

Anahtar Kelimeler : Ayçiçeği, Oleik asit, MAS

Master's Thesis
Determination of Feature of High Oleic Spesificasion in Sunflower by Using Moleculer Markers
Trakya University Institute of Natural Sciences
Biotechnology and Genetics departmen

ABSTRACT

Sunflower (*Helianthus annuus*), is an oil crop plant belonging to family of *Compositae* (*Asteraceae*) and is the fourth in the world in terms of edible oil. Main sunflower planted areas in the world existing in Black Sea regional countries which has over 60% of world sunflower planted areas and production. Sunflower is growing almost all parts of Turkey due to higher adaptation capability. The amount of vegetable oil produced in Turkey is not enough for our domestic consumption and this existing deficit is increasing year by year. Improving the oil quality is one of alternative options for reducing this oil deficit because higher sunflower oleic type oils which has higher burning point could exist in the domestic market. The selection utilizing with classical breeding methods to develop varieties containing high oleic acid is both hard and low in precision level because it is affected more by biotic and abiotic stress. However, it is possible to obtain faster and more consistent results in plant breeding containing high oleic acid by using biotechnological methods and selections supported by molecular marker (MAS). This biotechnological methods has many advantages including reducing the workers and obtainining more precise results. In this study, the screening has been performed for 9 markers total which are 3 SSR and 6 INDEL markers from the FAD2 gene section that were detected to be related to high oleic acid. All the samples has been compared with analysis in terms of oil acids in gas chromatography device in order to detect if the markers have done the selection correctly or not. As a result of this study, 4 markers which can select the characteristic of high oleic acid were found.

Year : 2017
Number of Pages : 45
Keywords : Sunflower, Oleic acid, MAS

ÖNSÖZ

Dünyadaki tarım alanları sabit kalırken insan nüfusunun artması tarım ürünlerinin yeterlilik derecesini günden güne azaltmaktadır. Ayrıca tarım alanlarının yapılaşma, yol çalışmaları gibi etmenler ile günden güne azaldığı görülmektedir. Azalan tarım alanları ve artar nüfüs nedeniyle tarımsal ürünlerin verimini ve kalitesini arttırmak birinci öncelik olmak zorundadır. Kaliteyi arttırmak ürün açığını azaltması açısından çok önemli bir konudur. Gerek bitki besleme gerekse ürülerin içeriklerinin ıslahı ile bu açığın azaltılması mümkün olmaktadır.

Türkiye'deki ayçiçeği üretimi dünya sıralamasında 8. sırada yer almaktadır. Ancak bu üretim ülkemizin ihtiyacını karşılayamamakta ve gerek ayçiçeği tohumu gerekse ham yağ ithal ederek ülkemize milyonlarca dolar girdi maliyeti oluşmaktadır. Ülkemizde Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde (TTAE) ve bazı bazı özel sektör tohumculuk firmalarında klasik ıslah yöntemlerini kullanarak yüksek oleik asit içerikli bitki ıslahı çalışması yürütmektedir.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında başta Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü olmak üzere ülkemizde yürütülen yüksek oleik asit karakterli bitki ıslahında moleküler yöntemler kullanılmasına destek olmak amacıyla FAD2 gen bölgesinde 9 markır test edilmiştir.

Yüksek lisans tezimin gerçekleşmesinde, bana bilgi ve deneyimleriyle destek olan başta akademik danışmanım ve dünyadaki önemli ayçiçeği uzmanlarından olan Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühensilik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Yalçın KAYA'ya, iki yıl boyunca her türlü desteği sağlayan ve gerek piskolojik gerekse teknik ve teorik destek olarak bu tezi gerçekleştirmemde yardımcı olan Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Doc. Dr. Semra HASANCEBİ'ye, ıslahçılık ve hayata bakış açısıyla her zaman yol göstericim olan Trakya Üniversitesi Mühensilik Fakültesi Genetik ve Biyomühensilik Bölümü Öğretim Üyesi Yar. Doc. Dr. Necmi Beşer'e ve teknik ve materyel destekleri açısından başta Dr Göksel EVCİ olmak üzere tüm Trakya Tarımsa Araştırma Enstitüsü Ayçiçeği Islah Bölümü'ne teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca çalışmalarımızı beraber yürüttüğümüz değerli arkadaşlarım Gülçiçek KILIÇ, Emrah AKPINAR, Z. Çisem

MUTAFÇILAR, Burak TATLISES'e tüm yardımlarından ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca bana maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen ve her daim yanımda olan aileme çok teşekkür eder.

Çağlar ÇOLAK 2017

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 1003-114O971 numaralı proje ile desteklenmiştir. Tüm desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT ii

ÖNSÖZ iii

SİMGELER VE KISALTMALAR viii

ŞEKİLLER LİSTESİ x

BÖLÜM 1 1

1. GİRİŞ 1

1.1. Ayçiçeğinin Dünya ve Türkiye Açısından Önemi 1

1.2. Ayçiçeğinde Verim Ve Kaliteyi Etkilen Etmenler 3

1.3. Türkiyede Ayçiçeğinin Durumu 4

1.4. Ayçiçeğinde Yüksek Oleik Asit 5

1.4.1. Dünyada Orta-Oleik ve Yüksek-Oleik İçerikli Ayçiçeği Yağının Kullanımı: 6

1.4.2. Yüksek-Oleikli Ayçiçeği Yağının Faydaları; 7

1.5. Çevresel Faktörlerin Yağ Oranı ve Kompozisyonuna Etkisi 10

1.6. Moleküler Markırlar ve MAS'ın Avantajları 11

1.6.1. Ülkemizdeki Islah Programlarında Moleküler Markırlara Duyulan İhtiyaç 12

1.7. Yüksek Oleik Asit Geni ve Kalıtımı 12

1.7.1. Yüksek oleik Karakteri İçin Markır Çalışmaları 14

BÖLÜM 2 15

2. MATERYAL ve YÖNTEM 15

2.1. Bitki Materyali 15

2.2. Yağ Asidi Analizleri 16

2.3. Moleküler Analizler 18

2.3.1. DNA İzolasyonu 18

2.3.2. DNA Miktar ve Kalite Tayini 21
2.3.3. Kullanılan Moleküler Markırlar 21
i. PCR 22
ii. (N1-3F)/(N2-1R) Markırı İçin PCR Koşulları 24
iii. SSR (N1-1F)/(N1-1R) Markırı İçin Kullanılan PCR Koşulları 24
iv. SSR Markırı (ORS1180) İçin Kullanılan PCR Koşulları 24
v. Diğer Primerler İçin Kullanılan Ortak PCR Sıcaklıkları 25
3.BULGULAR 26
3.1. Markır Analizleri 26
3.1.1. (N1-3F)/(N2-1R) Markır Çalışmaları; 28
3.1.2. SSR (N1-1F)/(N1-1R) Markır Çalışmaları; 29
3.1.3. SSR ORS832 Markırı Çalışmaları; 29
3.1.4. SSR ORS1180 Markır Çalışmaları; 30
3.1.5. İNDEL F3/R1 Markır Çalışmaları; 31
3.1.6. İNDEL F4/R1 Markır Çalışmaları; 31
3.1.7. İNDEL F4/R2 Markır Çalışmaları; 32
3.1.8. İNDEL F4/R3 Markır Çalışmaları; 33
3.1.9. İNDEL F4/R9 Markır Çalışmaları; 33
BÖLÜM 4 35
4.1. SONUÇLAR VE TARTIŞMA 35
KAYNAKÇA 38
ÖZGEÇMİŞ 44
TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER 45

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cM : Santimorgan

da : Dekar

dk : Dakika

g : Gram

kg : Kilogram

l : litre

M : Molarite

mg : Miligram

ml : Mililitre

µl : Mikrolitre

mm : Milimetre

mM : Milimolar

ng : Nanogram

nmol : Nanomol

rpm : Rounds Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)

s : Saniye

U : Ünite

Volt : Voltaj

% : Yüzde

°C : Santigrat derece

Kısaltmalar

vd. :	ve diğerleri
CTAB :	Cetyl trimethylammonium bromide
DNA :	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP :	Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
EDTA :	Etilendiamin tetraasetik asit
HCl :	Hidroklorik Asit
Helianthus annuus :	Ayçiçeği
$MgCl_2$:	Magnezyum Klorür
NaCl :	Sodyum Klorür
PCR :	Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RNA :	Ribo Nükleik Asit
RNase :	Ribonükleaz
SSR :	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
Taq :	Tag polimeraz
TBE :	Tris-Borat-EDTA Tamponu
TE Tamponu :	Tris-EDTA Tamponu
TÜBİTAK :	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV :	Ultraviole Işığı
MAS :	Markır Destekli Seleksiyon
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
INDEL :	İnsertion/Deletion
NaOCl :	Sodyum Hipoklorit
EtBr :	Etidyum Bromür

TABLO LİSTESİ

TABLO 1.1.1. 2002-2016 YILLARI ARASI TÜRKİYE AYÇİÇEĞİ EKİM ALANI VE ÜRETİM MİKTARLARI (TUİK, 2017) 2

TABLO 2.2.1. KULLANILAN PRİMERLER 22

TABLO 2.2.2. PCR KARIŞIMINDA YER ALAN BİLEŞENLER VE KONSANTRASYONLARI 23

TABLO 2.2.3. (N1-3F)/(N2-1R) MARKIRI PCR KOŞULLARI 24

TABLO 2.2.4. SSR (N1-1F)/(N1-1R) MARKIRI İÇİN KULLANILAN PCR KOŞULLARI 24

TABLO 2.2.5. SSR MARKIRI (ORS1180) İÇİN KULLANILAN PCR KOŞULLARI 25

TABLO 3.1 ÖRNEKLERİN YAĞ ASİDİ İÇERİKLERİYLE MARKIRLARIN KARIŞILAŞTIRILMASI 26

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 2.1. ETİKETLEME VE POLEN İZOLASYONU 16

ŞEKİL 2.2. YAĞ ÇIKARILMA VE ANALİZ İŞLEMLERİ 17

ŞEKİL 2.3. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ BİYOTEKNOLOJİ LABORATUVARI 18

ŞEKİL 2.4. YAPRAK DOKUSUNDAN GENOMİK DNA İZOLASYONU 21

ŞEKİL 3.1. (N1-3F)/(N2-1R) MARKIRI İÇİN JEL GÖRÜNTÜSÜ 29

ŞEKİL 3.2. SSR ORS832 MARKIRI JEL GÖRÜNTÜSÜ 30

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

1.1. Ayçiçeğinin Dünya ve Türkiye Açısından Önemi

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.); Papatyagiller familyasına ait, 2n=34 kromozomlu bir bitkidir. Gen merkezi Kuzey Amerika olan önemli bu bitki dünyadaki tüketilebilir bitkisel yağ üretiminde palm yağı, soya fasulyesi, kanola yağından sonra 4. sıradadır. İlk olarak kuzey amerikadaki yerliler tarafından boya maddesi olarak ve ekmeklere katkı maddesi olarak kullanılmıştır. İspanyol gezginler 1850'lerde Kuzey Amerikadan topladıkarı tohumları önce süs bitkisi olarak yetiştirmişlerdir. Sonra deniz yoluyla İspanya'dan İtalya, Mısır, Afganistan, Çin ve Hindistana kadar yayılmıştır. 18. Yüzyılda Rusya'ya getirilen ayçiçeği ilk kez burada yağ bitkisi olarak kullanılmıştır. Genel olarak her türlü toprak ve çevre koşullarına adapte olması nedeniyle tarıı yaygınlaşmıştır. Ülkemize ilk defa 2. Dünya savaşından sonra 1945-1950'li yıllarda, Bulgaristan'dan gelen vatandaşlarımız ile ülkemize giriş yapmıştır. Ancak yoğun olarak üretilmeye başlanması 1980'li yıllardan sonra ülkemize hibrit çeşitlerin gelmesinden sonra başlamıştır. Dünyada üretilen tüketilebilir bitkisel yağın %12'sini oluşturur (Güzel vd, 2015; Rauf vd, 2017). Ülkemizde yağ bitkileri içerisinde gerek üretim gerekse tüketim açısından birinci sırada yer almaktadır. Genel olarak ülkemizde ve dünyada bitkisel yağ elde etmek için üretilmesinin yanısıra, çerezlik olarak tüketilmesi için de üretimi yapılmaktadır. Dünyada ayçiçeği üreten ülkeler arasında Türkiye, 8. Sıradadır. Türkiye, dünya ayçiçeği üretimine bakıldığında azımsanmıyacak miktarda üretim yapmaktadır.

Ülkemiz ve dünya yağlı tohum üretiminde ayçiçeğinin (*Helianthus annus L.*) önemi oldukça fazladır. Özellikle, 1950'li yıllardan günümüze kadar hızla artan dünya nüfusunun bitkisel yağ ve bitkisel protein ihtiyacını karşılayabilmek için dünyada yüksek bir adaptasyon yeteneğine sahip olan ayçiçeğinin üretiminde hızlı bir artış meydana

gelmiştir. Dünyada ayçiçeği ekim alanı 1955-59 yıllarının ortalaması olarak, 7,4 milyon hektar alan iken, günümüzde yaklaşık olarak iki misli bir artış göstererek 25 milyon hektara ulaşmıştır. Aynı süre içerisinde dünya ayçiçeği üretimi ise yaklaşık olarak 3,9 misli bir artış göstererek 40 milyon tonu geçmiştir. Ayçiçeği üretiminde en hızlı artışlar Arjantin, Çin, Hindistan, Fransa, ABD, İspanya, Bulgaristan ve Türkiye gibi ülkelerde gerçekleşmiştir. Ayçiçeği yağının kaliteli bir bitkisel yağ olmasının yanında, E vitamini açısından da birçok yağ bitkisinden daha zengin olması, ayrıca sahip olduğu tekli ve çoklu doymamış yağ asitleriyle gıda üreticilerinin olduğu kadar endüstriyel alanda da kendisine birçok kullanım alanı bulabilmesi, elde edilen tüm bitkisel organlarının değerlendirilebilmesi ve yağı çıkarıldıktan sonra geri kalan artıktan küspe, sap ve tabla artıklarından ise yakacak maddesi olarak yararlanılması nedeniyle, ekim ve üretim alanlarında gerek ülkemizde, gerekse dünyada son yıllarda bir artış yaşanmaktadır.

Ülkemizde 2002 yılından itibaren dekara verimde ciddi bir artış sözkonusu olmaktadır. 2016 yılında ekim alanı yaklaşık 6 milyon olmuş ve 1,5 milyon ton ayçiçeği tohumu elde edilmiştir. Ancak bu verim artışına rağmen yağ açığı gerek ülkemize gelen sığınmacılar, gerekse nüfüs artış hızımız bu yağ açığını giderek arttırmaktadır.

Tablo 1.1.1. 2002-2016 yılları arası Türkiye ayçiçeği ekim alanı ve üretim miktarları (TUİK, 2017)

Yıl	Ekilen Alan (da)	Üretim (ton)
2002	5.500.000	850.000
2003	5.450.000	800.000
2004	4.800.000	800.000
2005	4.900.000	865.000
2006	5.100.000	1.010.000
2007	4.857.000	770.000
2008	5.100.000	900.387
2009	5.150.000	960.300
2010	5.514.000	1.170.000
2011	5.560.000	1.170.000
2012	5.046.160	1.200.000
2013	5.202.600	1.380.000
2014	5.524.651	1.480.000
2015	5.689.950	1.500.000
2016	6.167.800	1.500.000

Ülkemizde tüketilen bitkisel yağın yaklaşık %60'ını ayçiçeği yağı oluşturmaktadır. Son yıllarda artan nüfus ile orantılı olarak artmayan tarım alanları nedeniyle ayçiçeği yağı ihtiyacı ülkemizde üretilen yağ ile karşılanamamaktadır. Ülkemiz, ayçiçeği üretimi bakımından dünya sıralamasında 8. sırada olsa da, 2014 yılında yaklaşık 556 bin ton ayçiçeği tohumu ayrıca 812 bin ton ayçiçeği yağı ithal etmiştir (Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, 2014).

Bu yağ açığını tarım alanlarının arttırılamaması sebebiyle verimin arttırılması veya yağ kalitesinin geliştirilmesiyle yağ kullanım miktarının düşürülmesi sayesinde azaltılabilir.

1.2. Ayçiçeğinde Verim Ve Kaliteyi Etkilen Etmenler

Ayçiçeğinde tane verimi çevre koşullarından fazla miktarda etkilenen kantitatif bir karakter olup, tane oluşumunda bir çok çevresel faktör ve verim üzerine etkili olmaktadır (Fick vd, 1997). Ayçiçeğinin temel üretim amacı, bitkisel yağ elde etmektir ve ekilen çeşitlerin yağ oranlarının yüksek, birim alandan elde edilecek yağ veriminin fazla miktarda olması en önemli hedeflerdendir. Ancak ülkemizde ayçiçeğinin yağ oranına göre alım yapılmaması ve yağ oranı yüksek ürüne ilave prim verilmemesi sebebiyle çiftçilerin yağ oranı yüksek çeşitler yerine, tane verimi yüksek çeşitlere yönelmesi, ülkemizdeki bitkisel yağ açığının bir diğer temel nedenlerinden biridir.

Edirne koşullarında 2000 ve 2001 yıllarında yapılan çalışmada; tane ve yağ performansına en büyük etkinin, bitki boyu ve bin tane ağırlığı tarafından yapıldığını, yağ oranın da yağ verimini oluşturan iki öğeden biri olması sebebiyle, yağ verimine de yüksek oranda ve direk katkı sağladığını belirlemişlerdir (Yalçın Kaya. vd, 2003). Ancak, ayçiçeğinde önemli verim öğelerinin tane ve yağ verimine üzerine direk ve dolaylı katkıları birlikte incelendiğinde, en önemli katkının, çiçeklenme süresinin negatif yöndeki etkisi, dolayısıyla, çeşit erkenciliği yarattığı görülmüştür.

Ayçiçeği vejetasyon süresi boyunca aşırı kuraklığın yaşandığı 1999 ve 2000 yıllarında yapılan çalışmada tane veriminde verim öğelerinin etkisini belirlemek için Trakya koşullarında 3 farklı lokasyonda yaptıkları araştırmada, en fazla etkinin diğer çalışmadaki gibi bitki boyu tarafından yapıldığını, bu etmenden sonra bin tane ağırlığı, ayçiçeği tablasının çapı, fizyolojik olgunluk aralığı ve hektolitre ağırlığı verime en fazla etki eden etkenler olduğu görülmüştür (Kaya vd, 2003).

1.3. Türkiyede Ayçiçeğinin Durumu

Türkiyede ayçiçeğinin Trakya Bölgesi dışında Konya ve Adana gibi bölgelerde ekilmeye başlanmasıyla artmıştır. Ancak ülkemizde üretilen ayçiçeği iç tüketime yeterli değildir. Son yıllarda ülkemize gelen sığınmacılar ile nüfusumuz artarken zaten ülkemizde olan yağ açığı git gide daha da artmaktadır. Yeni çeşitlerin ülkemize gelmesiyle canavar otu (*Orobanche spp.*) ve mildiyö (*Plasmopara halstedii*) gibi verimi sınırlayıcı ve düşürücü etmenler daha az etkileyerek verimi daha stabil hale getirmişlerdir. Ayrıca orta oleik ve yüksek oleik çeşitlerin ülkemize gelmesi ve kullanımın yaygınlaştırılmaya başlanmasıyla daha sağlıklı ve daha ekonomik çeşitler geliştirilerek yağ açığı az da olsa kapanmaya çalışılmıştır.

Dünyadaki büyüme hızı nüfüs artışının yanında gıda maddelerinin tüketimini de arttırmıştır. Bu gıda maddeleri içinde bitkisel yağlar da yer almaktadır. Ayrıca endistüriyel ölçekte üretilen ürünler bitkisel yağ ihtiyacınnı arttırmış ve yağ açığının artmasını sağlamıştır. Ayrıca biyodizel üretiminde kullanılması yönünden de enerji sektöründe yer bulmuş ve ihtiyaç daha da artmıştır. Bu sayede bitkisel yağlar gıda sektörü, enerji sektörü ve kimyasal sektöründe stretejik bir ürün haline gelmiştir. (Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, 2014).

Ülkemizdeki bitkisel yağ tüketimi bahsedilen ürün gurupları talebi doğrultusunda atış göstermiştir. Ancak tükiye toprakları, iklim yapısi dikkate alındığında, yağlı tohumlu bitklerin üretilmesi açısından yüksek potansiyele sahip olmasının yanında, ekim alanlarının artış gösterdiği yıllarda dahi, ülkemizdeki tüketilen bitkisel yağı karşılayacak oranda üretim gerçekleştirilememektedir. Dolayısıyla artan yağ açığı tihalat yoluyla gidermeye çalışılmaktadır.

Bölgeler açısından bakıldığında farklı iklim koşulları nedeniyle ülkemizde palm yağı ve hindistan cevizi yağı haricinde yağlı tohumlardan ayçiçeği, çiğit, kanola, soya, yerfıstığı, susam, haşhaş, keten ve kenevir başarılı bir şekilde yetiştirilebilmektedir. Bu bitkiler içerisinden tohumunda yüksek oranda yağ barındıran (%38-50) ayçiçeği, ülkemizdeki bitkisel yağ üretiminin yaklaşık %70'lik oranını karşılayan oldukça önemli bir yağ bitkisidir(Kaya vd, 2009).

1.4.Ayçiçeğinde Yüksek Oleik Asit

Yağ, gliserol ile yağ asidinin esterleşmesi sonucu oluşan trigliserit esteridir. Yağın temel yapı taşları yağ asitleridir. Yağ asidi ise karboksil grubu (-COOH) ile sonlanan düz bir hidrokarbon zincirinden oluşur. Bu zincirde yer alan karbon sayısı ve çift bağ sayısı, yağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirler. Karbon atomları arasında çift bağ bulundurmayan veya karbon iskeleti tekli bağlardan kurulu olan yağ asitlerine 'doymuş yağ asitleri' adı verilir. Doymuş yağ asitlerince zengin olan yağlara 'doymuş yağlar' adı verilir. Palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) bitkisel yağlarda bulunan önemli doymuş yağ asitleridir. Karbon atomları arasında bir çift bağ içeren yağ asitlerine 'tekli doymamış', birden fazla çift bağ içeren yağ asitlerine de 'çoklu doymamış yağ asitleri' adı verilir. Doymamış yağ asitlerince zengin olan yağlara da 'doymamış yağlar' adı verilir. Oleik asit (C18:1), linoleik asit (C18:2) ve linolenik asit (C18:3) bitkisel yağlarda bulunan en önemli doymamış yağ asitleridir. Oleik asit omega-9, linoleik asit omega-6 ve linolenik asit omega-3 olarak isimlendirilir (Baydar, 2007).

Türkiye'de en fazla üretilen yağ bitkisi olan ayçiçeğinin tohumları %40-50 arasında yağ içeriğine sahiptir. Ayçiçeği yağında ortalama olarak %70 linoleik asit, %20 oleik asit, %6 palmitik asit ve %4 stearik asit bulunur. ABD'de NuSun ismiyle oleik asidi yüksek (550-700 g/kg) ayçiçeği yağı üreten çeşitler geliştirilmiştir(Kaya vd, 2007). Oleik asit içeriği orta ve yüksek içerikte olan ayçiçeği çeşitlerinin yağından üretilen kızartma ve margarinlerin trans yağ asit miktarları düşük olduğu için daha sağlıklı oldukları saptanmıştır. Ayrıca bu tipteki yağların bozulması daha uzun sürmekte ve raf ömürleri de uzun olmaktadır. Halen Amerika Birleşik Devletleri'nde NuSun tip olarak adlandırılan orta düzeyde oleik tiplerin tarımı, Avrupa'da da yüksek oleik asit içeren çeşitlerin ekimi alanı giderek artmaktadır. Ayçiçeğinde de yağ asitleri biyotik ve abiyotik koşullarından doğrudan etkilenir. Örneğin serin kuzey iklim bölgelerinden sıcak güney iklim bölgelerine doğru gidildikçe yağda linoleik asit oranı düşmekte, oleik asit oranı artmaktadır (Baydar, 2000).

Linoleik asit en fazla aspirde daha sonra da ayçiçeğinde bulunur. Çoklu doymamış yağ asidine sahiptir. Linoleik asit omega-6 olarak ta adlandırılır. İnsan vicudundan üretilmediği için gıda kaynaklarından temin edilmesi gereken bi yağ asididir(Swern,

1979). Oleik asit ise omega 9 olarak ta bilirinir. Oleik ve linoleik dengeyi sağlamak için diyetisyenler tarafından önerilmektedir.

Dünyada geneline bakıldığında linoleik asit içeriği yüksek olan ayçiçeği yağının üretildiğini görülmektedir. Linoleik tipteki ayçiçeği yağında linoleik asit oranı % 60 - 75, oleik asit oranı % 10 - 30 seviyelerindedir. Doymuş yağ asitleri (Palmitik, Stearik, Araşidik gibi) oranı ise % 11 - 12 civarındadır. Kısaca, baskın oranda çoklu-doymamış ve düşük oranda doymuş yağ asidi içerikli bir bitkisel yağ olarak tanımlanabilir. Tadı hafiftir ve yüksek oranda E Vitaminine sahiptir. Salatalarda, yemeklerde, margarin ve shortening uygulamalarında kullanılmaktadır.

Oleik asit ise; ismini aldığı zeytinyağında bulunan, 18 karbonlu, kimyasal yapısındaki karbon ve hidrojenler arasında sadece 1 çift bağ bulunan, tekli doymamış yağ asitidir. Kimyasal formülü $C_{18}H_{34}O_2$'dir. Omega-9 yağ asiti olarak adlandırılmaktadır (Swern, 1979).

1.4.1. Dünyada Orta-Oleik ve Yüksek-Oleik İçerikli Ayçiçeği Yağının Kullanımı:

İnsan sağlığı açısından çok daha sağlıklı olduğu ve kolon kanseri, kötü kollestirol düşürmesi gibi birçok iyi özelliği sayesinde oleik asit içeriği yüksek yağlara talep oluşmuştur. Oleik içeriği yüksek yağlar, standart linoleik içerikli yağlara göre yanma derecesi daha yüksek olduğu için daha uzun süre yanmadan stabil olarak pişirme işlemi yapabilmektedirler. Bu sayede yağın değiştirilmesine gerek kalmadan linoleik yağlara oranla daha çok pişirme işlem yapabilmektedirler (Warner, 2002).

Warner, yaptığı çalışmada, %85 oranında oleik asit içeren ayçiçeği yağı kullanılan patates kızartmalarında, yaklaşık 20 saat süren kızartma süresi sonucunda daha az yanma ve tortuya sahip olmasına karşın, daha çok yüksek aromalı bir kızartma kokusuna sahip olduğunu, ancak oleik asit oranı 60% ve 67% arası içeren ayçiçeği yağının en iyi tadı sağladığını ve ıslahçıların en iyi lezzet için % 67 civarı oleik asit içeren ayçiçeği hibritleri ıslah etmeleri gerektiğini savunmıuştur (Warner, 2002).

Dobarganes kızartma denemelerinde soya, mısır özü gibi birbirinden farklı bitkisel yağları kullanarak yürttükleri çalışmada, en iyi kızarma performansının ve aromanın orta oleik yağ asidi içeren yağlardan elde ettiklerini bildirmişlerdir (Dobarganes vd, 1993).

Cuesta, yağ asidi içeriklerinden yüksek oleik asit içeren yağların linoleik asit içeriği yüksek yağlara göre kızartma yağı olarak daha uzun süre kullanılabildiğini savunmuştur (Cuesta vd, 2001). Bu araştırma sonucunda hazır yemek, restoran, turizm tesisi gibi yerlerde oleik asit içeriği yüksek yağların kolayca yer bulabileceğini göstermiştir.

1.4.2. Yüksek-Oleikli Ayçiçeği Yağının Faydaları;

- Yüksek sıcaklıklarda linoleik yağa oranla daha yüksek stabilite gösterir, raf ömrü daha diğer yağlara oranla daha uzundur.
- Kullanıldığı ürünlerin raf ömrünü arttırarak ekonomik değer kaybını önler.
- Zeytinyağı gibi daha doğal bir koku ve aromaya sahiptir.
- Linoleik asit içerikli yağa oranla optimal kızartma ve pişirme performansı gösterir. Kullanımda tortu ve yanma durumu daha az olduğu için yağın değiştirilme aralığını uzatır.
- Hidrojenasyona ihtiyacı yoktur, trans yağ endişelerini ortadan kaldırır.
- Zeytinyağından daha fazla tekli doymuş yağ içeriğine sahiptir ve sağlık otoriteleri tarafından diyetlerde tavsiye edilir. Önemli kolesterol-düşürücü etkiye sahiptir.
- Doğal bir üründür, transjenik (genleri modifiye edilmiş) bir ürün değildir.
- Fiyatı linoleik asit içerikli yağlara oranla daha yüksektir.

Santalla ve Mascheroni yaptığı çalışmada yüksek oleik asit içeriğine sahip ayçiçeğinin tane yapısının ve yağ asitleri haricinde, diğer kalite özelliklerinin, standart linoleik asit içeren ayçiçeğine benzediğini saptamışlardır (Santalla vd, 2003). Genel olarak kızartma yağı olarak kullanılacak bitkisel yağlar, oleik asit içeriği zengin olan yağlardır. Bu amaçla en fazla zeytinyağı, kanola yağı, yerfıstığı yağı ve oleik asidi yüksek ayçiçeği yağı kullanılmaktadır. Özellikle patates jipsi ve pomfirit üretiminde kızartma yağı olarak bu yağlar kullanılmaktadır. Oleik asidi yüksek olan yağların tutuşma sıcaklıklarının çok yüksek olması ve kızartma kazanlarının dibinde çok az yanık tortusu bırakmaları sebebiyle kızartma kaliteleri çok daha yüksektir. Salata için daha çok omega yağ asitlerince zengin olan ve vinterize edilmiş olan yağlar tercih edilir (Kaya, 2016).

Roche, oleik asitli yağın çok daha sağlıklı olduğu için diyetlerde zeytinyağının kullanılmasını önermiş, bununla beraber yüksek oleik asit içerikli ayçiçeği yağının da oleik asitçe zengin bir kaynak olduğu için diyetlerde çok önemli olduğunu savunmuştur (Roche, 2001).

Oleik asit içeriği yüksek ayçiçeği içeşitlerinin tavuk beslemesinde rasyonlara katıldığında piliçlerin yağ oranını azalttığı ve et kalitesini arttığı saptanmıştır(Ortiz vd, 2006). Başka bir araştırmada ise yüksek ve orta oleik asit içeren ayçiçeği yağının kullanımının insanlarda kollestirol riskini azalttığı, kalp ve damarlarda yağ birikmesinin önüne geçtiğini bellirtmişlerdir (Nicolosi vd, 2004).

Oleik asidi yüksek ayçiçeğinin gerek biyodizel, gerekse lubrikant (makine ve motor yağı) olarak kullanma potansiyeli, diğer yağlı tohumlara göre daha fazladır. Yüksek oleik asit içeren yağların kullanımı daha stabil olmaları ve uygun oksidatif özellikleri sebebiyle Avrupa da giderek artmaktadır (Vannozzi, 2006). Avrupa da oluşan bu yüksek eğilimin yanında, yüksek oleik tipe olan yönelme, Güney Afrika'da ayçiçeğinde gelecekte her bir işyeri için 100 da ayçiçeğinden üretilen biyodizel tüketimi, kimya sektöründeki (oleochemistry) her iki işyeri için de 100 da ayçiçeği alanından hammadde temini sağlayacak şekilde üretim planlamasına yer verilmiştir.

Yağ bitkilerindeki yağ asitlerinin içeriği sabit değildir, yağ asitlerinin sentezi genetik, ekolojik, morfolojik, fizyolojik ve kültürel uygulamalara bağlı olarak değiştiği yürütülen çalışmalarda bildirilmiştir (Baydar, 2007; Baydar vd, 1999; Karaca vd, 2007). Türkiye' de üretilen bazı ayçiçeği çeşitlerinde büyüme koşullarının yağ asidi kompozisyonlarını önemli derecede etkilediği saptanmıştır (Alpaslan vd, 2000).

Ayçiçeği tohumundaki yağ içeriği çalışmasında, tohumun olgunlaşma süresi bazalındığında yağ asitlerinin tohumun olgunlaşma döneminde gidildikçe oleik asit yüksek durumundan olgunlaşmaya doğru linoleik içeriği yüksek konumuna geçmektedir. Steraik ve palmitik asidin ise yıllardan yıllara değişiklik gösterdiği ancak olgunlaşma dönemiyle bi ilgisi olmadığı sonucuna varmışlardır (Baydar vd, 2005). E vitamini yani tokoferol oranının ise çiçeklenmeden sonraki 10. günden itibaren 35. güne kadar azalış gösterdiği daha sonra da artış gösterdiğini saptamışlardır. Ayçiçeği taplasının dışından içe doğru inildikçe tohumlardaki linoleik asit içeriği azalmış, E vitamini içeriği ise artmıştır. Yani en dıştaki tohumlarda E vitamini içeriği fazladır.

1.4.2.1. Oleik Asidin İnsan Sağlığı Açısından Önemi

Temel gıda bileşenlerinin başında gelen yağlar, sadece yüksek enerji kaynağı olmakla kalmayıp, yağda çözünen vitaminleri içerdikleri (A,D,E,K), proteinler ile birleşerek lipoproteinleri oluşturulmaları ve sağlık üzerindeki etkileri sebebiyle oldukça önemlidir (Alçiçek, 2010) .Yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini, yağın çoğunluğunu oluşturan yağ asitlerinin oranları ve içerikleri belirlemektedir (Karaca vd., 2007).

Genel olarak bitkisel yağların yağ asitleri içeriği besin değeri ve kalite özelliklerine doğrudan etkilidir (Zheljazkov vd, 2011). İnsan vicudundan en çok bulunan yağ asidi oleik asittir. İnsanda bulunan yağ asitlerinin yarısını oluşturur (Blake, 2010). Bileşiminde yüksek oleik asit içeriği olan yağların insan sağlığı bakımından birçok faydıdır. Bu yağlar arterioskleroziseyol açmadıkları gibi kanda HDL (iyi huylu kolesterol) yapısına girerek mevcut arterioskleroziseri geriletmektedir (Morlok, 2010).

Yapılan *in vitro ve in vivo* çalışmalarda oleik asidin kanser üzerine etkisi incelenmiş ve göğüs, kolorektal ve prostat kanseri oluşum riskini azalttığı saptanmıştır. Oleik ve linoleik asit miktarı yağın önemli kalite özelliklerinden olan oksidatif stabiliteyi de etkilemektedir. Sağlık, beslenme ve yağ kalitesi açısından yararlarının anlaşılmasından sonra son yıllarda yüksek oleik asit içerikli bitkisel yağların üretimi ve tüketimi öncelikli tercih haline gelmiştir (López-Miranda vd, 2010).

Bitkisel yenebilir yağların kalitesi içerdiği oleik, linoleik, linolenik yağ asitlerinin oranlarıyla ilgilidir (Mohsennia vd, 2012). Oleik asit içeriği yüksek olan yağların raf ömrünün daha uzun olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur. Oleik asit içeriği yüksek yağlar yüksek sıcaklıklarda linoleik yağa oranla daha yüksek stabilite gösterdiği için daha çok tercih edilmektedir (Barkley vd, 2011; Petros vd, 2009).

Bu yüzden son yıllarda yağların oksidasyon ve termal kararlılıklarını artırmak için linoleik asit miktarı azaltılmış, oleik asit miktarı artırılmış yağların piyasada yer alması sağlanmıştır (Salem vd, 2012).

Yağ bitkilerindeki yağ asitleri kompozisyonu değişkendir. Biyotik ve abiyotik koşullardan çok çabuk etkilenmektedir. Bu sebeple bitkisel yağlarda yağ asit

kompzisyonlarının hangi koşıllarda nasıl bir oranda oluşacağının bilinmesi yağ kalitesi bakımından oldukça önemlidir (Karaca, 2012).

1.4.2.2. Oleik Asidin Endistüriel Alanda Kullanımı

Oleik asidin başka bir ismi de Oktadekanoik asittir. Yağ esterleri gurubuna mensuptur ve en önemli endüstirel kullanımı olan yağlardandır. Sabun ve deterjan sanayiinde kullanılan en önemli yağ asidindendir. Sabunlaşmayı basitçe anlatıcak olursak yağ asidinin kostikle sabunlaşması ve tuzla çökeltilip elde edilmesi olarak indrgeyebiliriz. Oleik asit + NaOH > sodyum oleat (sabun) + gliserol

Oleik asit sadece sabun yapımında olamayıp şu alanlarda da kullanılır;

- Cila üretiminde
- Deri sanainde, deri tabaklama işlemi sırasında
- Tekstil sanainde
- Seramik endistürisinde
- Kağıt endistürisinde
- Mürekkep endistürisinde ve birçok farklı alanda çok önemli bir yağ asididir.

1.5. Çevresel Faktörlerin Yağ Oranı ve Kompozisyonuna Etkisi

Yağlı tohumların yetiştirilmesi sırasında çevre faktörlerinden biri olan sıcaklık faktörünün yağ asitleri (özellikle oleik ve linoleik asit) oranını etkilediğine dair birçok araştırma yapılmıştır. Ayçiçeği bitkisinin yetiştirilmesi sırasında çevre etkisinin ayçiçeği yağı kompozisyonu üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, soğuk iklimde yetiştirilen ayçiçeğindeki linoleik asit oranının %70'lere çıktığını, ılıman ve sıcak iklimlerde yetiştirilen ayçiçeğinde ise bu oranın %30'lara kadar indiğini saptamışlardır. Ayrıca ayçiçeği tohumunun yetiştirilmesi sırasında sıcaklığın 1°C artışı ile oleik asit miktarının %2 oranında arttığını belirlemişlerdir (Demurin vd, 2000). Ayçiçeği ve soya tohumlarının yetiştirilmesi sırasında, sıcaklık ve CO_2 etkisinin araştırıldığı iki ayrı çalışmada sıcaklık artışının oleik asit miktarlarını arttırdığı, linoleik asit oranlarını ise azalttığı belirtilmiştir (DaMatta vd, 2010; Kaya Y. vd, 2012).

Yüksek oleik asit içeren ayçiçeği yağının yüksek sıcaklıklarda stabilitesini artıran en önemli etken içerdiği tokoferollerdir . (Tarrago-Trani vd, 2006)Tokoferollerin içeriğini genotip ve çevre şartları etkilemektedir (Zheljazkov vd., 2011). Tokoferollerin toplam tokoferollerin %95'ini oluşturduğunu belirtmiştir. Ancak gama tokoferol içeren yüksek oleik asitli ayçiçeği yağı alfa tokoferol içeren yüksek oleik asitli ayçiçeği yağından 180°C'de daha fazla aktivite göstermiştir (Warner vd, 2009).

1.6. Moleküler Markırlar ve MAS'ın Avantajları

Moleküler markılar genom içindeki bir veya birden fazla DNA bölgesindeki farklılığı ortaya koyar. Bu farklar eklemeler, silmeler, yerdeğiştirmeler, duplikasyonlar gibi olaylardan meydana gelebilir. DNA tabanlı bu moleküler markırlar fizyoloji, genetik mühendisliği, taksonomi, haritalama gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Polimer zincir reaksiyonun (PCR) bulunmasından sonra DNA markırları kullanrak gen etiketleme, genetik haritalama, tarımsal olarak önemli genlerin saptanması, genetik çeşitliliği belirleme çalışmalarında, filogenetik analizlerde ve markır yardımı ile seleksiyon (MAS) çalışmalarında kolaylık sağlamıştır. Ayçiçeği ıslahında, yağ içeriği ve oranı, hastalık ve zararlı dayanımı, herbisit dayanımı gibi önemli agronomik özellikler bakımından ayçiçeği ıslahında istenilen karaktere sahip genotiplerin elde edilmesinde, moleküler markır yaygın olarak kullanılmaktadır.

MAS amaçlı kullanılan DNA tabanlı markılar çevresel faktörlerden etiklenmez ve her koşulda stabil olup, dokunun nerden alındığı veya yaşam dönemine göre farklılık göstermez. Epistatik ve pleietropik etkilere hassas olmayıp, dominant veya kodominant özellikte olabilirler. Ayrıca kalıtımları basit ilkelere dayanmaktadır. Özellikle çevre koşullarından çok etkilenen ya da fenotipik olarak gözlenmesi güç karakterlerin seleksiyonunu önemli ölçüde kolaylaştırmaktadır. Ayrıca farklı karakterdeki genlerin bir bitkiye eş zamanlı olarak aktarılmasında, gen pramitlemesinde, resesif gen seleksiyonu gibi durumlarda da kullanılmaktadır. Çeşit belirleme çalışmalarında oldukça önemli durumdadır.

1.6.1. Ülkemizdeki Islah Programlarında Moleküler Markırlara Duyulan İhtiyaç

Ülkemizin başlıca ekonomi kaynaklarından biri olan tarımın, tohumluk ihtiyacının özellikle sebze ve hibrit tohumluk üretiminde dışa bağımlılığını kaldırmak için ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Ancak bu ıslah çalışmaları klasik yöntemler uygulandığında uzun yıllar sürmekte ve uzun yıllar sürmesine rağmen efektif bir sonuca varılamamaktadır. Gerek ıslah edilecek bitkilerin seleksiyonu, gerekse ıslahta kullanılacak ara ıslah materyalinin oluşturulmasında moleküler markır destekli seleksiyon uygulanmalı ve ülkemizin kendi çeşitlerini üretebilir konuma gelmesi sağlanmalıdır. Tarımsal biyoteknoloji kullanılarak çeşit geliştirme çalışmaları ülkemizde de başlanmış ancak gerekli seviyeye ulaşamamıştır. Ülkemizdeki ıslahçıların yurtdışındaki uzun yıllar bitkisel ıslah çalışmaları yapan özel sektör veya devletler ile yarışabilir konuma gelmesi için zaman, işgücü ve seleksiyonda yüksek oranda başarı sağlayan moleküler markır destekli seleksiyon konusunda eğitim ve proje destekleri arttırılmadır (Kaya, 2014).

1.7. Yüksek Oleik Asit Geni ve Kalıtımı

Normal tip ayçiçeği %70 ve üzerinde linoleik yağ asidi içerir. Ancak Soldatov (Soldatov, 1976) 1976 da yaptığı araştırmada VNIMK 8931 çeşidine %0,5 oranında Etil Metan Sülfonat (EMS) uygulaması ile M3 generasyonunda %70'in üzerinde oleik asit içeren bireyler saptamıştır. 1976'da bu bitkilerin içinden %80-90 oranında oleik asit içeren bireyleri toplamış ve bunlara pervenentler adını vermiştir. Bu pervenetler çeşidinden birçok çeşit geliştirilmiştir (Andrich vd, 1992). Şuanda piyasada olan tüm yüksek oleik ve orta oleik çeşitlerin kökeni perventlere dayanır.

Ol geni kimyasal yolla elde edilmiş tam dominant olmayan bir mutasyondur. Oleik asidi büyük miktarda arttırır. Bunu tohuma özgü olan oeoyl-fosfatidil kolin desaturazın (FAD2-1) expresiyonunun azaltılmasıyla ilişkilendirilir. FAD2-1 yüksek oleik içeren mutant ırklarda duplike olmuştur ve *Ol* ile birlikte döllere aktarılır. Oleik tip ayçiçeği 3 sınıfa ayrılmıştır bunlar; düşük oleik asit(%10-29), orta oleik asit(%30-59), yüksek oleik asit (%60-90) olarak sınıflandırılmıştır(Pacureanu-Joita vd, 2005).

FAD2 geni oleik asitten linoleik asit sentezinden sorumludur. Üç FAD2 geni (FAD2-1, FAD2-2, FAD2-3) ayçiçeğinde bulunmuştur. FAD2-1 tohuma özeldir ve gelişen tohumlarda çok miktarda görülebilir ancak FAD2-2 ve FAD2-3 gelişen tohumlarda az miktarda görülür. FAD2 geni gelişen tohumda yüksek miktarda bulunan oleik asidi linoleik aside çevirerek oleik asit miktarının azaltılmasında görevlidir. Ancak duplike olan FAD2 gen bölgesi oleik asidi linoleik aside çeviremez ve yüksek oleik asit içeren bitkler meydana gelir. (Martínez-Rivas vd, 2001).

Hem standart hem de oleik genotiplerde FAD2-1 dizisini içerir. Bununla birlikte yüksek oleik genotiplerde ise ortak FAD2-1 dizisini ve kesilmiş FAD2-1 dizisini ayıran intergenik bölge (IGR) FAD2-1D olarak adlandırlan çoğaltılan diziyi oluşturan inton ve egzonlardır. Bu FAD2-1 dublikasyonu *Ol* mutasyonu olarak adlandırılmıştır (Schuppert vd, 2006).

Yüksek oleik asit içeren pervenentlerin kimyasal mutasyon ile bulunmasının ardından yüksek oleik asit karakterli birçok çeşit geliştirildi (Soldatov, 1976). Bukadar çok çeşit geliştirme çalışmalarına rağmen oleik asit karakterinin aktarılmasında hala yaygın olarak pervenentler kullanılmaktadır (Alberio vd, 2016; Andrich vd., 1992; Cvejić vd, 2016; Fernandez-Martinez vd, 1989; Leon vd, 2011; Osorio vd, 1995; Škorić, 2007).

Ferfuia ve Vanozzi, 2015 yılında yaptığı çalışmada yüksek oleik kalıtımının en az 3 gen bölgesinden etkilendiğini ve yülsek oleik asit kalıtımı üzerinde önemli bir maternal etki bıraktıklarını savunmuştur (Ferfuia vd, 2015). Aynı zamanda yüksek oleik asit karakterinin çok karmaşık olduğu için oleik asidi kontrol eden genetik sistemin daha iyi anlaşılabilmesi için farklı ayçiçeği genotiplerinde ve farklı yetiştirme koşullarında daha ileri testler ile incelenmesi gerektiğini savunmuşlardır.

Moleküler seviyede bakıldığında pervenentlerdeki oleik asit karakterinin FAD2-1 geninin susturulmasına neden olan FAD2-1 allelerinin çoğaltılmasından kaynaklandığını savunmuşlardır (Lacombe vd, 2001). Bu nedenle hem standart hemde yüksek oleik asit içeren genotipler FAD2-1 alleleri içerir. Bununla beraber yüksek oleik asit içeren genotipte ortak FAD2-1 dizilimini ve FAD2-1D (Lacombe vd., 2001) olarak adlandırılan çoğaltılmış diziyi oluşturan kesilmiş intron ve egzon bölgesini ayıran intergenik bölgenin (IGR) bir eklemesi vardır. Bu FAD2-1 çoğaltılması *Ol* mutasyonu olarak adlandırılır.

1.7.1. Yüksek oleik Karakteri İçin Markır Çalışmaları

Hem standart hem de oleik genotiplerde FAD2-1 dizisini içerir. Ancak oleik genotiplerde ise ortak FAD2-1 dizisini ve FAD2-1 dizisini ayıran intergenik bölge (IGR) FAD2-1D olarak adlandırlan çoğaltılan diziyi oluşturan inton ve egzonlar vardır. Bu FAD2-1 dublikasyonu *ol* mutasyonu olarak adlandırılmıştır (Schuppert vd., 2006).

2017 yılında *Ol* mutasyonun FAD2-1 gen bölgesinin susturulmasıyla meydana geldiğini savunmuş ve bu konu hakkında N1-F3/N1-3R İNDEL markırını oleik, mid oleik ve linoleik çeşitlerde çalışmış ve bu markırın oleik asidi selekte edebilen bir DNA fragmenti oluşturduğu sonucuna varmıştır (Tilak vd, 2017).

2008 yılında oleik asit özelliğini saptamak amacıyla 37 SSR markırı taramış ve 10 tanesinin oleik asit karakterini seçebilen selektif bir DNA fragmenti oluşturduğu sonucunu bildirmiştir (Ebrahimi vd, 2008).

2017 yılında daha önce kullandığı ve selektif bir bant verebilen F4-R1 İNDEL markırını F2 generasyonunda çalışmaya devam etmiş ve F4-R1 markırının kullanımının oleik asit karakterini seçebilen selektif bir DNA bant profili oluşturduğunu bildirmiştir (Dimitrijević vd, 2017).

2016 yılında yaptığı çalışmada yüksek olik ve linoleik karakterdeki bitkiyi ayırabilen markır belirlediğini bildirmiştir. Yüksek oleik asit içeren bitkinin *Ol* gen bölgesinde 16 TTA nükleotit tekrarı olduğunu, linoleik asit içeren bitkide ise 17 TTA nükleotit tekrarı olduğunu bildirmiştir (Bilgen vd, 2016).

Farklı araştırmacılar ayçiçeğinde yüksek oleik asit markırını saptamak için çalışmışlardır. Ancak elde edilen yöntemler ve sonuçlara bakıldığında farklı genotiplerde farklı sonuçlar elde edildiği ve daha fazla doğrulama için genetik popülasyonun genişlenilerek taranması gerektiğini savunmuşlardır.(Nagarathna vd, 2011),(Dimitrijević vd., 2017; Singchai vd, 2013).

BÖLÜM 2

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Bitki Materyali

Tez çalışmasına Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünce ortak geliştirilen ebeveyne anne hattı yüksek oleik asit karaktere sahip baba hattı linoleik karaktere sahip ayçiçeği hatlarının melezlenmesi ile elde edilmiş F3 kademesindeki 40 adet bitki kullanılmıştır. Ayrıca kullanılacak markırların piyasadaki yüksek oleik, orta oleik ve linoleik karakterdeki bireyleri selekte edebilme kabiliyetini saptamak için, piyasadaki çeşitlerden yüksek oleik, orta oleik ve linoleik karakterdeki 55 adet tescilli çeşitler de yapılan çalışmaya ilave edilmiştir.

F3 kademedeki tohumlar ve kullanılcak çeşitler tarlaya ekilmiştir ve Şekil 2.1. de gösterildiği gibi 3-4 yapraklı dönemde iken etiketleme yapılıp 2 ml lik tüplere 200 mg olacak şekilde yaprak örneği alınmış ve bu örnekler etiketleme yapılıp hızlıca -20'ye alınmıştır. Ayrıca etiketleme yapılmış bireyler dışardan toz almaması ve etkilenmemesi için çiçeklenmeden önce ayçiçeği kafalarına bez torba geçirerek kendine döllenmesi sağlanmıştır. (Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. Etiketleme ve polen izolasyonu

2.2. Yağ Asidi Analizleri

Tez de kullanılan tüm bitki materyalinde MAS sonuçlarının doğruluğunun karşılaştırılabilir olması için yağ analizi yapılmıştır. Yağ analizi, Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü labaratuvarında bulunan Agilent 6850 marka gaz kromotografi cihazında HT-88 tipi kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece kullanılan bitki materyalinin oleik, linoleik, steraik ve palmitik olmak üzere 4 yağ asidi açısından içeriği saptanmıştır (Şekil 2.2.).

Yağ asidi analizleri için daha önce örnek alınınan ve polen izolasyanu yapılan bitkilerden 5 er gr tohum alınarak şekil 2.2.'da gösterildiği gibi hidrolik destekli soğuk preste yağı çıkarılmıştır.

Yağı çıkarılan örneklerden 2 damla yağ 13ml'lik şişeye koyulmuş ve üzerine 10 ml methanol ve 0,5 ml (2 mol) metanollü KOH ilave edilmiştir. Daha sonra 2-3 dk vorteksi ile iyice karıştırıldıktan sonra en az 1 saat olmak üzere oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerin üst tarafından yavaşça ve dikkatlice 2 ml yağ alınıp 2ml'lik GC için özel tüplere alınmıştır ve ardından GC cihazına yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Yağ çıkarılma ve analiz işlemleri

2.3.Moleküler Analizler

Tez çalışması kapsamında yapılan moleküler analizler Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesindeki Genetik ve Biyomühendislik Bölümünün Biyoteknoloji Labaravuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı

2.3.1. DNA İzolasyonu

Soğuk preste yağı çıkarıldıktan sonra GC'de yağ analizi yapılan materyallerin ilk yapraklarından, örnek başına 150-200 mg bitki dokusu 2ml'lik tüplerin içerisine alınmıştır. Örnekler tüplere alındıktan sonra -196°C'lik sıvı azot içerisinde dondurulmuş ve ardından -20°C'de DNA izolasyon işlemine kadar muhafaza edilmiştir.

Yaprak örneklerinin DNA'ları aşağıda detayları verilen Doyle&Doyle'un(Imerovski vd, 2014) CTAB yöntemleri modifiye edilerek izole edilmiştir (Şekil 2.4.).

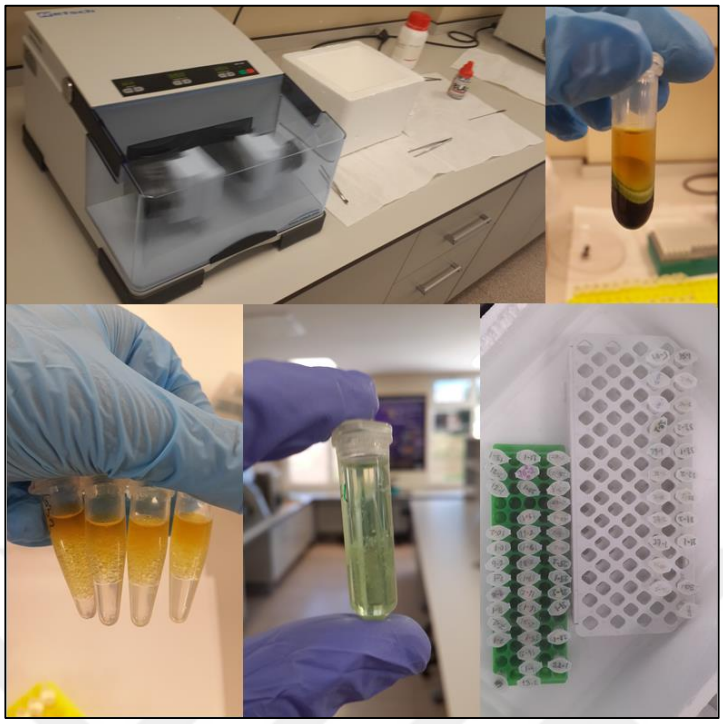
1) Daha önceden 2 ml lik tüpler içine alınmış 200 mg lık örnekler -20ºC den çıkarılıp sıvı azot içine daldırılmıştır ve bu sayede dokuların iyice donması sağlanmıştır. Daha sonra tüpler 10mg PVP ve 2 adet metal bilya ilave edilip doku parçalayıcı

(RETSCH MM400) de 90 sn, 30 devir/sn parçalanmıştır. İşlem iki kez tekrarlanmıştır.

2) Parçalanan dokular üzerine; 750µl 65 ºC ye ısıtılmış ve kullanım öncesi %0,02 β-mercaptoethanol ilave edilen CTAB solüsyonu (%2 CTAB, 20mM EDTA, 100mM Tris, 1,4M NaCl, pH:8,1) eklenmiştir.
3) CTAB solüsyonu eklenen örnekler 65 ºC de 25 dk 500 devir ısıtıcılı çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.
4) İnkübasyon sonrası örnekler oda sıcaklığına soğulup üzerine 750 µ l fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) ilave edilerek ve 20-25 defa ters-yüz edilerek karıştırılmıştır.
5) Örnekler 13000rpm'de ve oda sıcaklığında olacak şekilde 15 dakika santrifüj edilmiştir.
6) Santrifüjden sonra oluşan üst faz (süpernatant) yeni 1,5ml'lik tüplere alınmış ve üzerine oda sıcaklığında 750 µl kloroform ilave edilmiş ve iyice ters-yüz edilerek karıştırılmıştır.
7) İyice karıştırılan örnekler 13000 rpm de 15 dk santrüfüj edilir.
8) Santrifüj sonrası oluşan üst faz tekrar yeni 1,5ml'lik tüplere alınmış ve alınan hacmin 0,5 katı oda sıcaklığında 5M NaCl ve 2 katı -20°C'de soğutulmuş %99,8 Etanol ilave edilerek 5-10 defa ters-düz edilmiştir.
9) Ters-yüz edilen örnekler 4 ºC de 15-20 dk inkübe edilmiştir.
10) Örnekler soğutmalı santrifüjde 13000rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek DNA pelletlerinin dibe çökmesi sağlanmıştır.
11) Santrifüj sonrası üst sıvı atılmış ve 1ml %75 etanol ilave edilerek pelletlerin serbest hale geçmeleri sağlanmıştır.
12) Daha sonra 13000rpm de 5 dk santrifüj yapılmış ve üst sıvı tekrar atılarak DNA pelletleri kurumaya bırakılmıştır.
13) Kurutulan pelletlere 200µl TE Buffer (10mM Tris, 1mM EDTA, pH:8) eklenmiş ve pelletlerin çözünmeleri sağlanmıştır.
14) Örneklere 2'şer µl RNase A (10mg/ml) ilave edilmiş 37°C'de 30 dakika RNA'ların yıkılması sağlanmış ve ardından 65°C'de 10 dakika enzim inaktivasyonu için bekletilmiştir.

15) İnkübasyon sonrası örneklerin üzerine 300 µl TE ilave dilerek 500 µl ye tammalanmıştır.
16) Örneklerin üzerine 500µl fenol:kloroform:izoamilalkol ilave edilerek 10-15 defa ters-düz edilerek iyice karışması sağlanmıştır.
17) 13000rpm'de 15 dakika santrifüj edililmiştir.
18) Santüfüj sonrası üst faz yeni tüplere alınır ve 1/10 hacim Na-asetat (3M pH:4,8) ve 2 hacim (-20°C'de %99,8) luk ethanol ilave edilir ve iyice ters-yüz edilerek karışması sağlanmıştır.
19) Örnekler -20°C'de 1 saat beklemeye bırakılmıştır..
20) +4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 13000rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
21) Üst sıvı atılmış ve 1ml -20°C'de soğutulmuş %70 Etanol ilave edilerek pelletlerin serbet hale geçmesi sağlanmıştır.
22) Örnekler +4°C de 13000rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
23) Üst sıvı atılarak pelletlerin kurutulması sağlanmıştır.
24) Kurutulan pelletlere 200µl TE ilave edilerek çözündürülmüştür.

Miktar ve kalite tayini yapıldıktan sonra DNA ana stokları olarak, sulandırma işlemine kadar +4 °C'ye, sulandırma işleminden sonra uzun süreli muhafaza için -20°C'ye kaldırılmıştır.



Şekil 2.4. Yaprak dokusundan genomik DNA izolasyonu

2.3.2. DNA Miktar ve Kalite Tayini

DNA miktar ölçümü için OPTİZEN NanoQ Spektrofotometresi kullanılmış örneklerin DNA miktarı ng/µl cinsinden kayda alınmıştır.

DNA kalitesini ve DNA kırıkları olup olmadığını saptayabilmek için agoroz jel elektroforezi yapılmmıştır. Bunun için örnek başına 800ng DNA %0,8 konsantrasyonlu, EtBr (30 µl/L) (Etidyum bromür) içeren jele yüklenmiş ve 120V 80mA akımda 1 saat yürütülmüştür. Elektroforezin ardından jel görüntüleme cihazında UV ışık altında örneklerin DNA kalitesine bakılmıştır.

2.3.3. Kullanılan Moleküler Markırlar

Yapılan çalışmada 3'ü SSR, 6'sı İNDEL olmak üzere 9 markır kullanılmıştır. (Tablo 2.1.)

Tablo 2.2.1. Kullanılan primerler

Primer	Forward 5’ - 3’ Sekans (dizi)	Rewers 5’ - 3’ Sekans (dizi)
ORS832	GTGACATTTTCGGACATCATTATT	TCTCTCTATAACACTCGCTCACACA
ORS1180	TGTCACAACATGGAGCCCTAC	AATTGACTTGTGTTGCCTTCTGT
N1-1F	TTGGAGTTCGGTTTATTTAT	TTAGTAAACGAGCCTGAAC
N1-3F(HO spesifik)	GAGAAGAGGGAGGTGTGAAG	
N2-1R (HO spesifik)		AGCGGTTATGGTGAGGTCAG
HO.F3	GGAGCAAGATGATGAAGGGAAAGGAG	
HO.F4	GTAACGTCTGCGCGCTTGCAGACATCA	
HO.R1		GGTTTTGCATGAGGGACTCGATCGAGTG
HO.R2		CCGATGTCGGACATGACTATC
HO.R3		CCAGAACCAGGACAACAGCCATTGTC
HO.R4		TCAGGTCAAAACGAGCTGTG
HO.R9		GTTTTCCGTCATTGGTTATGG

i. PCR

Her örnek için son reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde PCR bileşenleri hazılanmış ve PCR yapılmıştır. Hazırlanan PCR karışımının içerik ve oranları Tablo 2.2.’ da verilmiştir.

Tablo 2.2.2. PCR karışımında yer alan bileşenler ve konsantrasyonları

	Stok	**Miktar(20 µl)**	**Final Konstantrasyon**
$MgCl_2$	25mM	1,6 µl	2mM
Buffer	10x	2 µl	1x
Taq DNA polimeraz	5 u/ µl	0,2 µl	1u/ µl
dNTPmix	2,5mM	1,6 µl	0,2mM
DNA	30ng/ µl	3 µl	90ng/ µl
Primer Forward	10mM	1 µl	10 pmol
Primer Reverse	10mM	1 µl	10 pmol
BSA	1mg/ml	2 µl	
H2O		7,6 µl	



Şekil 2.5. Çalışmalarda kullanılan PCR cihazı

ii. (N1-3F)/(N2-1R) Markırı İçin PCR Koşulları

(N1-3F)/(N2-1R) markırı ile yapılan PCR için optimize edilen sıcaklık koşulları Tablo 2.3.'de sunulmuştur.

Tablo 2.2.3. (N1-3F)/(N2-1R) Markırı PCR koşulları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü (Cycle)
1	94	5 dk	1
2	94	1 dk	35
3	50	1 dk	
4	72	1 dk	
5	72	10 dk	1

iii. SSR (N1-1F)/(N1-1R) Markırı İçin Kullanılan PCR Koşulları

(N1-1F)/(N1-1R) markırı ile yapılan PCR için optimize edilen sıcaklık koşulları Tablo 2.4.'de sunulmuştur.

Tablo 2.2.4. SSR (N1-1F)/(N1-1R) markırı için kullanılan PCR koşulları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü (Cycle)
1	94	5 dk	1
2	94	1 dk	35
3	48	1 dk	
4	72	1 dk	
5	72	10 dk	1

iv. SSR Markırı (ORS1180) İçin Kullanılan PCR Koşulları

SSR ORS1180 markırı ile yapılan PCR için optimize edilen sıcaklık koşulları Tablo 2.5.'de sunulmuştur.

Tablo 2.2.5. SSR markırı (ORS1180) için kullanılan PCR koşulları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü (Cycle)
1	**95**	**3 dk**	**1**
2	94	30 sn	8 (Her döngüde -1°C)
3	57	1 dk	
4	72	1 dk	
5	94	30 sn	30
6	53	1 dk	
7	72	1 dk	
8	72	10 dk	1

v. Diğer Primerler İçin Kullanılan Ortak PCR Sıcaklıkları

Kullanılan diğer primerler optimizasyon çalışmları sonucunda ortak sıcaklık değer ve döngülerin kullanılan bu primerlerde efektif şekilde çalıştığı saptanmıştır. Bu değerler Tablo 2.6.'da sunulmuştur.

Tablo 2.6. Diğer primerler için kullanılan ortak PCR sıcaklıkları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü (Cycle)
1	**94**	**4 dk**	**1**
2	94	20 sn	11
3	60	45 dk	
4	68	3,5 dk	
5	94	20 sn	24 tekrar (her tekrarda 68 °C ye +10 sn)
6	60	45 sn	
7	68	3,5 dk	
8	68	20 dk	1

BÖLÜM 3

3.BULGULAR

3.1. Markır Analizleri

Tez çalışmasında uygulanan her bir markır için elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde ve elektroforez cihazında 120volt 50ma akımda 60-90 dk yürütülerek görüntüleme alınmıştır. Elde edilen polimorfik bant profilleri GC'den elde edilen yağ asidi sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirlimiştir. Tez çalışmasında kullanılan 3 SSR ve 6 İNDEL markırı PCR yapılmış ve sonuçları değerlendilirmiştir.

Tablo 3.1 Örneklerin Yağ Asidi İçerikleriyle Markırların Karışılaştırılması

Örnek Adı	Yağ Asidi İçeriği	F4/R1 Markırı	F4/R2 Markırı	F4/R3 Markırı
F3-1	orta oleik	663	1259	1782
F3-2	orta oleik	663	1259	1782
F3-3	orta oleik	663	1259	1782
F3-4	orta oleik	663	1259	1782
F3-5	düşük oleik	663	1259	1782
F3-6	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-7	orta oleik	663	1259	1782
F3-8	orta oleik	663	1259	1782
F3-9	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-10	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-11	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-12	orta oleik	663	1259	1782
F3-13	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-14	orta oleik	663	1259	1782
F3-15	orta oleik	663	1259	1782
F3-16	orta oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-17	orta oleik	663	1259	1782
F3-18	orta oleik	663	1259	1782
F3-19	orta oleik	663	1259	1782
F3-20	orta oleik	663	bant yok	bant yok

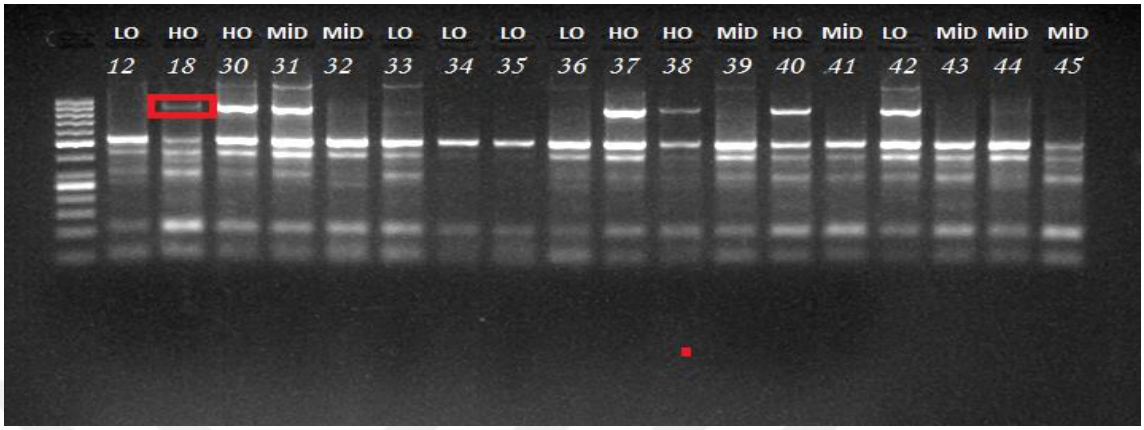
F3-21	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-22	orta oleik	663	1259	1782
F3-23	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-24	orta oleik	663	1259	1782
F3-25	orta oleik	663	bant yok	bant yok
F3-26	düşük oleik	663	bant yok	bant yok
F3-27	orta oleik	663	1259	1782
F3-28	düşük oleik	663	bant yok	bant yok
F3-29	orta oleik	663	bant yok	bant yok
F3-30	orta oleik	663	bant yok	bant yok
F3-31	orta oleik	663	1259	1782
F3-32	orta oleik	663	1259	1782
F3-33	orta oleik	663	1259	1782
F3-34	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-35	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-36	orta oleik	663	1259	1782
F3-37	düşük oleik	663	1259	1782
F3-38	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
F3-39	yüksek oleik	663	1259	1782
F3-40	orta oleik	663	1259	1782
çeşit 1	orta oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 2	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 3	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 4	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 5	orta oleik	663	bant yok	bant yok
çeşit 6	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 7	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 8	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 9	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 10	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 11	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 12	düşük oleik	663	bant yok	bant yok
çeşit 13	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 14	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 15	orta oleik	663	1259	1782
çeşit 16	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 17	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 18	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 19	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 20	yüksek oleik	663	1259	bant yok
çeşit 21	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 22	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 23	yüksek oleik	663	1259	1782

çeşit 24	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 25	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 26	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 27	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 28	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 29	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 30	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 31	düşük oleik	663	1259	1782
çeşit 32	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 33	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 34	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 35	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 36	düşük oleik	663	1259	1782
çeşit 37	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 38	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 39	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 40	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 41	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 42	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 43	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 44	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 45	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 46	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 47	düşük oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 48	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 49	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 50	yüksek oleik	663	1259	1782
çeşit 51	orta oleik	663	1259	bant yok
çeşit 52	orta oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 53	orta oleik	663	1259	1782
çeşit 54	orta oleik	bant yok	bant yok	bant yok
çeşit 55	orta oleik	663	1259	1782

3.1.1. (N1-3F)/(N2-1R) Markır Çalışmaları

Yapılan araştırmalar sonucunda (N1-3F)/(N2-1R) İNDEL markırı ile 40 adet F3 kademesi ve 55 adet piyasadaki yüksek oleik, orta oleik ve linoleik çeşitlerdeki DNA fragmentleri çoğaltılmıştır ve 870 bp boyutundaki bantın selektif bant olduğu saptanmıştır (Şekil 3.1.). Bu 95 adet örnekler Gas Kromotografi cihahızndaki yağ asidi sonuçlarıyla karşılaştırıldığında (N1-3F)/(N2-1R) İNDEL markırının %69 doğruluk düzeyinde

seleksiyon yapabildiği sonucuna varılmıştır. Şekil 3.1.'de gösterilen resimde kırmızı kare içine alınmış olan bölge ayırıcı bandın bulunduğu bölge olmaktadır. Bantın 870 kb boyutundaki varlığı oleik asit karakterinin varlığı olarak görülmektedir.



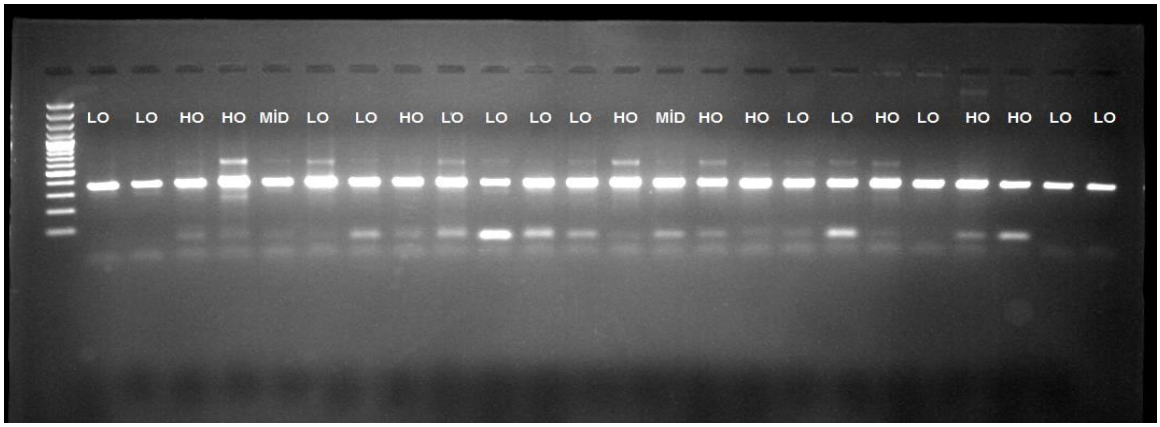
Şekil 3.1. (N1-3F)/(N2-1R) markırı için jel görüntüsü

3.1.2. SSR (N1-1F)/(N1-1R) Markır Çalışmaları

SSR(N1-3F)/(N1-1R) markırı için standart PCR mix içeriği ve sıcaklık/tekrar değerleri bu primerde çalışmamıştır. PCR mix içeriği çeşitli protokollere göre uyarlanmaya çalışılmış ve daha etkin sonuçlar almak için Platinium Taq kullanılmış ve farklı sıcaklık değerleri ile kombine edilmiş ancak buna rağmen başarılı bir sonuç elde edilememiştir. Ayrıca primerde sorun olup olmadığını saptamak için yeni primer sipariş edilmiş ve yine negatif sonuç elde edilmiştir. Sonuç olarak bu primerin aktif ve tekrarlanabilir olmadığı sonucuna varılmıştır.

3.1.3. SSR ORS832 Markırı Çalışmaları

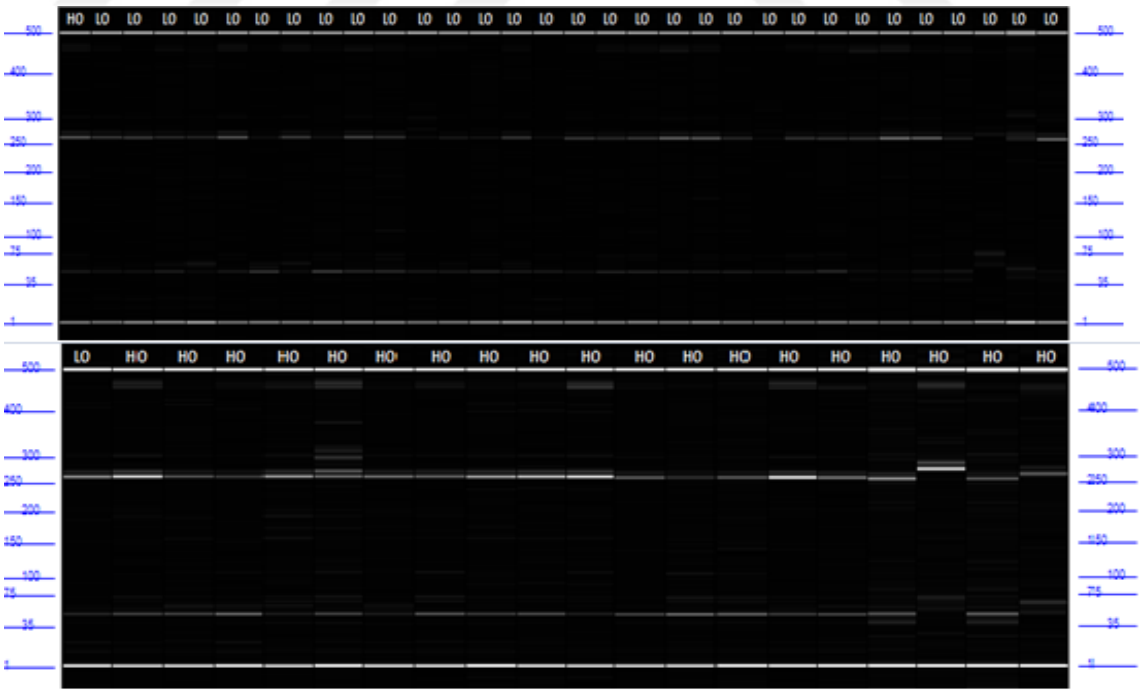
Yapılan çalışmada SSR ORS832 markırı için 40 adet F3 kademesindeki birey ve 55 adet piyasada var olan yüksek oleik, orta oleik ve linoleik çeşitler çalışılmıştır. Ancak örneklerde polimorfizm saptansada bu polimorfizmin Gas Kromotografi cihazından elde edilen yağ asitleri sonucuyla karşılaştırıldığında, anlamlı sonuçlar çıkarmadığı ve selektif bir bant oluşturmadığı sonucunda varılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. SSR ORS832 markırı jel görüntüsü

3.1.4. SSR ORS1180 Markır Çalışmaları

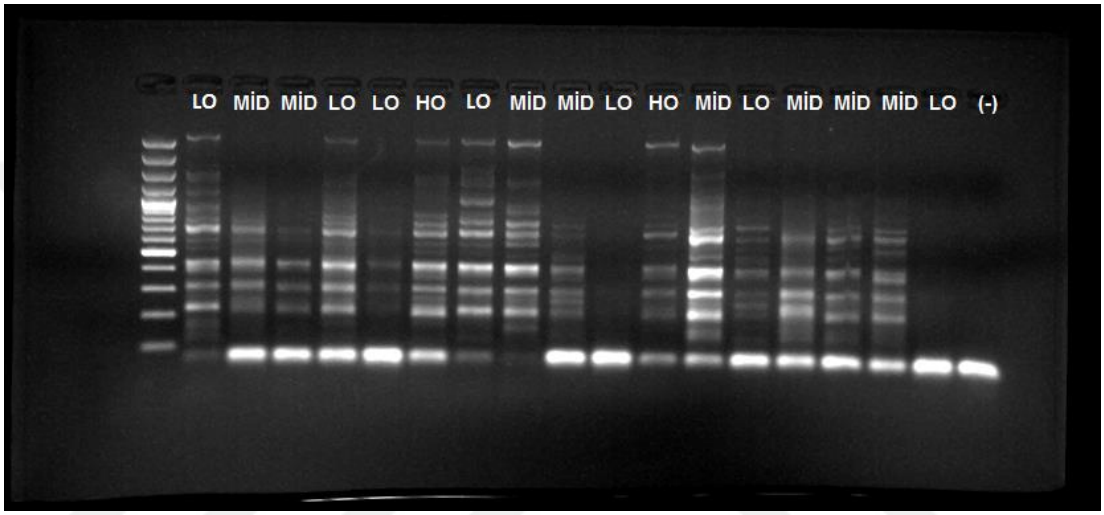
Yapılan çalışmada SSR ORS1180 primeri için 40 adet F3 kademesindeki birey ve 55 adet piyasada var olan yüksek oleik, orta oleik ve linoleik çeşitler çalışılmıştır. ORS1180 primeri bant oluşturmuş ancak Gas kromotografi cihazından elde edilen yağ asidi sonuçları ile karşılaştırılınca, selektif bir bant oluşturmadığı saptanmıştır (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. SSR ORS1180 markırı kapilar elektroforez görüntüsü

3.1.5. İNDEL F3/R1 Markır Çalışmaları

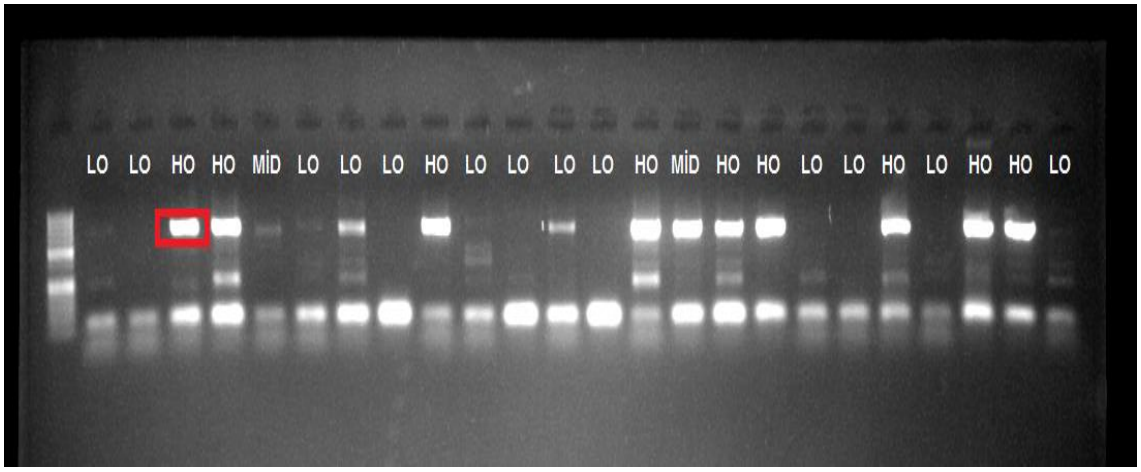
Yapılan çalışmada İNDEL F3/R1 markırı için yapılan optimizasyon çalışmasında yüksek oleik, mid oleik ve linoleik çeşitlerden oluşan 15 adetlik örnek taranmıştır ve Gaz Kromotografi cihazından çıkan yağ asidi sonuçlarıyla karşılaştırıldığında selektif bir bant vermediği saptanmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. İndel R3/F1 markırı jel görüntüsü

3.1.6. İNDEL F4/R1 Markır Çalışmaları

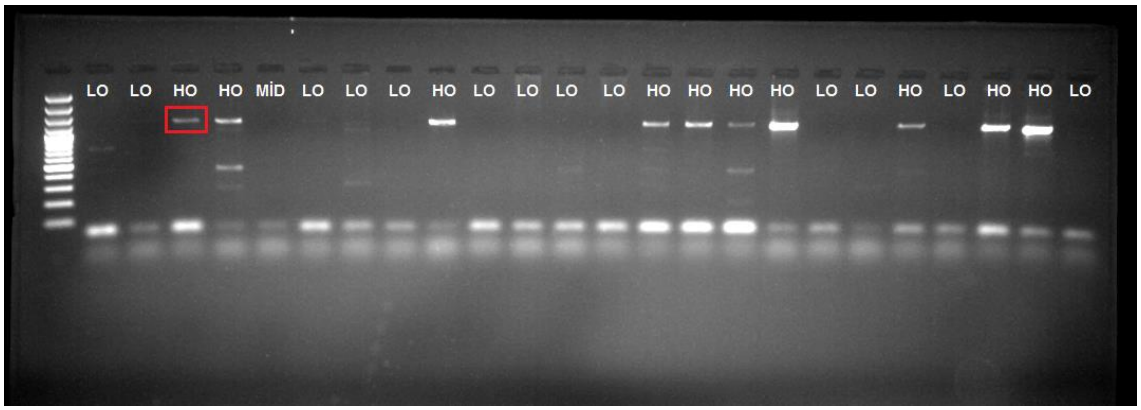
Yapılan çalışmada İNDEL F4/R1 markırı için örnekler çalışılmış ve Gaz Kromotografi cihazından elden edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında 653 bp boyutunda selektif bir bant oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu markır gaz kromotografi cihazındaki sonuçlarla karşılaştırıldığında F3 generasyonundaki 40 adet bitkide 4 adet yanlış seleksiyon yapmış ve toplamda 95 adet örnekte 11 adet yanlış seleksiyon yaparak yaklaşık %89 gibi yüksek bir doğruluk değerinde seleksiyon yapabildiği sonucuna varılmıştır. Ayırdedici bant şekil 3.5.'deki resimde kırmızı renkte kare içine alınmış olan banttır. Bu bandın varlığı yüksek oleik asit içeren karakterin varlığı olarak görülmektedir.



Şekil 3.5. İndel F4/R1 markırı jel görüntüsü

3.1.7. İNDEL F4/R2 Markır Çalışmaları

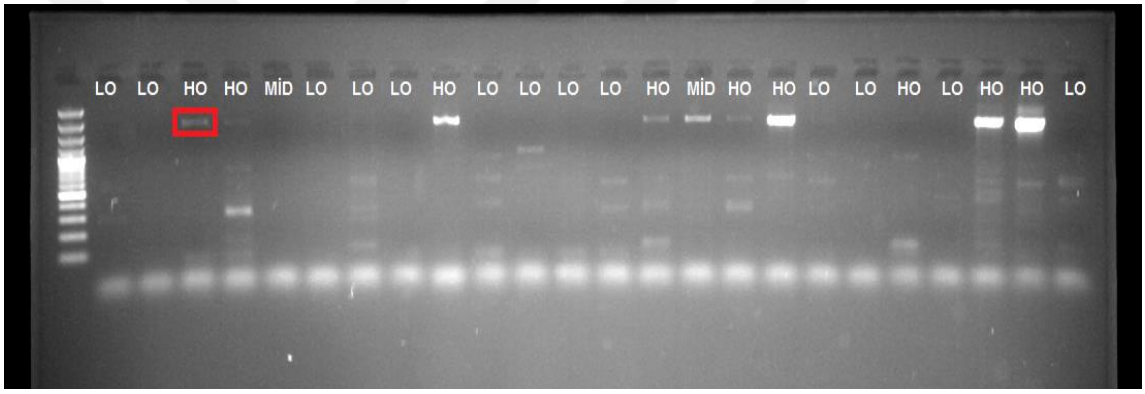
Yapılan çalışmada İNDEL F4/R2 markırı için örnekler çalışılmış ve Gaz Kromotografi cihazından elden edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında 1259 bp boyutunda selektif bir bant oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu markır gaz kromotografi cihazındaki sonuçlarla karşılaştırıldığında F3 generasyonundaki 40 adet örnekte 7 yanlış, toplamda kullanılan 95 örnekte ise 13 yanlış seleksiyon yaparak yaklaşık %87 gibi yüksek bir doğruluk değerinde seleksiyon yapabildiği sonucuna varılmıştır. Ayırdedici bant şekil 3.6.'deki resimde kırmızı renkte kare içine alınmış olan banttır. Bu bandın varlığı yüksek oleik asit içeren karakterin varlığı olarak görülmektedir.



Şekil 3.6. İndel F4/R2 markırı jel görüntüsü

3.1.8. İNDEL F4/R3 Markır Çalışmaları

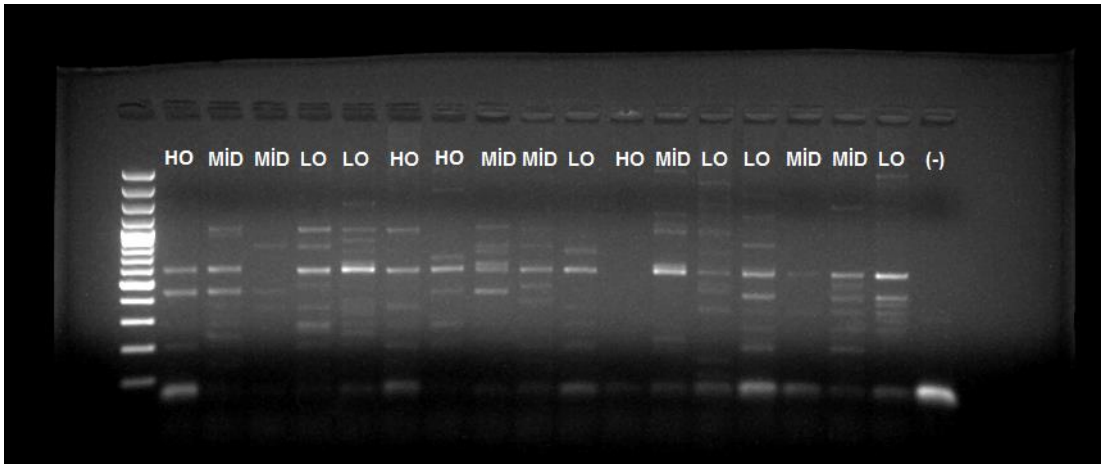
Yapılan çalışmada İNDEL F4/R3 markırı için örnekler çalışılmış ve Gaz Kromotografi cihazından elden edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında 1782 bp boyutunda selektif bir bant oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu markır gaz kromotografi cihazındaki sonuçlarla karşılaştırıldığında F3 generasyonunda 40 adet bitkide 7 yanlış seleksiyon ve toplamada 95 adet adet bitkide 15 yanlış seleksiyon yaparak yaklaşık %86 gibi yüksek bir doğruluk değerinde seleksiyon yapabildiği sonucuna varılmıştır. Ayırdedici bant şekil 3.7.'deki resimde kırmızı renkte kare içine alınmış olan banttır. Bu bandın varlığı yüksek oleik asit içeren karakterin varlığı olarak görülmektedir.



Şekil 3.7. İndel F4/R3 markırı jel görüntüsü

3.1.9. İNDEL F4/R9 Markır Çalışmaları

Yapılan çalışmada İNDEL F4-R9 markırı için optimizasyon çalışmasında çeşitli yüksek oleik, mid oleik ve linoleik 17 birey ile çalışılmış ve Gas Kromotografi cihazından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında selektif bir bant elde edilemediği saptanmıştır (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. İndel F4/R9 markırı jel göntüsü

BÖLÜM 4

4.1. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan tez çalışmasında, yüksek ve düşük oleik yağ asidi içeriğine sahip ayçiçeği genotiplerini birbirinden ayırt edebilecek moleküler markır belirlenmesi üzerine çalışma yapılmıştır. Çalışmada yükek oleik ve düşük oleik bitkibitki melezlerinin F3 kademesindeki 40 adet bireyi ve piyasada bulunan yüksek oleik, orta oleik ve linoleik karakterdeki çeşitlerden 55 adet örnek çalışmada kullanılmıştır. Bu bireylerin 3-4 yapraklı dönemdeyken yaprak dokularından DNA izolasyonu yapılmıştır. Literatürde yağ asidi içerini kontrol eden FAD2 gen bölgesinin haritalanmasında kullanılan 7 markır ve Banu Bilgen'in çalışmasında kullandığı 2 adet markır bu çalışma için seçilmiş ve bu markırlarla çalışma yapılmıştır. Markırların doğru seleksiyon yapıp yapmadığını anlamak için tüm örnekler soğuk preste yağları çıkarılıp GC'de yağ asidi analizleri yapılmıştır. Yağ asidi sonuçları ve bant profilleri eşleştirilerek değerlendirilmiş ve ıslahta seleksiyon amaçlı kullanılabilecek bir markır belirlenmeye çalışılmıştır.

Kullanılan 9 adet markırın 3 tanesinin %80'in üzerinde bir doğruluk derecesinde seleksiyon yapabildiği saptanmıştır. F4/R1, F4/R2 ve F4/R3 markırı oleik asit içeren genotipleri seçme konusunda başarılı bulunmuştur. Ayrıca ((N1-3F)/(N2-1R) markırı da yağ asidi sonuçlarıyla eşleştirilidiğinde %69 doğruluk derecesinde oleik asit içeren karakteri selekte edebildiği ancak bu değerin ıslah için kullanılabilir olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmada kullanılan ORS832, ORS1180, F3/R1 ve F4/R9 markırları stabil şekilde çalıştırılmış ancak yağ asidi sonuçlarıyla eşleştirildiğinde oleik asitli genotipleri selekte etmediği sonucuna varılmıştır. ((N1-3F)/(N1-1R)) markırı ise birçok sıcaklık ve döngü değeri, farklı PCR karışımları ve primerin sağlamlığını kontrol etmek için yeni primer siparişine rağmen aktif ve kullanılabilir bir şekilde çalıştırılamamıştır.

Çalışmadaki sonuçlar %0-29 arası oleik asit içeriğine sahip bireylerin düşük oleik ya da diğer adıyla linoleik, %30-69 arası oleik asit içeriğine sahip bireylerin orta oleik, %70'in

üzerinde oleik asit içeriğine sahip bireylerin ise yüksek oleik asit olarak değerlendirilmiştir.

F4/R1 markırının 653 bp boyutunda bant oluşturduğu ve bu bantın yağ asidi sonuçlarıyla eşleştirlidiğinde F3 generasyonundaki 40 adet örnekte 4 adet yanlış seleksiyon yaptığını ve toplamda 95 örnekte karşılaştırıldığında 11 yanlış seleksiyon yaptığı sonucuna varılmıştır. F4/R1 markırının %89 gibi çok yüksek bir doğruluk derecesinde oleik asit karakterini selekte edebilen bir markır olduğuna varılmıştır. F4/R2 markırı ise 1259 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş ve bu bantın yağ asidi sonuçlarıyla eşleştirildiğinde F3 generasyonundaki 40 adet örnekten 7 yanlış seleksiyon yaptığını ve toplamda 95 adet örnekten ise 13 yanlış seleksiyon yaparak %87 doğruluk derecesinde seleksiyon kabiliyetine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. F4/R3 markırı 1782 bp boyutunda bant oluşturduğu bu bantın yağ asidi sonuçlarıyla eşleştirildiğinde F3 generasyonundaki 40 bitkiden 7 adet yanlış seleksiyon yaptığı ve toplamda 95 örnekte 15 yanlış seleksiyon yaparak %86 doğruluk derecesinde seleksiyon kabiliyetine sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda yüksek ya da orta oleik asit karakterli genotipleri yüksek doğruluk derecesinde ve ıslahta aktif şekilde kullanılabilir olarak selekte edebilen F4/R1, F4/R2 ve F4/R3 adında 3 adet markır bulunmuştur.

Moleküler markır yardımıyla seleksiyon kullanarak biyotik ve abiyotik stres koşullarından oluşan yağ asidi kompozisyonu değişikliği ile daha doğru seleksiyon yapılabilmetedir. Moleküler yöntemde tohumdan değil de fide dönemindeki yaprak dokusundan bitkinin oleik karaktere sahip olup olmadığı anlaşıldığı için bitki yetiştirme, polen izolasyonu gibi işlemler sadece oleik karakterdeki bitkilere yapılarak iş gücü azaltılmış olur. Ayrıca yağ çıkarılırken preste harcanan tohumlar moleküler yöntemde harcanmadığı için oleik karakterdeki popülasyonları daha geniş tutulabilir ve direk o bitkiyi ele aldığı ve tohum yağ çıkarılma işlemindeki gibi tohumlar değil de tek bitki kullanıldığı için o bitkiye spesifik olarak oleik asit içeriği saptanmış olur. Klasik yöntemlerde yağ çıkarılması için azami 5 gr tohum gerekmekte olup tohumlar karışık olduğu için, içerdiği toplam yağ asidi kompozisyonunun ortalaması bulunabilecektir. Bu nedenle moleküler markır yardımıyla seleksiyon oleik asit karakteri için oldukça gerekli

olup, bulduğumuz bu 3 markır ayçiçeği ıslahında oleik asit karakterinin seleksiyonu için yaygın ve etkin biçimde kullanılabilir.

KAYNAKÇA

Alberio, C., ve diğerleri. (2016). A new sunflower high oleic mutation confers stable oil grain fatty acid composition across environments. *European Journal of Agronomy, 73*, 25-33.

Alçiçek, Z. (2010). Farklı Oranlarda Tuzlanarak Sıcak Tütsüleme ve Sıvı Tütsüleme Teknikleri Uygulanmış Alabalık (Oncorhynchus mykiss) Filetolarının Vakum Paketli ve Buzdolabı Koşullarında Depolanmalarının Karşılaşltrılmalı Olarak incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Bilimleri Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye*.

Alpaslan, M., ve diğerleri. (2000). The effects of growing conditions on oil content, fatty acid composition and tocopherol content of some sunflower varieties produced in Turkey. *Molecular Nutrition & Food Research, 44*(6), 434-437.

Andrich, G., ve diğerleri. (1992). *The oleic/linoleic ratio in achenes coming from sunflower lines treated with hard X-rays.* Paper presented at the Proceedings of the 13th International Sunflower Conference. Pisa, Italy.

Barkley, N. A., ve diğerleri. (2011). A real-time PCR genotyping assay to detect FAD2A SNPs in peanuts (Arachis hypogaea L.). *Electronic journal of biotechnology, 14*(1), 9-10.

Baydar, H. (2000). Bitkilerde yağ sentezi, kalitesi ve kaliteyi artırmada ıslahın önemi. *Ekin Dergisi, 11*, 50-57.

Baydar, H. (2007). Yağ bitkileri yetiştiriciliği ve ıslahı, Ders Notu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta*.

Baydar, H., ve diğerleri. (2005). Influence of seed development and seed position on oil, fatty acids and total tocopherol contents in sunflower (Helianthus annuus L.). *Turkish journal of agriculture and forestry, 29*(3), 179-186.

Baydar, H., ve diğerleri. (1999). Yağlı tohumlu bitkilerde yağ asitleri kompozisyonunun bazı morfolojik ve fizyolojik özelliklere ve ekolojik bölgelere göre değişimi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23*(1), 81-86.

Bilgen, B. B., ve diğerleri. (2016). Use of NSSR markers for determination of clonal identity and genetic structure in a pinus brutia ten. clonal seed orchard. *FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*, 3687.

Blake, S. (2010). Understanding Dietary Fats and Oils: A Scientific Guide to their Health Effects. *available online free at: http://www. naturalhealthwizards. com/html/dietary_fats___oils. html*.

Cuesta, C., ve diğerleri. (2001). Fatty acid changes in high oleic acid sunflower oil during successive deep-fat fryings of frozen foods. *Revista de Agaroquimica y Tecnologia de Alimentos, 7*(4), 317-328.

Cvejić, S., ve diğerleri. (2016). *An EMS mutation altering oil quality in sunflower inbred line.* Paper presented at the Proceedings of the 19 th international sunflower conference. ISA, Edirne.

DaMatta, F. M., ve diğerleri. (2010). Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. *Food Research International, 43*(7), 1814-1823.

Demurin, Y., ve diğerleri. (2000). Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil. *Helia, 23*(32), 87-92.

Dimitrijević, A., ve diğerleri. (2017). Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high-and low-oleic sunflower cross. *Crop Breeding and Applied Biotechnology, 17*(3), 235-241.

Dobarganes, M. C., ve diğerleri. (1993). Thermal stability and frying performance of genetically modified sunflower seed (Helianthus annuus L.) oils. *Journal of agricultural and food chemistry, 41*(4), 678-681.

Ebrahimi, A., ve diğerleri. (2008). QTL mapping of seed-quality traits in sunflower recombinant inbred lines under different water regimes. *Genome, 51*(8), 599-615.

Ferfuia, C., ve diğerleri. (2015). Variability of Seed Fatty Acid Composition to Growing Degree-Days in High Oleic Acid Sunflower Genotypes. *Helia, 38*(62), 61-78.

Fernandez-Martinez, J., ve diğerleri. (1989). Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (Helianthus annuus L.). *Euphytica, 41*(1), 39-51.

Fick, G. N., ve diğerleri. (1997). Sunflower breeding. *Sunflower technology and production*(sunflowertechno), 395-439.

Gümrük ve Ticaret Bakanlığı. (2014). *Ayçiçeği Raporu*. Retrieved from

Güzel, M., ve diğerleri. (2015). Yağ Bitkilerinde Oleik Asit: Önemi ve Oluşumunu Belirleyen Etmenler. *2. Ulusal Tarım Kongresi. 29-31 Ekim, Afyon., 199.*

Imerovski, I., ve diğerleri. (2014). Identification and validation of breeder-friendly DNA markers for Plarg gene in sunflower. *Molecular Breeding, 34*(3), 779-788.

Karaca, E., & Aytaç, S. . (2012). Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler. .

Karaca, E., ve diğerleri. (2007). Yağ Bitkilerinde Yağ Asitleri Kompozisyonu Üzerine Etki Eden Faktörler. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(1):123-131*

Kaya, Y. (2014). Sunflower. A. Pratap. (Ed) Alien Gene Transfer in Crop Plants, . *Vol. 2. Springer Press., 281-315.*

Kaya, Y. (2016). Sunflower. Surinder Gupta (Ed.). Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production,. *1st Edition. 570 sayfa. Elseiver Press., 55-88.*

Kaya, Y., ve diğerleri. (2003). Ayçiçeğinde (Helianthus annuus L.) Değişik Verim Öğelerinde Path ve Korelasyon Analizi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 13(1).*

Kaya, Y., ve diğerleri. (2007). Oleik Tip Ayçiçeği Tarımı ve Gelecekteki Yönü. 1. *Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu*, 28-31.

Kaya, Y., ve diğerleri. (2009). Farklı Çevrelerde Ayçiçeğinde Oleik Asit Oranlarının Belirlenmesi. *Türkiye 8. Tarla Bitkileri Kongresi, Hatay 19-22 Ekim, 1: 159-163.*

Kaya Y., ve diğerleri. (2012). Sunflower. S.K. Gupta. (Ed) Technological Innovations in Major World Oil Crops. *Vol. 1. Springer Press., 85-129.*

Lacombe, S., ve diğerleri. (2001). A dominant mutation for high oleic acid content in sunflower (Helianthus annuus L.) seed oil is genetically linked to a single oleate-desaturase RFLP locus. *Molecular Breeding, 8*(2), 129-137.

Leon, A. J., ve diğerleri. (2011). Nucleotide sequences mutated by insertion that encode a truncated oleate desaturase protein, proteins, methods and uses: Google Patents.

López-Miranda, J., ve diğerleri. (2010). Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 20*(4), 284-294.

Martínez-Rivas, J. M., ve diğerleri. (2001). Spatial and temporal regulation of three different microsomal oleate desaturase genes (FAD2) from normal-type and high-oleic varieties of sunflower (Helianthus annuus L.). *Molecular Breeding, 8*(2), 159-168.

Mohsennia, O., ve diğerleri. (2012). Response of safflower seed quality characteristics to different soil fertility systems and irrigation disruption. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3*, 968-976.

Morlok, K. M. (2010). *Food Scientist's Guide to Fats and Oils for Margarine and Spreads Development.* Kansas State University.

Nagarathna, T., ve diğerleri. (2011). Molecular analysis of sunflower (Helianthus annuus L.) genotypes for high oleic acid using microsatellite markers. *Helia, 34*(55), 63-68.

Nicolosi, R. J., ve diğerleri. (2004). Decreased aortic early atherosclerosis and associated risk factors in hypercholesterolemic hamsters fed a high-or mid-oleic acid oil compared to a high-linoleic acid oil. *The Journal of nutritional biochemistry, 15*(9), 540-547.

Ortiz, L. T., ve diğerleri. (2006). Effect of dietary high-oleic acid and conventional sunflower seeds and their refined oils on fatty acid composition of adipose tissue and meat in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences, 15*(1), 83-95.

Osorio, J., ve diğerleri. (1995). Mutant sunflowers with high concentration of saturated fatty acids in the oil. *Crop Science, 35*(3), 739-742.

Pacureanu-Joita, M., ve diğerleri. (2005). Sunflower genotypes with high oleic acid content. *Infection, 40*, 50.

Petros, Y., ve diğerleri. (2009). Developing high oleic acid in Guizotia abyssinica (Lf) Cass. by plant breeding. *Plant breeding, 128*(6), 691-695.

Rauf, S., ve diğerleri. (2017). Progress in modification of sunflower oil to expand its industrial value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Roche, H. M. (2001). Invited Commentary-Olive oil, high-oleic acid sunflower oil and CHD. *British Journal of Nutrition, 85*(1), 3-4.

Salem, E., ve diğerleri. (2012). Implementation of the sunflower seeds in enhancing the nutritional values of cake. *J Appl Sci Res, 8*(5), 2626-2631.

Santalla, E., ve diğerleri. (2003). Note: Physical properties of high oleic sunflower seeds. *Revista de Agaroquimica y Tecnologia de Alimentos, 9*(6), 435-442.

Schuppert, G. F., ve diğerleri. (2006). The sunflower high-oleic mutant Ol carries variable tandem repeats of FAD2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase. *Molecular Breeding, 17*(3), 241-256.

Singchai, A., ve diğerleri. (2013). Evaluation of SSR Markers Associated with High Oleic Acid in Sunflower. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 7*(10), 978-981.

Škorić, D., Jocić, S., Lečić, N., & Sakač, Z. . (2007). Development Of Sunflower Hybrids Whith Differnt Oil Quality/Crecion De Hibridos De Gırasol Con Differente Calidad De Aceite/developpement D'hybrides De Tournesol Avec Une Qualite D'huile Differente. *Helia, 30(47), 205-212.*

Soldatov, K. I. (1976). Chemical mutagenesis in sunflower breeding. *Proc. 7th Int. Sunflower Conf., 27 June - 3 July, Krasnodar, Russia, 352-357.*

Swern, D. (1979). Bailey's industrial oil and fat products. *USA, 1: 29 -30 (*

Tarrago-Trani, M. T., ve diğerleri. (2006). New and existing oils and fats used in products with reduced trans-fatty acid content. *Journal of the American Dietetic Association, 106*(6), 867-880.

Tilak, I., ve diğerleri. (2017). Evaluation of SSR and INDEL markers associated with high and low oleic acid content in sunflower (Helianthus annuus L.) genotypes. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6*(5), 1560-1563.

TUİK. (2017). https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul adresinden

Vannozzi, G. P. (2006). The Perspectives Of Use High Oleic Sunflower For Oleochemistry And Energy Raws/perpectivas En La Utilizacion De Girasol De Alto Contenido Oleico İndustria De Procesamiento Como Materia Prima Para La Produccion De Energia/perspectives De L'utilasation Du Tournesol Haute Teneur Oleique Dans L'industrie De Transformation Et Comme Base De Production D'energie. *Helia, 29(44), 1-24.*

Warner, K., ve diğerleri. (2009). Frying stability of purified mid-oleic sunflower oil triacylglycerols with added pure tocopherols and tocopherol mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *86*(12), 1199.

Warner, K. A. (2002). Optimizing the frying quality, flavor, and stability of sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*.

Yalçın Kaya., ve diğerleri. (2003). Ayçiçeğinde Tane ve Yağ Veriminin Oluşumunda Etkili Verim Öğelerinin Katkı Oranlarının Belirlenmesi. *Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi. 13-17 Ekim, Diyarbakır. 120-125.*

Zheljazkov, V. D., ve diğerleri. (2011). Oil productivity and composition of sunflower as a function of hybrid and planting date. *Industrial crops and products*, *33*(2), 537-543.

ÖZGEÇMİŞ

Çağlar ÇOLAK 1994 yılında Edirne İpsala'da doğdu. İlköğretimini Malakara'nın Sağlamtaş kasabasında, ortaokul ve lise öğretimini Edirne'nin Keşan ilçesinde tamamladı. 2015 yılında Akdeni Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümünden bölüm birincisi olarak mezun oldu. 2015 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında 19. Uluslararası Dünya Ayçiçeği Konferansında organizasyon komitesinde yer aldı.

TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER

Beser, N., C. Colak, Z. C. Mutafcılar, Kaya, Y. 2017. Performance of Some Japonica Hybrid Rice Varieties/ Lines in Turkey. *Proc. of 3. International Plant Breeding Congress.* 15-19 October, Kyrena. Northern Cypruss. 51.

Çolak, Ç., Hasançebi, S., Kaya, Y. 2017. Ayçiçeğinde Yüksek Oleik Yağ Asidi Özelliğinin Moleküler Markırlarla Belirlenmesi. *Trakya Üniversiteler Birliği İkinci Lisansüstü Öğrenci Kongresi* 15-16 Mayıs 2017, Edirne. 32.

Evci, G., I. B. B. Bilgen, V. Pekcan, M. Yilmaz, S. Daneshvar, C. Colak, S. Bulut, Y. Kaya. 2016. MAS selection on oleic type sunflower breeding. *Proc. of 19th International Sunflower Conference,* 29 May - 3rd June, 2016, Edirne, Turkey. 680.

Kaya, Y., C. Colak, V. Pekcan, M. I. Yilmaz, Evci, G. 2017. The Determination of Oleic Acid Contents in Sunflower Hybrids. *8th International Scientific Conference 'Rural Development 2017: Bioeconomy Challenges.* 23-24 November, Kaunas, Lithuania. 49-50