T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI YABANİ AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNİN ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Meryem ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yalçın KAYA

EDİRNE-[2019]

Meryem ŞAHİN'in hazırladığı 'BAZI YABANİ AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNİN ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ' başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda bir Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri **İmza**

Dr Öğr Üyesi Seviye YAVER

Dr Öğr Üyesi Necmi BEŞER

Prof Dr Yalçın KAYA

Tez Savunma Tarihi: 04/09/2019

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yalçın KAYA
Tez Danışmanı

Prof Dr Metin TUNA
İkinci Tez Danışmanı

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI 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.

04 / 09 / 2019

Meryem ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi
BAZI YABANİ AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNİN ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ
Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Ayçiçeği ülkemizin en önemli yağ bitkisidir. Yazlık ekilmesi ve ülkemizde genelde kuru tarım yapılması nedeniyle, bazı yıllarda yaşanan kuraklık vb. abiyotik stres koşullarının yanında orobanş, mildiyö vb. biyotik streslerden de fazlaca etkilenmektedir. Bu nedenler ve son yıllarda artan küresel ısınma nedeniyle de, yeni geliştirilecek ayçiçeği hibritlerinin bu stres koşullarına dayanıklı olması mutlak gereklidir. Bunun yanında, hibrit ıslahında yüksek heterosis elde etmek için ebeveynlerin birbirine genetik uzaklıklarını bilmek son derece yüksek önem arz etmektedir. Ayçiçeği (*Helianthus spp*) cinsinin anavatanı Amerika olup, 37 çok yıllık ve 14 tek yıllık türden oluşmaktadır. Yabani ayçiçeği (*Helianthus spp*) türleri biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı birçok gen kaynağına sahip olup, bu dayanıklılık genlerinin kültürü yapılan ayçiçeğine aktarılmasında sürekli bir dayanıklılık sağlanması için büyük önem arz etmektedir. Bu hedefler doğrultusunda çalışmanın amacı, ülkemiz koşullarında durumlarını belirlemek için yurt dışından getirilen 13 türe ait tek yıllık 70 yabani ayçiçeği (*Helianthus spp.)* elde edilmiş türünün çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile belirleyerek, aksesyonların ploidi düzeylerini ortaya çıkarmaktır. Çalışmada genetik materyal olarak özellikle, başta orobanş olmak üzere, kuraklığa dayanıklılık ve ayçiçeğinde birçok hastalığa dayanıklı genlere sahip tek yıllık yabani ayçiçeği türleri seçilmiştir. Bu genetik materyallerde, daha sonra başta yüksek heterosis eldesi için ebeveynlerin seçimi olmak üzere, ayçiçeğinde

yabanilerle yapılacak diğer çalışmalara temel olması amacıyla, Flow Sitometri yöntemiyle bu yabani türlerin DNA içerikleri ölçülerek ploidi düzeyleri belirlenmiştir.

Araştırma verilerine göre; çekirdek DNA içerikleri arasında değişimlerin ayçiçeği türlerinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, kullanılan ayçiçeği türlerinin ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 6,2 pg/2C (*H. neglectus*) ile 23,6 pg/2C (*H. agrestis)* arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde kromozomları sayılan iki türün de 2n=2X=34 ile diploid oldukları görülmüştür. Çalışmada, doğru ve güvenilir bir yöntemle, dünyada ilk defa yabani ayçiçeği türlerin DNA içerikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, uygun olan yöntem florasan boya, standart ve örnek hazırlama tekniği kullanmak suretiyle, flow sitometri ile yapılmış çekirdek DNA analizi sonucu elde edilmiş çekirdek DNA bilgisi cinsin içerisinde yer alan türlerin taksonomik teşhisi, sınıflandırılması, ploidi analizi, genom yapı, ilişki ve evrimlerinin incelenmesi, ıslah programları ve türler arası melezlerde hibritlerin teşhisinde ve incelenmesinde yararlı olacağı saptanmıştır. Bunun yanında flow sitometri analizinin ıslah ve taksonomik çalışmalarda morfolojik gözlemlerde tespit edilmesi mümkün olmayan tür karışıklıklarının belirlenmesinde ve heterojen yapıda olanların tespitinde kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Yıl : 2019

Sayfa Sayısı : 79

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, çekirdek DNA içeriği, ploidi, flow sitometri

Master's Thesis
DETERMINATION DNA CONTENT OF SOME WILD SUNFLOWER SPECIES
Meryem ŞAHİN
Trakya University Institute Natural Sciences
Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Sunflower is the most important oil crop in Turkey. Because of being spring crop and dry cultivation, it is affected much by biotic stresses such as broomrape, mildew etc. as well as abiotic stress conditions such as drought in some years. Therefore, for these reasons and the increasing global warming recently, the new sunflower hybrids have to resistant to these stress conditions. In addition, it is extremely important to know the genetic distance of parents to obtain high heterosis in hybrid breeding. Sunflower genus (*Helianthus spp*) is originated to America, consists of 37 perennials and 14 annual species. Wild sunflower (*Helianthus spp*) species have many gene sources that are resistant to biotic and abiotic stress conditions, and these resistance genes are of great importance for providing continuous resistance to the cultivated sunflower. Based on these targets, the aim of the study is to determine the ploidy levels of accessories utilizing flow cytometry by measuring the core DNA contents of 70 wild sunflowers (*Helianthus spp.*) obtained from 13 annual species brought from abroad. In this study, annual wild sunflower species which have resistance to many diseases, broomrape and drought were selected as genetic material. In order to be the basis of other studies with wild animals in sunflower, especially the selection of parents for obtaining high heterosis in used genetic materials, ploidi levels of these wild species were determined by Flow Cytometry method.

According to study data; the changes among the core DNA contents of sunflower species were found to be statistically significant. Based on the results obtained in the study, the

average 2C core DNA contents of sunflower species ranged from 6.2 pg /2C (*H. neglectus*) to 23.6 pg /2C (*H. agrestis*). Cytological examinations revealed that these two species were diploid chromosomes with 2n = 2X = 34. The DNA contents of wild sunflowers were determined for the first time in the world by an accurate and reliable method in the study. Consequently, for taxonomic identification, classification, ploid analysis, genome structure, relationship and evolution of the species within the genus, nucleic DNA analysis obtained by flow cytometry using fluorescent dye, standard and sample preparation techniques could be useful for breeding programs and also examining and diagnosing of interspecific hybrids. Besides, it has been demonstrated that flow cytometry analysis could be used in breeding and taxonomic studies to identify mixed wild species that cannot be detected in morphological observations and to identify heterogeneous ones among them.

Year : 2019

Number of Pages : 79

Keywords : Sunflower, determination DNA content, ploidy, flow cytometry

ÖNSÖZ

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), dünyada ve ülkemizdeki en önemli bitkisel yağ kaynaklarından birisidir. Yabani ayçiçeği türleri hem orobanş, hem de birçok hastalık ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık bakımından çok fazla gen kaynağını bünyesinde barındırmaktadır. Yeni çeşit geliştirme çalışmalarında başarıya ulaşabilmek için; ıslah çalışması yapılacak tür veya gen kaynakları hakkında yeterli biyolojik, taksonomik, genetik ve agronomik bilgi birikimine sahip olmak gerekmektedir.

Islah programı başlatılmadan önce uygun stratejilerin belirlenebilmesinde; türün genom yapısı, cins içerisindeki diğer türler ile olan ilişkileriyle geçirdikleri evrimin anlaşılması, taksonomik sınıflandırması ve ploidi düzeyi önemli rol oynamaktadır. Hassas ve güvenilir bir yöntemle elde edilmiş çekirdek DNA içeriği bilgisi, gereksinim duyulan bu konulara ışık tutabilir. Çünkü çekirdek DNA içeriği, aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeden sabit kaldığı gibi bir bitkinin kendi hücreleri arasında da değişmeden sabit kalmaktadır. Bu nedenle de çekirdek DNA içeriği, türlere özel olmaktadır. Türler arasında ise, çekirdek DNA içeriği bakımından farklılıklar gözlenmektedir. Bu tez projesinde; tek yıllık *Helianthus* yabani ayçiçeği türünde çekirdek DNA içerikleri flow sitometri ile ilk defa belirlenerek, aksesyonların ploidi düzeyleri saptanmış ve populasyonlar içerisindeki karışıklıkları ortaya çıkarmak amacıyla bu mevcut yabani türler arasında flow sitometri analizi yapılarak çekirdek DNA içerikleri belirlenmiş ve ploidi düzeyleri saptanmıştır.

Bu yüksek lisans tezinin gerçekleşmesinde, her türlü desteklerini esirgemeyen başta akademik danışmanım ve dünyadaki sayılı ayçiçeği uzmanlarından Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Yalçın Kaya'ya, bir yıl boyunca beraber çalıştığım, sabır ile benden desteklerini esirgemeyen, bilimsel katkılarını ömür boyu unutamayacağım Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Çayır ve Mera Anabilim dalı Başkanı Prof. Dr. Metin Tuna'ya, ayrıca çalışmalarımda bana yardımlarını esirgemeyen Elbi Cansu Yılmaz'a ve Gülru Yücel'e ve Tez çalışmama destek veren Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

DOĞRULUK BEYANI…….…….i
ÖZET…….…...iv
ABSTRACT……...…...… vi
ÖNSÖZ……...…….…...viii
İÇİNDEKİLER……...…….....ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ…….....xi
ÇİZELGELER DİZİNİ …..…….…….....xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ ……..……...….xiv
BÖLÜM 1…….……1
GİRİŞ ..……...……..….1
BÖLÜM 2…….……6
LİTERATÜR ÖZETİ..……...……...…….....6
2.1. Ayçiçeği…...……...……...…....…6
2.2. Flow sitometrinin tarımsal araştırmalarda kullanım alanları…...……..7
2.3.Çekirdek DNA içeriğinin tanımı ve ilgili terimler……...……8
BÖLÜM 3…….……...12
MATERYAL VE METOD……..……12
3.1. Materyal……....12
3.2.Yöntem.……...…….....18
3.2.1.Bitkilerin Yetiştiriciliği…….…….……...…….....18

3.2.2. Flow Sitometri Yöntemi Kullanılarak Çekirdek DNA Analizi (pg)……..19

3.2.3.Flow sitometri ile DNA içeriğinin ölçülmesi ve mutlak değerin hesaplanması……21

3.2.4. Çekirdek DNA İçeriğine Ait Sonuçların İstatistiksel Analizi…..…….....25

3.2.5. Çekirdek DNA İçeriği İle Kromozom Sayısının İlişkilendirilmesi…....….25

BÖLÜM 4…….……..….30

BULGULAR ve TARTIŞMA…….…….30

4.1. Flow sitometri ile Çekirdek DNA Analizi (pg)…….……...……..…….30

4.2. Ayçiçeği Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçerikleri ile Ploidi Düzeylerinin İlişkilendirilmesi ……...…..……54

BÖLÜM 5…….……...59

SONUÇLAR VE ve ÖNERİLER…….……59

KAYNAKLAR...……..…….…..……61

ÖZGEÇMİŞ…….……..…….……64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bp	Baz çifti
da	Dekar
dk	Dakika
gr	Gram
kg	Kilogram
l	litre
M	Molarite
mg	Miligram
Pg	Pikogram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
m	Metre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
sn	Saniye
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
Ort	Ortalama
maks.	Maksimum

min.	Minimum
PI	Propidium İodide
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
USA	Amerika Birleşik Devletleri
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
vd.	ve diğerleri
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Ülkelerin Ayçiçeği Üretimi (Ton)…….……...…..…2

Çizelge 1.2. Ülkemizdeki Yağlık ve Çerezlik Ayçiçeğinin Ekim Alanı (da), Üretimi(ton) ve Verimi (kg/da)…….……..2

Çizelge 1.3. Ülkemizdeki Yağlık ve Çerezlik Ayçiçeğinin Ekim Alanı (da) ve Üretimin (ton) yıllara göre değişimi……..3

Çizelge 1.4. Yıllık Ayçiçeği Üretim Miktarının (ton) illere göre değişimi…..…… ..…....4

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri……..….12

Çizelge 4.1. Bazı Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek DNA Analizi……..30

Çizelge 4.2. Çalışmada incelenen ayçiçeği aksesyonlarının ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri (pg/2C), güven aralıkları ve önem grupları……...…47

Çizelge 4.3. Daha önceki çalışmalarda elde edilen ortalama çekirdek DNA içeriği (2C/pg) ile çalışmada elde ettiğimiz ortalama çekirdek DNA içeriklerinin (2C/pg) karşılaştırılması……57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Viyollere ekimi yapılmış ayçiçeği aksesyonlarının seradaki görünümü…..…19

Şekil 3.2. Saksılara transfer edilmiş ayçiçeği bitkilerinin görünümü……..19

Şekil 3.3. Ayçiçeği aksesyonlarına ait yaprak dokularının jilet yardımı ile parçalanıp, buffer ilavesi, süzme işlemi ve staining solüsyon ilavesinin yapılması……..…21

Şekil 3.4. PI 468415 *Helianthus agrestis ve* standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonları……...…..23

Şekil 3.5. PI 468415 *Helianthus agrestis* ve standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin Flow sitometri paket programı ile analiz edilmiş hali…….……23

Şekil 3.6. PI 468651 *Helianthus argophyllus ve* standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin birbirine göre pozisyonları……...…….24

Şekil 3.7. PI 468651 *Helianthus argophyllus* vestandart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin Flow sitometri paket programı ile analiz edilmiş hali……...24

Şekil 3.8. Ayçiçeği tohumlarının inkübatörde çimlendirilmesi……..……24

Şekil 3.9. Kök uçlarının kesilerek soğuk suyun içerisine konulması……..26

Şekil 3.10. Kök uçlarının 4°C distile su bulunan tüplerde ve 24 saat bekletilmesi…....27

Şekil 3.11. Kök uçlarının cam şişe içerisine farmer çözeltisinin ilavesi…….27

Şekil 3.12. Farmer solüsyonunun kök ucu dokularından uzaklaştırılması……..28

Şekil 3.13. Kök uçlarının enzim solüsyonuna transferi……...……28

Şekil 4.1. Diploid (2n=34), PI 490291 *H.argophyllus'*a ait mitoz kromozomların görünümü…….56

Şekil 4.2. Diploid (2n=34), PI 649865 *H.argophyllus'*a ait mitoz kromozomların görünümü……..……56

Şekil 4.3. Diploid (2n=34), PI 468638 *H.anomalus'*a ait mitoz kromozomların görünümü…….57

Bu tez çalışması; Trakya Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TUBAP 2018 / 42 projesi ile desteklenmiştir.

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), Papatyagiller familyasına ait, 2n=34 kromozomlu, gen merkezi Kuzey Amerika olan önemli bir endüstri bitkisidir. Ülkemizde ve dünyada genelde bitkisel yağ elde etmek amacıyla üretilmektedir. Türkiye ayçiçeği üretiminde dünyada 8. sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1) (Kaya,2015).

Ayçiçeği taneleri yüksek oranda ve kaliteli yağ içermektedir. Ülkemizde geleneksel bir yağ bitkisi olup ilk akla gelen yağlı tohumdur. Yağlı tohumlar bitkiler arasında ekim alanı ve üretim miktarı bakımından ayçiçeği birinci sırada yer almaktadır. Yüksek oranda yağ miktarı içermesi (% 40-50) nedeni ile bitkisel ham yağ üretimi bakımından oldukça önemli olup, bitkisel yağ üretimimizin % 46'lık bir bölümünü karşılamaktadır. Ayçiçeği yağının, doymamış yağ asitleri oranı (% 69) yüksek olduğu için beslenme değeri yüksektir. % 40-45 oranında elde edilen küspesi % 30-40 oranında protein içerdiğinden, hayvan beslenmesinde değerli bir yem olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ayçiçeği yağı, sabun ve boya sanayisinde de değerlendirilmekte, sapları da yakacak olarak kullanılmaktadır (Kaya, Y., Jocic, S., Miladinovic, D., 2012).

Ayçiçeği çekirdeği potasyum ve vitamin E bakımından ve linoleik asit açısından da oldukça zengin olup, bu nedenle kandaki kolesterol seviyesinin düşmesinde yardımcı olmaktadır. Ülkemizde yetiştirilen ayçiçeği çeşitleri, linoleik tip hibrit ayçiçeği çeşitleri olup, ancak tüketici bilincinin yüksek olduğu, dünya bitkisel yağ pazarına hâkim olan ülkelerde, oleik tip bitkisel yağlara olan talep giderek arttığından, oleik tip çeşitlerin payı da giderek artmaktadır (Kaya, 2016).

Çizelge 1.2' de görüldüğü gibi, ülkemizdeki ayçiçeği üretimi yıllara göre değişmekle beraber, yaklaşık olarak 530-650 bin ha alanda yağlık ayçiçeği ekimi yapılmaktadır. Ayçiçeği üretimin % 10' luk bir kısmını ise, çerezlik ayçiçeği oluşturmaktadır. Son yıllarda gerek ayçiçeği ekim alanlarında, gerekse ayçiçeği üretiminde ülkemizde rekorlar kırmış olup (Çizelge 1.3), en fazla ekim alanları Trakya bölgesinde yoğunlaşmış olup, Tekirdağ, Konya, Edirne, Adana ve Kırklareli en fazla ekim alanı ve üretime sahip iller olarak göze çarpmaktadır (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.1: Ülkelerin Ayçiçeği Üretimi, (Faostats, 2016)

ÜLKELER	1961	1970	1980	1990	2000	2010	2015	2016	2016%
Ukrayna					3.457.400	6.771.500	11.181.120	13.626.890	**28,78**
Rusya					3.918.549	5.344.821	9.280.296	11.010.197	**23,26**
Arjantin	585.000	1.140.000	1.650.000	3.900.000	6.069.655	2.232.034	3.158.290	3.000.367	**6,34**
Çin	61.000	70.000	909.700	1.338.736	1.954.141	2.298.000	2.698.113	2.587.422	**5,47**
Romanya	481.400	769.587	800.600	556.242	720.871	1.262.926	1.785.771	2.032.340	**4,29**
Bulgaristan	301.000	406.887	379.950	388.560	425.369	1.536.321	1.699.228	1.873.677	**3,96**
Türkiye	96.700	375.000	750.000	860.000	800.000	1.320.000	1.680.700	1.670.716	**3,53**
Macaristan	109.964	95.509	455.915	683.706	483.649	969.718	1.556.976	1.534.959	**3,24**
ABD	17.000	85.785	1.697.000	1.032.000	1.607.730	1.240.830	1.326.180	1.204.170	**2,54**
Fransa	12.201	56.830	245.400	2.430.000	1.833.082	1.640.837	1.186.913	1.189.832	**2,51**
Diğer Ülkeler	5.152.799	7.046.118	6.767.761	11.516.315	5.279.104	6.836.168	8.815.732	7.614.466	**16,08**
TOPLAM	**6.817.064**	**10.045.716**	**13.656.326**	**22.705.559**	**26.549.550**	**31.453.155**	**4.4369.319**	**4.7345.036**	**100,0**

Çizelge 1.2: Ülkemizdeki Yağlık ve Çerezlik Ayçiçeğinin Ekim Alanı (da), Üretimi (ton) ve Verimi (kg/da), (TÜİK, 2017)

YIL	Ayçiçeği Tohumu (Yağlık)			Ayçiçeği Tohumu (Çerezlik)			Toplam	
	Ekilen Alan (da)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/da)	Ekilen Alan (da)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/da)	Ekilen Alan (da)	Üretim Miktarı (ton)
2004	4.800.000	800.000	167	700.000	100.000	143	5.500.000	900.000
2005	4.900.000	865.000	177	760.000	110.000	145	5.660.000	975.000
2006	5.100.000	1.010.000	198	754.000	108.000	143	5.854.000	1.118.000
2007	4.857.000	770.000	159	689.778	84.407	126	5.546.778	854.407
2008	5.100.000	900.387	177	700.000	91.613	133	5.800.000	992.000
2009	5.150.000	960.300	186	690.000	96.825	140	5.840.000	1.057.125
2010	5.514.000	1.170.000	212	900.000	150.000	167	6.414.000	1.320.000
2011	5.560.000	1.170.000	210	997.000	165.000	166	6.557.000	1.335.000
2012	5.046.160	1.200.000	238	1.000.000	170.000	170	6.046.160	1.370.000
2013	5.202.600	1.380.000	265	895.239	143.000	160	6.097.839	1.523.000
2014	5.524.651	1.480.000	269	1.049.925	157.900	152	6.574.576	1.637.900
2015	5.689.950	1.500.000	264	1.163.224	180.700	155	6.853.174	1.680.700
2016	6.167.800	1.500.000	244	1.033.281	170.716	166	7.201.081	1.670.716
2017	6.813.976	1.800.000	264	982.241	164.385	168	7.796.217	1.964.385

Çizelge 1.3: Ülkemizdeki Yağlık ve Çerezlik Ayçiçeğinin Ekim Alanı (da) ve Üretimin (ton) yıllara göre değişimi**,** (TÜİK, 2017)

YIL	Ekilen Alan (ha)	Üretim (ton)	YIL	Ekilen Alan (ha)	Üretim (ton)	YIL	Ekilen Alan (ha)	Üretim (ton)
1961	117.600	96.700	1981	500.000	575.000	2001	510.000	650.000
1962	81.300	60.000	1982	530.000	600.000	2002	550.000	850.000
1963	94.000	87.000	1983	550.000	715.000	2003	545.000	800.000
1964	160.000	165.000	1984	562.803	710.000	2004	550.000	900.000
1965	160.000	160.000	1985	642.499	800.000	2005	566.000	975.000
1966	218.000	200.000	1986	688.727	940.000	2006	585.400	1.118.000
1967	215.000	230.000	1987	773.937	1.100.000	2007	554.678	854.407
1968	240.000	230.000	1988	749.750	1.150.000	2008	577.958	992.000
1969	285.500	310.000	1989	767.000	1.250.000	2009	583.979	1.057.125
1970	360.000	375.000	1990	714.599	860.000	2010	641.343	1.320.000
1971	396.000	465.000	1991	564.620	800.000	2011	655.700	1.335.000
1972	493.000	560.000	1992	607.588	950.000	2012	605.000	1.370.000
1973	481.000	560.000	1993	596.061	815.000	2013	609.622	1.523.000
1974	425.000	420.000	1994	586.000	740.000	2014	653.323	1.637.900
1975	418.000	488.000	1995	585.000	900.000	2015	685.174	1.680.700
1976	445.000	550.000	1996	575.000	780.000	2016	718.317	1.670.716
1977	373.000	455.000	1997	560.000	900.000	2017*	779.621	1.964.385
1978	415.000	485.000	1998	586.000	860.000	2018**	795.215	2.000.000
1979	445.000	590.000	1999	595.000	950.000	* TÜİK		
1980	575.000	750.000	2000	542.000	800.000	** ZMO Tahmin		

Türkiye'nin ayçiçeği ihtiyacı önemli ölçüde Marmara Bölgesi'nden karşılanmaktadır. Ayçiçeği, özellikle de bu bölgede kuru iklim koşullarında buğday, diğer bölgelerde de sulu koşullarda mısır, şeker pancarı vb. bitkilerle ekim nöbetine girmektedir. Uygulanan fiyat politikaları ve verilen desteklerin yeterli olmaması sebebi ile bu bölgedeki üreticiler, bir yıl ayçiçeği bir yıl buğday ekmek yerine bir yıl ayçiçeği iki

yıl buğday ekerek, ayçiçeği ekilişi ve üretiminde ayçiçeği ekim alanı ve üretiminde önemli dalgalanmalara neden olmaktadır.

Ayçiçeği ekimi bakımından İç Anadolu Bölgesi ikinci sırada yer alırken son yıllarda ayçiçeği ekiminin Çukurova bölgesinde de yaygınlaştığını görülmektedir (Çizelge 1.1.4). Bölgede Şubat- Mart aylarında taban olmayan eğimli arazilerde erken ekilen ayçiçeği, Temmuz ayında hasat edildiğinden sezonun ilk ayçiçeği ürünü olarak alım fiyatları yüksek olmaktadır.

Çizelge 1.4: Yıllık Ayçiçeği Üretim Miktarının (ton) illere göre değişimi, (TÜİK, 2017)

İller	2013		2014		2015		2016		2017	
	Miktar	%	Miktar	%	Miktar	%	Miktar	%	Miktar	%
Tekirdağ	211.671	13,9	260.753	15,92	267.012	15,89	283.838	16,99	368.125	**18,74**
Konya	266.775	17,52	268.751	16,41	217.634	12,95	212.312	12,71	263.008	**13,39**
Edirne	175.857	11,55	258.568	15,79	226.573	13,48	222.064	13,29	244.655	**12,45**
Adana	100.677	6,61	89.565	5,47	134.361	7,99	166.524	9,97	195.225	**9,94**
Kırklareli	146.682	9,63	165.206	10,09	188.998	11,25	170.278	10,19	193.784	**9,86**
Çorum	47.739	3,13	38.297	2,34	53.189	3,16	59.069	3,54	75.157	**3,83**
Tokat	47.096	3,09	33.740	2,06	41.593	2,47	39.306	2,35	41.549	**2,12**
Eskişehir	43.101	2,83	35.520	2,17	29.281	1,74	30.553	1,83	39.993	**2,04**
Samsun	33.018	2,17	27.652	1,69	39.083	2,33	35.546	2,13	38.253	**1,95**
Balıkesir	27.837	1,83	26.483	1,62	30.609	1,82	30.555	1,83	37.923	**1,93**
Bursa	27.471	1,8	30.463	1,86	31.548	1,88	37.764	2,26	37.382	**1,90**
Denizli	37.263	2,45	45.996	2,81	36.144	2,15	32.155	1,92	32.900	**1,67**
Karaman	21.015	1,38	19.632	1,2	20.504	49,3	16.485	0,99	22.979	**1,17**
Kayseri	15.092	0,99	14.035	0,86	19.853	6,8	20.361	1,22	19.676	**1,00**
Diğer İller	321.706	21,14	323.239	19,73	344.318	26,42	313.906	18,78	353.776	**18,00**
TOPLAM	**1.523.000**	**100**	1.637.900	100	1.680.700	**100**	1.670.716	**100**	1.964.385	**100,00**

Gülcü (2016), yapmış olduğu çalışmada, ekim alanlarının genişletilebilmesi için değişik bölge şartlarına adapte olabilen çeşitlerin geliştirilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Bunun yanında hedeflenen amaca ulaşabilmek için oluşturulan ıslah programlarının önemine de değinmiştir. Bir ıslah programının başarılı olabilmesi için, ıslah çalışması

yapılacak tür hakkında yeterli genetik, biyolojik, agronomik ve genetik bilgi birikimine sahip olmak gereklidir.

Yapılan bu çalışma, ayçiçeğinin potansiyel yabani genetik kaynaklarını inceleyip, ileride yapılacak ıslah çalışmalarında ülkemiz ekolojik koşullarındaki performanslarının iyileştirilmesinde, yüksek verimli çeşitlerin geliştirilmesinde faydalı olacaktır.

Bu tezin amacı, tek yıllık *Helianthus* yabani ayçiçeği türlerinde çekirdek DNA içerikleri flow sitometri ile belirlenerek, aksesyonların ploidi düzeylerini saptamak ve populasyonlar içerisindeki karışıklıkları belirlemede kullanmak amacıyla bu mevcut yabani türler arasında flow sitometri analizi yapılarak türler arasında genetik farklılıkları ve uzaklıkları belirlemektir.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Ayçiçeği

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.); Papatyagiller familyasına ait, 2n=34 kromozomlu, gen merkezi olan Kuzey Amerika olan önemli bir yağ bitkisi olup, halen ABD'nin birçok kesiminde yabani olarak gerek kırsal alanda gerek tarlalarda yabani ot olarak yer almaktadır (Kaya, 2015). Ülkemizde ve dünyada genelde bitkisel yağ amaçlı üretiminin yanında çerezlik tüketim amacıyla da üretilmekte, ayrıca kuşyemi olarak kullanımı ve bahçelerde süs bitkisi ve kesme çiçek olarak yoğun şekilde yer almaktadır. Çerezlik ayçiçeğinin tohumları çizgili ve iri olmakla beraber yağlık tiplere göre daha kalın kabuklu olup, daha düşük yağ oranına ve daha iri taneye ve daha yüksek test ağırlığına sahiptir. Yağlık ayçiçeği tipleri ise, genelde siyah renkli ve ince kabuklu olup, genelde yüksek linoleik ve başta oleik olmak üzere diğer yağ asitlerini içermektedirler (Kaya,2015).

Ayçiçeği uzun ve değişik bir tarihçeye sahiptir. Ayçiçeği tarımının ilk yapıldığı yer ve zaman hakkında kesin bir bilgi yoktur. İlk göçler başlamadan önce Kuzey Amerika Kızılderilileri tarafından boya hammaddesi olarak kullanılan ayçiçeği, 1850'li yıllarda İspanyol gezginleri tarafından İspanya'ya getirilmiş ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılmıştır. İlk kez Rusya'da yağ bitkisi olarak üretimi gerçekleşmiş ve bunun ardından tüm Avrupa'ya yayılmıştır. Ayçiçeği ülkemize II. Dünya savaşından sonra 1945-1950li yıllarda, Bulgaristan'dan ülkemize göç eden vatandaşlarımızın getirdiği tohumlar ile girmiş ve üretilmeye başlanmıştır. 1980'li yılardan sonra hibrit çeşitlerin ülkemize

girmesiyle üretim ve ekim alanında artışlar gerçekleşmiş olup, son yıllarda geliştirilen hibrit ayçiçeği çeşitleri de, üretimin istenilen düzeye gelmesini sağlamıştır. (Kaya, 2014)

Ayçiçeği, 100-150 günlük yetişme süresi boyunca ortalama 2600 - 2850 °C civarında toplam sıcaklık istemektedir. Derin ve kazık kök sistemine sahip olduğu için kurak veya tuzlu olan bir topraktaki verimi diğer bitkilerden daha iyi olmaktadır. Bu nedenle ayçiçeği tarımı her türlü toprakta yapılabilmektedir. Ancak şunu da belirtmek gerekir ki her türlü toprakta yetişmesine rağmen drenajı iyi, su tutma kapasitesi yüksek ve nötr PH'a sahip toprakları daha çok sevmektedir. Ayçiçeğinin çimlenmesi için toprak sıcaklığının en az 8-10 °C olması gerektirdiğinden, ülkemizde genellikle Mart sonu - Mayıs ortası arasında ekimleri yapılmaktadır.

Ayçiçeği soğuğa dayanıklı bir bitki olduğu için ilk donlarda 4-6 yapraklı devreye kadar zarar görmez. Ancak ısı -4 °C nin altına düştüğünde oluşan dondan oldukça fazla etkilenebilir. Bu nedenle ayçiçeğinin erken ekildiği durumlarda çok fazla bir problem ile karşılaşılmamaktadır. Hatta erken ekim yapıldığında tane doldurma zamanı daha serin zamana geldiğinden verim önemli ölçüde artmaktadır.

2.2. Flow Sitometrinin Tarımsal Araştırmalarda Kullanım Alanları

Flow sitometri 1956 yılında kan hücrelerinin sayımı ve analizi için geliştirilmiş bir yöntemdir. 1990 yılından itibaren bilim ve teknolojide meydana gelen gelişmelerin ardından biyoloji ve ziraat alanında da kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda ise bitki biyolojisi, genetiği ve ıslahı alanlarında yararlanılan rutin bir analiz yöntemi olarak kullanılır hale gelmiştir.

Flow sitometri tarımsal araştırmalarda; çekirdek DNA içeriği, ploidi analizi, ploidi düzeyi stabilitesinin kontrolü, haploid ve double haploid hatların üretimi, yeni ploidi düzeylerinin belirlenmesi, aneuploid bitkilerin belirlenmesi, apomiksis, erken gelişme dönemlerinde cinsiyet belirlenmesi, türler arası melezleme, somatik melezleme, polisomaty belirlenmesi, hücre döngüsü analizi, AT:GC oranının belirlenmesi, kromozom izolasyonu (Sorting) amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bununla birlikte flow sitometrinin bitkilerde en yaygın olarak kullanıldığı alan çekirdek DNA analizidir.

2.3. Çekirdek DNA İçeriğinin Tanımı Ve İlgili Terimler

Hücre çekirdeğinin içerisinde bulunan toplam DNA miktarı, çekirdek DNA içeriği olarak ifade edilir ve "C" değeri olarak ölçülmektedir. Bu terim ilk defa 1950 yılında Swift tarafından kromozom sayısı ile meydana gelebilecek karışıklıkları önlemek amacı ile ortaya atılmıştır. Mitozun profaz safhasına girmiş olan diploid bir çekirdek ile interfaz safhasının henüz başında olan bir tetraploid çekirdek farklı kromozom sayılarına sahip olmalarına rağmen her ikisi de aynı miktarda DNA içermektedir (Bennet ve Leitch 1995; Tuna, 2009).

Hücre çekirdeğinin DNA içeriği ifade edilirken pikogram (1 pg = 10-12 g) veya baz çifti terimleri kullanılmaktadır. Çekirdek DNA içeriği baz çifti olarak ifade edildiğinde; çekirdeğin sahip olduğu 1C, DNA içeriğinin baz çifti sayısını göstermektedir.

Bu güne kadar incelenmiş angiospermler arasında çekirdek DNA içeriği 1000 misli kadar değişim göstermektedir. Bununla birlikte çekirdek DNA miktarı hem bir bitkinin hücreleri arasında değişmeyerek sabit kalmakta, hem de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeyerek sabit kalmaktadır. Bu nedenle çekirdek DNA içeriği tür spesifiktir (Bennett and Leitch 2000).

Tuna (2004), aynı genomlara sahip olmak koşuluyla bir çekirdeğin DNA içeriği ile ploidi düzeyi arasında da sıkı bir ilişki bulunduğunu, ploidi düzeyi arttıkça DNA içeriğinin de aynı oranda arttığını belirtmiştir.

Sims ve Price (1985) yapmış oldukları çalışmada mikrospektrofotometri ile 19 tane diploid (2n=34) *Helianthus* türü belirlemişlerdir.

Önceleri bitki çekirdek DNA miktarlarını tespit etmek amacı ile feulgen mikrospektrofotometri yöntemi kullanılmakta olup (Bennett ve Smith, 1976) son yıllarda ise ploidi belirlemek amacı ile flow sitometri tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (Rayburn, AL., Auger, JA., Benzinger, EA., Hepburn, AG., 1989).

Bu alanda konumuzla ilgili olarak yapılmış olan çalışmalardan bazıları aşağıda sıralanmıştır:

Karp (1991), bitkilerin ploidi düzeyini belirlerken feulgen metodunu kullanmıştır. Kök uçları Feulgen veya asetokarmin ile boyanarak preparatlar hazırlanmış ve ışık mikroskobu yardımı ile mitoz kromozomları sayılmıştır.

Michaelson, MJ., Price, HJ., Johnston, JS., Ellison, JR., (1991), kültürü yapılan ve yabani ayçiçeği *H. annuus* türünün DNA içeriklerini incelemiş ve ortalama DNA içeriklerinin 6.01-7.95 pg arasında değiştiğini, kök ucu ve sürgün ucu çekirdeklerinin, aneusomi denilen bir durum olan aneuploid (17 ila 33 kromozom) ve diploid (34 kromozom) hücre karışımından oluştuğu bildirilmiştir. *H. annuus*'taki DNA içeriğindeki intraspesifik, intraline ve intraplant varyasyonu, bir bitki genomunun oldukça büyük bir kısmının dengesiz olduğunu ve DNA miktarında hızlı değişikliklere tabi olduğu kavramını desteklediğini belirtmiştir.

Loureiro vd. (2010), bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğundan; çekirdek DNA miktarının ploidi düzeyi ile ilişkilendirilebileceğini belirtmiştir.

Ohri (1998), bir cinsin içerisinde aynı kromozom sayısına sahip çok sayıda tür olduğunda, türlerin teşhisi ve sınıflandırılmasında çekirdek DNA içeriğinin çok etkili olduğunu bildirmiştir.

Tuna, M., Vogel, KP., Arumuganathan, K., Gill, KS. (2001), dört *Bromus* türünün 322 aksesyonun ploidi düzeylerini saptamak için yaptıkları çalışmada her bir aksesyondan 10 bitkinin DNA içeriğini tespit edebilmek amacı ile Flow sitometri yöntemi ile çalışmışlardır. Seçilen aksesyonlarda ortalama DNA içeriklerinin ploidi seviyeleri ile bağlantılı olduklarını ve DNA içeriklerinin farklı ploidi seviyelerini temsil ettiklerini tespit etmişlerdir. Böylece tetraploid, octaploid ve decaploid aksesyonların nükleer DNA içeriğinin diploid aksesyonlardan yaklaşık olarak 2, 4 ve 5 defa daha büyük olduğunu belirlemişlerdir.

Bennett ve Leitch (2004), *Festuca* cinsi içerisinde türlerin monoploid çekirdek DNA içeriğinin 2C/pg 1.58 ile 4.03 pg arasında değiştiğini belirtmiştir.

Loureiro J., Kopecký D., Castro S., Santos C., Silveira P. (2007), *Festuca* cinsi içerisindeki monoploid çekirdek DNA içeriği bakımından gözlenen farklılığın cinsin

sınıflandırılmasında faydalı olacağını belirtmiştir. Sujatha (2006), yapmış olduğu çalışmada diploid ekili ayçiçeği ile hekzaploid olan (*H. tuberosus* ve *H. resinosus)* iki tür arasında spesifik melezler üretmiştir. İstenilen diploid statüsündeki bitkileri tanımlamak için flow sitometri yöntemini kullanmış olup, *H. tuberosus* haçlarından türetilen türler arası melezlerin anter kültür bitkilerinde ploidi analizi yapmıştır.

Loureiro J., Rodriguez E., Costa A., Santos C. (2007), yapmış oldukları çalışmada, Portekizli zeytin çeşitleri *(O. europaea ssp. Europaea var. Europaea)* ile yabani zeytin çeşitlerinin (*O. europaea spp. europaea var. sylvestris*) genom büyüklüğü ilk defa tahmin edilmiştir. *O. europaea* çeşitlerinin nükleer DNA içeriği 2.90 ± 0.020 pg / 2C ile 3.07 ± 0.018 pg / 2C arasında değişmekte olup, yabani zeytinlerin genom büyüklüğü 3.19 ± 0.047 pg / 2C DNA olarak hesaplanmıştır.

Tuna (2009), çekirdek DNA içeriğinin tarımsal araştırmalarda kullanım alanlarını; ploidi analizi, ploidi düzeyi stabilitesinin kontrolü, erken gelişme dönemlerinde cinsiyet belirlenmesi, türler arası melezleme, somatik melezleme, haploid ve double haploid hatların üretimi, yeni ploidi düzeylerinin belirlenmesi, aneuploid bitkilerin belirlenmesi, hücre döngüsü analizi olabileceğini belirtmiştir.

Teykin (2011), 83 *Bromus catharticus Vahl*. aksesyonunun çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri yöntemini kullanarak belirlemiştir. 81 aksesyonun 11.79 pg 2C–1 ile 13.72 pg 2C–1 arasında ve hekzaploid olduklarını, çekirdek DNA içeriğiyüksek olan (19.66 ve 19.41 pg 2C–1) iki aksesyonun ise başka türe ait olduğunu bildirmiştir.

Tuna ve Cabi (2014), bazı buğdaygil yem bitkisi türlerine ait populasyonların çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri yöntemiyle belirleyerek, ploidi analizi ile tür teşhisinde bulunmuşlardır. Buğdaygil yem bitkisi genetik kaynaklarının ıslah programlarına dahil edilmeden önce karakterize edilmelerinin çok önemli olduğunu ve bu tür çalışmalar için flow sitometrinin şu an mevcut olan en hassas, hızlı, ucuz ve güvenilir metot olduğunu bildirmişlerdir.

Parlar (2017), defne (*Laurus nobilis L.*) bitkisinin yapraklarından flow sitometri analiz yöntemiyle çekirdek DNA içeriğinin analizini yaparak cinsiyet belirlemiştir.

Yapmış olduğu çalışmada dişi bitkilerin çekirdek DNA içeriğinin erkek bitkilere oranla daha düşük çıktığını saptamıştır.

Yavaş (2017), ülkemiz koşullarında kışlık sebze olarak performanslarının belirlenmesi için yurt içi ve yurt dışından elde edilmiş olan 53 ıspanak (*Spinacia olercea L.*) aksesyonunun çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile belirlemiştir.

Tuna vd. (2016), Doğu Anadolu Bölgesi dağlık bölgelerinden toplanmış olan 169 buğdaygil yem bitkisi popülasyonunun (*Koeleria sp., Festuca sp. ve Agropyron sp.*) çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri yöntemi ile ilk defa belirleyerek, flow sitometri metodunu bitki ıslahına entegre etmek amacıyla popülasyonların ploidi düzeyi ile safiyetlerinin belirlenmesinde kullanmışlardır.

Tuna, M., Vogel, KP., Arumuganathan, K., Gill, KS. (2001), dört *Bromus* türünün 322 aksesyonun ploidi düzeylerini belirleyebilmek için yaptıkları çalışmada, her aksesyondan 10 bitkinin çekirdek DNA içeriğini belirleyebilmek için flow sitometri yöntemini kullanmışlardır.

Loureiro vd. (2010), flow sitometri yöntemini homoploid bitkiler üzerinde araştırmalarda kullanmak, analiz edilen örnekler arasında çekirdek DNA içeriğindeki farklılıkları araştırmaya ve yorumlamaya dayandığını belirtmiştir. Kromozomların sayısına bakılmaksızın, genom büyüklüğünün taksonları sınırlamak için kullanılabileceğini vurgulamıştır.

Kantar, MB, Gregory J.B., Bock D.G., Rieseberg L.H. (2014), ayçiçeğindeki genomik çeşitlilik üzerine yaptıkları çalışmada, kullanmış oldukları ayçiçeği aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriğini flow sitometri yöntemi ile belirleyerek, araştırmada kullanmış oldukları türlerin diploid oldukları sonucuna varmışlardır.

Kallamadi ve Mulpuri (2016), yapmış oldukları çalışmada içlerinde diploid, tetraploid ve hekzaploid türler bulunan 43 ayçiçeği türünün DNA içeriklerini flow sitometri yöntemi ile belirleyerek, çalışmada kullanmış oldukları ayçiçeği türlerinin daha önceden bildirilen ploidi seviyeleri ile uyumlu olduklarını belirtmişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL ve METOD

Araştırmada, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Serası ile Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarından faydalanılmıştır.

3.1. Materyal

Araştırmamızda kullanılan 13 türe ait 70 yabani ayçiçeği (*Helianthus spp.*) aksesyonu Ames, IA, USA'da bulunan North Central Regional Plant Introduction Station'dan temin edilmiştir. Çalışmada toplam 70 ayçiçeği aksesyonu kullanılmış olup bunlara ait liste Çizelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri

Aksesyon	**Taksonomisi**	**Orijini**
PI 468415	*Helianthus agrestis*	ABD, Florida
PI 673205	*Helianthus agrestis*	ABD, Florida
PI 673209	*Helianthus agrestis*	ABD, Florida
PI 468651	*Helianthus argophyllus*	ABD, Florida
PI 490291	*Helianthus argophyllus*	Mozambik

PI 649863	*Helianthus argophyllus*	ABD, Teksas
PI 649865	*Helianthus argophyllus*	Rusya
PI 664729	*Helianthus argophyllus*	ABD, Karolina
PI 664803	*Helianthus argophyllus*	Australya, Queensland
PI 468638	*Helianthus anomalus*	ABD, Arizona
PI 468640	*Helianthus anomalus*	ABD, Utah
PI 649861	*Helianthus anomalus*	ABD, Utah
PI 664638	*Helianthus anomalus*	ABD, Nevada
PI 435641	*Helianthus bolanderi*	ABD, Kaliforniya
PI 673141	*Helianthus bolanderi*	ABD, Arizona
PI 673280	*Helianthus bolanderi*	ABD, Oregon
PI 673294	*Helianthus bolanderi*	ABD, Kaliforniya
PI 435654	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	ABD, Teksas
PI 597908	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	ABD, Carolina
PI 613753	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	ABD, Florida
PI 649870	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	ABD, Georgia

PI 653611	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	Australya, Queensland
PI 468672	*Helianthus debilis subsp. debilis*	ABD, Florida
PI 613754	*Helianthus debilis subsp. silvestris*	ABD, Teksas
PI 468702	*Helianthus deserticola*	ABD, Utah
PI 468705	*Helianthus deserticola*	ABD, Arizona
PI 649883	*Helianthus deserticola*	ABD, Nevada
PI 649891	*Helianthus exilis*	ABD, Kaliforniya
PI 649901	*Helianthus exilis*	ABD, Kaliforniya
PI 664633	*Helianthus exilis*	ABD, Kaliforniya
PI 435763	*Helianthus neglectus*	ABD, Teksas
PI 435769	*Helianthus neglectus*	ABD, Mexico
PI 468773	*Helianthus neglectus*	ABD, Teksas
PI 673249	*Helianthus neglectus*	ABD, Teksas
PI 673319	*Helianthus neglectus*	ABD, New Mexico
PI 435770	*Helianthus niveus subsp. canescens*	ABD, Teksas
PI 435774	*Helianthus niveus subsp. canescens*	ABD, Arizona

PI 468792	*Helianthus niveus subsp. canescens*	ABD, Utah
PI 613758	*Helianthus niveus subsp. tephrodes*	ABD, Mexico
PI 650020	*Helianthus niveus subsp. tephrodes*	ABD, Kaliforniya
PI 597922	*Helianthus petiolaris*	ABD, Güney Dakota
PI 597923	*Helianthus petiolaris*	ABD, Misouri
PI 435817	*Helianthus petiolaris subsp. fallax*	ABD, New Mexico
PI 468817	*Helianthus petiolaris subsp. fallax*	ABD, Utah
PI 468818	*Helianthus petiolaris subsp. fallax*	ABD, Arizona
PI 613769	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Oklahoma
PI 649910	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	Moldova
PI 468842	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Kaliforniya
PI 503232	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, New Jersey

PI 547210	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Illinois
PI 586911	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Montano
PI 586919	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Wyoming
PI 586922	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Colorado
PI 586928	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Kansas
PI 586931	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Nebraska
PI 592355	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	Kanada, Saskatchcwan
PI 592359	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	Kanada, Manitoba
PI 597924	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Kuzey Dakota
PI 613765	*Helianthus petiolaris subsp.petiolaris*	ABD, Teksas
PI 649911	*Helianthus porteri*	ABD, Kuzey Carolina
PI 649917	*Helianthus porteri*	ABD, Georgia
PI 673214	*Helianthus porteri*	ABD, Georgia

PI 468846	*Helianthus praecox*	ABD, Teksas
PI 435855	*Helianthus praecox subsp.hirtus*	ABD, Teksas
PI 435847	*Helianthus praecox subsp. praecox*	ABD, Teksas
PI 435853	*Helianthus praecox subsp. runyonii*	ABD, Teksas

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Bitkilerin Yetiştiriciliği

Araştırmada incelenen aksesyonlara ait tohumların ekimi Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait kontrolsüz plastik serada yapılmış ve bitkiler gerektikçe sulama ile diğer bakım işlemleri yapılarak analiz edilene kadar aynı şartlarda yetiştirilmiştir.

Bitkilere ait tohumlar steril torf ile doldurulmuş viyollere (7X5cm) ekilmiştir. Her bir aksesyon için viyolün 8 gözüne ekim yapılmış ve her göze 3 tohum ekilmiştir. Daha sonra her gözde tek bitki kalacak şekilde seyreltme yapılmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2).





Şekil 3.1. Viyollere ekimi yapılmış ayçiçeği aksesyonlarının seradaki görünümü

İlk gerçek yaprakların görüldüğü dönemde, çok gözlü viyol içerisinde yetiştirilmekte olan bitkiler saksılara (15X10) transfer edilmiştir.



Şekil 3.2. Saksılara transfer edilmiş ayçiçeği bitkilerinin görünü

3.2.2. Flow Sitometri Yöntemi Kullanılarak Çekirdek DNA Analizi (pg)

Çekirdek DNA analizleri Tekirdağ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarında bulunan Partec marka flow sitometri cihazı ile yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle genç ve sağlıklı bitkilere ait yaprak dokularında, Partec firmasına ait ticari kitler (CyStain PI absolute P) kullanılarak çekirdek izolasyonu aşağıda açıklandığı şekilde yapılmıştır;

1.Ayçiçeği ve *Vicia sativa* (standart) 'ya ait genç ve sağlıklı bitkilerden 30-40 mg taze yaprak dokusu alınarak petri kabı içerisine yerleştirilir. (Şekil 3.3/1)

2. Petri kabı içerisine 500 µl izolasyon buffer ilave edilir. (Şekil 3.3/2)

3. Solüsyon içerisindeki yaprak dokuları keskin jilet (bistürü) yardımıyla çok küçük parçalara ayrılana kadar (30-60 saniye) parçalanır. (Şekil 3.3/3).

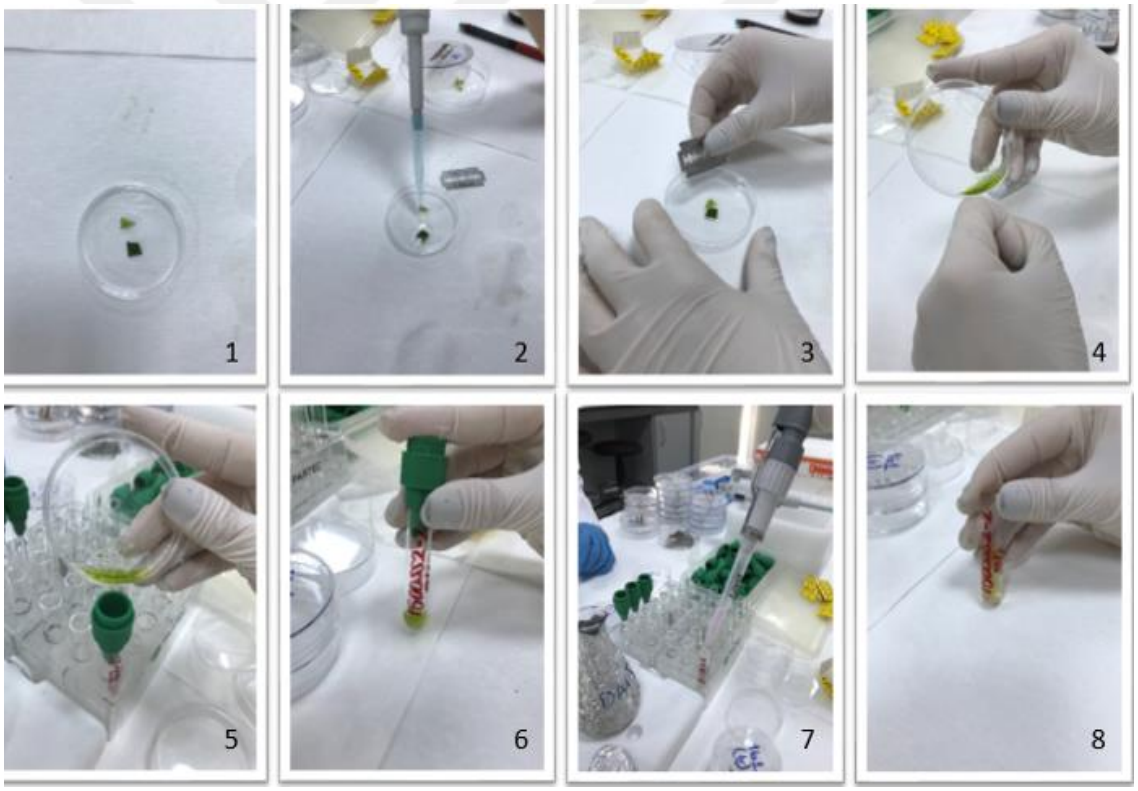
4. Hazırlanan örnek petri kabı içerisinde 15-20 saniye çalkalanmıştır. (şekil 3.3/4)

5. Parçalama işlemi tamamlandıktan sonra petri kabı içerisindeki solüsyon, 30-33 µm lik filtre bulunan mikro-santrifüj tüpüne aktarılıp filtre edilerek, çekirdeklerin bitki doku kalıntılarından ayrılması sağlanmıştır. (Şekil 3.3/5)

6. Tüpün içerisine daha önceden hazırlanmış olan 2 µl staining solüsyonu eklenmiştir.(Şekil 3.3/7)

7. Örnekler karanlık ortamda 37°C de 40 dakika inkübe edilmiştir.

8. Örnekler inkübe edildikten sonra flow sitometri cihazına yüklenerek analiz edilmiştir. (Şekil 3.4)



Şekil 3.3. Ayçiçeği aksesyonlarına ait yaprak dokularının jilet yardımı ile parçalanıp, buffer ilavesi, süzme işlemi ve staining solüsyon ilavesinin yapılması

3.2.3. Flow Sitometri İle DNA İçeriğinin Ölçülmesi Ve Mutlak Değerin Hesaplanması

Yukarıda açıklanan yöntem ile önce bitki dokusu hücreleri birbirinden mekanik olarak ayrılarak hücre çekirdekleri serbest kalmıştır. Daha sonra kullanılan buffer'ın içerisinde bulunan bazı kimyasallar çekirdeğin zarını tahriş ederek, çekirdek zarı üzerinde delikler meydana getirmiştir. PI bu deliklerden içeri girerek nükleik asitlere bağlanmıştır. Bu nedenle çekirdeğin içerisindeki DNA miktarı ne kadar fazla ise çekirdeğin içerisine giren PI miktarı da o kadar fazla olmaktadır.

Flow sitometri cihazı ile yapılan analizlerde hücre çekirdeği, içerisinde bulunan PI miktarı ile orantılı olacak şekilde florasan ışığı yaymaktadır. Yayılan floresanlar cihazın içerisindeki optik bölümlerde bir dizi işlemden geçip elektrik sinyallerine dönüşmekte olup bu sinyaller cihazın bağlı olduğu bilgisayar monitörüne histogram olarak yansımaktadır. Histogramın yatay ekseni, analiz edilen örneklerin florasan yoğunluğunu, dikey ekseni ise; analiz edilen hücre sayısını göstermektedir. Yatay eksenin sağ tarafına doğru gittikçe florasan yoğunluğu, dolayısıyla da DNA içeriği artmaktadır.

Hassas bir analiz için histogram üzerinde yer alan piklerin mümkün olduğunca düzgün, ince ve uzun olması gerekmektedir. Piklerin şeklini iyileştirebilmek için; sık sık flow sitometri cihazı kalibre edilmeli ve örnekler hassas bir şekilde hazırlanmalıdır. Çekirdek DNA içeriği analizlerinde güvenli bir yorum için CV değeri %5 ten daha yüksek olmaması gerekmektedir.

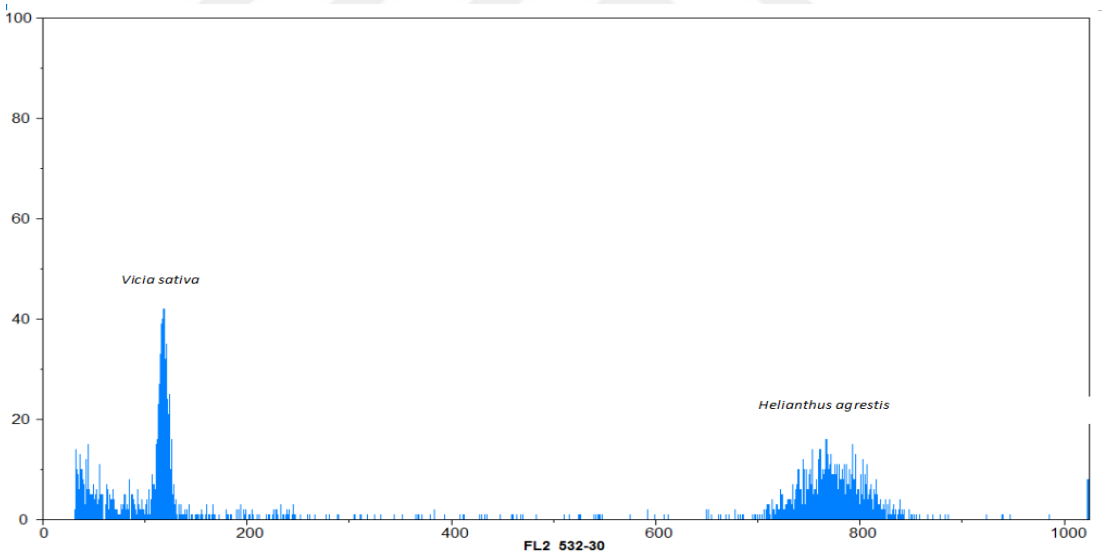
Bir bitkinin çekirdek DNA içeriğini mutlak olarak belirleyebilmek için bu bitkinin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart ile kıyaslanmalıdır. Standart olarak çekirdek DNA içeriği bilinen bir bitki kullanılacaksa; standart bitkinin dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla birlikte hazırlanmalıdır.

Bir örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği, araştırılan örnek ve seçilen standardın G1 piklerinin florasan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak, aşağıda verilen formül aracılığıyla pikogram (1pg = 10-12 g) olarak hesaplanır.

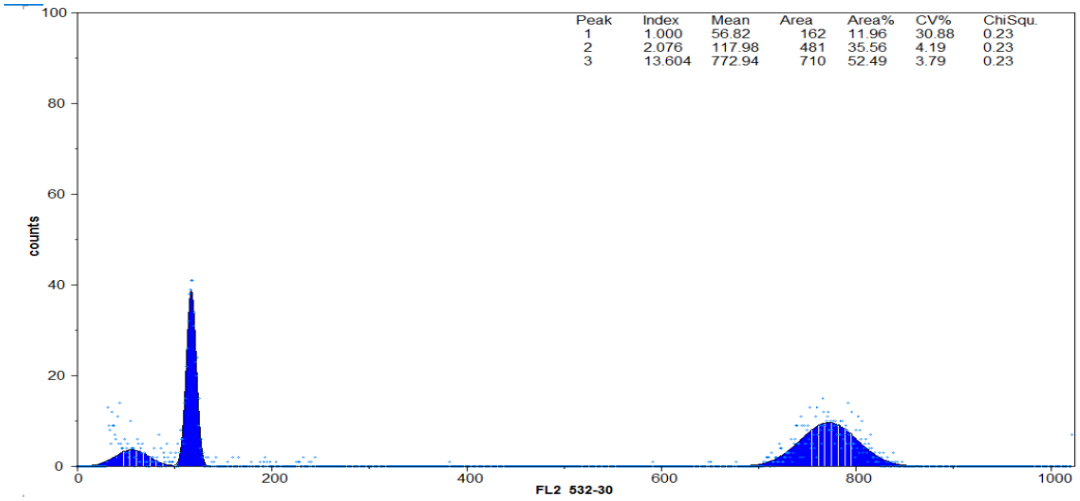
$$Çekirdek\ DNA\ miktarı\ (pg) = \frac{\begin{matrix} DNA\ miktarı\ bilinmeyen\ türe\ ait\ florasan\ yoğunluğu \\ (G1\ pikinin\ değeri) \end{matrix}}{\begin{matrix} Standarta\ ait\ örneğin\ florasan\ yoğunluğu \\ (G1\ pikinin\ değeri) \end{matrix}} \times standartın\ DNA\ içeriği$$

Şekil 3.5'deki örneğin florasan yoğunluğu 772,94, standardın (fiğ) florasan yoğunluğu 117,98' dur. Standarttın DNA ağırlığı 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği; (772,94/117,98)x3,65 = 23,91 pg olarak hesaplanmıştır. Şekil 3.6 da PI 468651 *Helianthus argophyllus ve* standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin birbirine göre pozisyonları verilmiştir.

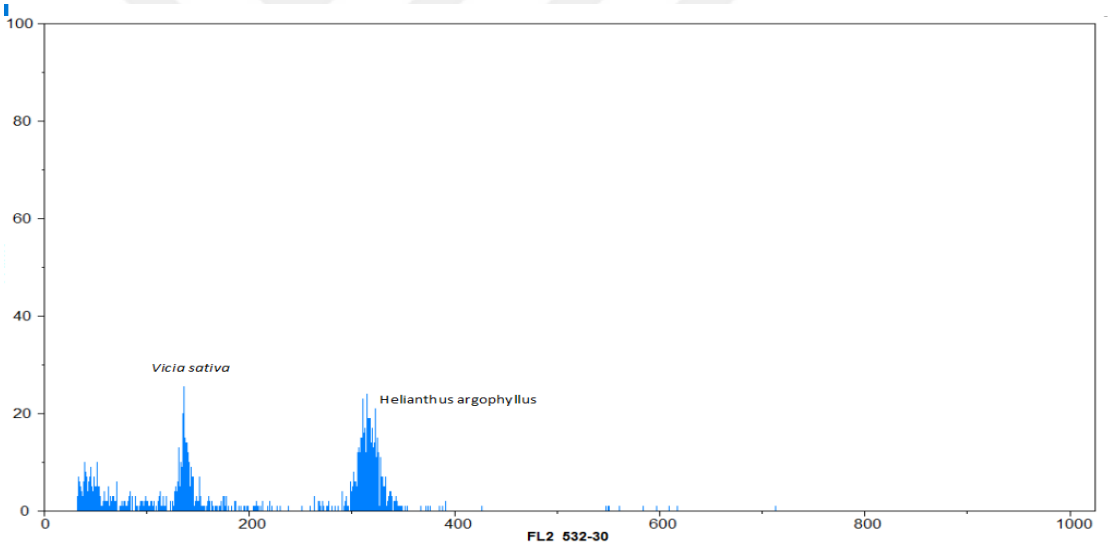
Şekil 3.7'deki örneğin florasan yoğunluğu 315,77, standardın (fiğ) florasan yoğunluğu 136,89' dur. Standarttın DNA ağırlığı 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği; (315,77/136,89)x3,65 = 8,4 pg olarak hesaplanmıştır.



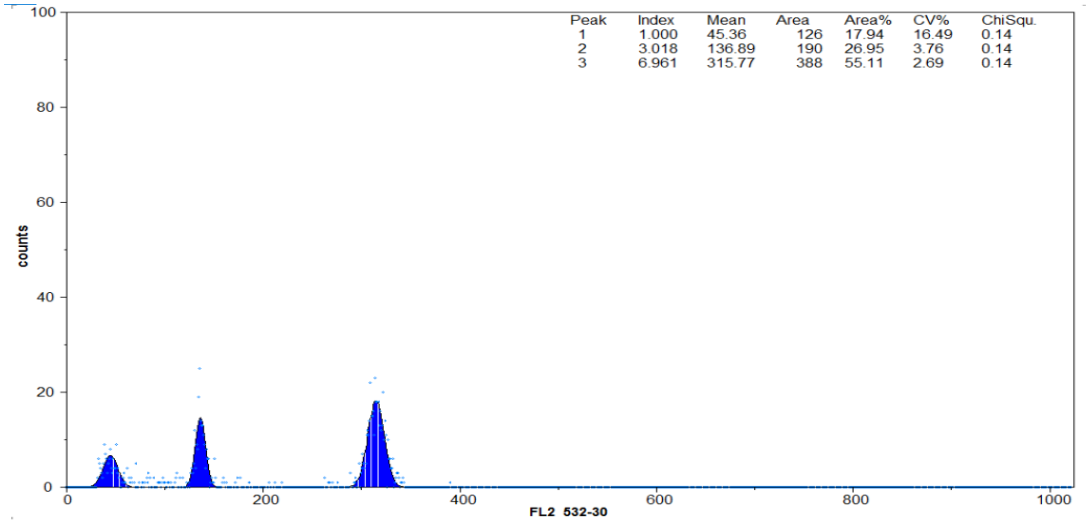
Şekil 3.4. PI 468415 *Helianthus agrestis ve* standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonları



Şekil 3.5. PI 468415 *Helianthus agrestis* ve standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin Flow sitometri paket programı ile analiz edilmiş hali



Şekil 3.6. PI 468651 *Helianthus argophyllus ve* standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin birbirine göre pozisyonları



Şekil 3.7.PI 468651 *Helianthus argophyllus* ve standart olarak kullanılan *Vicia sativa* G1 piklerinin Flow sitometri paket programı ile analiz edilmiş hali

3.2.4.Çekirdek DNA İçeriğine Ait Sonuçların İstatistiksel Analizi

Çalışmada her aksesyondan en az 3 tek bitki analiz edilmiş ve aksesyon ortalaması hesaplanmıştır.

Her aksesyona ait çekirdek DNA içerikleri basit bir istatiksel yöntem olan confidence intervalları kullanarak kendi aralarında kıyaslanmıştır. Her ortalama için confidence interval aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$P(\overline{X_1} - t\ 0{,}05\ S\bar{X} < \mu < \overline{X_1} + t\ 0{,}05\ S\bar{X}) = 0{,}95$$

Formülde $t_{0.05}$ ***"t"*** istatistiği ve $s_x = s/n^{1/2}$. *n* her bir populasyonda analiz edilen bitki sayısı ve s onların Standard sapmasıdır. Confidence intervalleri örtüşen ortalamaların bir birinden farklı olmadığı kabul edilir. Bu bakımdan yapılan analiz ortalamaları kıyaslamak için yapılan t testi ile aynıdır (Steel and Torrie, 1960).

3.2.5. Çekirdek DNA İçeriği İle Kromozom Sayısının İlişkilendirilmesi

Flow sitometri ile yapılan ploidi analizlerinde bitkilerin hesaplanan çekirdek DNA içeriği ile kromozom sayılarının ilişkilendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren her gruptan bir ayçiçeği bitkisinin kromozomları sayılır ve grup içerisindeki diğer bitkilerin de aynı kromozom sayısına sahip olduğu kabul edilir. Çalışmada her ne kadar daha çok bitkide kromozom sayımı yapmayı istemiş olsak ta çalışma süresince sadece iki türe ait üç aksesyona ait bitkilerden sitolojik incelemelere uygun kök ucu elde edebildiğimiz için kromozom sayımı sadece bu üç aksesyon üzerinde yapılabilmiştir. Sitolojik preparatlar bitki kök uçlarında bulunan ve hızlı bölünme gösteren meristematik hücrelere sahip dokular kullanılarak enzim yöntemiyle hazırlanmıştır.

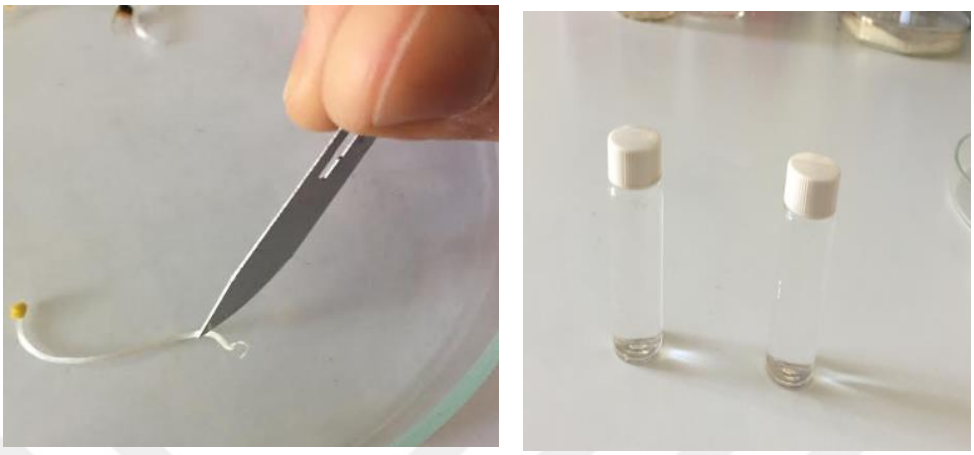
Kök Uçlarının Eldesi

Ayçiçeği tohumları ıslatılmış kurutma kâğıtları arasında petri kabında çimlendirilmek üzere inkübatörün içerisine konulmuştur. Düzenli aralıklarla kontrol edilerek uygun kök ucu eldesi sağlanmıştır.(Şekil 3.8)



Şekil 3.8. Ayçiçeği tohumlarının inkübatörde çimlendirilmesi

Beyaz görünümlü hızlı büyüyen kök uçları kesilerek temizlenmek amacıyla hemen soğuk su içerisine bırakılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Kök uçlarının kesilerek soğuk suyun içerisine konulması

Kök uçları, içerisinde 4 °C distile su bulunan tüplere transfer edilmiş ve 24 saat bekletilmiştir. (Şekil 3.10)



Şekil 3.10. Kök uçlarının 4°C distile su bulunan tüplerde ve 24 saat bekletilmesi

Materyalin Tespiti

24 saat sonunda cam şişe içerisindeki su boşaltılarak üzerine yeni hazırlanmış olan Farmer çözeltisi (3/1 oranında olmak üzere 15 cl % 99 luk ethanol, 5cl glasial asetik asit)

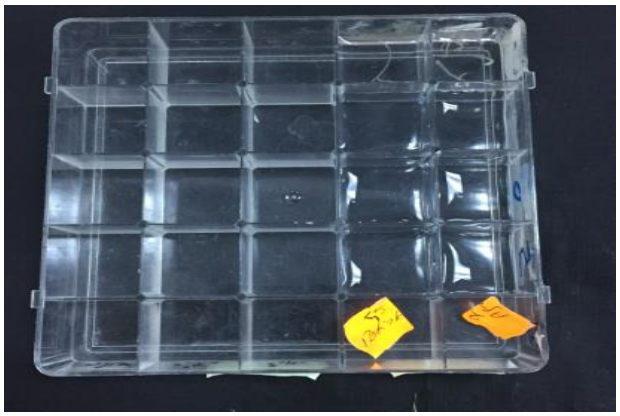
doldurulmuştur. Bu şekilde tespit işlemi yapılmış olan kök uçları +4 °C de 2-3 ay muhafaza edilebilmektedir.(Şekil 3.11)



Şekil 3.11.Kök uçlarının cam şişe içerisine farmer çözeltisinin ilavesi

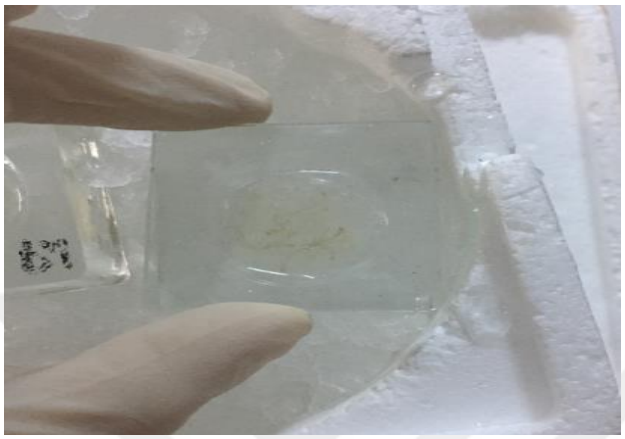
Kök Uçlarının Selülaz Enzimleri İle Muamele Edilmesi Ve Preparatların Hazırlanması

Farmer solüsyonu içerisinde bulunan kök uçları enzim solüsyonuna transfer etmeden önce 4 defa 5-6 dakika için 1x enzim solüsyonu içerisinde bekletilerek farmer solüsyonu kök ucu dokularından tamamen uzaklaştırılmıştır. (Şekil 3.12)



Şekil 3.12. Farmer solüsyonunun kök ucu dokularından uzaklaştırılması

Daha sonra kök uçları enzim solüsyonuna (Cellulose RS, Cellulase calbiocem ve Pectinase) transfer edilerek (Şekil 3.13) , 37 °C'de enzim ile tamamen parçalanana kadar inkübe edilmiştir.



Şekil 3.13. Kök uçlarının enzim solüsyonuna transferi

Preparat yapmada kullanılan kök uçları enzim solüsyonundan çıkartılarak buz üzerine yerleştirilmiş bir kap içerisinde bulunan 1x enzim solüsyonu içerisine transfer edilmiştir. Bu şekilde muamele edilmiş olan kök uçlarından preparatlar bir damla % 45'lik asetik asit kullanılarak ezme yöntemiyle hazırlanmıştır. Preparatlar faz kontrastı olan bir mikroskop ile hızlı bir şekilde kontrol edilerek çok sayıda iyi dağılmış mitoz kromozomlu hücreye sahip olan preparatlar seçilmiş ve lamelin çıkartılabilmesi için, yaklaşık bir saat kadar kuru buz (ya da -80 0C'de) üzerine yerleştirilmiş ve lamel uzaklaştırıldıktan sonra slaytlar bir saat oda şartlarında kurutulmuştur.

DAPI İle Mitoz Kromozomlarının Boyanması

Kurutulmuş olan preparatlar üzerine 10 µl Vectashield-Dapi solusyonu ilave edilerek 24x24 cam lamel yerleştirilmiştir. Preparatlar bir kaç saat soğuk (4 ^{0}C) ve karanlık bir ortamda bekletildikten sonra florasan mikroskop ile incelenerek kromozom sayımı yapılmıştır.

Fotoğraf Çekimi

Hazırlanan preparatlar olympus marka BX 51 model mikroskobuna yerleştirildikten sonra, hücrelerin fotoğrafları 10 x 100 = 1000 kez büyütülerek spot marka Rt Slider model CCD dijital kamera ile çekilmiştir. Morfolojisi düzgün, sayılabilen ve kromozom sayısı tam olan hücrelerin kromozomları sayılmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Flow Sitometri İle Çekirdek DNA Analizi İçeriğinin Belirlenmesi

Çalışmada analiz edilen 70 ayçiçeği aksesyonuna ait bitkilerin 2C çekirdek DNA içerikleri 24,232 pg/2C (PI 468415) ile 5,820 pg/2C (PI 435763) arasında değişmektedir (Çizelge 4.1.1). Aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri ise 23,83 pg/2C (PI 468415) ile 5,93 pg/2C (PI 673249) arasında değişmektedir. (Çizelge 4.1.. ve 4.2).

Çizelge 4.1. Bazı Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek DNA Analizi

Taksonomi	Florasan yoğunluğu (AYÇİÇEĞİ)	Florasan yoğunluğu (FİĞ)	Ortalama Çekirdek DNA içeriği	CV1 (FİĞ)	CV2 (AYÇİÇEĞİ)
PI 468415 H.agrestis	772,94	117,98	23,9	3,79	4,19
PI 468415 H.agrestis	780,36	121,63	23,4	3,68	4,02
PI 468415 H.agrestis	762,89	115,29	24,2	3,56	4,12
			23,83 ±0,4		
PI 673205 H.agrestis	758,5	119,03	23,3	3,63	4,54
PI 673205 H.agrestis	748,36	116,74	23,4	3,45	4,65

PI 673205 *H.agrestis*	760,23	117,36	23,6	3,56	4,25
			23,43±0,2		
PI 468651 *H.argophyllus*	341,07	159,42	8,3	4,15	4,72
PI 468651 *H.argophyllus*	315,77	139,89	8,2	2,69	3,76
PI 468651 *H.argophyllus*	414,18	183,86	8,2	6,36	10,56
PI 468651 *H.argophyllus*	349,39	160,03	8,0	4,63	6,45
			8,175 ±0,2		
PI 490291 *H.argophyllus*	324,12	143,09	8,3	3,76	5,88
PI 490291 *H.argophyllus*	308,41	140,22	8,0	3,82	3,77
PI 490291 *H.argophyllus*	370,57	161,6	8,4	4,81	6,08
PI 490291 *H.argophyllus*	279,9	131,9	7,7	8,88	10
			8,1±0,3		
PI 649863 *H.argophyllus*	395,34	188,94	7,6	4,8	7,28
PI 649863 *H.argophyllus*	289,12	136,65	7,7	7,35	8,91
PI 649863 *H.argophyllus*	337,57	155,57	7,9	4,4	5,69
			7,73±0,1		
PI 649865 *H.argophyllus*	302,23	134,82	8,2	4,67	5,78
PI 649865 *H.argophyllus*	303,78	133,89	8,3	9,17	8,89
PI 649865 *H.argophyllus*	318,84	144,5	8,1	4,49	8,01

PI 649865 *H.argophyllus*	297,33	135,76	8,0	4,43	6,44
			8,15±0,1		
PI 664803 *H.argophyllus*	324,4	143,65	8,2	5,64	7,78
PI 664803 *H.argophyllus*	288,01	129,46	8,1	4,17	4,82
PI 664803 *H.argophyllus*	359,14	159,31	8,2	6,05	5,99
			8,16±0,1		
PI 468638 *H.anomalus*	438,15	152,41	10,5	3,07	4,04
PI 468638 *H.anomalus*	437,01	150,75	10,6	2,55	3,34
PI 468638 *H.anomalus*	392,9	136,44	10,5	3,79	4,89
PI 468638 *H.anomalus*	439,65	155,14	10,3	3,94	5,53
			10,47±0,1		
PI 649861 *H.anomalus*	424,13	135,16	11,5	2,92	3,83
PI 649861 *H.anomalus*	414,91	135,8	11,2	7,3	7,74
PI 649861 *H.anomalus*	452,98	145,95	11,3	3,49	4,11
PI 649861 *H.anomalus*	450,54	147,9	11,1	4,19	4,86
			11,27±0,2		
PI 664638 *H.anomalus*	303,24	129,68	8,5	3,08	6,19
PI 664638 *H.anomalus*	310,25	132,39	8,6	2,98	5,78
PI 664638 *H.anomalus*	329,45	142,38	8,4	3,08	6,19

			8,5±0,1		
PI 435641 *H.bolanderi*	349,85	132,76	9,6	3,53	4,46
PI 435641 *H.bolanderi*	336,21	126,22	9,7	3,49	4,58
PI 435641 *H.bolanderi*	362,24	137,08	9,6	4,07	5,79
PI 435641 *H.bolanderi*	381,96	145,37	9,6	2,65	4,57
PI 435641 *H.bolanderi*	419,19	155,37	9,8	3,3	4,37
			9,66±0,1		
PI 673141 *H.bolanderi*	276,07	147,33	6,8	2,77	4,54
PI 673141 *H.bolanderi*	308,96	159,01	7,1	3,81	5,36
PI 673141 *H.bolanderi*	247,49	124,07	7,3	3,76	5,42
PI 673141 *H.bolanderi*	307,26	158,24	7,1	5,46	6,02
PI 673141 *H.bolanderi*	273,61	144,45	6,9	4,26	5,89
			7,04±0,2		
PI 673280 *H.bolanderi*	403,85	149,21	9,9	5,6	6,55
PI 673280 *H.bolanderi*	338,21	128,92	9,6	3,32	5,44
PI 673280 *H.bolanderi*	342,42	130,4	9,6	5,55	9,5
PI 673280 *H.bolanderi*	387,9	145,98	9,7	4,18	5,47
PI 673280 *H.bolanderi*	386,2	148,18	9,5	4,5	5,59
			9,66±0,1		

PI 673294 *H.bolanderi*	386,61	142,56	9,9	4,08	4,8
PI 673294 *H.bolanderi*	398,56	150,86	9,6	4,33	6,41
PI 673294 *H.bolanderi*	402,43	150,2	9,8	6,39	10,63
PI 673294 *H.bolanderi*	385,53	146,62	9,6	3,89	5,24
PI 673294 *H.bolanderi*	391,84	146,69	9,7	4,22	5,95
			9,72±0,2		
PI 435654 *H.debilis*	348,01	185,51	6,8	4,31	5,19
PI 435654 *H.debilis*	327,8	164,84	7,3	6,02	4,81
PI 435654 *H.debilis*	268,68	135,05	7,3	2,99	4,62
PI 435654 *H.debilis*	280,78	145,03	7,1	3,59	4,06
PI 435654 *H.debilis*	249,99	123,26	7,4	3,03	3,71
			7,18±0,2		
PI 597908 *H.debilis*	372,51	181,46	7,5	8,12	7,56
PI 597908 *H.debilis*	315,71	155,44	7,4	3,07	4,06
PI 597908 *H.debilis*	293,53	155,96	6,9	3,57	4,83
PI 597908 *H.debilis*	323,31	160,67	7,3	2,76	4,32
PI 597908 *H.debilis*	288,24	143,99	7,3	4,89	6,76
			7,28±0,2		
PI 613753	271,75	136,65	7,3	2,97	3,64

H.debilis					
PI 613753 *H.debilis*	269,76	135,72	7,3	3,34	3,83
PI 613753 *H.debilis*	271,26	135,99	7,3	3,62	4,41
PI 613753 *H.debilis*	295,69	144,16	7,5	3,7	4,33
			7,35±0,1		
PI 649870 *H.debilis*	263,95	132,95	7,2	5,16	8,14
PI 649870 *H.debilis*	261,08	134,72	7,1	3,48	4,12
PI 649870 *H.debilis*	289,52	144,26	7,3	3,81	8,01
PI 649870 *H.debilis*	235,39	118,73	7,2	4,1	5,12
PI 649870 *H.debilis*	297,85	156,37	7,0	3,62	4,39
			7,16±0,2		
PI 653611 *H.debilis*	325,25	157,04	7,6	3,31	3,47
PI 653611 *H.debilis*	246,76	122,56	7,3	3,76	4,75
PI 653611 *H.debilis*	301,39	153,36	7,2	2,81	3,19
PI 653611 *H.debilis*	295,62	147,09	7,3	3,1	4,7
PI 653611 *H.debilis*	345,37	173,64	7,3	4,1	9,4
			7,34±0,1		
PI 468672 *H.debilis*	270,64	132,09	7,5	4,56	4,61
PI 468672 *H.debilis*	284,1	140,23	7,4	3,55	4,66

PI 468672 *H.debilis*	321,94	159,98	7,3	3,91	6,23
PI 468672 *H.debilis*	312,45	155,73	7,3	2,65	3,06
			7,37±0,1		
PI 613754 H.debilis	334,64	172,21	7,1	4,98	4,23
PI 613754 H.debilis	296,63	150,15	7,2	2,45	5,64
PI 613754 H.debilis	295,19	147,42	7,3	3,72	4,8
PI 613754 H.debilis	266,48	131,59	7,4	4,06	3,37
PI 613754 H.debilis	317,1	159,2	7,3	3,39	4,72
			7,26±0,1		
PI 468702 H.deserticola	499,24	170,4	10,7	4,33	5,37
PI 468702 H.deserticola	442,69	149,24	10,8	4,23	4,37
PI 468702 H.deserticola	411,44	142,67	10,5	3,14	3,23
PI 468702 H.deserticola	437,67	149,36	10,7	3,79	5,38
			10,67±0,1		
PI 649883 H.deserticola	481,09	165,11	10,6	4,83	4,34
PI 649883 H.deserticola	452,24	152,23	10,8	3,46	5
PI 649883 H.deserticola	356,54	120,67	10,8	2,65	33,44
			10,73±0,1		
PI 649891 H.exilis	368,04	130,14	10,3	4,12	4,8

PI 649891 *H.exilis*	431,96	159,83	9,9	4,69	6,06
PI 649891 *H.exilis*	399,55	150,63	9,7	3,83	3,23
PI 649891 *H.exilis*	380,82	142,55	9,8	4,82	7,5
PI 649891 *H.exilis*	390,81	149,23	9,6	2,96	3,94
			9,86±0,3		
PI 649901 *H.exilis*	347,49	129,59	9,8	3,07	5,03
PI 649901 *H.exilis*	384,69	142,33	9,9	3,97	5,04
PI 649901 *H.exilis*	420,13	155,53	9,9	3,19	4,36
PI 649901 *H.exilis*	409,05	154,1	9,7	2,9	4,35
PI 649901 *H.exilis*	390,16	139,25	10,2	4,81	6,91
			9,9±0,2		
PI 664633 *H.exilis*	372,52	138,67	9,8	3,66	3,76
PI 664633 *H.exilis*	457,5	170,61	9,8	3,32	5,47
PI 664633 *H.exilis*	331,21	119,04	10,2	3,96	4,81
PI 664633 *H.exilis*	339,65	125,18	9,9	3,26	4,09
			9,92±0,1		
PI 435763 *H. neglectus*	326,66	192,94	6,2	4,48	7,82
PI 435763 *H. neglectus*	235,2	147,49	5,8	4,47	5,57
PI 435763	261	159,52	6,0	3,03	5,02

H. neglectus					
PI 435763					
H. neglectus	309,12	181,83	6,2	4,79	5,81
			6,05±0,2		
PI 435769					
H. neglectus	294,79	157,25	6,8	3,89	4,74
PI 435769					
H. neglectus	235	136,07	6,3	3,83	5,83
PI 435769					
H. neglectus	297,47	173,58	6,3	2,53	3,78
PI 435769					
H. neglectus	270,5	154,63	6,4	3,61	4,61
			6,45±0,3		
PI 468773					
H. neglectus	275,32	162,03	6,2	3,36	4,31
PI 468773					
H. neglectus	256,73	148,69	6,3	2,39	5,43
PI 468773					
H. neglectus	253,07	147,58	6,3	2,59	3,29
PI 468773					
H. neglectus	309,8	176,21	6,4	4,87	6,94
			6,3±0,1		
PI 673249					
H. neglectus	260,07	156,37	6,1	5,44	6,42
PI 673249					
H. neglectus	232,76	145,44	5,8	3,89	4,94
PI 673249					
H. neglectus	272,8	169,35	5,9	4,37	7,72
			5,93±0,1		
PI 435774					
H.niveus	378,29	164,31	8,4	7,59	12,14
PI 435774					
H.niveus	323,01	138,41	8,5	3,18	3,69
PI 435774	279,39	120,07	8,5	6,82	7,13

H.niveus					
PI 435774 *H.niveus*	283,27	120,55	8,6	4,59	6,47
PI 435774 *H.niveus*	335,12	142,76	8,6	4,22	5,88
			8,52±0,1		
PI 613758 *H.niveus*	316,06	143,47	8,6	4,78	5,44
PI 613758 *H.niveus*	278,08	117,84	8,6	3,34	3,56
PI 613758 *H.niveus*	320,13	139,7	8,4	2,34	3,35
PI 613758 *H.niveus*	334,45	143,02	8,5	3,82	5,01
PI 613758 *H.niveus*	372,55	158,26	8,6	4,29	9,49
			8,54±0,1		
PI 650020 *H.niveus*	405,95	172,67	8,6	6,83	7,23
PI 650020 *H.niveus*	378,96	165,16	8,4	3,77	4,35
PI 650020 *H.niveus*	310,2	131,86	8,6	2,99	3,68
PI 650020 *H.niveus*	347,5	150,42	8,4	7,67	8,16
			8,5±0,3		
PI 597922 *H. petiolaris*	261,48	133,39	7,2	3,47	3,83
PI 597922 *H. petiolaris*	229,48	124	6,8	2,68	4,6
PI 597922 *H. petiolaris*	290,52	153,76	6,9	2,15	2,71
PI 597922 *H. petiolaris*	278,84	149,91	6,8	3,13	4,1

PI 597922					
H. petiolaris	320,37	168,24	7,0	5,14	8,44
			6,94±0,2		
PI 597923					
H. petiolaris	276,03	147,14	6,8	3,09	4,67
PI 597923					
H. petiolaris	251,28	138,22	6,6	2,65	3,66
PI 597923					
H. petiolaris	247,17	140,93	6,4	3,32	3,89
PI 597923					
H. petiolaris	293,44	159,07	6,7	3	4,4
			6,62±0,2		
PI 435817					
H. petiolaris	243,55	141,8	6,3	3,18	2,79
PI 435817					
H. petiolaris	294,42	169,75	6,3	2,23	3,13
PI 435817					
H. petiolaris	296,93	173,48	6,2	2,95	4,36
PI 435817					
H. petiolaris	240,29	143,88	6,1	3,98	4,79
PI 435817					
H. petiolaris	266,09	140,62	6,9	6,89	9,58
			6,16±0,3		
PI 468817					
H. petiolaris	299,65	170,15	6,4	3,51	4,68
PI 468817					
H. petiolaris	302	169,92	6,5	3,37	4
PI 468817					
H. petiolaris	252,8	147,44	6,3	3,92	5,12
PI 468817					
H. petiolaris	293,18	167,78	6,4	3,08	3,84
			6,4±0,1		
PI 468818					
H. petiolaris	263,52	139,12	6,9	2,54	3,21

PI 468818 *H. petiolaris*	264,64	139,42	6,9	2,8	4,01
PI 468818 *H. petiolaris*	290,04	160,8	6,6	3,63	4,25
PI 468818 *H. petiolaris*	297,08	166,5	6,5	2,7	2,95
PI 468818 *H. petiolaris*	234,96	134,01	6,4	3,23	3,92
PI 468818 *H. petiolaris*	367,93	193,06	7,0	5,23	8,13
			6,71±0,2		
PI 613769 *H. petiolaris*	278,53	147,29	6,9	7,62	8,13
PI 613769 *H. petiolaris*	220,05	127,97	6,3	3,21	4,44
PI 613769 *H. petiolaris*	237,75	132,2	6,6	5,92	6,01
PI 613769 *H. petiolaris*	264,01	144,88	6,7	3,38	3,34
PI 613769 *H. petiolaris*	321,68	170,39	6,9	3,33	8,61
			6,68±0,3		
PI 649910 *H. petiolaris*	297,34	162,2	6,7	3,63	4,65
PI 649910 *H. petiolaris*	287,33	153,65	6,8	5,38	9,29
PI 649910 *H. petiolaris*	260,16	144,97	6,6	3,28	4,09
PI 649910 *H. petiolaris*	231,76	126,26	6,7	3,12	4,96
			6,7±0,1		
PI 468842 *H. petiolaris*	230,57	132,84	6,3	5,03	5,7
PI 468842	257,16	146,79	6,4	2,53	4,11

H. petiolaris					
PI 468842					
H. petiolaris	284,38	158,78	6,5	2,8	3,65
PI 468842					
H. petiolaris	252,51	138,82	6,6	2,57	3,53
PI 468842					
H. petiolaris	253,02	141,88	6,5	3,09	4
			6,46±0,1		
PI 503232					
H. petiolaris	282,84	155,03	6,7	5,13	6,99
PI 503232					
H. petiolaris	316,84	166,46	6,9	5,18	8,29
PI 503232					
H. petiolaris	260,78	141,52	6,7	3,9	5,19
PI 503232					
H. petiolaris	255,75	142,01	6,6	3,95	4,92
			6,72±0,2		
PI 547210					
H. petiolaris	265	147,51	6,6	5,43	8,77
PI 547210					
H. petiolaris	247,24	140,69	6,4	2,71	3,81
PI 547210					
H. petiolaris	263,81	146,75	6,6	9,56	8,07
PI 547210					
H. petiolaris	288,03	156,6	6,7	2,47	3,36
			6,57±0,1		
PI 586911					
H. petiolaris	290,8	147,08	7,2	2,3	2,36
PI 586911					
H. petiolaris	257,06	132,18	7,1	2,99	4,08
PI 586911					
H. petiolaris	279,14	145,48	7,0	5,19	5,06
PI 586911					
H. petiolaris	315,72	158,21	7,3	4,85	7,63

PI 586911					
H. petiolaris	303,96	152,73	7,3	6,51	8,33
			7,18±0,1		
PI 586919					
H. petiolaris	266,41	149,17	6,5	3,34	4,98
PI 586919					
H. petiolaris	283,83	150,52	6,9	2,49	3,45
PI 586919					
H. petiolaris	258,23	137,55	6,9	2,83	3,82
PI 586919					
H. petiolaris	248,38	139,54	6,5	4,72	7,64
PI 586919					
H. petiolaris	275,12	153,29	6,6	4,98	8,64
			6,68±0,2		
PI 586922					
H. petiolaris	318,34	180,09	6,5	4,45	4,73
PI 586922					
H. petiolaris	291,66	155,16	6,9	4,07	5,75
PI 586922					
H. petiolaris	257,45	142,02	6,6	4,1	4,63
PI 586922					
H. petiolaris	254,59	142,85	6,5	3,69	5,26
PI 586922					
H. petiolaris	274,85	143,5	7,0	6,19	5,42
			6,7±0,4		
PI 586928					
H. petiolaris	340,69	175,06	7,1	3,84	6,07
PI 586928					
H. petiolaris	192,65	111,86	6,3	4,88	5,67
PI 586928					
H. petiolaris	261,18	145,56	6,5	3,45	3,54
PI 586928					
H. petiolaris	265,46	148,82	6,5	4,23	5,51
			6,6±0,3		

PI 586931 *H. petiolaris*	250,62	141,9	6,4	6,05	7,83
PI 586931 *H. petiolaris*	246,74	134,73	6,7	2,69	3,26
PI 586931 *H. petiolaris*	276,18	157,9	6,4	2,88	3,4
PI 586931 *H. petiolaris*	244,48	133,6	6,7	3,16	4,31
PI 586931 *H. petiolaris*	269,53	138,51	7,1	4,17	4,97
			6,66±0,3		
PI 592355 *H. petiolaris*	271,02	145,86	6,8	4,22	6,88
PI 592355 *H. petiolaris*	263,56	140,29	6,9	3,82	4,42
PI 592355 *H. petiolaris*	238,51	130,1	6,7	2,99	3,73
			6,8±0,1		
PI 592359 *H. petiolaris*	281,1	160,49	6,4	3,43	4,88
PI 592359 *H. petiolaris*	274,13	148,64	6,7	2,99	3,36
PI 592359 *H. petiolaris*	199	110,77	6,6	3,45	5,02
			6,56±0,2		
PI 597924 *H. petiolaris*	273,64	147,35	6,8	5,12	6,29
PI 597924 *H. petiolaris*	231,91	127,14	6,7	3,47	4,69
PI 597924 *H. petiolaris*	273,38	150,74	6,6	2,99	3,36
PI 597924 *H. petiolaris*	284,78	157,37	6,6	2,89	4,18
			6,67±0,1		

PI 613765 *H. petiolaris*	253,54	142,89	6,5	2,74	5,77
PI 613765 *H. petiolaris*	260,82	146,64	6,5	3,24	4,7
PI 613765 *H. petiolaris*	212,22	119,37	6,5	3,71	5,23
PI 613765 *H. petiolaris*	270,87	145,62	6,8	10,35	8,68
PI 613765 *H. petiolaris*	253,79	136,8	6,8	4,54	5,63
			6,62±0,2		
PI 649911 *H. porteri*	311,52	148	7,7	4,31	4,21
PI 649911 *H. porteri*	320,48	143,01	8,2	3,67	4,63
PI 649911 *H. porteri*	252,1	120,78	7,6	4,11	4,41
PI 649911 *H. porteri*	268,99	129,66	7,6	4,22	6,02
PI 649911 *H. porteri*	292,42	135,39	7,9	3	3,59
			7,8±0,2		
PI 649917 *H. porteri*	393,32	167,62	8,6	4,68	6,12
PI 649917 *H. porteri*	385,28	164,82	8,5	2,77	4,02
PI 649917 *H. porteri*	324,15	140,83	8,4	4,71	5,24
			8,5±0,1		
PI 673214 *H. porteri*	270,94	118,68	8,3	4,08	4,98
PI 673214 *H. porteri*	311,87	151,98	7,5	4,65	4,72
PI 673214	295,2	137,24	7,9	4,18	4,37

H. porteri					
PI 673214					
H. porteri	303,69	134,03	8,3	7,56	8,01
			8±0,4		
PI 468846					
H. praecox	251,17	130,18	7,0	3,84	6,37
PI 468846					
H. praecox	279,63	148,79	6,9	5,26	7,18
PI 468846					
H. praecox	240,28	128,5	6,8	4,06	6,44
PI 468846					
H. praecox	342,19	176,01	7,1	6,05	7,15
			6,95±0,1		
PI 435855					
H. praecox	319,4	164,71	7,1	2,6	3,83
PI 435855					
H. praecox	210,32	111,21	6,9	4,63	5,78
PI 435855					
H. praecox	266,72	134,87	7,2	3,59	6,44
PI 435855					
H. praecox	295,01	159,48	6,8	2,85	3,86
			7±0,2		
PI 435847					
H. praecox	295,42	158,12	6,8	3,21	3,75
PI 435847					
H. praecox	250,87	136,46	6,7	3,38	5,19
PI 435847					
H. praecox	233,38	127,37	6,7	3,71	5,05
			6,73±0,1		
PI 435853					
H. praecox	300,78	154,02	7,1	5,4	9,15
PI 435853					
H. praecox	208,2	110,25	6,9	4,32	5,12
PI 435853	269,17	143,98	6,8	4,14	4,52

H. praecox					
PI 435853					
H. praecox	313,04	163,66	7,0	4,34	5,7
			6,96±0,1		
H. annuus	273,23	147,34	6,8	4,25	5,53
H. annuus	278,88	147,21	6,9	3,62	4,61
H. annus	266,31	144,44	6,7	3,08	3,26
			6,8±0,1		
H. annuus	302,76	163,78	6,7	2,67	6,9
H. annuus	310,69	164,9	6,9	3,5	4,24
H. annuus	287,77	157,59	6,7	3,77	5,33
			6,76±0,1		
H. annuus	276,06	148,63	6,8	4,09	3,98
H. annuus	315,72	164,03	7,0	2,86	4,77
H. annuus	262,32	138,3	6,9	3,08	5,22
			6,9±0,1		
H. annuus	242,26	128,43	6,9	4,67	6,42
H. annuus	283,2	155,37	6,7	3,38	3,67
H. annuus	267,3	140,5	6,9	3,43	4,26
			6,83±0,2		

Çizelge 4.2. Çalışmada incelenen ayçiçeği aksesyonlarının ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri (pg/2C), güven aralıkları ve grupları

						Mean	SD	T^*S_x	Confidence interval			
									lower	upper		
H.neglectus-673249	6,1	5,8	5,9			**5,933**	0,153	0,125	5,808	6,058	a	1. Grup
H.neglectus-435763	6,2	5,8	6	6,2		**6,05**	0,191	0,157	5,893	6,207	a	
H.neglectus-468773	6,2	6,3	6,3	6,4		**6,3**	0,082	0,067	6,233	6,367	b	2. Grup

H.petiolaris fallax-435817	6,3	6,3	6,1	6,2	6,9	**6,36**	0,313	0,256	6,104	6,616	bc	3. Grup
H.petiolaris fallax-468817	6,4	6,5	6,3	6,4		**6,4**	0,082	0,067	6,333	6,467	bc	
H.neglectus-435769	6,8	6,3	6,3	6,4		**6,45**	0,238	0,195	6,255	6,645	bc	
H.petiolaris-468842	6,3	6,4	6,5	6,6	6,5	**6,46**	0,114	0,093	6,367	6,553	bc	
H.petiolaris-592359	6,4	6,7	6,6			**6,566**	0,153	0,125	6,442	6,692	cd	4.grup
H.petiolaris-547210	6,6	6,4	6,6	6,7		**6,575**	0,082	0,067	6,508	6,642	cd	
H.petiolaris-586928	7,1	6,3	6,5	6,5		**6,6**	0,346	0,283	6,317	6,883	cd	
H.petiolaris-613765	6,5	6,5	6,5	6,8	6,8	**6,62**	0,164	0,134	6,486	6,754	cd	
H.petiolaris-597923	6,8	6,6	6,4	6,7		**6,625**	0,171	0,140	6,485	6,765	cd	
H.petiolaris-586931	6,4	6,7	6,4	6,7	7,1	**6,66**	0,288	0,236	6,424	6,896	cd	
H.petiolaris-597924	6,8	6,7	6,6	6,6		**6,675**	0,096	0,078	6,597	6,753	cd	
H.petiolaris-468818	6,9	6,6	6,5	6,4	6,7	**6,62**	0,192	0,157	6,463	6,777	cd	
H.petiolaris-613769	6,9	6,3	6,6	6,7	6,9	**6,68**	0,249	0,204	6,476	6,884	cd	
H.petiolaris-586919	6,5	6,9	6,9	6,5	6,6	**6,68**	0,205	0,168	6,512	6,848	cd	
H.petiolaris-649910	6,7	6,8	6,6	6,7		**6,7**	0,082	0,067	6,633	6,767	d	5.grup
H.petiolaris-586922	6,5	6,9	6,6	6,5	7	**6,7**	0,235	0,192	6,508	6,892	d	
H.petiolaris-503232	6,7	6,9	6,7	6,6		**6,725**	0,126	0,103	6,622	6,828	d	

H.praecox-435847	6,8	6,7	6,7			**6,733**	0,058	0,047	6,686	6,781	d	
H.petiolaris-592355	6,8	6,9	6,7			**6,8**	0,100	0,082	6,718	6,882	d	
H.petiolaris-597922	7,2	6,8	6,9	7	6,8	**6,94**	0,167	0,137	6,803	7,077	de	
H.praecox-468846	7	6,9	6,8	7,1		**6,95**	0,129	0,106	6,844	7,056	de	
H.praecox-435853	7,1	6,9	6,8	7		**6,95**	0,129	0,106	6,844	7,056	de	6.grup
H.praecox-435855	7,1	6,9	7,2	6,8		**7**	0,183	0,149	6,851	7,149	de	
H.bolanderi-673141	6,8	7,3	7,1	7,1	6,9	**7,04**	0,195	0,159	6,881	7,199	de	
H.debilis-649870	7,2	7,3	7,2	7,1	7	**7,16**	0,114	0,093	7,067	7,253	ef	
H.debilis-435654	6,8	7,3	7,3	7,4	7,1	**7,18**	0,239	0,195	6,985	7,375	ef	7.grup
H.petiolaris-586911	7,2	7,1	7	7,3	7,3	**7,18**	0,130	0,107	7,073	7,287	ef	
H.debilis-597908	7,5	7,4	6,9	7,3	7,3	**7,28**	0,228	0,186	7,094	7,466	fg	
H.debilis-613754	7,1	7,2	7,3	7,3	7,4	**7,26**	0,114	0,093	7,167	7,353	fg	
H.debilis-653611	7,6	7,3	7,2	7,3	7,3	**7,34**	0,152	0,124	7,216	7,464	fg	8.grup
H.debilis-613753	7,3	7,3	7,3	7,5		**7,35**	0,100	0,082	7,268	7,432	fg	
H.debilis-468672	7,5	7,4	7,3	7,4		**7,4**	0,082	0,067	7,333	7,467	fg	
H.argophyllus-649863	7,6	7,7	7,9			**7,733**	0,153	0,125	7,608	7,858	h	
H.porteri-649911	7,7	8,2	7,6	7,6	7,9	**7,8**	0,255	0,208	7,592	8,008	h	

H.porteri-673214	8,3	7,5	7,9	8,3		**8**	0,383	0,313	7,687	8,313	h	9.grup
H.argophyllus-490291	8,3	8	8,4	7,7		**8,1**	0,316	0,259	7,841	8,359	h	
H.argophyllus-649865	8,2	8,3	8,1	8		**8,15**	0,129	0,106	8,044	8,256	h	
H.argophyllus-664803	8,2	8,1	8,2			**8,166**	0,058	0,047	8,119	8,214	h	
H.argophyllus-468651	8,3	8,2	8,2	8		**8,175**	0,126	0,103	8,072	8,278	h	
H.porteri-649917	8,6	8,5	8,4			**8,5**	0,100	0,082	8,418	8,582	ı	10.grup
H.anomalus-664638	8,5	8,6	8,4			**8,5**	0,100	0,082	8,418	8,582	ı	
H.niveus-650020	8,6	8,4	8,6	8,4		**8,5**	0,115	0,094	8,406	8,594	ı	
H.niveus-435774	8,4	8,5	8,6	8,6	8,5	**8,52**	0,084	0,068	8,452	8,588	ı	
H.niveus-613758	8,6	8,5	8,4	8,6	8,5	**8,52**	0,084	0,068	8,452	8,588	ı	
H.bolanderi-673280	9,9	9,6	9,6	9,7	9,5	**9,66**	0,152	0,124	9,536	9,784	k	11.grup
H.bolanderi-673294	9,7	9,9	9,5	9,6	9,6	**9,66**	0,152	0,124	9,536	9,784	k	
H.bolanderi-435641	9,6	9,7	9,6	9,6	9,8	**9,66**	0,089	0,073	9,587	9,733	k	
H.exilis-649891	10,3	9,6	9,9	9,7	9,8	**9,86**	0,270	0,221	9,639	10,081	kl	12.grup
H.exilis-649901	9,8	9,9	9,9	9,7	10,2	**9,9**	0,187	0,153	9,747	10,053	kl	
H.exilis-664633	9,8	9,8	10,2	9,9		**9,925**	0,189	0,155	9,770	10,080	kl	
H.anomalus-468638	10,5	10,6	10,5	10,3		**10,47**	0,126	0,103	10,372	10,578	m	

H.deserticola-468702	10,5	10,7	10,7	10,8		**10,67**	0,126	0,103	10,572	10,778	m	13.grup
H.deserticola-649883	10,6	10,8	10,8			**10,73**	0,115	0,094	10,639	10,828	m	
H.anomalus-649861	11,5	11,2	11,3	11,1		**11,27**	0,171	0,140	11,135	11,415	n	14.grup
H.agrestis-673205	23,3	23,4	23,6			**23,43**	0,153	0,125	23,308	23,558	p	15.grup
H.agrestis-468415	23,9	23,4	24,2			**23,83**	0,404	0,330	23,503	24,164	p	

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre ayçiçeği türleri arasında çekirdek DNA içerikleri bakımından gözlenen farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmuş ve ayçiçeği aksesyonları yaklaşık 15 gruba ayrılmıştır.

Çalışmada *H. neglectus* türüne ait 4 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 5.93 ile 6.45 pg arasında değişim göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda 673249 ve 435763 nolu iki aksesyon diğer tüm aksesyonlardan ayrı olarak tek bir grup oluştururken, türe ait 468773 ve 435769 nolu diğer iki aksesyon farklı bir grup içerisinde yer almıştır. Ancak bu grup içerisinde *H. petiolaris* türü içeride en düşük DNA içeriğine sahip bir kaç aksesyon da yer almaktadır.

Çalışmada *H. petiolaris* türüne ait 19 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 6,36 ile 7,18 pg arasında değişim göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda türe ait aksesyonların bir kaç alt gruba sahip büyük bir grup içerisinde yer aldığı gözlenmektedir. *H. petiolaris* aksesyonlarından sadece 586911 nolu aksesyon diğerlerinden tamamen kopmadan *H. debilis* aksesyonları içerisinde yer almıştır.

Çalışmada *H. praecox* türüne ait 4 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri birbirine oldukça benzer olup sadece 6,73 ile 7 pg arasında değişiklik göstermektedir. Türün çekirdek DNA içeriği *H. petiolaris* aksesyonlarının oluşturduğu grup ile bir birine çok yakın DNA içeriğine sahip bir *H.*

*bola*nderi ve tüm *H. debilis* aksesyonlarının oluşturduğu grup arasında yer almaktadır. Çalışmada kullanılan diğer 3 *H. bolanderi* aksesyonu ise 9.66 pg DNA içeriği ile farklı bir grup oluşturmaktadır. Bu grup içerisinde yer alan 3 aksesyon diğer *H. bolanderi* aksesyonundan yaklaşık 2.4 pg daha fazla DNA içermektedir. Bu sonuçta bu tür içerisinde farklı ploidi düzeyine sahip aksesyonların olduğunu ya da bu aksesyonlardan bazılarının yanlış teşhis edildiklerini işaret etmektedir.

Çalışmada *H. debilis* türüne ait 7 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri oldukça benzer olup sadece 7,16 ile 7,4 pg arasında değişim göstermektedir. Türün aksesyonları bir grup içerisinde yer almaktadır.

Çalışmada *H. argophyllus* türüne ait 5 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 7,73 ile 8,175 pg arasında değişim göstermektedir. Türün 649863 nolu aksesyonu 7.73 pg DNA içeriği ile türün birbirine benzer DNA içeriğine sahip diğer 4 aksesyonundan (8.10-8.17 pg) daha düşük DNA içeriğine sahip olmasına rağmen türün tüm aksesyonları tek bir grup içerisinde yer almaktadır.

Çalışmada *H. porteri* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 7,8 ile 8,5 pg arasında değişim göstermektedir. Türün 649911 ve 673214 nolu iki aksesyonu birbirine benzer DNA içeriğine (7.8 ve 8.1 pg) sahip olup, bir grupta yer alırken, türe ait 649917 nolu aksesyon 8.5 pg DNA içeriği ile diğer iki aksesyondan farklı bir grup içerisinde yer almaktadır.

Çalışmada *H. anomalus* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 8,5 ile 11,27 pg arasında değişim gösterirken her bir aksesyon farklı bir grup içerisinde yer almıştır. Tür çekirdek DNA içeriği bakımından en yüksek varyasyona sahiptir. Bu sonuçlar türe ait aksesyonların ya da aksesyonlardan bazılarının türler arası melez veya aneuploid olabileceğini ya da yanlış teşhis edilmiş olabileceğini işaret etmektedir.

Çalışmada *H. niveus* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri bir birine çok benzer olup sadece 8,5 ile 8,52 pg

arasında değişim göstermektedir. Türün üç aksesyonuda 649917 nolu *H. porteri* ve 664638 nolu *H. anomalus* aksesyonları ile birlikte bir grupta yer almıştır.

Çalışmada *H. exilis* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri bir birine oldukça benzer olup sadece 9,86 ile 9,925 pg arasında değişim göstermektedir. Türün tüm aksesyonları tek bir grup içerisinde yer almaktadır.

Çalışmada *H. deserticola* türüne ait 2 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri bir birine oldukça yakın (10,67 ve 10,73 pg) olup, aksesyonlar aynı grup içerisinde yer almıştır.

Çalışmada *H. agrestis* türüne ait 2 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonlar incelenen aksesyonlar arasında en yüksek çekirdek DNA içeriğine sahip iken, aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 23,43 ve 23,83 pg'dır. Aksesyonlar diğer tüm aksesyonlardan farklı bir grup içerisinde yer almıştır.

Çalışmada incelenen *H. annuus, H. agrestis, H. anomalus, H. argophyllus, H. bolanderi, H. debilis, H. neglectus, H. niveus, H. deserticola, H. exilis, H. porteri, H. praecox ve H. petiolaris* türlerinin çekirdek DNA içerikleri tarafımızdan ilk defa belirlenmiştir. Araştırmamızda kullanmış olduğumuz türlerin çekirdek DNA içerikleri, daha önce değişik araştırıcılar tarafından da belirlenmiştir (Sims ve Price, 1985; Baack, EJ, Whitney, KD, Rieseberg, LH., 2005; Kantar, MB, Gregory J.B., Bock D.G., Rieseberg L.H. 2014; Kallamadi ve Mulpuri 2016). Bu türlerin çalışmada belirlenen çekirdek DNA içerikleri ile literatürde yer alan değerleri bir birlerine yakın olmakla birlikte aralarında belirgin farklılıklar bulunmaktadır (Çizelge 4.1). Bu farklılıklar bazı tür ve çalışmaya göre değişiklikler göstermektedir. Bu farklılıkların nedenleri arasında kullanılan aksesyonun, yöntemin ve florasan boyanın farklı olması sayılabilir. Nitekim *Helianthus* cinsi içerisinde yer alan türlerde çekirdek DNA içeriklerinin bitkiden bitkiye göre değiştiği, hatta bazı çalışmalarda aynı bitkinin farklı yapraklarında dahi farklılıklar görüldüğü belirlenmiştir (Baack, 2005; Kantar, 2014), Daha önce yapılmış olan çalışmaların bazılarında farklı yöntem ve florasan boyalar kullanılmıştır (Sims and Price, 1985; Baack , 2005; Kantar vd., 2014; Kallamadi ve Mulpuri 2016). Bunlara ilave olarak çekirdek DNA analizlerinde standart bitkinin kullanılıp kullanılmaması ve kullanıldıysa

standart bitkinin farklı tür olması da bu farklılıkların nedenleri arasında olabilir. Nitekim Sujatha ve Prabakaran (2006), yaptıkları çalışmada flow sitometri kullanmış olmasına rağmen standart kullanmamıştır.

Çalışmada çekirdek DNA analizleri bu gün mevcut olan en yeni ve gelişmiş metot olan flow sitometri ile gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak sonuçların yeterli hassasiyet ve güvenilirlikte olabilmesi için çekirdek DNA analizlerinde muhakkak kullanılması gereken standart ve DNA' yı homojen şekilde boyayan florasan boya (propidium iodide) kullanılmıştır. Bu nedenle ayçiçeği türleri için çalışmada elde edilmiş olan ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri aynı türler için literatürde yer alan değerlerden daha güvenilirdir.

4.2. Ayçiçeği Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçerikleri İle Ploidi Düzeylerinin İlişkilendirilmesi

Flow sitometri ile yapılan ploidi analizlerinde, flow sitometri ile öncelikle ploidisi belirlenecek olan bitkilerin çekirdek DNA içeriği belirlenmektedir. Daha sonra bitkilerin çekirdek DNA içerikleri sahip oldukları kromozom sayıları ile ilişkilendirilmektedir. Kromozom sayımı işleminin aynı cins içerisinde çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren bir bitkide yapılması yeterlidir. Çekirdek DNA içerikleri benzer olan diğer bitkilerinde aynı kromozom sayısına sahip olduğu kabul edilmektedir. Böylece, sadece bir kaç bitkinin kromozomlarını sayarak büyük bir koleksiyon içerisindeki yer alan çok sayıda bitkinin ploidi düzeyi hızlı ve güvenilir şekilde belirlenmektedir.

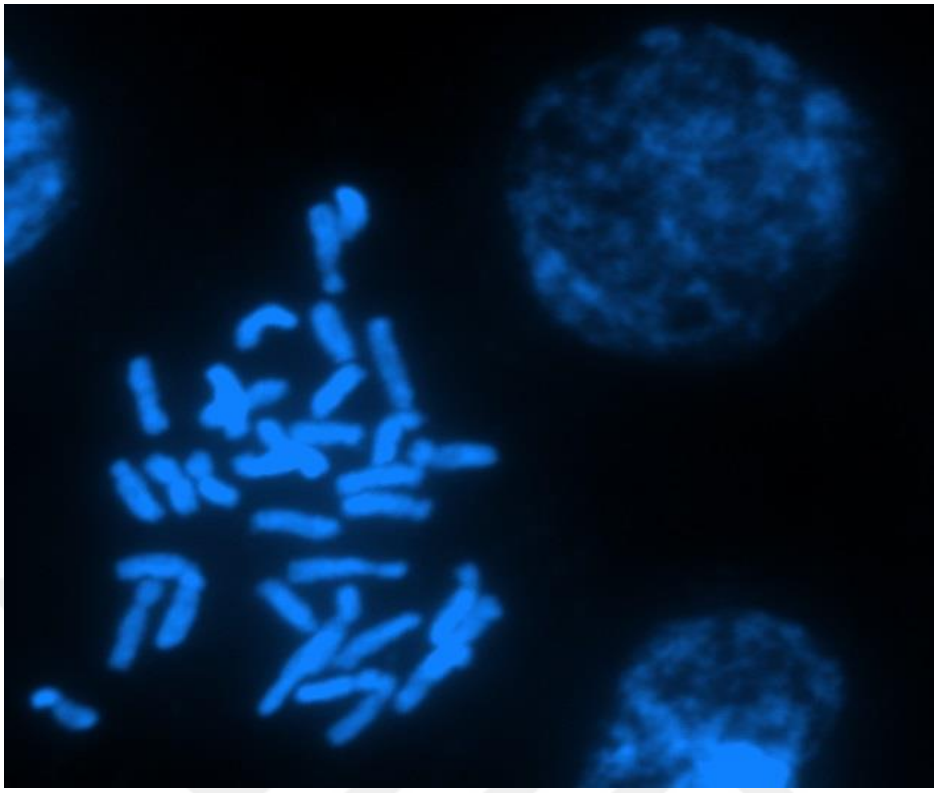
Çalışmada kullanılan 13 ayçiçeği türüne ait toplam 70 aksesyon analiz edilmiştir. İncelenen aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 23,83 pg/2C (PI 468415) ile 5,93 pg/2C (PI 673249) arasında değişim göstermiş olup, aksesyonlar sahip oldukları çekirdek DNA sı bakımından yaklaşık 15 grup oluşturmuştur (Çizelge 4.1. ve 4.2).

Bu nedenle çalışma başlangıcında her türe ait bir (13 bitki) bitkinin mitotik kromozomlarını sayarak türlerin çekirdek DNA içerikleri ile ploidi düzeylerini ilişkilendirmek planlanmıştır. Sitolojik incelemelerde hızlı bölünen ve büyüyen genç kök ucu meristem dokusu elde etmek çok önemli olup, yeterli miktarda bölünmeye sahip olmayan kök uçlarıyla kromozom saymaya elverişli preparat yapmak mümkün değildir.

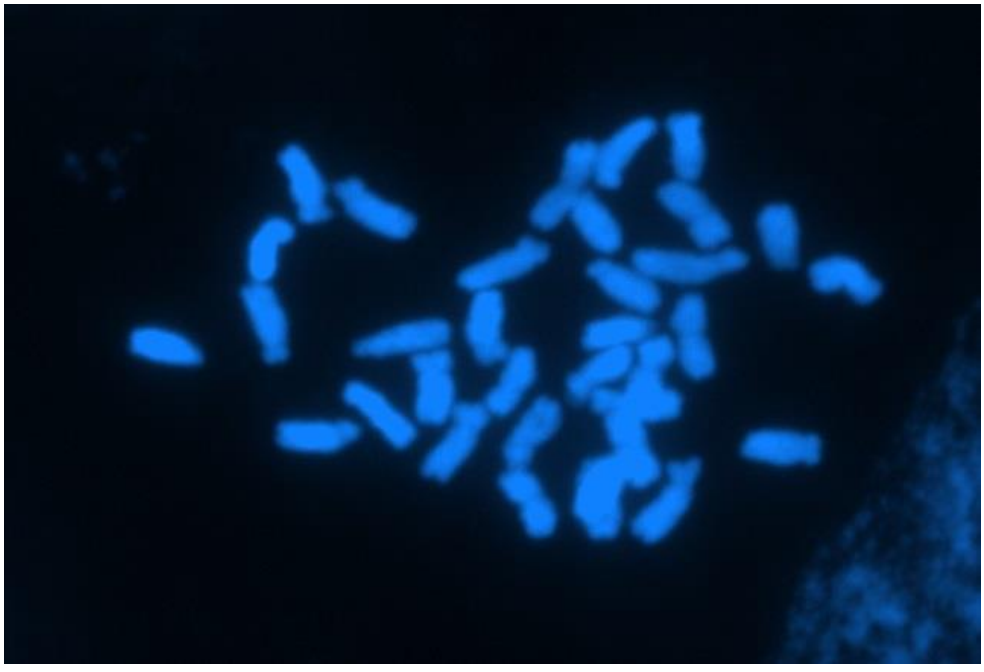
Çalışma süresince kullanılan tüm türlerden kök ucu elde etmeye çalışılmıştır. Ancak çimlenmeden kaynaklanan sıkıntılardan dolayı mevcut onüç türden sadece iki türe (*H. argophyllus* ve *H. anomalus)* ait üç aksesyonun (PI 490291, PI 649865 ve PI 468638) bitkilerinden sitolojik incelemelere uygun kök ucu elde edebildiğimiz için kromozom sayımı sadece bu üç aksesyon üzerinde yapılabilmiştir. Bu iki tür dışında kalan on bir türün ploidi düzeyleri daha önceden yapılan çalışmalardaki ploidi düzeyleri dikkate alınarak yazılmıştır (Sims and Price, 1985; Baack, 2005; Kantar, 2014; Kallamadi ve Mulpuri 2016).

Yapılan sitolojik incelemelerde ortalama çekirdek DNA içeriği 8.10 ve 8.15 pg/2C olan *H. argophyllus* türüne ait her iki aksesyonun ve 10.47 pg/2C olan *H. anamolus* aksesyonunun 2n = 2X = 34 kromozoma sahip oldukları ve her üç aksesyonunda diploid olduğu saptanmıştır. Aksesyonların mitotik kromozomlarının sayıldığı hücrelerin sahip olduğu mitotik kromozomlarının görünüşleri aşağıdaki resimlerde görülmektedir (Çizelge 4.2.).

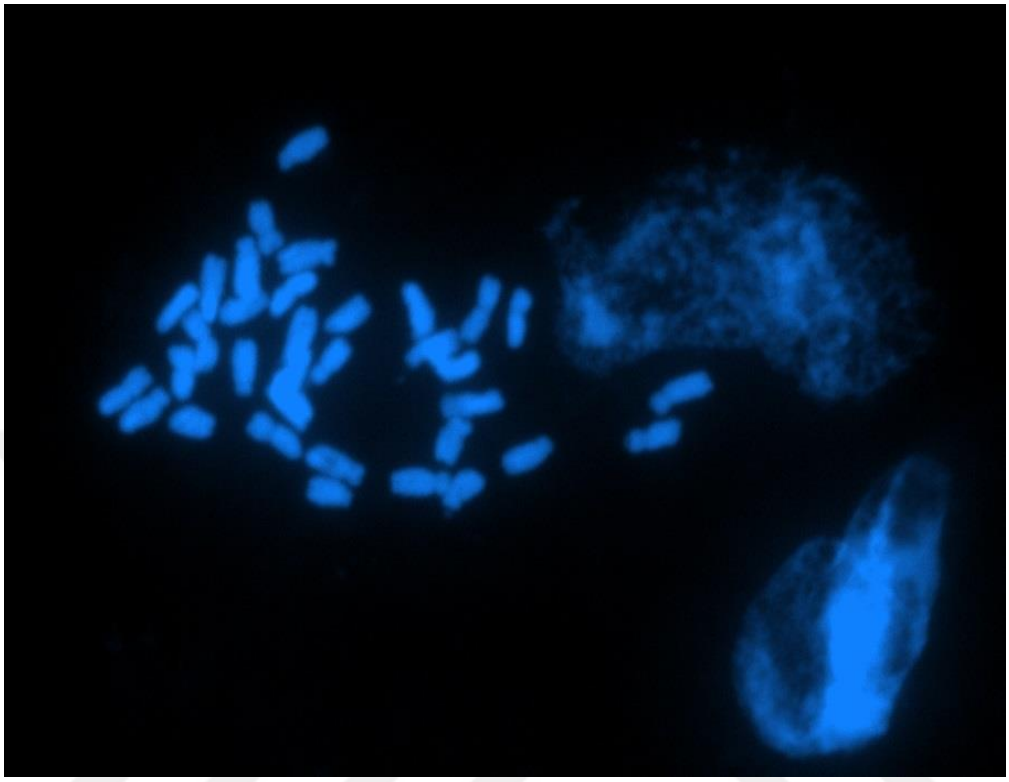
Türlerin çalışmada belirlenmiş olan kromozom sayıları ile literatürde yer alan kromozom sayıları aynı olup bir birini teyit etmektedir (Sims and Price.1985; Baack 2005; Kantar, 2014; Kallamadi ve Mulpuri 2016).



Şekil 4.1. Diploid (2n=34), PI 490291 *H. argophyllus*'a ait mitoz kromozomların görünümü



Şekil 4.2. Diploid (2n=34), PI 649865 *H. argophyllus'*a ait mitoz kromozomların görünümü



Şekil 4.3. Diploid (2n=34), PI 468638 *H. anomalus'*a ait mitoz kromozomların görünümü

Çizelge 4.3' de önceki çalışmalarda elde edilen ayçiçeği türlerinin ortalama çekirdek DNA içerikleri ile bu çalışmada ölçülen ortalama çekirdek DNA içerikleri verilmiştir. Çizelgeden de anlaşılacağı üzere,

Çizelge: 4.3. Daha önceki çalışmalarda elde edilen ortalama çekirdek DNA içeriği (2C/pg) çalışmasındaki ortalama çekirdek DNA içeriklerinin (2C/pg) karşılaştırılması

Tür adı	Kromozom sayısı (2n)	Belirlenen ploidi	Önceki çalışmalarda elde edilen ortalama çekirdek DNA içerikleri (2C/pg)	Çalışmada elde ettiğimiz ortalama çekirdek DNA içerikleri (2C/pg)
H. annuus	34	2x	6,8 [f]	6,825
H. deserticola	34	2x	9,8 [f]	10,7

H. exilis	34	2x	8,8 [f]	9,892
H. praecox	34	2x	6,0 [f]	6,92
H. agrestis	34	2x	25,9[m]	23,6
H. annuus	34	2x	7,4 [f]	6,825
H. anomalus	34	2x	11,52 [f]	10,2
H. argophyllus	34	2x	8,86 [m]	8,1
H. bolanderi	34	2x	8,8 [m]	9,0
H. debilis	34	2x	6,6 [m]	7,3
H. deserticola	34	2x	11,28 [f]	10,7
H. exilis	34	2x	9,6 [m]	9,892
H. neglectus	34	2x	6,4 [m]	6,2
H. niveus	34	2x	7,3 [m]	8,5
H. petiolaris	34	2x	6,88 [f]	6,7
H. praecox	34	2x	7,06 [m]	6,92
H. porteri	34	2x	7,56 [m]	7,4

(m: mikrospektrofotometri, f: flow sitometri)

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada flow sitometri ile 13 ayçiçeği türüne ait 70 ayçiçeği aksesyonunun çekirdek DNA içeriği ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmış olup, flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda çalışmada kullanılan 70 ayçiçeği aksesyonuna ait bitkilerin 2C çekirdek DNA içerikleri 24,232 pg/2C (PI 468415) ile 5,820 pg/2C (PI 435763) arasında değiştiği saptanmıştır. Bununla birlikte çalışmada kullanılan ayçiçeği türlerinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriğinin 23,833 pg/2C (PI 468415) ile 5,93 pg/2C (PI 673249) arasında değiştiği sonucuna varılmıştır. Çalışmada, doğru ve güvenilir bir yöntemle dünyada ilk defa ayçiçeğinin DNA içerikleri belirlenmiştir.

Yapılan analizlerde CV değerlerinin düşük olması analizlerin hassasiyet derecesini göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu türler arasındaki çekirdek DNA içeriği farklılıklarının istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir. Türler çekirdek DNA içeriklerine göre yaklaşık 15 gruba ayrılmıştır. Bazı türlerin aksesyonları oldukça benzer çekirdek DNA içeriğine sahip iken, diğer bazı türlerin aksesyonları arasında nispeten daha büyük farklılıklar gözlenmiştir. Bu nedenle bazı türler çekirdek DNA içeriği bakımında düşük diğerlerinin ise yüksek bir varyabiliteye sahip oldukları anlaşılmaktadır. Ayrıca türün etrafında bulunan başka bir yabani tür ile tozlaşması sonucu tür karışıklığı olabileceği gibi türün yanlış teşhis edilmiş olması da mümkündür.

Çalışmada kromozomları sayılan her iki türde de 2n=2X=34 kromozom sayılmış ve türlerin diploid olduğu belirlenmiştir. Sitolojik incelemelere uygun kök ucu elde edemediğimiz diğer türlerin ploidi düzeyleri daha önceden yapılmış çalışmalardan yola

çıkılarak, 2n=2X=34 kromozom olarak teyit edilmiş olup, çalışmada kullanılan 13 türün tamamınında diploid olduğu belirlenmiştir.

Sonuç, olarak uygun yöntem, florasan boya, standart ve örnek hazırlama tekniği kullanmak suretiyle flow sitometri ile yapılmış çekirdek DNA analizi sonucu elde edilmiş çekirdek DNA bilgisi; cinsin içerisinde yer alan türlerin taksonomik teşhisi, sınıflandırılması, ploidi analizi, genom yapısı, ilişki ve evrimlerinin incelenmesi, ıslah programları ve türler arası melezlerde hibritlerin teşhisinde yararlı olacağı saptanmıştır. Flow sitometri yönteminin özellikle ıslah programlarında ve taksonomik çalışmalarda morfolojik incelemelerle saptanamayacak tür karışılıklarının saptanması ve türde heterojen yapıda olan bireylerin belirlenmesi açısından büyük kolaylıklar sağlayacağı ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

Baack, EJ, Whitney, KD, Rieseberg, LH. (2005). Hybridization and genome size evolution: timing and magnitude of nuclear DNA content increases in *Helianthus* homoploid hybrid species, *New Phytol*, *167*, 623-30.

Bennett M. D. and Smith J. B. (1995), Nuclear DNA amounts in angiosperms, *Annals of Botany, 76,* 2, , 113-176

Bennett, MD., Leitch, IJ. (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany, 113*-176.

Kallamadi, P., Mulpuri, S. (2016). Ploidi analysis of Helianthus species by flow cytometry and its use in hybridity confirmation. *Nucleus 59*, 123-130

Kantar, MB, Gregory J.B., Bock D.G., Rieseberg L.H. (2014). Genomic variation in Helianthus: learning from the past and looking to the future, *Briefing in Functional Genomics, 13*(4), 328-340.

Karp A., 1991. *Cytological techniques. (Ed: K. Lindsey), Plant Tissue Culture Manual.*, Dordrecht, the Netherlands: Kluwer. *4*, 1- 13

Kaya, Y., Jocic, S. Miladinovic, D. (2012). Sunflower. In S. K. Gupta (Ed.) *Technological Innovations in Major World Oil Crops, 1*, 85-129.

Kaya, Y. (2014). Sunflower. Ed: Pratap A. and Kumar J., Alien Gene Transfer in Crop Plants 281-315. Newyork: Springer Press,.

Kaya, Y. (2015, Mayıs). *Potential Uses of Helianthus Genetic Diversity for Breeding Purposes in Sunflower*. International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering (IICBEE 2015) konferansında sunulan bildiri (s.91). Singapore.

Kaya, Y., I. Balalic, V. Miklic. (2015). Eastern Europe Perspectives on Sunflower Production and Processing. N. Dunford, E. M. Force (Ed) Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization. 710 pages. AOCS (American Oil Chemistry Society. 575-638.

Kaya, Y. (2016). Sunflower. In: Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production (s.55-88). Ed. S. Gupta, 1st Edition. *Elseiver Press.* .

Loureiro J., Rodriguez E., Costa A., Santos C. (2007). Nuclear DNA content estimations in wild olive *(*Olea europaea *L. ssp.* europaea *var.* sylvestris *Brot.)* and Portuguese cultivars of O. *europaea* using flow cytometry. Genetic Resources and Crop Evolution.*54*, 21–25.

Loureiro J., Kopecký D., Castro S., Santos C., Silveira P. (2007). Flow cytometric and cytogenetic analyses of Iberian Peninsula *Festuca* spp., *Plant Systematics and Evolution*, *269*(1–2), 89–105.

Loureiro, J., P., Trávníček, J., Rauchová, T., Urfus, P., Vít, M., Štech, S., Castro, J. Suda. (2010). The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. *Preslia 82,* 3–21.

Michaelson, MJ, Price, HJ, Johnston, JS, Ellison, JR. (1991). Variation of nuclear DNA content *in* Helianthus annuus (Asteraceae). *American Jornal of Botany. 78*, 1238–1243.

Ohri D., 1998. Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany, 82,* 750-812

Price, HJ., Morgan, PW., Johnston, JS. (1998). Environmentally correlated variation in 2C nuclear DNA content measurements in Helianthus annuus *L. Annals of Botany, 82*, 95–98.

Parlar E. (2017). *Laurus nobilis bitkisinde flow sitometri yöntemi ile cinsiyet tayini,* Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ.

Rayburn, AL, Auger, JA., Benzinger, EA., Hepburn, AG. (1989). Detection of intraspecific DNA content variation in Zea mays L. By flow cytometry. *Journal of Experimental Botanic. 40,* 1179-1183

Sims, LE, Price, HJ. (1985). Nuclear DNA content variation in Helianthus *(Asteraceae). American Jornal of Botany, 72,* 1213-1219.

Stell, RGD., Torrie, J. H.(1960). *Principles and procedures of statistic* (s. 481). New York: McGraw-Hill Book Company.

Sujatha, M., Prabakaran, AJ. (2006). Ploidi manipulation and introgression of resistance to *Alternaria helianthi* from wild hexaploid *Helianthus* species to cultivated sunflower (*H. annuus* L.) aided by anther culture. *Euphytica.152*, 201–215.

Teykin, E. E. (2011). *Flow Sitometri ile Bromus catharticus vahl Aksesyonlarinin Çekirdek DNA İçeriklerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Namık Kemal Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Tuna, GS., Keleş, H., Göçmen, D, Güleryüz, V, Nizam, İ., Evre, C, Tuna, M. (2016). Flow Sitometri ile Çok Yıllık Buğdaygil Yem Bitkisi Genetik Kaynaklarının Karakterizasyonu. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(Özel sayı-2), 7-12:

Tuna, M., Cabi, E. (2014a). Bazı Buğdaygil Yem Bitkisi Türlerine Ait Populasyonların Çekirdek DNA Içeriklerinin Flow Sitometri Yöntemiyle Belirlenmesi Ve Ploidi Analizi ile Tür Teşhisinde Kullanımı. http://acikerisim.nku.edu.tr:8080/xmlui/handle/20.500.11776/2119. Erişim tarihi:04.09.2019.

Tuna, M. (2014b*)*. Flow sitometri ve tarımsal araştırmalarda kullanımı. II. Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda kullanımı Eğitim Programı. Tekirdağ.

Tuna, M. (2009). Bitkilerde Çekirdek DNA İçeriğinin Flow Sitometri İle Belirlenmesi ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanım Alanları. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt I, Sunulu Bildiriler, *683*-687, 19-22 Ekim, Hatay.

Tuna, M., Teykin, E., Buyukbasar, A. (2007). *Nuclear DNA Content and Ploidi Determination of Dactylis Germplasm Accessions Using Flow Cytometer*. Eucarpia Conference, Proceedings of XIXth Congress of Fodder Crops and Amenity Grasses, Kopenhag, Denmvd.

Tuna, M., Khadka, DK., Shrestha, MK., Arumuganathan, K., Golan–Goldhirsh, A. (2004). Charecterization of Natural Orchardgrass Populations of Thrace of Turkey Based on Ploidi and DNA Polymorhphisms. *Euphytica, 88*, 25-34.

Tuna, M., Vogel, KP., Arumuganathan, K., Gill, KS. (2001). *DNA* Content and Ploidi Determination of Bromegrass Germplasm Accessions by Flow Cytometery. *Crop Science, 41*, 1629-1634,

Yavaş, Ö. (2007). *Flow Sitometri İle Bazı Ispanak Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçeriklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi. NKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.

ÖZGEÇMİŞ

17.09.1985 tarihinde Edirne' nin Uzunköprü ilçesinde doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini Uzunköprü'de Atatürk İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Lüleburgaz Kepirtepe Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladıktan sonra İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi İlköğretim Matematik Öğretmenliği bölümünde lisans öğrenimini yapmıştır. 2009 yılında kadrolu öğretmen olarak göreve başlamıştır.

2014 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. Şu anda Çorlu Ortaokulu'nda Matematik Öğretmeni olarak görev yapmaktadır.