T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKIŞ SİTOMETRİ YÖNTEMİYLE YABANİ AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNDE ÇEKİRDEK DNA İLE PLOİDİ ANALİZİ VE OROBANŞA DAYANIM İÇİN SEÇİCİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI

MÜGE KOÇ

DOKTORA TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. YALÇIN KAYA

EDİRNE- [2022]

MÜGE KOÇ'un hazırladığı "**AKIŞ SİTOMETRİ YÖNTEMİYLE YABANİ AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNDE ÇEKİRDEK DNA İLE PLOİDİ ANALİZİ VE OROBANŞA DAYANIM İÇİN SEÇİCİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı**nda bir **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad): İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ

Prof. Dr. Metin TUNA

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN

Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA

Tez Savunma Tarihi: 12 /01 /2022

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA
Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK DOKTORA 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.

12/01/2022

MÜGE KOÇ

Doktora Tezi
Akış Sitometri Yöntemiyle Yabani Ayçiçeği Türlerinde Çekirdek DNA ile Ploidi Analizi ve Orobanşa Dayanım İçin Seçici Moleküler Markırların Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Ülkemizde yağlı tohum üretimi yeterli olmayıp, bu eksiklik yüksek oranda döviz ödeyerek ithalatla giderilmektedir. En önemli yağ bitkisi olan ayçiçeğinde verim ve kaliteyi etkileyen en önemli etkenlerden biri de orobanş parazitidir. Ülkemizin hemen hemen tüm ekim alanlarında giderek yaygınlaşmakta olan orobanş paraziti, sürekli yeni ırklar meydana getirerek genetik dayanıklılığı kırmaktadır. Bundan dolayı yeni geliştirilecek ayçiçeği hibritlerinin orobanşa dirençli olması gereklidir. Yabani ayçiçeği türleri orobanşın yeni ırklarına dayanıklı pek çok gen kaynağına sahiptir. Bu direnç genlerinin kültür ayçiçeğine aktarılması devamlı bir dayanıklılık için çok önemlidir. Islah çalışmalarında moleküler metotların kullanılması, hem etkin ve doğru bir seleksiyon, hem de çalışmalara zaman tasarrufu sağlayarak ıslah süresini kısaltmaktadır. Ülkemizde özellikle de orobanşa dayanıklılık konusunda ayçiçeğinde moleküler markırlarla ilgili araştırmaların sayısı oldukça azdır.

Markır analizleri için dayanıklı ve hassas ebeveyn hatlar ile bunların melezlenmesi sonucu elde edilen F2 genotipler kullanılmıştır. Dayanıklı ve hassas F2 genotiplere ait gDNA'lar eşit miktarda bir araya getirilerek dayanıklı F2 bulk (DB) ve hassas F2 bulk (HB)'lar oluşturulmuştur. Tez çalışması için bölgedeki orobanş ırklarına dayanıklılık sağlayan *Or5* geni hedef alınmış, literatürde bu gen ile bağlantı gösteren ve seleksiyon için kullanılabilir olduğu ifade edilen markırlar seçilmiştir. Bunun yanısıra çeşitli bitkilerin dayanıklılık genlerinden geliştirilen 48 markırıda bu amaçla kullanılmıştır. Yabani türlerden önce bu melezlenmiş ve kendilenmiş ayçiçeği hatlarında markır araştırması yapılmış, fakat orobanş dayanımının seleksiyonda kullanılabilir bir

markır tespit edilememiştir. Bu nedenle yabani ayçiçeği türlerinde, orobanşa dayanıklılıkla ilgili moleküler markır taraması kapsamında bir uygulama yapılamamıştır. Moleküler markır çalışmasında başarı sağlanamaması, fenotipik analizlerde kullanılan orobanş parazitinin saf bir ırk olmayıp popülasyon olarak kullanılmasına bağlanmıştır.

Moleküler markır çalışmalarıyla birlikte, çekirdek DNA analiz ve ploidi düzeylerini belirlemek için akış sitometrisi kullanılmıştır. Araştırmamızda kullanılan tür ve alt türlerle birlikte 52 yabani ayçiçeği (*Helianthus spp.*) aksesyonu Amerika'da Ames, IA, USA'da bulunan Kuzey Merkez Bölge İstasyonu'ndan alınmıştır. Akış sitometrisi ile çekirdek DNA içerikleri (bazıları ilk kez) ve ploidi düzeylerini belirleyerek aksesyonların tür farklılıkları gözlenmiştir. Çalışmada örnekler genç ve sağlıklı bitkilerden alınan taze yaprak dokuları, floresan boya olarak propidium iodide ve internal standard olarak fiğ bitkisi kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen verilere göre; çekirdek DNA içerikleri sonuçlarındaki değişimlerin yabani ayçiçeği türlerinin istatistiki olarak önem taşıdığı belirtilmiştir. Kullanılan yabani ayçiçeği türlerinin 2C çekirdek DNA içerikleri 5.72 pg (*H.porteri*) ile 27.11 pg (*H.tuberosus*) arasında değişim göstermiştir. Tezde kullanılan türlerden daha önce çalışılmış olan türlerde yapılan DNA içerik sonuçları benzerlik göstermiştir. Bu çalışmada daha önceki çalışmalarda olmayan birçok yeni türün çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri ilk kez belirlenmiştir. Yapılan literatür araştırmaları ve kromozom sayılarına göre 52 yabani türün yaklaşık %78'inin (41 tür) (15 Tek yıllık, 26 çok yıllık) diploid (2n) oldukları ortaya konulmuştur. Çalışılan diğer %12'lik türlerin ise ploidi düzeyleri farklılık göstermiştir. 3 türün tetraploid (4n), 8 türün hekzaploid (8n) olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda akış sitometrisi analizinin, ıslah ve taksonomik denemelerde morfolojik gözlemlerle zor olan tür karışıklıklarının tespit edilmesinde ve heterojen yapıda olanların belirlenmesinde kullanılabileceği ortaya çıkmıştır.

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 207

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, Yabani ayçiçeği, Orobanş, Moleküler Markır, Flow Sitometri.

PhD Thesis

Nuclear DNA Ploidy Analysis in Wild Sunflower Species by Flow Cytometry and Investigation of Selective Molecular Markers for Orobanche Resistance

Trakya University, Institute of Natural and Applied Sciences

Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Oilseed production is not sufficient for Turkey, and this deficiency is compensated by importing with paying a high rate of foreign currency. One of the most important factor affecting the yield and quality of sunflower which is the most important oil plant in Turkey, is the broomrape parasite. *Orobanche* parasite which is becoming more and more common in almost all cultivation areas of our country with breaking the genetic resistance by constantly creating new races, so new developed sunflower hybrids must be resistant to broomrape. Wild sunflower species have many sources of genes resistant to new races of broomrape. The transferring of these resistance genes to the cultivated sunflower is so great issue for obtaining a continuous resistance in sunflower production. The use of molecular methods in the breeding studies shortens the breeding period by providing an effective and accurate selection, as well as saving time. In Turkey, the number of studies on molecular markers in sunflower is quite low especially for obtaining resistance breeding.

Resistant and sensitive parent lines and F2 genotypes obtained by crossing them were used for marker analysis in our study. Resistant F2 bulk (DB) and sensitive F2 bulk (HB) were formed by combining gDNAs belonging to resistant and sensitive F2 genotypes in equal amounts. For the thesis study, the *Or5* genes, which provides resistance to the *orobanche* races in the region, was targeted and the markers that showed a connection with this gene and were stated to be usable for selection were selected in the literature. In addition, the 48 markers developed from the resistance genes of various plants were used fort his purpose. Marker research was carried out in these hybridized and inbred sunflower lines before wild species to obtain a usable selection of *orobanche* resistance but any suitable marker could not be detected in the study. Therefore, the

molecular markers could not be performed within the scope of molecular marker screening related to resistance to *orobanche* in wild sunflower species. The failure to success in the molecular marker study was attributed to the fact that the broomrape parasite used in phenotpic analysis was not a pure race and was used as a population.

Along with molecular marker studies, core DNA analysis and flow cytometry were used to determine ploidy levels. 52 wild sunflower (*Helianthus* spp.) accessions along with the species and subpecies used in our study obtained from the North Central Regional Plant Introduction Station in Ames, IA, USA. It is to determine the core DNA contents by flow cytometry (some of them for the first time) and ploidy levels were determined by determining the type differences of the accessions. In the study, the samples were prepared using fresh leaf tissues from young and healthy plants, propidium iodide as fluorescent dye and vetch plant as internal standart. According to the research data, the changes between the core DNA contents of sunflower species were determined statistically significant. The 2C core DNA contents of wild sunflower species used varied between 5.72 pg (*H. porteri*) and 27.11 pg (*H. tuberosus*). The DNA content result of the previously studied species from the species used in the thesis were similar. In this study, nuclear DNA contents and ploidy levels of many new species that were not present in the previous studies were determined for the first time. According to the obtained results, it was revealed that approximately 78% (41 species) of 52 wild species (15 annual, 26 perennial) were diploid (2n). The ploidy levels of the other 12% studied species differed that 3 species were tetraploid (4n) and 8 species were hexaploid (8n). It has been stated that flow cytometry analysis could be used in breeding and taxonomic studies to detect species confusions that are difficult with morphological observations and to identify heterogeneous ones.

Year : 2022
Number of Pages : 207
Keywords: Sunflower, Wild Species, Orobanche, Molecular Markers, Flow Cytometry

TEŞEKKÜR

2016 yılında, Trakya Üniversitesi'nde başladığım doktora eğitiminden bu yana bugünlere gelmemde büyük emeği olan; her konuda desteğini hissettiğim, engin bilgi birikimi ve derin tecrübelerini sabırla ve sevgiyle paylaşan; bilime karşı olan ilgisini ve azmini kendime örnek edindiğim, çok değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Yalçın KAYA'ya (Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı) en derin minnet ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Bilimsel katkılarıyla bana ışık tutan sabırla bana yol gösteren sayesinde moleküler bilgimi arttıran sevgili hocam Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ'ye (Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), flow sitometri anlamında bir bilgi bankası olan Prof. Dr. Metin TUNA'ya (Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi) ve Dr. Öğretim Üyesi Mehmet YABAŞ'a teşekkür ederim. Gerek tez izleme komitesi, gerek tez savunmamda jüri olan desteğiyle beni yalnız bırakmayan değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Hayati ARDA'ya çok teşekkür ederim. Tez yeterlilik ve savunma jürisinde bana destek olan Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN hocama çok teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarımda bana yardım eden değerli çalışma arkadaşlarım Öğr. Gör. Emrah AKPINAR ve Arş. Gör. Burak TATLISES'e tüm yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Çalışmam boyunca göstermiş oldukları manevi destekleri ile her zaman yanımda olduklarını hissettiğim çok sevgili ve hayattaki vazgeçilmez desteğim çok sevdiğim aileme ve eşim Onur KOÇ' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi ve Bulgaristan ile ikili iş birliği TÜBİTAK 119O218 numaralı projesi ile desteklenmiştir. Bu proje ile bana maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a ve tüm yetkililerine teşekkür ederim

Müge KOÇ 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT vi
TEŞEKKÜR viii
İÇİNDEKİLER ix
SİMGELER DİZİNİ xiii
KISALTMALAR DİZİNİ xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ xxiv
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 6
GENEL BİLGİLER 6
2.1.Ayçiçeğinin (*Helianthus annuus*) Genel Özellikleri 6
2.2.Yağlık Ayçiçeğinin Dünyadaki Durumu 7
2.3.Ülkemizde Yağlık Ayçiçeğinin Mevcut Durumu 9
2.4.Yabani Ayçiçeğinin Genel Özellikleri 11
2.5. Yabani Ayçiçeğinde Tür Tayini 12
2.6. Yabani Ayçiçeğini Koruma Girişimleri 15
2.7. Orobanş (*Orobanche* spp.) (Canavar Otu) Genel Özellikleri 17
2.8. Orobanşın Ayçiçeğinde Meydana Getirdiği Zararlar ve Türkiye'deki Durumu 20
2.9. Moleküler Markırlar 25
2.10. Akış Sitometrisi (Flow Sitometri) 27
BÖLÜM 3 30
KAYNAK ARAŞTIRMASI 30
3.1. Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*) Markır Çalışmaları 30
3.2. Ayçiçeğinde Orobanş Irkı ile İlgili Çalışmalar 32
3.3. Yabani Ayçiçeğinde Markır Çalışmaları 36
3.4. Yabani Ayçiçeğinde Akış Sitometrisi Çalışmaları 42
BÖLÜM 4 46
MATERYAL VE YÖNTEM 46

4.1. Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi 46
4.2. Moleküler Markır Analizleri 46
4.2.1. Homojenizasyon 47
4.2.2. Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu 47
4.2.3. DNA Miktar ve Kalite Tayini 50
4.2.4. Agaroz Jel Elektroforez Sistemi ve Jel Görüntüleme 50
4.2.5. *Or5* Geni İçin Markır Çalışmaları 50
4.2.6. PCR Ürünlerinin Kapiller Elektroforezde Analizi 56
4.2.7. Akış Sitometrisi ile Çekirdek DNA Analizi 56
BULGULAR 61
5.1. *Or5* Geni için Kullanılan Markırların Sonuçları 61
5.1.1. RGA172 Markırı 61
5.1.2. RGA181 Markırı 63
5.1.3. RGA192 Markırı 64
5.1.4. RGA206 Markırı 65
5.1.5. ORS1036 Markırı 66
5.1.6. ORS665 Markırı 67
5.1.7. ORS1021 Markırı 68
5.1.8. ORS1114 Markırı 69
5.1.9. RGA P1-P15 Primer Kombinasyonu 70
5.1.10. RGA P8-P10 Primer Kombinasyonu 71
5.1.11. RGA P17-P3N Primer Kombinasyonu 72
5.1.12. RGA S2.INV-AS3 Primer Kombinasyonu 73
5.1.13. RGA Ptokin1-S2(Ploop) Primer Kombinasyonu 74
5.1.14. RGA NBS f1-NBS r1 Primer Kombinasyonu 75
5.1.15. RGA Ptokin 1 – AS1.INV Primer Kombinasyonu 76
5.1.16. RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 Primer Kombinasyonu 77
5.1.17. RGA Ptokin 4 – XLRR. R Primer Kombinasyonu 78
5.1.18. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS Primer Kombinasyonu 79
5.1.19. RGA Ptokin 1 – PtoFen. S Primer Kombinasyonu 80
5.1.20. RGA S2.INV – RLRR. R Primer Kombinasyonu 81
5.1.21. RGA S2.INV – XLRR.R Primer Kombinasyonu 82
5.1.22. RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r Primer Kombinasyonu 83
5.1.23. RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r Primer Kombinasyonu 84

5.1.24. RGA NBS. f1 – LDD. AS Primer Kombinasyonu 85
5.1.25. RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r Primer Kombinasyonu 86
5.1.26. RGA Ptokin 4 – S2.INV Primer Kombinasyonu 87
5.1.27. RGA PtoFen.S – S2.INV Primer Kombinasyonu 88
5.1.28. RGA S2.INV – NLRR.INV Primer Kombinasyonu 89
5.1.29. RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f Primer Kombinasyonu 90
5.1.30. Diğer Markırlar 91
5.2.Yabani Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek DNA Analiz Sonuçları 95
5.2.1. *H. agrestis*'in Çekirdek DNA Miktarı 95
5.2.2. *H. annuus*'un Çekirdek DNA Miktarı 97
5.2.3. *H. argophyllus*'un Çekirdek DNA Miktarı 98
5.2.4. *H. atrorubens*'in Çekirdek DNA Miktarı 99
5.2.5. *H. bolanderi*'nin Çekirdek DNA Miktarı 100
5.2.6. *H. californicus*'un Çekirdek DNA Miktarı 101
5.2.7. *H. ciliaris*'in Çekirdek DNA Miktarı 102
5.2.8. *H. cusickii*'nin Çekirdek DNA Miktarı 103
5.2.9. *H. debilis* subsp. *cucumerifolius'un* Çekirdek DNA Miktarı 104
5.2.10. *H. debilis* subsp. *silvestris* Çekirdek DNA Miktarı 105
5.2.11. *H. decapetalus*'un Çekirdek DNA Miktarı 106
5.2.12 *H. divaricatus*'un Çekirdek DNA Miktarı 107
5.2.13. *H. eggertii*'nin Çekirdek DNA Miktarı 108
5.2.14. *H. exilis*'in Çekirdek DNA Miktarı 109
5.2.15. *H. floridanus*'un Çekirdek DNA Miktarı 110
5.2.16. *H. giganteus*'un Çekirdek DNA Miktarı 111
5.2.17. *H. glaucophyllus*'un Çekirdek DNA Miktarı 112
5.2.18. *H. gracilentus*'un Çekirdek DNA Miktarı 113
5.2.19. *H. grossesseratus*'un Çekirdek DNA Miktarı 114
5.2.20. *H. hirsutus*'un Çekirdek DNA Miktarı 115
5.2.21. *H. laciniatus*'un Çekirdek DNA Miktarı 116
5.2.22. *H. laevigatus*'un Çekirdek DNA Miktarı 117
5.2.23. *H. laetiflorus*'un Çekirdek DNA Miktarı 118
5.2.24. *H. longifolius*'un Çekirdek DNA Miktarı 119
5.2.25. *H. maximilliani*'nin Çekirdek DNA Miktarı 120
5.2.26. *H. mollis*'in Çekirdek DNA Miktarı 121

5.2.27. *H. nuttalli*'nin Çekirdek DNA Miktarı 122
5.2.28. *H. nuttallii* subsp. *nuttallii*'nin Çekirdek DNA Miktarı 123
5.2.29. *H. nuttalii* subsp. *rydbergi*'nin Çekirdek DNA Miktarı 124
5.2.30. *H. occidentalis*'in Çekirdek DNA Miktarı 125
5.2.31. *H. occidentalis* subsp. *occidentalis*'in Çekirdek DNA Miktarı 126
5.2.32. *H. occidentalis* subsp. *plantagineus*'un Çekirdek DNA Miktarı 127
5.2.33. *H. paradoxus*'un Çekirdek DNA Miktarı 128
5.2.34. *H. pauciflorus* subsp. *pauciflorus*'un Çekirdek DNA Miktarı 129
5.2.35. *H. pauciflorus* subsp. *subrhomboideus* Çekirdek DNA Miktarı 130
5.2.36. *H. petiolaris*'in Çekirdek DNA Miktarı 131
5.2.37. *H. petiolaris* subsp. *petiolaris*'in Çekirdek DNA Miktarı 132
5.2.38. *H. porteri*'nin Çekirdek DNA Miktarı 133
5.2.39. *H. praecox*'un Çekirdek DNA Miktarı 134
5.2.40. *H. praecox* subsp. *hirtus* Çekirdek DNA Miktarı 135
5.2.41. *H. praecox* subsp. *praecox* Çekirdek DNA Miktarı 136
5.2.42. *H. praecox* subsp. *runyonii'*nin Çekirdek DNA Miktarı 137
5.2.43. *H. pumilus*'un Çekirdek DNA Miktarı 138
5.2.44. *H. radula*'nın Çekirdek DNA Miktarı 139
5.2.45. *H. resinosus*'un Çekirdek DNA Miktarı 140
5.2.46. *H. salicifolius*'un Çekirdek DNA Miktarı 141
5.2.47. *H. silphioides*'in Çekirdek DNA Miktarı 142
5.2.48. *H. simulans*'ın Çekirdek DNA Miktarı 143
5.2.49. *H. smithii*'nin Çekirdek DNA Miktarı 144
5.2.50. *H. strumosus*'un Çekirdek DNA Miktarı 145
5.2.51. *H. tuberosus*'un Çekirdek DNA Miktarı 146
5.2.52. *H. winteri*'nin Çekirdek DNA Miktarı 147
6. BÖLÜM 151
SONUÇLAR VE TARTIŞMA 151
KAYNAKLAR 160
ÖZGEÇMİŞ 179

SİMGELER DİZİNİ

cM:	Santimorgan
da:	Dekar
dk:	Dakika
g:	Gram
kg:	Kilogram
l:	Litre
M:	Molarite
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
µl:	Mikrolitre
mm:	Milimetre
mM:	Milimolar
ng:	Nanogram
nmol:	Nanomol
rpm:	Rounds Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
s:	Saniye
U:	Ünite
Volt:	Voltaj
%:	Yüzde
°C:	Santigrat derece

KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP:	Amplified Fragment Length Polymorphism (Arttırılmış Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)
bç:	Baz çifti
CTAB:	Cetyl trimethylammonium bromide
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
EtBr:	Etidyum Bromür
gDNA:	Genomik DNA
da:	Dekar
dNTP:	Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
EDTA:	Etilendiamin tetraasetik asit
HCl:	Hidroklorik Asit
ha:	Hektar
***Helianthus annuus*:**	Ayçiçeği
Indel:	İnsertion/Deletion
kg:	Kilogram
LG:	Linkage Group
MAS:	Markır Destekli Seleksiyon
mg:	Miligram
MgCl2:	Magnezyum Klorür
NaCl:	Sodyum Klorür
NaOCl:	Sodyum Hipoklorit
***Or*:**	Orobanş Dayanıklılık Genleri
PCR:	Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

pg:	Pikogram
R:	Dayanıklılık (Resistance)
RAPD:	Random Amplification of Polymorphic DNA (Değişken DNA Dizilerinin Tesedüfen Çoğaltılması)
RFLP:	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)
RNA:	Ribo Nükleik Asit
RNase:	Ribonükleaz
S:	Hassaslık (Suseptible)
SDS:	Sodyum Dodesil Sülfat
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SSR:	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TAGEM:	Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Taq:	Tag polimeraz
TBE:	Tris-Borat-EDTA Tamponu
TE Tamponu:	Tris-EDTA Tamponu
Tm:	DNA'nın erime sıcaklığı
TTAE:	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü
TÜBİTAK:	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV:	Ultraviole Işığı
QTL:	Kantitatif Özellik Lokusu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Orobanş'ın ayçiçeklerine etkisi 18
Şekil 2.2 Orobanş'ın kapsül, tohum ve çiçek görüntüsü 19
Şekil 2.3 NBS-LRR sınıfı R genlerinin genel yapısı ve NBS bölgesindeki korunmuş peptid motifler (Di Gaspero ve Cipriani, 2003) 27
Şekil 2.4 Akış sitometrisi genel çalışma prensibi 29
Şekil 4.1 Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı 47
Şekil 4.2 Ayçiçeği örnekleri DNA izolasyonu 49
Şekil 4.3 Ayçiçeği *Or* gen bölgesi genetik haritalamasında markırlar ve uzaklıkları 51
Şekil 4.4 Akış sitometrisi için örnek hazırlama aşamaları 59
Şekil 5.1 RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 61
Şekil 5.2 RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 62
Şekil 5.3 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 63
Şekil 5.4 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 63
Şekil 5.5 RGA192 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 64
Şekil 5.6 RGA192 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 64
Şekil 5.7 RGA206 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 65
Şekil 5.8 RGA206 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) .6565
Şekil 5.9 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 66
Şekil 5.10 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 66
Şekil 5.11 ORS665 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 67
Şekil 5.12 ORS665 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 67
Şekil 5.13 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 68
Şekil 5.14 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 68
Şekil 5.15 ORS1114 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 69

Şekil 5.16 ORS1114 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 69
Şekil 5.17 RGAP1-P15 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 70
Şekil 5.18 RGAP8-P10 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 71
Şekil 5.19 RGAP17-P3N primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 72
Şekil 5.20 RGAS2.INV-AS3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 73
Şekil 5.21 RGAPtokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 74
Şekil 5.22 RGAPtokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 74
Şekil 5.23 RGANBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 75
Şekil 5.24 RGANBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 75
Şekil 5.25 RGAPtokin 1 – AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 76
Şekil 5.26 RGAPtokin 1–AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 76
Şekil 5.27 RGAPtokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 77
Şekil 5.28 RGAPtokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 77
Şekil 5.29 RGAPtokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 78
Şekil 5.30 RGAPtokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 78
Şekil 5.31 RGAPtokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 79
Şekil 5.32 RGAPtokin 1 – PtoFen.AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 79
Şekil 5.33 RGAPtokin 1 – PtoFen. S primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 80
Şekil 5.34 RGAPtokin 1 – PtoFen.S primerleri ile elde edilen pcr sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 80
Şekil 5.35 RGAS2.INV – RLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 81

Şekil 5.36 RGAS2.INV – RLRR.R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 81
Şekil 5.37 RGAS2.INV – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 82
Şekil 5.38 RGAS2.INV – XLRR.R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 82
Şekil 5.39 RGAXa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 83
Şekil 5.40 RGAXa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 83
Şekil 5.41 RGAXa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 84
Şekil 5.42 RGAXa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü, ebeveynler (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 84
Şekil 5.43 RGANBS. f1 – LDD.AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 85
Şekil 5.44 RGANBS. f1 – LDD. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 85
Şekil 5.45 RGANLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 86
Şekil 5.46 RGANLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 86
Şekil 5.47 RGAPtokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 87
Şekil 5.48 RGAPtokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 87
Şekil 5.49 RGAPtoFen.S – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 88
Şekil 5.50 RGAPtoFen.S – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 88
Şekil 5.51 RGAS2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 89
Şekil 5.52 RGAS2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 89
Şekil 5.53 RGACLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü dayanıklı ve hassas ebeveynler 90
Şekil 5.54 RGACLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk) 90

Şekil 5.55 A-F arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri.....91
Şekil 5.56 G-N arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri.....92
Şekil 5.57 O-U arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri.....93
Şekil 5.58 Ü-Q ve 1-3 arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri.....94
Şekil 5.59 PI 673205 *Helianthus agrestis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 95
Şekil 5.60 Şekil 5.59'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) İle Analiz Edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü…….96
Şekil 5.61 PI 597890 *Helianthus annuus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 97
Şekil 5.62 Şekil 5.61'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü……. …...97
Şekil 5.63 PI 468651 *Helianthus argophyllus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 98
Şekil 5.64 Şekil 5.63'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 98
Şekil 5.65 PI 468659 *Helianthus atrorubens* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 99
Şekil 5.66 Şekil 5.65'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 99
Şekil 5.67 PI 435641 *Helianthus bolanderi* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 100
Şekil 5.68 Şekil 5.67'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 100
Şekil 5.69 PI 649953 *Helianthus californicus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 101
Şekil 5.70 Şekil 5.69'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 101
Şekil 5.71 PI 653552 *Helianthus ciliaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 102
Şekil 5.72 Şekil 5.71'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 102
Şekil 5.73 PI 531040 *Helianthus cusickii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 103
Şekil 5.74 Şekil 5.73'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 103
Şekil 5.75 PI 435654 *Helianthus debilis* subsp. *cucumerifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....104

Şekil 5.76 Şekil 5.75'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 104
Şekil 5.77 PI 613753 *Helianthus debilis* subsp. *silvestris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....105
Şekil 5.78 Şekil 5.77'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 105
Şekil 5.79 PI 649971 *Helianthus decapetalus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 106
Şekil 5.80 Şekil 5.79'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 106
Şekil 5.81 PI 435675 *Helianthus divaricatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 107
Şekil 5.82 Şekil 5.81'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 107
Şekil 5.83 PI 649981 *Helianthus eggertii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 108
Şekil 5.84 PI 649891 *Helianthus exilis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 109
Şekil 5.85 Şekil 5.84'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 109
Şekil 5.86 PI 468716 *Helianthus floridanu*s ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 110
Şekil 5.87 Şekil 5.86'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 110
Şekil 5.88 PI 468720 *Helianthus giganteus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 111
Şekil 5.89 Şekil 5.88'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 111
Şekil 5.90 PI 664715 *Helianthus glaucophyllus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....112
Şekil 5.91 Şekil 5.90'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 112
Şekil 5.92 PI 664644 *Helianthus gracilentus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 113
Şekil 5.93 Şekil 5.92'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 113
Şekil 5.94 PI 468725 *Helianthus grosseserratus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativ*a) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....114

Şekil 5.95 Şekil 5.94'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 114
Şekil 5.96 PI 435703 *Helianthus hirsutus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 115
Şekil 5.97 Şekil 5.96'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 115
Şekil 5.98 PI 653562 *Helianthus laciniatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 116
Şekil 5.99 PI 503228 *Helianthus laevigatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 117
Şekil 5.100 Şekil 5.99'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 117
Şekil 5.101 PI 503291 *Helianthus laetiflorus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 118
Şekil 5.102 PI 650001 *Helianthus longifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 119
Şekil 5.103 PI 468746 *Helianthus maximiliani* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 120
Şekil 5.104 Şekil 5.103'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 120
Şekil 5.105 PI 435759 *Helianthus mollis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 121
Şekil 5.106 Şekil 5.105'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 121
Şekil 5.107 PI 592341 *Helianthus nuttalli* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 122
Şekil 5.108 PI 531044 *Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 123
Şekil 5.109 Şekil 5.108'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 123
Şekil 5.110 PI 597918 *Helianthus nuttallii* subsp. *rydbergii* ve standart olan Fiğ (Vicia sativa) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 124
Şekil 5.111 Şekil 5.110'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 124
Şekil 5.112 PI 673322 *Helianthus occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 125
Şekil 5.113 PI 435788 *Helianthus occidentalis* subsp. *occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 126
Şekil 5.114 Şekil 5.113'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri Sisteminin Sahip Olduğu Paket Programı (Flomax) İle Analiz Edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 126

Şekil 5.115 PI 494592 *Helianthus occidentalis* subsp. *plantagineus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 127
Şekil 5.116 PI 673253 *Helianthus paradoxus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 128
Şekil 5.117 Şekil 5.116'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 128
Şekil 5.118 PI 664751 *Helianthus pauciflorus* subsp. *pauciflorus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 129
Şekil 5.119 PI 650031 *Helianthus pauciflorus* subsp. *subrhomboideus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....130
Şekil 5.120 Şekil 5.119'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 130
Şekil 5.121 PI 597923 *Helianthus petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 131
Şekil 5.122 Şekil 5.121'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 131
Şekil 5.123 PI 468842 *Helianthus petiolaris* subsp. *petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....132
Şekil 5.124 Şekil 5.123'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 132
Şekil 5.125 PI 649911 *Helianthus porteri* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa)* bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 133
Şekil 5.126 Şekil 5.125'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 133
Şekil 5.127 PI 468846 *Helianthus praecox* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 134
Şekil 5.128 Şekil 5.127'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 134
Şekil 5.129 PI 435855 *Helianthus praecox* subsp. *hirtus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 135
Şekil 5.130 PI 435847 *Helianthus praecox* subsp. *praecox* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....136
Şekil 5.131 Şekil 5.130'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 136
Şekil 5.132 PI 435853 *Helianthus praecox* subsp. *runyonii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları.....137
Şekil 5.133 Şekil 5.132'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 137
Şekil 5.134 PI 650048 *Helianthus pumilus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativ*a) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 138

Şekil 5.135 Şekil 5.134'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 138
Şekil 5.136 PI 673184 *Helianthus radula* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 139
Şekil 5.137 Şekil 5.136'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 139
Şekil 5.138 PI 664672 *Helianthus resinosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 140
Şekil 5.139 Şekil 5.138'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 140
Şekil 5.140 PI 664759 *Helianthus salicifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 141
Şekil 5.141 Şekil 5.140'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 141
Şekil 5.142 PI 664788 *Helianthus silphioides* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 142
Şekil 5.143 Şekil 5.142'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 142
Şekil 5.144 PI 664724 *Helianthus simulans* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 143
Şekil 5.145 Şekil 5.144'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 143
Şekil 5.146 PI 468889 *Helianthus simithii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 144
Şekil 5.147 Şekil 5.146'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 144
Şekil 5.148 PI 435888 *Helianthus strumosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 145
Şekil 5.149 PI 357299 *Helianthus tuberosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) G1 piklerinin flow sitometri paket programı (flomax) ile analizi 146
Şekil 5.150 PI 673290 *Helianthus winteri* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları 147
Şekil 5.151 Şekil 5.150'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü 147
Şekil 5.152 Yabani ayçiçeği türlerinin nükleer DNA İçeriği. 150

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Dünya'da en fazla ekilen beş yağlı tohumlu bitkinin 2019 yılı istatistikleri…….7

Çizelge 2.2 Yıllara göre dünya ayçiçeği üretimi ve ekim alanları ve başlıca ülkeler (Oil World ve USDA) …….....8

Çizelge 2.3 Yıllara göre dünya ayçiçeği ticareti……..9

Çizelge 2.4 Ülkemizde son beş yılda ayçiçeği ekim alanı, üretim ve verim değerleri……..…….10

Çizelge 2.5 Ülkemizde ayçiçeğinin bölgelere göre 2020 yılı ekim alanı, üretim ve verimleri…….……10

Çizelge 2.6 Ayçiçeğinin yabani türleri…….....13

Çizelge 2.7 Dünyadaki farklı ülkelerde bulunan *Orobanche cumana* ırkları.……22

Çizelge 2.8 Ayçiçeğinde orobanş dayanıklılık genleri ve etkili olduğu irklar …….…….24

Çizelge 4.1 Ayçiçeği *Or* gen bölgesi için kullanılan gen, ırk ve markırlar……..…….52

Çizelge 4.2 Çalışmada SSR analizi için kullanılan primerler……..53

Çizelge 4.3 Markır analizleri için yapılan PCR'ların içerikleri……...55

Çizelge 4.4 RGA markırları için kullanılan PCR koşulları ……..…….....55

Çizelge 4.5 RGA markırları için kullanılan PCR koşulları (Touchdown)…..……..55

Çizelge 4.6 SSR'lar için kullanılan PCR koşulları (Touchdown)…….……...55

Çizelge 4.7 Akış sitometrisinde kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri…….56

Çizelge 5.1 Yabani ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri ……..……...148

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Anavatanı Kuzey ve Orta Amerika olan Ayçiçeği (*Helianthus spp.*) cinsi 37 çok yıllık ve 14 tek yıllık 51 türden oluşmaktadır. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), Dünya ve ülkemiz için en önemli yağ bitkilerinden biridir. Sürekli artış gösteren nüfusla birlikte ülkemizin bitkisel yağa olan ihtiyacı sürekli artmaktadır. Ülkemizde bitkisel yağ kullanımında genellikle ayçiçeği yağını seçmesi ve sürekli artan yağ ihtiyacı, ayçiçeğinin önemini daha da arttırmıştır. Ayçiçeği yaygın alanlara uyum kabiliyetine sahip olmasına rağmen, ekim alanları fazla olmayıp, verim birçok sebeple bekleneni vermemektedir. Bu yüzden, ayçiçeğinde geniş alanlarda ekiminin arttırılmasını sağlayan önlemlerin alınması gerekmektedir.

Ayçiçeği, en önemli bitkisel yağ kaynaklarından birinin olması yanında, orobanş (*Orobanche cumana* Wallr.) (canavar otu) paraziti ayçiçeği tarımında ülkemizin en önemli problemlerindendir. Yabani ayçiçeği türleri gerek orobanş, gerekse çeşitli hastalık ve istenmeyen koşullara direnç açısından birçok gen içermektedir.

Ayçiçeği üretimini kısıtlayan temel faktörlerden birisi hastalıkların kontrol edilmesinde yaşanılan zorluklar olarak ortaya çıkmaktadır. Bu tür sorunlarla başa çıkmanın en kalıcı yolu, hastalık etmenine karşı dirençli yeni çeşitlerin geliştirilmesi olup, bu amaçla yabani ve kültüre alınmış *Helianthus* türlerine ait genetik kaynakların kullanımı büyük önem taşımaktadır. Islah yoluyla istenilen karakterlerin aktarılması, türler arası melezlemelerle gerçekleştirilir ve yeni bir çeşitin geliştirilmesi uzun zaman alan yoğun bir süreçtir (Melchinger, 1990). Önemli agronomik karakterleri taşıyan yabani türlerden ıslah materyallerinin geliştirilmesi, bu karakterlerin bulunduğu lokusla bağlantı gösteren moleküler markırların belirlenmesi ile hız kazanmıştır. Bu markırların ıslah denemelerinde aranan özelliği taşıyan bireylerin tercihinde kullanılmasında markır destekli seleksiyon (MAS) yeni çeşit geliştirilmesi denemelerinde önemli avantajlar sunar (Hvarleva vd., 2009). Moleküler markırlar, bir bireyin genomundaki belirli bir gen bölgesini yani ilişkili DNA'nın belli bir bölgesini göstermektedir ve bireyler arasındaki

polimorfik bölgelerin (DNA dizi farklılıklarının) belirlenmesine dayanmaktadır. Islah denemelerinde kullanılacak MAS sistemlerinin; yüksek derecede polimorfizmi tanımlayabilmesi, kodominant karakter taşıması, denenebilir ve basit uygulanır olması, büyük önem taşımaktadır (Bretting ve Widrlechner, 1995).

Dayanıklılığın fenotipik olarak belirlenmesi yoğun iş ve vakit kaybı oluşturmakta, ayrıca çevresel koşullara bağlı nedenlerden dolayı istenmeyen hatalara neden olabilmektedir. Bunun yanında her zaman hastalık kaynağını, etmen ve sporlarını bulmak ve muhafaza etmek mümkün olmamaktadır. Oysa günümüzde mevcut genotiplerin hem bu hastalıklara ve orobanşa dayanıklılık genlerini içerip içermediğini, hem de dominant olup olmadıklarını moleküler markırlar gibi biyoteknolojik yöntemlerle etkin bir şekilde belirlenebilmektedir. Ayçiçeğinde bugüne kadar yapılan türler arası melezlemelerle kültürü yapılan türlere birçok gen aktarılmış olup, bu yabani türler ayçiçeği ıslahında başlangıç seleksiyonu oluşturulmasında en fazla kullanılan gen kaynaklarıdır. Başarılı bir bitki ıslahı programı için genetik varyasyonca zengin bu yerel ve yabani gen kaynaklarını kullanmak son derece önemlidir. Yabani ayçiçeği türleri orobanşa dayanıklılık açısından çok zengin bir kaynak olup, bu genlerinin kültürü yapılan ayçiçeğine aktarılması devamlı bir dayanıklılık için büyük önem taşımaktadır. Yine ıslah çalışmalarında moleküler metotların kullanılması, hem etkin ve doğru bir seleksiyon, hem de çalışmalara oldukça fazla bir hız kazandırarak ıslah süresini kısaltmaktadır. Ülkemizde özellikle de orobanşa dayanıklılık konusunda ayçiçeğinde moleküler markırlar ile ilgili araştırmalar yok denecek kadar azdır. Bu doğrultuda, yabani türlerde klasik ve moleküler ıslah çalışmaları beraber kullanarak orobanşın yeni ırklarına dayanıklı gen kaynaklarını belirlemeyi hedefleyen bu tez özgün çalışmalar içermekte olup, sürekli etkisi ve ülkemiz ekonomisine katkısı fazla olacaktır.

Bu çalışma kapsamında, çeşitli bitkilerin direnç genlerinde (Arabidopsis *RPS2* ve *PRM1* genleri, tütün *N* geni, pirinç *Xa21* ve *Xa1* genleri, keten *L6* geni, domates *Cf-9* ve *Pto* genleri ile buğday *Cre3* ve *LrK10* genleri) bulunan, korunmuş P-loop, kinase-2, kinase-3a, GLPLAL ve LRR bölgelerine özgün olarak tasarlanmış dejenere RGA primerleri arasından yüksek polimorfizm gösteren 40 adet primer seçilmiş ve 52 farklı kombinasyon halinde PCR yapılmıştır (Chen vd., 1998; Di Gaspero ve Cipriani, 2003; Lin ve Chen, 2007). Ayrıca Radwan vd., (2009) yaptıkları çalışmada *Helianthus tuberosus'*dan elde edilen *Or5* dayanıklı geni ile bağlantılı olarak 4 adet markır (RGA172,

RGA206, RGA192, RGA181) belirlemiştir ve Imerovski vd., (2013)'nin çalışmasında *Or6, Or4* ve *Or2* genleri ile ORS1036, ORS665, ORS1114, ORS1021 markırlarının güçlü bir ilişkisi bulunmuştur. Bu tezde ilaveten bu markırlar ile toplam 48 adet primer kullanılarak genetik materyallerde yapılacak moleküler markır analizleri ile orobanşa dayanıklı olanlar belirlenmiş daha sonra bu dayanıklılık genleri kültürü yapılan türlere aktarılmak amacıyla ıslah çalışmalarında kullanılabilmesi hedeflenmiştir.

Akış sitometrisi, tek tek hücrelerin veya diğer biyolojik partiküllerin bir alıcı cihaz tarafından bir sıvı içerisinde, tek sıra halinde alınarak bu hücrelerin veya partiküllerin fiziksel veya kimyasal özelliklerinin ölçüldüğü bir yöntemdir. Akış sitometrisi, teorik olarak bitkilerde yaygın bir kullanıma sahip olmasına rağmen, şimdiye kadar en fazla çekirdek DNA içeriği analizinde denenmiştir (Tuna vd., 2001; Dolezel ve Bartos, 2005). Çekirdek DNA içeriğinin belirlenmesinde akış sitometrisi bugün kullanılan en hızlı ve güvenilir bir yöntem olup, kullanımı son yıllarda artmaktadır (Tuna, Vogel, Arumuganathan, Gill, 2001). Akış sitometrisi ilk olarak kan hücrelerinin çabuk, biçimde sayımı nedeniyle tıbbi çalışmalar için geliştirilmiş bir metottur. Son teknolojik gelişmelerle ve farklı floresan boyaların geliştirilmesiyle bu metot, 1990 yılından beri başta gen kaynaklarının karakterizasyonu ve bitki ıslahı olmak üzere biyoloji ve tarımsal araştırmalarda rutin olarak kullanılır hale gelmiştir. Çünkü akış sitometri, nüklear DNA miktarının hassas bir şekilde belirlenmesini sağlaması nedeniyle bu tip seleksiyonlar için oldukça yararlı bir araçtır. Bu yöntem sayesinde oransal nükleer DNA içerikleri ve çok sayıdaki bitki ve hayvan türlerinin ploidi seviyesini etkili, hızlı ve tekrarlanabilir bir şekilde belirlemek mümkün olmaktadır. Akış sitometrisi analizi, istenen yapı ve hücrelerinin miktarını, türünü az zamanda, az maliyetle belirleyebilmekte (Karaboz, Kayar ve Akar, 2008), ayrıca tohum koleksiyonlarında karakterizasyon ve korumada iyi oluşturulmuş araştırma ve ıslah programlarında ploidi değerlendirilmesinde büyük önem taşımaktadır (Tuna vd., 2001). Tuna vd., (2004) çalışmasında, bir çekirdeğin DNA içeriği ve ploidi düzeyi arasındaki ilişkide, ikisininde de aynı oranda arttığını belirtmiştir. Bu nedenle bu tezde, yabani ayçiçeği türlerinde çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri akış sitometrisi ile belirlenmiştir.

Araştırmamızda kullanılan tür ve alt türlerle birlikte 52 yabani ayçiçeği (*Helianthus spp.*) aksesyonu, Amerika'da Kuzey Merkez Bölge İstasyonu'ndan alınmıştır. Koleksiyonu oluşturan tüm aksesyonların şu ana kadar bilinmeyen çekirdek

DNA içeriklerive ploidi seviyesi akış sitometrisiyle ile bu kadar geniş kapsamda ilk defa bu tez kapsamında belirlenmiştir.

Ayçiçeğinde ve diğer bitkilerin ıslahında akış sitometrisi kullanımı oldukça az olup, ülkemizde özellikle ayçiçeğinde çalışma yok denecek kadar azdır. Bunun yanında ayçiçeğinde yabaniler, bunların ayçiçeği ıslahında kullanımı ve kullanım olanaklarının araştırılması konusunda dünyada bazı çalışmalar yapılsa da (Baack, Whitney, Rieseberg, 2005; Kallamadi ve Mulpuri, 2016) bu literatürlerin tümünde gerek kullandıkları yöntemin oldukça eski ve güvenilir olmaması, gerekse çalışmalarında kontrol kullanılmaması nedeniyle, çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeylerini belirlemede bildirilen sonuçların güvenilirliğini tartışılır hale gelmektedir. Her ne kadar bazı ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri belirlenmiş olsa da büyük çoğunluğunun çekirdek DNA içeriklerine dair literatürde bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda ise, şu an gen bankalarında bulunan tüm türlerin (birçoğu ilk defa belirlenmiş olarak) çekirdek DNA içerikleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada ülkemizde tarımı yapılan ayçiçeğinin genotiplerindeki orobanş direncine karşı dayanıklılık genleri ile bağlantılı markır potansiyeli yüksek RGA primer çiftlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Orobanş direncine karşı dayanıklı ayçiçeği genotiplerinin seleksiyonu için kullanılabilecek RGA markırları belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılacak moleküler taramalarla bu gen kaynaklarında orobanşa dayanıklı gen içerip içermedikleri belirlenmiştir. Tezde kullanılacak olan ayçiçeği genotiplerinde ve planlanan melezlemelerle elde edilecek türler arası melez döllerde akış sitometrisi tekniği ile çekirdek DNA miktarlarının ve ploidi seviyelerinin belirlenmiş olması ayrıca orobanş parazitine dayanıklılık bakımından moleküler markırlarla tarama yapılmış olması ve böylece orobanş parazitine toleranslı çeşitlerle melezlenerek F1 ve F2 generasyonlarındaki tohumlardan ayçiçeğinin elde edilecek olması tezin özgün değerine katkı sağlamaktadır.

Bitki ıslahı artan nüfusun sürekli ihtiyacını karşılamak açısından önem taşımaktadır ve bitkilerin ıslah programlarında kullanım özelliklerini çoğaltmak son derece önemlidir. Uygun stratejinin belirlenmesi için ploidi seviyesinin bilinmesi bitki ıslah programı açısından önemlidir. Ayrıca bu tür bilgilerin varlığı gelecekte bundan sonra yapılacak ıslah programlarına da öncülük edecektir. Tür veya türe ait genetik kaynakların biyolojik, taksonomik, genetik ve agronomik bilgilerinin ıslah çalışmalarında

yeni çeşitlerin başarılı bir şekilde geliştirilebilmesi için önem arz etmektedir. Bununda hızlı ve güvenilir şekilde yapılması için akış sitometrisi gibi yeni teknolojik gelişmelere ihtiyaç vardır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1.Ayçiçeğinin (*Helianthus annuus*) Genel Özellikleri

Ayçiçeği kökeni Kuzey Amerika ve ABD'nin orta batı ovalarında bulunan, şu anda ABD'nin orta kesimlerinde yabani tür olarak bulunmaktadır. Ayçiçeği ekonomik açıdan önemli bitki olarak uzun bir tarihçeye sahip olmakla birlikte ilk tarımı yapıldığı tarih kesin olarak net olmayıp, yer olarak da Güney Batı Mississippi veya Missouri vadisi olup olmadığı kesin olarak bilinememektedir. Yenidünyada ilk göçlerin başında, Kuzey Amerika Kızılderilileri tarafından ilk kullanılmaya başlanmıştır. 1880'lerin başında ve 1900'ün ilk yıllarında da ayçiçeği yenidünyadan Amerika'ya yerleşenler tarafından önceleri bir gıda kaynağı olarak, daha sonraları bir süs bitkisi ve hayvanlar için bir yem bitkisi olarak değerlendirilmiştir. Mısırın kültüre alınmasından önce, Amerikan Kızılderilileri ayçiçeğini bir gıda kaynağı olarak kullanmışlardır (Kaya, 2013).

İlk İngiliz ve Fransız gezginler ayçiçeğinin Kuzey Amerika Kızılderilileri tarafından ekmek ve diğer gıdaların yapımında gerek karışık gerekse un olarak kullanıldığını görmüşler ve Kızılderililerin ayçiçeğini arazilerinin süsü ve saygı gösterilen bir bitki olarak gözlemlemişlerdir. Bunun yanında ayçiçeği bir tıp bitkisi, vücut boyama yağı, çömlek ve boya materyali olarakta kullanılmıştır. İspanyol gezginleri 1850'li yıllarda Kuzey Amerika'dan toplanan ayçiçeği tohumları ilk başta İspanya'nın bahçelerinde süs bitkisi olarak yetiştirilmiş ardından Avrupa da tüm saray ve evlerde de süs bitkisi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayçiçeği yağı ise, 1716 yılından önce endüstriyel amaçlar için hammadde kaynağı olarak, boya sanayi ve tabaklamada hatta ilk patenti de alınarak İngiltere de kullanılmıştır. Ayçiçeğinin yağlık olarak kullanılmaya başlanması ilk olarak Rusya da başlamıştır. 1968 yılında Fransız Leclerq tarafından

ayçiçeğinde stoplazmik erkek kısırlığın bulunması ve Kinman tarafından da 1970'lerin başında bu kısırlığı restore edici genlerin bulunmasıyla ayçiçeğinde ilk hibritlerin geliştirilmesi dünyada ayçiçeği üretiminde patlamaya yol açmıştır. Ayçiçeğinin ticari olarak üretiminin İtalya, Mısır ve son olarak anavatanı olan Amerika'ya tekrar bir yağ bitkisi olarak ulaşması da oldukça uzun bir zaman almıştır. Ülkemizde ise ilk defa 1950 yıllarında Bulgaristan'dan ülkemize göç eden vatandaşların getirdiği tohumlar sayesinde girerek, ilk olarak Trakya bölgesinde tarımı yapılmaya başlanmıştır. Nitekim bugün de ayçiçeğinin en fazla ekildiği bölge Trakya Marmara bölgesidir (Kaya, 2013).

2.2.Yağlık Ayçiçeğinin Dünyadaki Durumu

Ayçiçeği, toplam yıllık yağ bitkileri üretimi açısından Dünya'da soya fasulyesi, kolza ve yerfıstığından sonra gelen dördüncü en önemli yağ bitkisini oluşturmaktadır (Branković, 2012) (Çizelge 2.1). Yağlı tohumlar insan beslenmesinde önemli rol oynayan endüstri bitkilerinin en temel grubu olup, yağlı tohum ürünlerinden elde edilen gıdalar ve yağ gibi insan ve hayvan beslenmesinde ve endüstriyel amaçlar için çok değişik alanlarda kullanılmaktadır. Bu bitkilerden elde edilen gıdalarda bulunan besin değeri yüksek proteinler ve temel amino asitler insan sağlığına çok faydalı olmasının yanında, gıda endüstrisinde kullanılan yağlı tohumlar biyodizel, gübre, kozmetik ve lif üretimi gibi birçok birincil ve ikincil endüstriyel uygulamada esas ürün olarak yer almaktadır.

Çizelge 2.1 Dünya'da en fazla ekilen beş yağlı tohumun 2019 yılı istatistikleri (www.faostat.fao.org, 2019)

Yağlı Tohumlar	Ekiliş (ha)	Üretim (ton)	Verim (kg/da)
Soya	120.501.628	333.671.692	276.9
Kolza	34.030.921	70.510.703	207.2
Yer Fıstığı	29.596.969	48.756.790	164.7
Ayçiçeği	27.368.766	56.072.746	204.8
Aspir	652.780	590.869	90.5

Ayçiçeği çok yüksek adaptasyona sahip bir bitki olduğundan gerek ülkemizin birçok bölgesinde gerekse dünyanın birçok ülkesinde kolayca yetiştirilmektedir. Dünya'da genelde yağ bitkisi olarak yetiştirilmesine rağmen, çerezlik, kuşyemi, süs

bitkisi vb. kullanım alanları da oldukça yaygındır. Ülkemizde ise daha çok bitkisel yağ olarak tüketildiğinden, önemli bir katma değer kaynağıdır. Ancak çerezlik olarak da iç tüketim, AB ülkelerinde ve Ortadoğu, Kuzey Afrika, Karadeniz vb. yakın bölgelerde çok fazla miktarda çerezlik tüketiminin olması nedeniyle de ihracat potansiyeli olan önemli bir üründür. Ayçiçeği ekim alanları ve üretimi son yıllarda artan nüfusa paralel olarak dünya bitkisel yağ ihracatının artmasıyla önemli artışlar göstermiştir. Son beş yılda ayçiçeği üretimi %20 civarında bir artış olmuştur. (Çizelge 2.2)

Çizelge 2.2 Yıllara göre ayçiçeği üretimi ve ekim alanları ve başlıca ülkeler (Oil World ve USDA, 2020)

Ayçiçeği	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	2019/20	2020/21
Ekim Alanı (1.000 ha)	25242	26964	26885	27185	27440	28226
Verim (MT/ha)	1.7	1.86	1.83	1.91	2.04	1.79
Arjantin	2830	3300	3400	3530	3150	2830
Avrupa Birliği-27	7769	8641	10058	9482	9485	8696
Çin	2698	2750	2580	2550	2680	2730
Rusya	9700	11600	11000	12756	15379	13200
Ukrayna	12100	15100	13400	15250	16500	14300
ABD	1326	1203	970	956	887	1353
Güney Afrika	755	874	862	678	786	780
Türkiye	1350	1470	1700	1530	1700	1550
Diğerleri	4386	5130	5086	5292	5346	5020
Toplam	42914	50068	49056	52024	55913	50459

Ülkemizde bitkisel yağ üretimi yeterli olmayıp, ihtiyacını asgari %50 düzeyinde ithalat ile özellikle de ayçiçeği tohumu ve yağı ithalatıyla karşılamakta olup, oldukça fazla miktarda olan yağ işleme ve rafine tesisleri nedeniyle ayçiçeği tohumu ithalatında dünyada birinci sıradadır. (Çizelge 2.3)

Çizelge 2.3 Yıllara göre dünya ayçiçeği ticareti (Oil World ve USDA, 2020)

Tohum İthalat (ha)	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	2019/20	2020/21
Türkiye	436	611	721	1051	1058	950
Avrupa Birliği-27	577	632	520	550	1036	880
Diğerleri	1100	1396	1322	1445	1401	730
TOPLAM	2113	2639	2563	3046	3495	2560
Tohum İhracat (ha)						
Arjantin	302	74	58	149	214	170
ABD	107	99	89	87	64	80
Rusya	105	362	103	338	1261	500
Ukrayna	171	261	50	119	76	180
Diğerleri	1467	1804	2234	2392	1911	1617
TOPLAM	2152	2600	2534	3085	3526	2547

2.3.Ülkemizde Yağlık Ayçiçeğinin Mevcut Durumu

Ayçiçeği yazlık bir bitki olması nedeniyle ve genelde ülkemizde sulanmadan yetiştirildiğinden, çevre koşullarından fazlaca etkilenmektedir. Nisan-Ağustos ayları arasındaki yetişme periyodu boyunca yağış ve aşırı sıcaklık gibi çevresel faktörlerin etkisine göre tane ve yağ veriminin yıllara bağlı olarak çok değişkenlik göstermesi, ülkemiz ayçiçeği üretimindeki en büyük problemlerden biridir (Çizelge 2.4). Son yıllarda rakip ürünlerin fiyatlarının yüksek seyretmesi, iç üretimin yetersiz olması, fazla miktardaki ithalat nedeniyle ayçiçeği fiyatının belirlenmesinde rol oynamaktadır. Ülkemizde ayçiçeği ekim alanları ayçiçeği üretiminin ilk başladığı 1950'li yıllardan bu yana büyük çoğunlukla Trakya-Marmara bölgesinde bulunmaktadır. Ancak son yıllarda ayçiçeğinde elde edilen gelirin ve diğer bitkilerin (pamuk, mısır, vb. hastalıklarının artmasıyla Çukurova bölgesi başta olmak üzere diğer bölgelerde de ekilmeye başlanmıştır.

Çizelge 2.4 Ülkemizde son beş yılda ayçiçeği ekim alanı, üretim ve verim değerleri (TUIK 2021)

	Ekilen Alan (Dekar)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/Dekar)
2015	5.689.950	1.500.000	264
2016	6.167.800	1.500.000	243
2017	6.813.976	1.800.000	264
2018	6.489.344	1.800.000	277
2019	6.759.834	1.950.000	288
2020	6.508.696	1.900.000	292

Türkiye'nin yaklaşık olarak ayçiçeği üretim alanının büyük bir kısmı %67'si Trakya-Marmara, %11'i Doğu Karadeniz (Adana, Osmaniye, Kahramanmaraş), %10'u Orta Anadolu, %7'si Karadeniz, %3'ü Ege ve %2'si Doğu ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır (Çizelge 2.5)

Çizelge 2.5 Ülkemizde ayçiçeğinin bölgelere göre 2020 yılı ekim alanı, üretim ve verimleri (TUIK 2021)

Bölge	Ekiliş alanı (da)	Verim (Kg/da)	Üretim (Ton)
Akdeniz	690.496	322	221.964
Batı Anadolu	792.013	400	316.913
Batı Karadeniz	811.523	281	227.640
Batı Marmara	3.442.934	265	911.782
Doğu Marmara	287.728	318	90.381
Ege	104.863	257	26.972
Güneydoğu Anadolu	69.857	259	18.067
Kuzeydoğu Anadolu	200.45	215	4.319
Orta Anadolu	119.266	309	36.890
Ortadoğu Anadolu	8.187	220	1.798
İstanbul	161.784	267	43.274

Ayçiçeği tarımının ülkemizde yaygın alanda geliştirilebilmesi için birçok özellik bakımından genetik özelliklerinin iyileştirilmesi verim, kalite, morfolojik ve fizyolojik

karakterlerinin arttırılması gerekmektedir. 1880 yılından günümüze değin yapılan klasik ıslah çalışmaları, yüksek yağ oranı, hastalık ve zararlılara dayanıklı çeşitlerin elde edilmesi gibi önemli karakterler üzerinde yoğunlaşılmıştır (Seiler ve Rieseberg, 1997; Faure, Serieys, Kaan, 2002; Vassilevska-Ivanova ve Tcekova, 2003; Seiler ve Gulya, 2004)

2.4.Yabani Ayçiçeğinin Genel Özellikleri

Helianthus cinsi 17'si tek yıllık ve 34'ü çok yıllık olmak üzere alt türlerle birlikte türden oluşmaktadır. 19 alt türü vardır. Bu türlerin tümü Amerika kökenli olup tamamı ABD'de yabani formda bulunmaktadır. *Asteraceae* familyasında bulunan ayçiçeği toplu bir çiçeğe sahip olup, bu familyanın bir yaygın türü de ülkemiz bahçelerinde süs materyali olarak yaygınca bulunan ve pazarlarda gıda olarak satılan yer elmasıdır (*Helianthus tuberosus*). Sayısal sınıflandırmaya dayalı olarak, *Helianthus* cinsi dört seksiyona ayrılır (Çizelge 2.6). (Schilling, 2006; Seiler, Jan, Gulya, 2008).

Helianthus cinsinin temel kromozom sayısı n=17'dir Diploid (2n=2x=34), tetraploid (2n=4x=68), hexaploid (2n=6x=102) türler içermektedir. Tek yıllık 14 türün hepsi diploid ve 37 çok yıllık türün 26'i diploid, 3 tanesi tetraploid, 7 tanesi hexaploid ve 3 tanesi mixaploid türlerdir. *H. decapetalus* ile *H. smithii* diploid ve tetraploid formları içerirken, *H. ciliaris* DC. ile *H. strumosus* L. hem tetraploid hem de hexaploid formları içermektedirler (Seiler ve Marek, 2011; Seiler, Qi, Science, 2017). Farklı ploidi seviyeleri, genetik çeşitliliği arttırır, ancak aynı zamanda, kültürlenmiş germplazmlara dahil edilmesini sıklıkla karmaşıklaştırırlar (Seiler vd., 2017). Bitki ıslahçıları tarafından yüksek yağ yüzdesi, sitoplazmik erkek kısırlık (CMS) hastalıklara ve zararlılara dayanıklılık gibi yararlı karakterleri kültür formuna (2n=34) ve ticari çeşitlere aktarmak için bu cins içinde birçok türler arası melezlemeler yapılmıştır ve halen de yapılmaya devam edilmektedir. Çünkü bu yabani türler çok çeşitli gen kaynağı olarak, bitki ıslahçıları için son derece yararlı ve gereklidir.

2.5. Yabani Ayçiçeğinde Tür Tayini

Ayçiçeği türlerinin belirlenmesi uzun süredir sorun olmuştur (Heiser, Smith, Clevenger, Martin, 2017). *Helianthus* cinsinin taksonomik karışıklığı çok sayıda farklı faktörlerden kaynaklanır. Doğal hibrit ve geri melezlemenin yanısıra, birbirinden ayrı formlar arasında morfolojik olarak birbirine karışmaya neden olan birçok tür bulunmaktadır. Çok yıllık türlerdeki poliploidi ayrıca *Helianthus*'un karmaşık tür sınıflandırmasında katkı sağlar. Bu cinsler çeşitli taksonomik iyileşmelere yol açmıştır. Halen, hibrit kökenden farklı olan veya normal olmayan koşullarda yetişen ya da eksik olarak toplanmış tek bir türün içerisine yerleştirilmeye karşı koyan örnekler vardır. Türlerin çoğu jeolojik olarak geniş oranda yayıldığı için hem kalıtsal hem de kalıtsal olmayan (çevresel) bileşenleri içeren geniş çapta fenotipik varyasyon sergilerler. Sınıflandırmayı zorlu hale getiren çoğu türler ayrıca genetik olarak oldukça çeşitlidirler.

Gray, (1889) Kuzey Amerika'da 42 tür teşhis etmiştir. 20. yy.'ın başlarında Watson'da (1929) 15'i Güney Amerika'dan olmak üzere 108 tür kabul etmiştir. Heiser vd., (1969),17 türü Güney Amerika'dan olmak üzere, Kuzey Amerika'dan 14 tek yıllık tür ve 36 çok yıllık türü 3 bölüm ve 7 dizi olarak teşhis etmiştir. Sonra, Robinson (1978), Güney Amerika'da *Helianthus*'un 20 çok yıllık türünü *Helianthopsis* cinsine taşımıştır. Anashchenko'nun (1974) teşhisinde, *Helianthus*'un taksonomik sınıflandırması önceki tüm taslaklardan köklü bir ayrılışa neden olmuştur. Anashchenko (1974), *H. annuus'*u 3 alt türü ve altı varyetesi olan sadece tek yıllık bir tür olarak ve 13 alt türü olan sadece 9 adet çok yıllık türü teşhis etmiştir. 49 *Helianthus* türünü dört bölüm ve altı diziye yerleştiren biyosistematik yöntemleri kullanarak *Helianthus*'un bir alt cins sınıflandırmasını öne sürmüştür (Schilling, Heiser, Taxon, May,1981).

Çizelge 2.6 Ayçiçeğinin yabani türleri (Schilling vd., 1981)

Aksesyon	**Tür**	**Alt tür**	**Tip**	**Kromozom Sayısı**
Agrestis	*H. agrestis*		Tek yıllık	34
Annuui	*H. niveus*	*niveus*	Tek yıllık	34
	H. niveus	*tephrodes*	Tek yıllık	34
	H. niveus	*canescens*	Tek yıllık	34
	H. debilis	*debilis*	Tek yıllık	34
	H. debilis	*vestitus*	Tek yıllık	34
	H. debilis	*tardilorus*	Tek yıllık	34
	H. debilis	*silvestris*	Tek yıllık	34
	H. debilis	*cucumerifolius*	Tek yıllık	34
	H. praecox		Tek yıllık	34
	H. praecox	*praecox*	Tek yıllık	34
	H. praecox	*runyonii*	Tek yıllık	34
	H. praecox	*hirtus*	Tek yıllık	34
	H. petiolaris		Tek yıllık	34
	H. petiolaris	*petiolaris*	Tek yıllık	34
	H. petiolaris	*fallax*	Tek yıllık	34
	H. annuus		Tek yıllık	34
	H. argophyllus		Tek yıllık	34
	H. neglectus		Tek yıllık	34
	H. bolanderi		Tek yıllık	34
	H. anomalus		Tek yıllık	34
	H. paradoxus		Tek yıllık	34
Ciliares	*H. gracilenthus*		Çok yıllık	34
	H. pumilus		Çok yıllık	34
	H. cusickii		Çok yıllık	34
	H. arizonensis		Çok yıllık	34
	H. laciniatus		Çok yıllık	34

Ciliares	*H. ciliaris*		Çok yıllık	68
	H. mollis		Çok yıllık	34
	H. divaricatus		Çok yıllık	34
	H. decapetalus		Çok yıllık	34
	H. occidentalis		Çok yıllık	34
	H. occidentalis	*occidentalis*	Çok yıllık	34
	H. occidentalis	*plantagineus*	Çok yıllık	34
	H. hirsutus		Çok yıllık	68
	H. strumosus		Çok yıllık	68, 102
	H. eggertii		Çok yıllık	102
	H. tuberosus		Çok yıllık	102
	H. rigidus	*rigidus*	Çok yıllık	102
	H. rigidus	*subrhomboides*	Çok yıllık	102
	H. giganteus		Çok yıllık	34
	H. grossesseratus		Çok yıllık	34
	H. nuttallii		Çok yıllık	34
	H. nuttallii	*nuttallii*	Çok yıllık	34
	H. nuttallii	*parishii*	Çok yıllık	34
	H. nuttallii	*rydbergii*	Çok yıllık	34
Atrorubentes	*H. maximilliani*		Çok yıllık	34
	H. salicifolius		Çok yıllık	34
	H. exilis		Tek yıllık	34
	H. resinosus		Çok yıllık	102
	H. schweinitzii		Çok yıllık	102
	H. californicus		Çok yıllık	102
	H. laetiflorus		Çok yıllık	102
	H. microcephalus		Çok yıllık	34
	H. glaucophyllus		Çok yıllık	34
	H. smithii		Çok yıllık	34
	H. longifolius		Çok yıllık	34

Atrorubentes	*H. laevigatus*		Çok yıllık	68
	H. angustifolius		Çok yıllık	34
	H. simulans		Çok yıllık	34
	H. floridanus		Çok yıllık	34
	H. silphioides		Çok yıllık	34
	H. atrorubens		Çok yıllık	34
	H. heterophyllus		Çok yıllık	34
	H. radula		Çok yıllık	34
	H. carnosus		Çok yıllık	34
	H. porteri		Tek yıllık	34
	H. pauciflorus		Çok yıllık	34
	H. pauciflorus	*pauciflorus*	Çok yıllık	34
	H. pauciflorus	*subrhomboideus*	Çok yıllık	34

İlk olarak, Anashchenko, (1974) tarafından kullanılan bölümsel adı *Atrorubens* taksonomik önceliğe sahiptir, bu nedenle *Divaricati* E. Schilling ve Heiser bölümü *Atrorubens* Anashchenko ile değiştirilmiştir. *H. exilis*, morfolojik ve genetik olarak farklı olduğunu gösteren son bilgiler nedeniyle (Jain, Olivieri, Fernandez-Martinez, 1977), *H. bolanderi* ekotipinin aksine bir tür olarak kabul edilmektedir. (Jain, Kesseli, Olivieri, 1992; Oliveri ve Jain, 1977; Rieseberg, Soltis, Palmer, 1988). *Helianthus verticillatus* (2n=34) yakın zamanda yeniden keşfedilmiş olup çok yıllık tür olarak kabul edilmiştir (Matthews vd., 2002).

2.6. Yabani Ayçiçeğini Koruma Girişimleri

Yabani ayçiçeği türlerinin popülasyonunu korumak ciddi bir iştir, çünkü tüm yabani türleri ve tohum bankalarındaki bölgesel olarak uyum sağlamış ayçiçeği popülasyonlarını korumak için yeterli kaynak yoktur. Üstelik depolanmış gen kaynaklarının üyelerini yenilerken yabani çeşitliliğin önemli bir oranının yok olması muhtemeldir. Maalesef, ayçiçeği türlerinden bazıları zaten ender ya da nesli tükenme

tehlikesindedir ve hatta *H. nuttallii* T. ve G. ssp. *parishii* (Gray A.) Heiser'ın büyük ihtimalle yok olduğu düşünülmektedir (Seiler ve Marek, 2011; Vear, 2011).

USDA – ARS Ulusal Bitki Germplazma Sistemi (NPGS), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tarımsal ürünlerin genetik kaynaklarını korur ve yönetir. NPGS yabani ayçiçeği koleksiyonu 1976'da Bushland, TX' de kuruldu ve 1985'te Ames, IA, gen bankasına transfer edildi. Kuzey Merkez Bölgesel Bitki Tanıtım İstasyonunda (NCRPIS), Ames, IA'daki yabani ayçiçeği koleksiyonu, 1028 yabani *H. annuus* girişi (%41) ile toplam 2519 katılım içerir, 13 diğer yabani yıllık türün popülasyonunu temsil eden 613 katılım (%24), ve 39 çok yıllık türü temsil eden 878 katılım (%35) bulundurmaktadır. Bu koleksiyon, dünyadaki en büyük ve genetik olarak en çeşitli ex situ koleksiyonu olup, yabani ayçiçeği türlerinin korunması için hayati öneme sahiptir. Yabanilere erişimlerinin yaklaşık %90'ı şu anda dağıtım için mevcuttur. Yabani koleksiyonuna ek olarak, NCRPIS, girişleri olan önemli sayıda hat dâhil olmak üzere yaklaşık 2500 tür ekilmiş ayçiçeği aksesyonuna erişimini korumakta ve dağıtmaktadır. ABD Germplasm Kaynakları Bilgi Sistemindeki (GRIN) tanımlayıcı veri alanında belirtilen bir yabani koleksiyona sahiptir. 2011 ve 2015 yılları arasında, 523 alıcıdan 775 sipariş, ABD ve uluslararası düzeyde 8600 paket yabani ayçiçeği tohumu dağıtılmıştır (Marek, 2016).

1976'dan günümüze kadar yaklaşık 30 ülkeden 300'den fazla araştırmacı 1000 yabani ayçiçeği örneklerini sınıflara ayırmıştır. Bu katılımlar Arjantin, Fransa, İtalya, İspanya, Almanya, Bulgaristan, Romanya, Çekoslavakya, Rusya, Yugoslavya, Hindistan, Çin ve Meksika'daki yabani türler araştırma programlarının temelini oluşturmaktadır (Seiler ve Marek, 2011). USDA-ARS'den toplanan araştırmacıların çabaları sayesinde, Sırbistan (IFVCNS), Bulgaristan (Dobroudja Tarım Enstitüsü, General Toshevo), Fransa (INRA) gibi diğer ülkelerde artık daha büyük ayçiçeği yabani tür koleksiyonları bulunmaktadır. Arjantin (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Pergamino), İspanya (Institudo de Agricultura Sostenible, Cordoba), Ukrayna (Yağlı Tohum Bitkileri Enstitüsü, Zaporozhie) ve Rusya'da (Vavilov Tüm Rusya Bitki Genetik Kaynakları Enstitüsü, Saint Peterburg ve Enstitüsü Ayçiçeği, Veidelevka) isimleri ile yabani ayçiçeği koleksiyonları bulunmaktadır.

Bulgaristan General Toshevo'daki Dobroudja Tarımsal Araştırma Enstitüsü (DAI), yabani tür koleksiyonunda 428 üyesinde 51 *Helianthus* türünün 37'sini içerir

(Christov, Michail, Velasco, 2008). 45 yabani ayçiçeği türünden 600'den fazla üye bitkisi olan yabani türlerin koleksiyonun INRA (Tarımsal Araştırma Kurumu), Montpellier, Fransa'da muhafaza edilmiştir (Vear, 2011). Ayrıca Sırbistan, Novi Sad, Tarla ve Bahçe Bitkileri Enstitüsü 51 yabani türün 39'unu içerir (Atlagić, 2006). İspanya'daki Tarım Araştırma Enstitüsü'de ise 44 tek ve çok yıllık yabani *Helianthus* türü bulunmaktadır (Christov vd., 2008). Hindistan Hyderabad'daki 36 yabani *Helianthus* türü bulunmaktadır (Mulpuri, 2009).

Bir diğeri Rusya'daki Veidelevka Institute of Sunflower 8 tek yıllık türü (208 aksesyon) ve 27 çok yıllık türü (227 aksesyon) içeren bir yabani ayçiçeği koleksiyonuna sahiptir (Tavoljanski, Yesaev, Akhtulova, Tikhomirov, Yakutkin, 2002; Tavoljanskiy, Chiryaev, Tikhomirov, 2004). Rusya St. Petersburg'daki N.I. Vavilov Research Institute (VIR)'de 128 çok yıllık aksesyonla birlikte 29 türün 550 aksesyonunu muhafaza etmektedir (Vear, 2011). Türkiye'de Trakya Üniversitesi'nin Bulgaristan ile ikili iş birliği TÜBİTAK projesi kapsamında "Dünya Yabani Ayçiçeği Koleksiyon Bahçesi" bünyesinde alt türlerle birlikte toplam 51 yabani ayçiçeği türünü barındırmaktadır. Yabani ayçiçeği türlerinin korunması ve toplanmasında ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen şimdiki gen bankası koleksiyonunda *Helianthus*'un mevcut genetik çeşitliliğinin sadece bir kısmı bulunmaktadır. Birçok türün, özellikle nesli tükenme tehlikesindeki, tehdit altındaki veya gelişimin tehdit ettiği habitatlara özgü türlerin, ilave popülasyonları toplanmalıdır.

2.7. Orobanş (*Orobanche* spp.) (Canavar Otu) Genel Özellikleri

Yabancı otlar, çeşitli ekosistemlere adapte olma yeteneklerinden kaynaklı tarım alanlarında büyük oranda kalite ve verimde azalmalar meydana getirmiştir. Parazitik özelliklere bağlı olarak kültüre edilmiş bitkileri özellikle etkilemekte, birçok hastalık ve zararlılara uygun ortam sağlamaktadır. Aynı zamanda parazit mücadelesi yapılmakta ancak bu kaynakları israf edilmekte, insan ve çevre sağlığını tehdit etmektedir (Özer, Kadıoğlu, Önen, Tursun, 2001).

Ayçiçeği Dünya'da ve ülkemizde çok önemli bir yağlı tohum bitkisi olmanın yanında 30'dan fazla patojeninde tehdidi altındadır. Hastalıkların ciddiyet seviyesi

bölgenin iklimine, patojenin dağılımına, bölgedeki sınırlayıcı uygulamalara bağlı olabilmektedi, Bazı patojenler düşük sıcaklıklara, nemli ortamlara, bazıları yüksek sıcaklıklara ve düşük neme ihtiyaç duymakta olup, bazılarıysa neredeyse her ayçiçeği yetiştiren bölgede hayatta kalabilmektedir. Patojenlerin neden olduğu bazı hastalıklar tüm dünya için önemli olup, bazıları ise daha yöreseldir. Sclerotinia kafa çürümesi (*Sclerotinia sclerotiorum*), Phomopsis kök ve gövde çürüklüğü (*Phomopsis helianthi*), mildiyö (*Plasmopara halstedii*), orobanş paraziti (*Orobanş cumana*) (Vear, 2004; Vear ve Grezes-Besset, 2010; Markell, Harveson, Block, Gulya, 2015), bazı önemli ayçiçeği hastalıklarındandır.

Orobanş, genelde ılıman Kuzey Yarımküre'ye ait *Orobanchaceae* familyasında bulunan 200'ü fazla parazitik türünü içerir (Şekil 2.1). Orobanşın türleri Akdeniz ikliminde etkilidir özellikle ılıman iklimlerden yarı kurak tropiklere kadar çok geniş alanda etkili olmaktadır (Musselman, 1994; Elzein ve Kroschel, 2003). Orobanş (*Orobanche* spp. veya *Phelipanche spp.*) *Orobanchaceae f*amilyasında bulunan, klorofili olamayan yaygın bir konakçı olup, tamamen bağımlı (obligat) kök paraziti bitkisidir. *O. crenata* yaygın olarak Akdeniz bölgesi, Orta Doğu ve Doğu Afrika'da yayılırken, diğer orobanş türleri daha fazla alana yayılmıştır (Elzein ve Kroschel, 2003). Orobanş cinsine ait 100'den fazla tür bulunmaktadır. Bunların arasından 39'u ülkemizde yayılış göstermektedir (Davis, Mill, Tan, 1988; Zare ve Dönmez, 2013). Dünya geniş alana yayılış gösteren bu bitkiler dört seksiyona sahiptir.



Şekil 2.1 Orobanş'ın ayçiçeklerine etkisi (İNTFA Blog)

Bu seksiyonlar;

sect. *orobanche* (sect. *osproleon* Wallr.),

sect. *trionychon* Wallr. (Eski Dünya Canavar Otları),

sect. *gymnocaulis* Nutt.,

sect. *myzorrhiza* (Philippi) Beck. (Yeni Dünya Canavar Otları) seksiyonlarıdır.

Tarımda verim düşüşlerine neden olan *O. ramosa*, *O. aegyptiaca*, *O. cumana, O. cernua, O. crenata, O. minor* ve *O. foetida* orobanş türleri vardır. Orobanş tek yıllık, tohum ile üreyen ve bitkiler âleminde en küçük tohuma sahip bitkiler arasındadır (Aksoy ve Pekcan, 2014). Tohum ağırlıkları 0,004-0,009 mg civarında olup, oval biçimde ve 0,3 x 0,2 mm büyüklüğüne sahiptir (Saghir, 1986). Orobanş cinsine ait türlerin yaprakları yoktur (Pamphilis ve Palmer, 1990). Orobanşın her çiçeği kapsül adı verilen bir meyve oluşturur (Şekil 2.2). Her kapsül içinde ortalama 600-5000 tohum bulunmaktadır. Her bitkide neredeyse 40-100 kapsül oluştuğu için bir orobanş bitkisi 500.000'den fazla tohum meydana getirmiş olur (Habimana, Nduwumuremyi, Chinama, 2014). Tohumlar yaklaşık toprakta 20 yıl canlı kalabilmektedir (Pathak ve Kannan, 2014). Orobanş tohumlarının çimlenme sıcaklığı 20-25ºC'dir (Saghir, 1986; Linke, Sauerborn, Saxena, 1989). Orobanşın çiçeklenmesine kadar olan süre 30-60 gündür (Linke vd., 1989). Tarlalarda toprakta kalan tohumlar bir sonraki sene tekrar orobanş etkisi altında kalınmasına neden olmaktadır (Elzein ve Kroschel, 2003).



Şekil 2.2 Orobanş'ın kapsül, tohum ve çiçek görüntüsü (http://www.parasiticplants.siu.edu/Scrophulariaceae/Orobanche.Gallery.html)

2.8. Orobanşın Ayçiçeğinde Meydana Getirdiği Zararlar ve Türkiye'deki Durumu

Orobanş kaynaklı verim kayıpları ekonomik değeri yüksek birçok bitkide rapor edilmiştir (Parker, Riches, 1993, Parker, 2012). Verim kaybı, bulaş olan bitki ve enfeksiyon seviyesine bağlı olarak değişir (Abang, Bayaa, Abu-Irmaileh, & Yahyaoui, 2007; Bulbul, Aksoy, Uygur, 2009).

Orobanş, genellikle Orta ve Doğu Avrupa, İspanya, Türkiye, Rusya, Ukrayna, İsrail, İran, Kazakistan ve Çin başta olmak üzere ayçiçeği üretimi yapan ülkelerde verimi etkileyen çok önemli bir sorundur (Kaya 2014; Skoric, 2012b). Birçok orobanş türünün, Avrupa (Muller-Stöver, Kohlschmid & Sauerborn, 2009), Fransa (Veronesi, Bonnin, Calvez, Thalouarn & Simier, 2007), Lübnan (Haidar ve Sidahmed, 2006), Orta Doğu, Rusya, Ukrayna, Çin, Afganistan, Küba, Nepal, Pakistan, Hindistan, Suudi Arabistan, Türkiye, Uganda, Tunus (Abbes, Kharrat, Chaibi, 2008), Amerika (Parker, 2009), İspanya ve Yugoslavya'da (Sauerborn, Buschmann, Ghiasvand, Kogel, 2002) önemli ölçüde verim düşüşüne neden olduğu belirtilmiştir.

Trakya bölgesi Türkiye'de ayçiçeği üretimi en çok yapılan aynı zamanda orobanş kaynaklı yoğun zarar gören, önemli verim ve kalite kaybı yaşayan bir bölgedir (Aksoy ve Pekcan, 2014). Orobanş farklı iklim koşullarında sürekli yeni ırklar meydana getirebilmekte ve bunlara dirençli ayçiçeği geliştirilse bile tekrar ortaya çıkarak tehlike oluşturmaktadır.

1985 yıllarında, Edirne ve çevresinde orobanş yoğunluğunun oldukça fazla olduğu bildirilmiştir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (TTAE) ve özel şirketlerce yapılan denemelerde ülkemizde yayılış gösteren yeni ırklar bulunmuş, etkili olduğu bölgeler belirlenmiş ve yeni geliştirilen özel dirençli çeşitlerle tehlike ortadan kaldırılmıştır (Çizelge 2.8) (Kaya, 2003b).

1982-1987 yıllarında TTAE tarafından ayçiçeği çeşitleri ile ıslah materyali denemeye alınıp yeni dayanıklı hat ve çeşitler oluşturulmuştur. Romanya'dan alınan ırk ayırıcı set ile bölgedeki orobanşın 5 yeni ırktan (A, B, C, D, E) oluştuğu bulunmuştur. Trakya'da ayçiçeği ekilen yerlerin yaklaşık üçte ikisinden çoğunda orobanşın yeni ırkları görülürken, 2004'ten sonra yeni ırk orobanşın tüm Trakya bölgesinde yayılış gösterdiği

bildirilmiştir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda son yıllarda orobanşın sürekli yeni ırklar oluşturduğu belirtilmiştir (Çizelge 2.7).

Orobanş ilk olarak 19. yüzyılın ilk yarısında Rusya'da ayçiçeği üzerinde bir parazit olarak görülmüştür (Antonova vd., 2013). Şimdiye kadar, orobanş paraziti 8 ırk olarak A'dan H'ye büyük harfler kullanılarak rapor edilmiştir. A ve B ırkları Rusya'nın farklı bölgelerinde ortaya çıkmış, 1930'larda Moldova ve Ukrayna'da B ırkının görünümü de rapor edilmiştir (Duca, 2014; Kaya, 2014; Miladinović, 2012b). B ırkına direnç ayçiçeği hibritleri ile geliştirilmiş; ancak bu direniş 1970'lerde Moldova'da görülen C ırkı tarafından tekrar kırılmıştır (Duca, 2014). Bu dönemde, yeni bir ırka dirençli ayçiçeği melezlerini iyileştirmeye yönelik çalışmalar, Rusya'daki eski *Orobanş cumana* ırklarına duyarlılık ile sonuçlanmıştır. Yakın geçmişte, Rusya'nın güney bölgelerinde E, F, G ve H olarak adlandırılan yeni ve daha tehlikeli orobanş ırkları tespit edilmiştir (Antonova vd., 2013).

Kazakistan, Romanya, Sırbistan, Bulgaristan, Fransız ve İspanya'da orobanşın yanı sıra, orobanş enfeksiyonları da ülkemizde ayçiçeği üretimi için büyük bir tehdit haline gelmektedir. Ülkemizin ayçiçeği üretiminin yarısından fazlasının yapıldığı Trakya bölgesinde F ırkı oldukça yaygındır, aynı bölgenin birçok farklı noktasında G ırkı da tanımlanmıştır. Ayrıca, son yıllarda Anadolu Bölgesi'nin ayçiçeği tarlalarında da özellikle Konya ovasında orobanş çıkmaya başlamış; bu bölgede G ve H ırkının olduğu belirtilmiştir (Kaya, Evci, Pekcan, Gucer, 2004; 2012b; Molinero-Ruiz vd., 2014; 2015).

Orobanşın Rusya'da ilk kez ortaya çıkmasından bu yana yüz yıl geçmesine rağmen, hala kontrol edilememekte ve günümüzde Avrupa, Asya ve Afrika'nın bazı bölgelerinde ayçiçeği üretimi için en büyük tehditlerden biri olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, her geçen gün yeni bölgelere yayılmakta ve aynı hızda virülansı artmaktadır (Skoric vd., 2012a; Antonova vd., 2013; Fernández-Martínez, Pérez-Vich, Velasco, 2015).

Çizelge 2.7 Dünyadaki farklı ülkelerde bulunan *Orobanche cumana* ırkları (Molinero-Ruiz vd., 2015; Gonzalez, 2021)

Ülke	Belirlenen *O.cumana* Irkları Geçmiş	Belirlenen *O.cumana* Irkları Günümüz	Kaynaklar
Bulgaristan	A, B, C, D, E	E, F, G, H	Shindrova, 2006; Batchvarova, 2014; Encheva 2018
Çin	A	A, B, C, D, E, F, G	Ma & Jan, 2014; Shi vd., 2015; Zhang vd., 2018
Almanya	A, B, C, D	E, F	Zoltán, 2001; Hargitay, 2014; Molinero-Ruiz vd., 2014
Macaristan	A, B, C, D	E, F	
Kazakistan	Bilinmiyor	C, G	Antonova, 2014
Moldova	B, C	E, F, G, H	Alanso, 1998; Gisca vd., 2013; Duca, 2014; Duca vd., 2017,2019
Romanya	A, B, C, D, E	F, G	Vrânceanu vd., 1980; Pacureanu-Joita vd., 2004, 2008, 2009; Risnoveanu vd., 2016
Rusya	A, B, C, D	D, E, F, G, H	Kaya vd., 2009; Shindrova&Penchev, 2012; Antonova vd., 2013; Skoric, 2012; Antonova, 2014
Sırbistan	B, E	E, F	Mihaljčević, 1996; Masirevic vd., 2012; Miladinovic vd., 2014; Dedic vd., 2018
İspanya	B, C, D, E	E, F, G_{GV}	González-Torres vd., 1982; Melero-Vara vd., 1989; Saavedra Del Río vd., 1994; Alonso vd., 1996; Molinero-Ruiz vd., 2008, 2014; Fernández-Escobar vd., 2008; Martin-Sanz vd., 2016; Malek vd., 2017
Türkiye	D, E	F, G, H	Bulbul vd., 1991; Kaya vd., 2004; 2012; Molinero-Ruiz vd., 2014
Ukrayna	A, B, C, D	E, F, G, H	Alanso, 1998; Burlov&Burlov, 2010; Hablak& Abdullaera, 2013; Pototskyi, 2014; Miladinovic vd., 2014; Maklik vd., 2018

Bu paraziti kontrol etmenin yollarını bulmak için çok sayıda yöntem araştırılmıştır ve hala araştırılmaktadır. Fumigasyon, toprak solarizasyonu, el ayıklaması, herbisitler, ürün rotasyonu, yabani otlarda böcekler ve mantar beslenmesi bu yöntemlere örnek olarak verilebilir. Bu tür kimyasal, fiziksel, biyolojik yöntemlerin her biri, yabancı ot kontrolü de olsa, yüksek maliyet, çevresel olarak tehlikeli, verim kaybı, tekrarlama şartı gibi farklı dezavantajlara sahiptir (Joel, 2000; Aly, 2007). Ayçiçeği üretimini kısıtlayan temel faktörlerden birisi hastalıkların kontrol edilmesinde yaşanılan zorluklar olarak ortaya çıkmıştır. Bu tür sorunlarla başa çıkmanın en kalıcı yolu, hastalık etmenine karşı dirençli yeni çeşitlerin geliştirilmesi olup, bu amaçla yabani ve kültüre alınmış *Helianthus* türlerine ait genetik kaynakların kullanımı büyük önem taşımaktadır. Islah yoluyla istenilen karakterlerin aktarılması, türler arası melezlemelerle gerçekleştirilir ve yeni bir çeşidin geliştirilmesi uzun zaman alan yoğun bir süreçtir (Melchinger, 1990). Bu nedenle klasik ıslah çalışmalarının başarısını sağlayan, bu çalışmalarda tamamlayıcı ve destekleyici önem taşıyan MAS ile bu gen aktarımını az zamanda, etkili ve ekonomik biçimde gerçekleştirmek mümkündür (Saftić-Panković, Hladni, Satovic, Radovanović, Kraljević-Balalić 2010).

Orobanşa dayanıklılık için ayçiçeği yetiştiriciliğinin temel amacı, istenen *Or* genlerini taşıyan, yüksek verimli ayçiçeği genotiplerinin geliştirilmesidir. Orobanşın yüksek derecede öldürücü ırklarına direnç için belirlenen genotipler, gen aktarımı için değerli bir kaynaktır ve ırksal farklılaşma için kullanılabilir. Çoğu zaman, yetiştiriciler, ırksal sınıflandırma için önceki çalışmalardan elde edilen kendi soylarını kullanırlar (LC-1093, P96, HA267, DEB-2, etc.), ancak bazı belirli bölgelerdeki orobanş popülasyonları yeterince ayırt edilememiştir. Karşılık gelen farklı kendilenmiş hatların eksikliği, orobanş dirençli ticari hibritlerin (Transol, ES Bella, LG-5580, PR66LE25 ve diğerleri) Avrupa çapında standartlar olarak yaygın şekilde kullanılmasına neden olmuştur. Genel olarak, hibritler, direnç mekanizmalarının kombinasyonu nedeniyle, kendi içinde melezlenmiş hatlara kıyasla orobanşa karşı daha iyi ve daha dayanıklı bir direnç sergilemişlerdir (Çizelge 2.8). (Fernández-Martínez, Velasco, Pérez-Vich, 2012; Martín-Sanz, Malek, Fernández-Martínez, Pérez-Vich, Velasco, 2016).

Çizelge 2.8 Ayçiçeğinde orobanş dayanıklılık genleri ve etkili olduğu ırklar (Fernandez vd., 2008; Cvejic vd., 2020).

Direnç Kaynakları	Irklar	Genler	Gen Etkisi	Kaynaklar
Kruglik-A-41	A-E	*Or1*	Dominant	Vranceanu vd., 1980
Jdanov 8281	A-E	*Or2*	Dominant	Vranceanu vd., 1980
Record	A-E	*Or3*	Dominant	Vranceanu vd., 1980
S-1358	A-E	*Or4*	Dominant	Vranceanu vd., 1980
P-1380	A-E	*Or5*	Dominant	Vranceanu vd., 1980
SW501	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Dominant	Ish-Shalom-Gordon vd.,. (1993)
NR-5	E	*Or5*	Dominant	Sukno vd., 1999
R-41	E	Bilinmiyor	2 Dominant Gen	Dominguez 1996
P-96	E	*Or5*	Dominant	Perez-Vich vd., 2004
Kl-534	E	*Or6, Or7*	2 Dominant Gen	Rodríguez-Ojeda vd., (2001)
P-96	F	*Or6, Or7*	2 Dominant Gen	Akhtouch vd., 2002
J1 (BR-4)	F	*Or6; Or6, Or7*	Dominant, 2 Kısmi Dominant Gen	Jan vd., 2002; rodriguez-Ojeda vd., 2001; Velasco vd., 2007
LC-1093	F	*Or6*	Dominant	Pacureanu vd., 2004
R-96	F	*Or6, Or7*	2 Resesif Gen	Fernandez-Martinez vd., 2004; Akhtouch vd., 2002
L-86	F	*Or6, Or7*	2 Resesif Gen	Fernandez-Martinez vd., 2004; Akhtouch vd., 2002
K-96	F	QTL	Resesif	Fernandez-Martinez vd., 2004; Akhtouch vd., 2016
LSS, S ve LSR	F	*HaOr7*	Dominant	Duriez vd., 2019
LR1	F, G	QTL		Louarn vd., 2016
AO-548	G	Bilinmiyor	2 Bağımsız Dominant Gen	Pacureanu Joita vd., 2008
LC-009	G	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pacureanu Joita vd., 2009
HA267	G	Bilinmiyor	Tek Resesif Gen, QTL	Imerovski vd., 2014, 2019
AB-VL-8	G	*Or ab-vl-8*	Tek Resesif Gen, QTL	Cvejic vd., 2014, Imerovski vd., 2016,2019
LIV-10, LIV-17	G	Bilinmiyor	Tek Resesif Gen, QTL	Cvejic vd., 2014, 2018; Imerovski vd., 2019
MS-2161A	G	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Şestacova vd., 2016

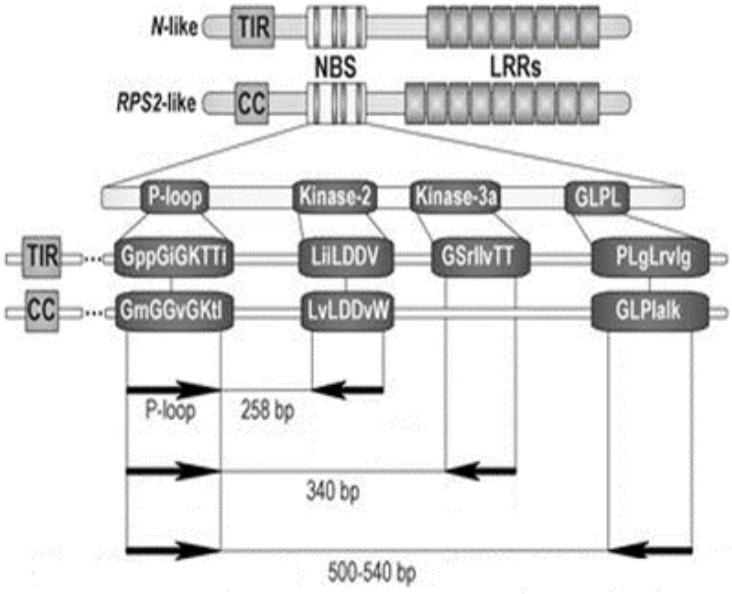
DEB-2	G	*Or Deb-2*	Tek Resesif Gen, QTL	Velasco vd., 2012; Gao vd., 2019
H. praecox	G	*Or pra1*	Tek dominant Gen	Sayago vd., 2018
VIR-665, VIR-221 VIR-222 No. 667 No. 769 No. 3046	G	Bilinmiyor	Tek Gen, Yarım Dominant	Guchetl vd., 2018
PHSC1102	F_{GV}, G_{TK}, G_{RO}, G_{RU}	*Or SII*	Kısmen Dominant	Hassan vd., 2008; Martin-Sanz vd., 2019
PHSC0933	F_{GV}, G_{TK}, G_{RO}, G_{RU}	*Or7*	Dominant	Martin-Sanz vd., 2019
13-TR-002	H	Bilinmiyor	Bilinmiyor	TTAE, 2021

2.9. Moleküler Markırlar

Moleküler markırlar, genomda herhangi gen bölgesini temsil eden, ilişkili DNA parçasıdır. DNA markırları farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılıklarını gösteren markırlardır. Nükleik asit temelli genetik markırların genom analizlerinde kullanımı ıslahçılar için büyük önem taşımaktadır. Bu markırlar morfolojik açıdan yakın olan kültür bitkilerini birbirlerinden basitçe ayrılabilmektedir. Moleküler markır polimorfik bölgelerin tespit etmekte kullanılır. Belirlenen genin birden fazla formu bulunuyorsa polimorfiktir. Polimorfizm, DNA dizisi, amino asit dizisi, kromozomal yapı ya da fenotipik özellik belirlenebilmektedir.

Bitkilerde, viral, bakteriyel, fungal ve nematod gibi çeşitli patojenlere karşı dayanıklılık sağlayan dayanıklılık direnç (*R*) genleri, tarımsal biyoteknolojinin önemli çalışma konularından biridir. Farklı birçok bitkiden klonlanarak karakterize edilmiş olan *R* genlerinin çoğu, NBS-LRR sınıfı *R* genlerinden olup benzer yapısal özelliktedirler. Kodladıkları *R* proteinleri de karakteristik bir düzen içinde yerleşmiş ve önemli fonksiyonları olan korunmuş spesifik domainlerden oluşmaktadır. Genel olarak ortada "nucleotid binding site" (NBS), karboksi-terminal ucunda "leucine rich repeat" (LRR) ve N-terminal ucunda da "Toll/interleukin" (TIR-dikotillerde) veya "coiled coiled" (CC-monokotillerde) yapıları bulunmaktadır (Staskawicz, Ausubel, Baker, Ellis, Jones, 1995; Oliveira vd., 2006). Bitkilerde bulunan *R* genlerinin çoğu, nükleotit bağlanma bölgesi (NBS) alanı ve lösin açısından zengin tekrarlardan (LRR'ler) oluşan proteinleri kodlar

(Hammond-Kosack ve Jones, 1997; Ellis, Dodds, Pryor, 2000; Varshney, Graner, Sorrells, 2005). NBS-LRR gen aileleri bitki genomlarında bol miktarda bulunur ve savunma veya koruyucu sistemleri tetiklemek için gerekli proteinleri kodlamaktadır (Dangl ve Jones 2001; 2006; Meyers vd., 1999; Meyers, Kozik, Griego, Kuang, Michelmore, 2003; Holt, Hubert, Dangl, 2003). NBS-LRR proteinlerinin bitkilerde hastalık direncini tetiklemede oynadığı rolün ilk keşfinden bu yana, geniş bir bakteri, mantar, nematod ve viral patojen spektrumuna direnç sağlayan NBS-LRR genlerini izole etmek için yaygın olarak bitkiler de kullanılmaktadır (Bent, 1996; Kanazin, Marek, Shoemaker, 1996; Leister vd., 1998; Hammond-Kosack ve Jones 1997; Dangl ve Jones, 2001; Meyers, 2003; Hulbert, Webb, Smith, 2001). Bitkilerden klonlanan 40'tan fazla *R* geninden %75'i NBS-LRR gen ailelerinin üyeleridir (Hulbert vd., 2001). Ayçiçeğinde, birkaç NBS-LRR gen ailesi tanımlanmıştır (Gedil vd., 2001a; Bouzidi vd., 2002; Radwan vd., 2003; 2008; Radwan, Bouzidi, Nicolas, Mouzeyar, 2004). Bu kaynaklar, tüylü küf ve pas direnci genleri de dahil olmak üzere *R* genleri için çok sayıda aday sağlar (Radwan vd., 2007) ve ayçiçeği genomunda bulunan *R* genlerinin büyük ve karmaşık ağının giderek daha eksiksiz bir resmini oluşturur. Ayrıca NBS domaini içinde de yüksek oranda korunmuş fonksiyonel oldukları tahmin edilen küçük motifler (P-loop, kinase-2, kinase-3, hidrofobik GLPLAL) yer almaktadır (Şekil 2.3). (Meyers vd., 2003; Huettel, Santra, Muehlbauer, Kahl, 2002).



Şekil 2.3 NBS-LRR sınıfı *R* genlerinin genel yapısı ve NBS bölgesindeki korunmuş peptid motifler (Di Gaspero ve Cipriani, 2003)

Bu peptid motiflere özgün dejenere primerler kullanılarak birçok bitki türünde hastalık dayanıklılığı ile ilişkili RGA (Direnç Geni Analogları) markırları geliştirilmiştir (Leister, Ballvora, Salamini, Gebhardt, 1996; Kanazin vd., 1996; Yu, Buss, Saghai Maroof, 1996; Michelmore, 2000). RGA'lar, bitki genomlarında *R* gen lokuslarıyla bağlantılı olarak yaygın biçimde bulunmaları (Aarts vd., 1998; Peñuela, Danesh, Young, 2002) ve yüksek polimorfizm göstermeleri nedeniyle dayanıklı genotiplerin seleksiyonunda kullanılabilen son derece başarılı markırlardır (Chen, Line, Leung, 1998; Quint, Dußle, Melchinger, Lübberstedt, 2003). Bu yöntemle; hastalık ve zararlılara direnç, istenen maddenin sentezlenmesi için markırlar kullanarak seleksiyon yapılmaktadır. Bu da zaman ve iş yükünü azaltarak çabuk bir şekilde istenen özellikte bitkileri belirleme ve bunları ebeveyn olarak seçme gibi faydalar sağlamaktadır.

Bu tezde ülkemizde tarımı yapılan ayçiçeğinin genotiplerindeki orobanş direncine karşı dayanıklılık genleri ile bağlantılı markır potansiyeli yüksek RGA primer çiftlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda çalışmada kullanılan genotiplerin melezlenmesi ile geliştirilecek haritalama popülasyonlarında, orobanş direncine karşı dayanıklı ayçiçeği genotiplerinin seleksiyonu için kullanılabilecek RGA markırları belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılacak yabani ayçiçeği melezleri başta orobanş olmak üzere bugüne kadar birçok biyotik ve abiyotik strese dayanıklılıkta gen kaynağı olarak kullanılmıştır.

2.10. Akış Sitometrisi (Flow Sitometri)

Akış sitometrisi, tek tek hücrelerin veya diğer biyolojik partiküllerin bir alıcı cihaz tarafından bir sıvı içerisinde, tek sıra halinde alınarak bu hücrelerin veya partiküllerin fiziksel veya kimyasal özelliklerinin ölçüldüğü bir yöntemdir. Bu yöntem dört ayrı komponentten oluşur. Bunlar; 1- Işık kaynağı ve fokus yapan mercekler, 2- Akım sistemi, 3- Sinyal detektörleri ve dönüştürücüler ve 4- Bilgi toplama, depolama ve analiz için bilgisayar sistemidir (Şekil 2.4). Süspansiyon içindeki hücreler tek sıra halinde bir ışık içinden geçerken her bir hücre üzerinde aynı zamanda birçok ölçümler yapılabilir. Hücreler lazer ışınını geçerken en azından bir ve muhtemelen de iki olay meydana gelir (Johnson, 1992). İlk olay ışının yayılmasıdır. Işın kaynağına paralel olarak yayılan ışınlar

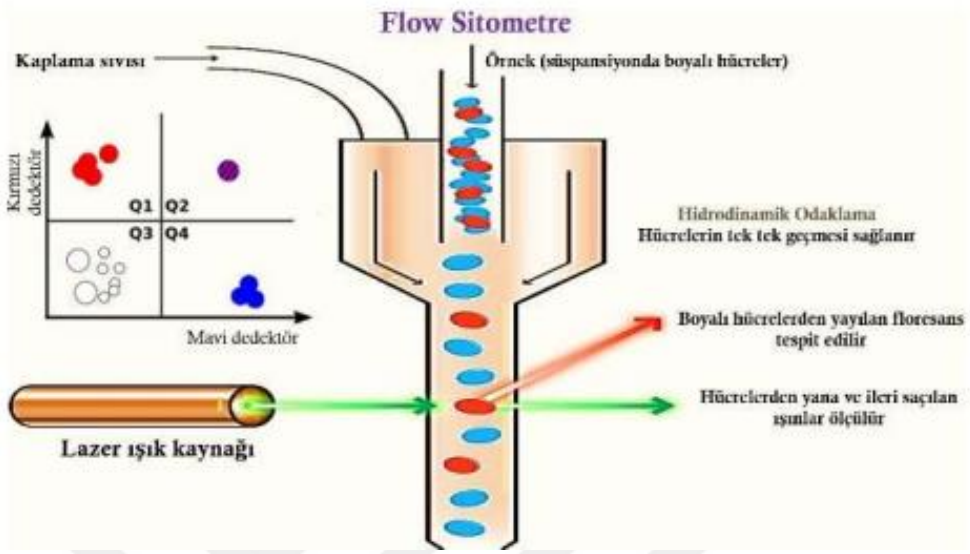
hücrenin çapı, lazer ışınına 90 derece açı ile yayılan ışınlar ise hücrenin içyapısı hakkında bilgi verir. İkinci olay eğer analiz edilen örnek florokromlarla boyanmış ise oluşur. Florokromlar laser ışınından enerji emer ve az enerjiyle daha uzun dalga boyunda tekrar dışarı verirler. Saçılan ışık miktarı hücre içindeki florokromun oranı ile bağlantılıdır. En yaygın kullanılan florokromlardan DNA boyası propidium iodide en fazla 488 nm dalgaboyunda uyarılır ve en fazla 620 nm dalgaboyunda ışın çıkarır. Saçılan ışın ve dalgaboylarının anlamlı olması için onların toplanması ve bilgi haline çevrilmesi gerekir. Sinyal iletici cihazlar ile analog-digital dönüştürücüler tarafından bilgisayar analizi için digital sinyaller haline getirilirler (Demirel, 1995).

Akış sitometrinin günümüzde en önemli uygulama alanları; floresan boyalara tutunmuş antikorları kullanarak hücrelerin fenotipik analizinin yapılması, hücrelerin taşıdıkları özelliklere göre ayırtedilmesi ve DNA analizidir (Martinez, Beck, Allsbrook, Pantazis, 1990). Akış sitometri DNA analizi hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. DNA içeriğinin akış sitometrisi yöntemiyle analizinde bir floresan boyası kullanılır. Bu boya hücrelerin DNA'sına bağlanır. DNA'ya bağlanan boyanın miktarı ise her bir hücredeki total DNA'ya orantılıdır. Böylece bir hücre popülasyonunda DNA'da bir kayıp veya ploidi tesbit edilebilir (Demirel, 1995). Flow sitometri, teorik olarak bitkilerde geniş bir kullanım özelliği olmasına rağmen, en fazla çekirdek DNA içeriği analizinde denemiştir (Tuna vd., 2001; Dolezel ve Bartos, 2005).

Çekirdek DNA içeriği bir hücrenin çekirdeği içerisinde sahip olduğu toplam DNA miktarıdır. Çekirdek DNA miktarı bir türün farklı bireyleri ve bir bireyin tüm hücreleri arasında sabittir ve değişim göstermez. Ancak türler arasında 1000 misli kadar değişim göstermektedir. Bundan dolayıda çekirdek DNA içeriği bilgisi tür için spesifiktir. Bu karakteristiğinden dolayı çekirdek DNA içeriği bilgisine biyoloji, taksonomi teşhis ve sınıflandırma, evrim, genetik ve bitki ıslahı ile ilgili çalışmalarda sık sık ihtiyaç duyulmakta ve yararlanılmaktadır. Bu nedenle uygun yöntemle hassas bir şekilde belirlenmiş çekirdek DNA içeriği bilgisi birçok alanda kullanım alanına sahiptir (Tuna, 2013).

Ploidi aynı tür bitkilerde görülebilen genetik bir olaydır. Çeşitli genetik kaynakların tür teşhisinin ve ploidi seviyelerinin belirlenmesi, bilimsel denemelerde ve ıslah programlarında kullanılması için büyük önem taşımaktadır (Tuna vd., 2001). Tuna vd., (2004) çalışmasında, ploidi düzeyi ile DNA içeriğinin de aynı oranda artış

gösterdiğini kanıtlamıştır.



Şekil 2.4 Akış sitometrisi genel çalışma prensibi (Daniel, 2004)

BÖLÜM 3

KAYNAK ARAŞTIRMASI

3.1. Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*) Markır Çalışmaları

Yabani ayçiçeği türlerinden oluşan koleksiyonda, 51 yabani türden 37'si çok yıllık ve 14'ü tek yıllık, 19 alt türlerle birlikte toplam 70 tür yabani ayçiçeği yetiştiriciliği yapılmaktadır (Seiler, Qi, Science, 2017).

Helianthus cinsi içerisindeki türlerin ploidi seviyelerinde (diploid, tetraploid, hekzaploid) farklılıklara rağmen, birçok başarılı özellikteki genlere sahip türlerarası melez üretilmiş olup, bunlar arasında değişken kromozom sayılarıyla tam veya kısmi melezler ortaya çıkmıştır (Atlagic, 2006).

Ayçiçeği (*H. annuus*) 3500 Mb boyutundaki nüklear genoma sahip 2n=34 kromozomu bulunan diploid bir bitki olduğu belirtilmiştir (Baack, Whitney, Rieseberg, 2005).

Helianthus cinsinde temel kromozom sayısı n = 17 olup, cins içerisindeki türlerde somatik kromozom sayısı 2n = 34 ile 102 arasında değişmektedir. Bu nedenle, *Helianthus* cinsi yüksek kromozom sayısına sahip bir tür olarak kabul edilmektedir (Geisler, 1931).

Tohumların toplanması, genetik kaynakları korumanın ilk adımıdır. 1976'dan 2004'e kadar olan dönemi kapsayan yabani tür keşiflerinin geçmişi gözden geçirilmiştir (Seiler ve Gulya, 2004).

Batı, Güney ve Güneybatı eyaletlerinden, türlerin temsilini artırmak için 2015 yılında yapılan iki keşif dahil olmak üzere, belirli türleri ve coğrafi boşlukları doldurmaya yönelik son 10 yılda yabani tür katılımlarının üçte biri eklenmiştir (Marek, 2016).

Kapsamlı bir tohum koleksiyonundan yararlanan ayçiçeği mahsulünün iyileştirilmesinde yabani ayçiçeğinin uzun geçmişi nedeniyle, yabanilerin toplanma

önceliği ortam olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, kapsamlı ex situ korumadan yoksun olan taksonlar vardır ve bu da ayçiçeği koleksiyonunda boşluklara neden olduğu belirtilmiştir (Castañeda-Álvarez vd., 2016).

Yabani ayçiçeği türleri, özellikle doku, tüylülük, renk gibi yaprak özelliklerindeki genetik çeşitliliği yanında, tohum ve diğer özellikler bakımından da büyük farklılıklar gösterir. Arzu edilen agronomik özelliklerin kültürü yapılan türlerde genotip farklılıkların çok daralması nedeniyle, yabani türlerden ilave edilecek yeni önemli genler ile genişletilmesiyle ayçiçeğinde pratik üreme stratejilerini desteklemek için daha verimli genetik materyaller geliştirmeyi amaçlayan ıslah programlarında yabani ayçiçeği akrabalarının kullanımına son yıllarda fazlaca ihtiyaç duyulmaktadır. (Seiler ve Marek, 2011; Sujatha, 2006).

Türlerarası melezlemelerle, arzu edilen özelliklerin yabani ayçiçeklerinden elde etmek için erkek kısırlığı, yağ içeriği ve kalitesi gibi özellikler de olmak üzere birçok verim öğesinde, yabani akrabaları arasında ve ayrıca potansiyel yeni çeşitler üretmek için bugüne kadar daha yakın cinsler arasında birçok spesifik melezlemeler gerçekleştirilmiştir (Faure, Serieys, Kaan, 2002; Vassilevska-Ivanova Tcekova, 2003; Seiler vd., 2017; Serieys, 1994). Bu melezleme çabalarından sonra hem biyotik hem de abiyotik stres direncinde kalite ve verim özelliklerinde birçok faydalı gen kültürel tiplere aktarılmıştır (Seiler ve Marek, 2011; Seiler vd., 2017).

Fazla sayıda moleküler markırın kullanımı ve değişen yoğunluklarda çok sayıda bağlantı haritasının oluşturulmasıyla kültüre alınmış ayçiçeğinin (*Helianthus annuus* L.) geliştirilmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir (Knapp, Berry, Rieseberg, 2001).

Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı markır sistemlerinin kullanımıyla ayçiçeğinde oluşturulan çok sayıda genetik harita mevcuttur (Hahn ve Wieckhorst, 2010).

Berry vd., (1994), Gentzbittel, Vear, Zhang, Bervillé, Nicolas, (1995), Jan, Vick, Miller, Kahler, Butler, (1998) tarafından ayçiçeğinde ilk defa RFLP (Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi) haritaları oluşturulmuş, daha sonra AFLP (Arttırılmış Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi) markırları haritalara eklenmiştir (Peerbolte ve Peleman, 1996; Gedil vd., 2001a).

RAPD (Değişken DNA Dizilerinin Tesedüfen Çoğaltılması) markırlarının kullanımıyla kromozomal yapısal değişikliklerin etkileri incelenmiştir (Rieseberg, Choi, Chan, Spore, 1993). Burke vd., (2004), SSR /RAPD genetik bağlantı haritası oluşturmuş,

bazı araştırmacılar da diğer genetik haritaları AFLP markırlarının kullanımıyla geliştirmişlerdir (Gedil vd., 2001b).

Çoğu ayçiçeği bağlantı haritasında, ayçiçeğindeki haploid kromozomların sayısını temsil eden 17 bağlantı grubu (LG) içermektedir. Bu haritaları SSR (Basit Dizi Tekrarları) markırlarına dayalı genetik haritalar izlemiştir. Ayçiçeğinde SSR markırlarını kullanarak ilk bağlantı haritasını oluşturmuşlardır. 2.000'den fazla SSR, genomik dizilerden (gSSR) ve EST'den (EST-SSR) türetilmiştir ve böylece haritalama ve genotiplemenin artık mevcut olduğu vurgulanmıştır (Tang vd., 2003).

Yeni bir rekombinant doğal hat popülasyonu kullanarak SSR markırlarıyla oluşturulan haritanın yoğunluğunu arttırmışlardır. Bu SSR markırları (NCBI aracılığıyla sunulan diziler ve primerler), genlerin ayrı bağlantı gruplarında lokalizasyonuna izin verdikleri için çok değerli bir aracı temsil etmektedir (Yu vd., 2003).

Tüm genom boyutunun %80'ini temsil eden yaklaşık 3 Gb bir araya getirilmiştir ve ayçiçeği hibritlerinin iyileştirilmesini amaçlayan tüm farklı araştırma programları için son derece yararlı bir araç oluşturmuştur (Hu, Yue, Vick, 2007).

Ayçiçeğinde yeni geliştirilen yüksek yoğunluklu haritaların yüksek çözünürlüğü, ilgi alanlarının daraltılmasını kolaylaştırır ve bu da yakın gelecekte çeşitli özellikler için genlerin tanımlanmasına ve klonlanmasına izin verdiği belirtilmiştir (Dehmer ve Friedt, 1998).

3.2. Ayçiçeğinde Orobanş Irkı ile İlgili Çalışmalar

Orobanche cumana Wallr., ekili ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) için ciddi parazitik bir yabani ottur (Parker ve Riches, 1993).

Orobanş popülasyonları, virülanslarına göre genellikle ırklara ayrılır. Şimdiye kadar, A'dan H'ye harflerle gösterilen sekiz ırkla rapor edilmiştir (Kaya, 2014).

Genetik çalışmalarla Romanya'da Fundulea'daki Tarımsal Araştırma ve Geliştirme Enstitüsü'nün kültive edilmiş ayçiçeği gen havuzunu kullanarak beş orobanş ırkının var olduğunu belirlemişlerdir. Bu ırklara göre dirençleri kontrol eden dominant genleri ve ırklarının belirlenmesini kolaylaştırmak üzere *Or 1, Or2, Or 3, Or 4* ve *Or 5* genleri için "ırk ayırıcı set" belirlemişlerdir. A, A + B, A + B + C, A + B + C + D yarışlarına direnç için baskın genleri kullanarak beş Orobanş ırkını (A'dan E'ye)

tanımlanmıştır. Irk E'ye dirençli kendi içinde melezlenmiş hatlar ve hibritler başarıyla geliştirilmiş, böylece Avrupa, Asya ve dünya çapında ayçiçeği üretimi iyileştirilmiştir (Vranceanu, Tudor, Stoenescu, Pirvu, 1980).

Son yıllarda İspanya (Fernández-Martínez vd., 2000; Akhtouch vd., 2002), Romanya (Skoric ve Pacureanu 2010; Pacureanu-Joita, Vranceanu, Soare, Marinescu, Sandu, 1998; Pacureanu-Joita, Fernández-Martínez, Sava, Raranciuc, 2009), Rusya'da (Antanova vd., 2011 ve 2013), Bulgaristan (Christov, Batchvarova, Hristova-Cherbadzhi, 2009; Christov vd., 2010) ve Türkiye'de (Kaya, Evci, Pekcan, Gucer, 2004), yeni orobanş ırkları belirlenmiştir. Çin'de 1979'dan itibaren ayçiçeği istilası da gözlenmiştir. (Ma ve Jan, 2014), Yakın zamanda 2007'de Fransa'da (Jestin, Lecomte, Duroueix, 2014) ve 2010'da Tunusta görülmüştür (Amri vd., 2012).

Dirençli ayçiçeği germplazmasının ortaya çıkması, belirli bir süre parazit kontrolü sağlamış, ancak bunu daha agresif orobanş ırklarının yayılması izlemiştir. Şu anda orobanş, Güney Avrupa'nın tüm ülkelerinde ve Karadeniz çevresinde ayçiçeğinin yetiştirildiği bölgelerde, Kuzey Afrika, İsrail ve Çin'de mevcuttur. Dayanıklı ayçiçeği tohumlarının tanıtımı, belirli bir süre için parazit kontrolü sağlamıştır (Molinero-Ruiz vd., 2015).

Moldova'da ayçiçeği üretimini ciddi şekilde etkileyen yeni bir C ırkı ortaya çıkmıştır (Duca, Port, Boicu, 2017). Rusya Federasyonu'nu güney bölgelerinde F, G ve H çeşitli orobanş ırklarının varlığı bildirilmiştir (Antonova vd., 2011). Kazakistan'da C ve G ırkları tespit edilmiş, (Antonova vd., 2013) 1980'lerde ve 1990'larda Ukrayna'da baskın olan orobanş ırkları C ve D ırkı daha az etkiliyken, daha sonra ayçiçeği ekim alanlarında daha öldürücü ırklar E, F ve G rapor edilmiştir (Hablak ve Abdullaeva, 2013). Ukrayna'nın kuzeydoğusunda, H ırkının varlığı gözlemlenmiştir (Maklik, Kyrychenko, Pacureanu, 2018).

2005 yılında Romanya'da, son derece öldürücü bir orobanş G ırkı ortaya çıktı (Pacureanu 2009), ve daha öldürücü ırklar sonraki araştırmalarda doğrulanmıştır (Rîsnoveanu, Joiţa-Păcureanu, Anton, 2016).

2008–2017 döneminde, orobanşın kalıcı olarak izlenmesi, ırksal bileşimin değiştiğini göstermiştir. C, E, F, G ve H ırklarının varlığı, E ve G ırklarının yaygınlığı ve F ırkının varlığındaki düşüş ile belirlenmiştir (Encheva, 2018).

Ayçiçeğinde tam baskın direnç, A – E ırkları da dahil olmak üzere şimdiye kadar açıklanan tüm orobanş ırklarına karşı bildirilmiştir (Vranceanu vd., 1980), F ırkı (Pacureanu-Joita, Veronesi, Raranciuc, Stanciu, 2004), G ırkı (Velasco vd., 2012) çalışmalarıyla bildirilmiştir.

Moldova'dan elde edilen sonuçlar, ırkların eşit olmayan mekansal dağılımını göstermiş, E ırkına kadar daha az öldürücü ırklar ülkenin orta kesimlerinde baskın iken, daha öldürücü ırklar ülkenin güney ve kuzey kesimlerinde %60'ın üzerinde G ve H ırkları olarak sınıflandırılmıştır (Duca, Clapco, Nedealcov, Dencicov, 2019).

İspanya'da yaygın olarak bulunan ırklar E ve F ırkıdır. Son zamanlarda, Guadalquivir Vadisi'nde İspanya'nın kuzey kesimlerinde orobanş ırkalarının yayıldığı kaydedilmiş ve F ırkının en öldürücü ırk olduğu belirtilmiştir (Molinero-Ruiz vd., 2014). Ayrıca, İspanya'nın kuzey bölgesinde F ırkı en bulaşıcı ırk olduğu bildirilmiştir (Cvejic vd., 2020).

Macaristan'da orobanş F ırkının varlığını bildirilmiş ve Türkiye'de G ırkının varlığı aynı zamanda bu çalışmayla doğrulanmıştır (Molinero-Ruiz vd., 2015).

Bazı orobanş popülasyonunun test edilmesi, Fas'ta G ırkının varlığını göstermiş olup (Nabloussi, Velasco, Assissel, 2018), yine Çin'deki ırksal yapı ve dağılımın haritalanması, A–G ırklarının varlığını tespit etmiştir (Shi vd., 2015; Zhang vd., 2018).

Yeni virülans biyotiplerinin ortaya çıkışını koşullandıran süreçlerin daha iyi anlaşılması ve bu nedenle bunların karşılaştırılması, erken gelişim aşamalarında konakçı ve parazit arasındaki etkileşimin hücresel düzeyinde temel araştırmalarla birlikte gerekli olduğu vurgulanmıştır (Krupp, Heller, Spring, 2019).

Virülanstaki artış, konakçı seçici baskısının bir sonucu olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, E ırkına dirençli NR5 hattının duyarlılığı, E ırkına dirençli melezlerin tanıtılmasından önce İspanya'da toplanan orobanş popülasyonları için kaydedilmiştir (Molinero-Ruiz, Pérez-Vich, Pineda-Martos, Melero-Vara, 2008).

F ırkının ortaya çıkışı, tek bir baskın gen *Or6* tarafından kontrol edilen dirençli genotiplerin tanımlanmasına yol açmıştır. Pacureanu-Joita vd., 1998; Perez-Vich vd., 2004, iki resesif gen *Or6* ve *Or7* (Akhtouch vd., 2002, Fernández-Martínez vd., 2008) ve iki kısmen dominant gen *Or6* ve *Or7* olarak belirlenmiştir (Akhtouch vd., 2016).

Kalıtım tarzındaki farklılık, genetik materyalin farklı geçmişlerinden kaynaklanmaktadır. Baskın orobanş direnç genleri, resesif direncin ilk kez ortaya

çıkmasına kadar daha önce ayçiçeği yetiştirme programlarında kullanılmaktadır. Resesif genler, ilgili parazite karşı daha dayanıklı direnç elde etmeyi etkileyebildiği, ancak dirençli melez geliştirmek için dirençli genleri her iki ebeveyn soyuna dahil etme ihtiyacını ortaya çıkardığı belirtilmiştir (Akhtouch vd., 2002).

Direnci açıklamaya çalışan çoğu model, baskın direncin bitkinin parazite müdahale eden bileşikleri sentezlediği aktif bir süreç olduğunu öne sürmüştür. Tersine, resesif direnç, bitki hücrelerinin patojenin yaşam döngüsü için gerekli bazı faktörlerden yoksun olmasının bir sonucu olabildiği belirtilmiştir. Yeni, daha öldürücü popülasyonlar (G ve H) ortaya çıktığında hem baskın hem de resesif kalıtımı gösteren birkaç yeni direnç kaynağı bildirilmiştir (Imerovski vd., 2016).

Bulgaristan'da, 1927 ve 1992 arasında, ayçiçeklerini parazite eden farklı orobanş ırklarını (O1 ± O5) tanımlanmıştır (Encheva ve Shindrova, 1994; Shindrova, 2006).

Pacurianu-Joita vd., (2004), çalışmalarında, yeni orobanş ırkının oluştuğunu ortaya koyarak, daha önceki ırklara dirençli P-1380 hattını savunmasız hale getiren bu yeni ırkın F ırkı olduğunu, *Or6* geni tarafından belirlendiğini bu yeni ırka dayanıklı hattın LC-1093 olduğunu bildirmişlerdir. Aynı gen havuzundan F ve G ırklarına dirençli LC 1093, LC 009 ve AO-548 hatlarını belirlemişlerdir (Pacureanu, Raranciuc, Stanciu, Sava, Nastase, 2008; Pacureanu vd., 2009).

Türkiye'de Trakya Bölgesi'nde orobanş popülasyonlarının ırkları sürekli değiştiği, TTAE tarafından yürütülen çalışmalarda, hiçbir hattın, test tam olarak direnç göstermediği bildirilmiştir (Kaya, Evci, Pekcan, Gucer, 2009).

Trakya Bölgesinde, tespit edilen 8 adet ırktan (A, B, C, D, E, F, G, H) orobanş ırkınında olduğu düşünülmektedir. Şu anda ülkemizde özellikle Trakya-Marmara bölgesi ayçiçeği ekim alanlarının %75'ini oluşturmakta ve ortaya çıkan yeni ırklar ekilen alanlarının neredeyse tamamını kaplamaktadır.

Kaya vd., (2004)'te ise, Türkiye'de bulunan genler ve yeni bir ırkın olduğunu bildirmişler, ayrıca Türkiye'de F ırkının virülansının aynı ırktan muzdarip diğer Avrupa ülkelerine göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Evci vd., (2011), 1983-1990 yılları arasında E ırkının F ırkı ortaya çıkana kadar dominant ırk olarak görüldüğünü bildirmişlerdir.

Hem hassas hem de dirençli ayçiçeği çeşitleri, orobanş tohumlarının çimlenmesini uyarır, ancak germ tüpleri, dirençli bir konağa girdikten sonra gelişemediği belirtilmiştir (Eizenberg vd., 2003).

3.3. Yabani Ayçiçeğinde Markır Çalışmaları

Ayçiçeği yabani türleri, ova, çöl, tuzlu bataklık, orman ve dağ gibi çok çeşitli habitatlarda büyüdükçe farklı çevre koşullarına uyum sağlarlar ve önemli ölçüde biyotik ve abiyotik direnç özelliklerine sahip olurlar. Yabani ayçiçeği türlerinin ilk kullanımlarından biri, Rus bilim adamı Sazyperow'un *H. argophyllus*'tan gelen pasa karşı direnci dahil etmeye çalıştığı ayçiçeği yetiştiriciliğinin başlangıcıyla bağlantılıyken, Zhdanov, orobanşa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için *H. tuberosus*'u başarıyla kullanmıştır (Fernandez-Martinez vd., 2015; Cockerell, 1929).

H. tuberosus, orobanş *R* genlerinin zengin bir kaynağıdır ve ayçiçeğinde tanımlanan ilk orobanş *R* geni olan *Or1*'in kaynağı olduğu belirtilmiştir (Vranceanu vd., 1980; Parker ve Riches, 1993).

H. tuberosus, H. grosseserratus, H. mollis, H. nuttalii, H. debilis, H. neglectus, H. niveus, H. argophyllus, H. petiolaris ve *H. praecox*'un bazı türlerinde orobanş direnci seviyeleri tanımlanmıştır (Terzić, Dedić, Atlagić, Jocić, Tančić, 2010; Jockovi´c vd., 2018). Ayrıca, *H. tuberosus*, *H. argophyllus, H. maximiliani* ve *H. debilis* gibi yabani ayçiçeği türlerinde orobanşa dayanıklı olan genler belirlenip ve kültürü yapılan ayçiçeğine de aktarılmıştır (Fernandez-Martinez vd., 2008).

Daha öldürücü bir orobanş ırkı F'nin ortaya çıkmasıyla, Jan ve Fernandez-Martinez, (2002) çalışmasında, çeşitli yabani türlerden ekili ayçiçeğine dirençte genleri dahil etmek için spesifikler arası hibridizasyon kullanılmış ve böylece dört dirençli popülasyon geliştirilmiştir (BR1-BR4). Daha sonra, yabani ayçiçeği türü *H. debilis*'in popülasyonunun, yeni ırk G'ye direnç için dominant bir gene sahip olduğu bulunmuştur (Honiges, Wegmann, Ardelean, 2008).

Bir miktar direnç gösteren tek yıllık *H. anomalus* ve *H. exilis* türlerinde çok düşük seviyede orobanşa dayanıklılık bulunurken, yeni ırklara dayanıklılık 29 çok yıllık yabani türde bulunmuştur. İncelenen çok yıllık 26 türün hepsi dayanıklı olduğu belirtilmiştir (Seiler, Jan, Gulya, 2008).

G olarak sınıflandırılan orobanş ırkına karşı baskın direncin, *H. annuus* ve *H. debilis* subsp. *tardiflorus* türlerinde olduğu görülmüştür (Velasco, Pérez-Vich, Yassein, Jan, Fernández-Martínez, 2012).

Hladni, Jocí, Miklič, Saftić-Panković, Škorić, (2009), Sırbistan'daki yıllık *H. deserticola*'dan türetilen bir doğurganlık restorer hattında F ırkına karşı direnci tanımlarken, aynı türdeki G ırkına karşı direnç bildirilmiştir (Cvejić vd., 2014).

H. praecox, H. debilis, H. petiolaris, H. tuberosus ve *H. maximiliani'*nin türlerinde F ve G ırklarına direnç olduğu bildirilmiştir (Anton, Pacureanu-Joita, Sauca, Risnoveanu, 2017).

H. tuberosus ile türler arası melezlemeden türetilen ayçiçeği genotiplerinden elde edilen LIV-17 genotipinin Türkiye ve İspanya'da bulunan orobanş popülasyonlarına resesif direnç taşıdığı bulunmuştur (Cvejic vd., 2018).

H. praecox'ta G orobanş ırkına karşı direncin yeni kaynağı olarak rapor edilmiştir (Sayago, Perez-Vich, Fernandez-Martinez, Velasco, 2018).

H. annuus ve iki çok yıllık yabani *H. divaricatus* ve *H. grosseserratus*'un türler arası poliploidlerinden türemiş F ırkına direncin kalıtımı üzerine çalışılmıştır. Direncin tek bir dominant gen tarafından kontrol edildiğini öne sürülmüştür (Perez-Vich, Akhtouch, Muñoz-Ruz, Fernández-Martínez, Jan, 2002).

Rusya Federasyonun Rostov bölgesinden orobanşın en virülant biyotiplerinin orobanş dayanıklılığı üzerine çalışılmış ve çok yıllık yabani *H. decapetalus, H. laetiflorus, H. californicus, H. giganteus, H. grosseserratus, H. salicifolius, H. occidentalis'in* orobanşa dirençli olduğunu, tek yıllık yabani türlerden sadece *H. petiolaris'in* zayıf derecede etkilendiğini bulunmuştur (Antonova vd., 2011).

H. debilis subsp. *tardiflorus* aksesyonunun tek bir lokustaki dominant aleller tarafından kontrol edilen G ırkına tam dayanıklılık sergilediği gözlemlenmiştir. Farklı seviyelerde poliploidiye sahip yabani türlerden kültür türlerine orobanş dayanıklılığın melezlenebilirliğinin ve aktarılmasının hem F1 hem de geri melezlenmiş jenerasyonlarında gerçekleştirilebilir olduğunu gösterilmiştir (Velasco, Pérez-Vich, Jan, Fernández-Martínez, 2007).

Orobanş'a direnç için ayçiçeği genlerinin evriminin yabani *Helianthus* türlerinin yeni virülans ırklarına karşı direnç sağlayan başlıca potansiyel genleri oluşturmuş olduğunu gösterdiği son çalışmalarda bildirilmiştir (Christov vd., 2009).

Yabani ayçiçeği türlerinden ekili ayçiçeğine orobanşa direnç için genlerin transferi, türler arası hibridizasyon ile yapıldığı belirtilmiştir (Škorić ve Pacureanu, 2010; Miladinovic vd., 2012b).

Orobanş *R* (direnç) genlerini tanımlamak ve ticari melezlerin ebeveynlerine aktarmak için geleneksel yetiştirme yöntemleri kullanılmıştır. Geleneksel yetiştirme yöntemleriyle melez hat gelişimi için gereken süre nedeniyle, patojenin yeni ırkları genellikle önceki ırklara direnç için genler konumlandırılmadan önce ortaya çıkar. Dahası, yeni direnç kaynakları için araştırma, patojenin yeni ırklarının keşfinden sonra tamamen fenotipik taramaya dayanmış, böylece yeni *R* genlerinin keşfini ve konumlandırılmasını daha da geciktiği bildirilmiştir (Fernandez-Martinez vd., 2000).

Tek bir *R* genine sahip orobanş dirençli genotipler genellikle çok kısa sürede dirençlerini kaybeder. *Or5* geni taşıyan ticari ayçiçeği melezleri, E'den daha öldürücü ırklara karşı dirençlerini kaybettiklerinde meydana gelmiştir. Sürdürülebilir orobanş direnci için ayçiçeği yetiştiriciliği, bu nedenle, ana genlerin piramitlenmesi veya kalitatif ve kantitatif direnç mekanizmalarının birleştirilmesi gibi yeni stratejilere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle, MAS aracılığıyla gen piramidi, hızlı genetik gelişme sağlamak için daha etkili bir yaklaşım olduğu bildirilmiştir (Perez-Vich, Velasco, Rich, Ejeta, 2013).

Şimdiye kadar birkaç orobanş direnç geni haritalanmıştır. *Or5* geni, kromozom 3'ün telomerik bölgesinde haritalanmıştır (Lu, Gagne, Grezes-Besset, Blanchard, 1999).

MAS, fenotipe dayalı seçime kıyasla hastalık direnci için ıslahta uygun, basit, daha verimli, doğru bir yetiştirme yöntemi sunmaktadır. Direnç genlerini taşıyan bölge veya bölgelerin lokalizasyonu ve tanımlanması için farklı tipte moleküler markırlar kullanılmıştır (Vieira, Santini, Diniz, Munhoz, 2016).

Geçici olarak $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ olarak adlandırılan en yakın markır, kromozom 3'te 1.5 cM genetik mesafe ile ORS683'tür. Bu gen, *Or5* ile aynı kromozom üzerinde haritalanmış olmasına rağmen, iki direnç geninin farklı olduğu kanıtlanmıştır. *Or5* geni, kromozom 3'ün üst terminalinde bulunurken, en yakın genel işaretleyici ORS1036 7.5 cM aşağı akışta, $Or_{ab\text{-}vl\ 8}$ kromozom 3'ün alt bölgesinde haritalanmıştır (Imerovski vd., 2019).

F ve G ırkına dayanıklı PHSCI 102 hattının direnci orobanş parazitinin gelişmesini engellemiş ve SNP markır kullanımı ile *ORSII* geni ayçiçeği genomu bağlantı grubu LG4 ile eşleştirilmiştir (Hassan, Hoeft, Tulsieram, 2011; Martín-Sanz, Pérez-Vich, Rueda, Fernández-Martínez, Velasco, 2019).

Yabani türlerden direnç genlerinin içe aktarılması kolay olmadığı ve bu işlem sırasında diğer birçok agronomik olarak istenmeyen (vahşi) özellik ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Direnç genlerinin eklenmesinden sonra, önemli tarımsal özellikleri iyileştirmek ve aynı zamanda istenen orobanş direncini korumak için çok sayıda çaprazlama ve seçim gerçekleştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ayçiçeğinde sürdürülebilir orobanş direncinin elde edilmesinde yararlanılabilecek çok sayıda yaklaşım ve teknik olduğu, bununla birlikte çözümün tek bir yaklaşımda değil, birden fazla yaklaşımın birleştirilmesinde ve uygun kullanım için istatistiksel araçlar geliştirilmesinde olduğu belirtilmiştir (Cvejic vd., 2020).

Resesif direncin başka bir örneği orobanş ırkı F'ye resesif direnç için QTL'yi (Kantitatif Özellik Lokusu) tespit edilmiş, ancak MAS'da kullanılabilecek markır belirlemek için ince haritalama gerekli olduğu belirtilmiştir (Akhtouch vd., 2016). Ayrıca, moleküler markırla, QTL veren orobanş System 2 direnci sağlayan markırları patentlemişlerdir. Bu tür bir direnç, F ve G ırkları için orobanş tohumlarının filizlenmesini sağlar, ancak parazit topraktan çıkmadan ve yaşam döngüsünü tamamlamadan ölür. Orobanş H ırkı Sistem 2 direnci için, SSR haritasının LG4'üne, SSR markır HT0664-CA'dan yaklaşık 3 cM uzaklıkta eşleştirilmiştir. İki SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) markırı (HT0183 ve HT090), potansiyel markırlar olarak tanımlanmıştır (Hassan vd., 2008; 2011; Martin-Sanz vd., 2020).

İlk kez GBS (dizileme yoluyla genotipleme)'den türetilen SNP markırlarını kullanarak ayçiçeğinde orobanş ırkı F direnci için üç ana QTL tanımlanmıştır. QTL'ye özgü SNP tabanlı CAPS (polimorfik dizi markırı) geliştirildi. Tanımlanan QTL'ler ve CAPS markırları, ayçiçeğinde F ırkı direncine yönelik ıslahta markır destekli seçim için değerli araç olduğu belirtilmiştir (Baytar, Çelik, Doğanlar, Frary, Doğanlar, 2021).

Kalıtım çalışmaları, ırk F direncinin iki epistatik gen tarafından kontrol edildiğini bildirmesine rağmen (Aktouch vd., 2002; Velasco vd., 2007), diğer çalışmalar direncin kalıtsal olduğunu öne sürmüşlerdir (Perez-Vich vd., 2004; Louarn vd., 2016; Akhtouch vd., 2016).

Son zamanlarda orobanşın F ırkına direnç sağlayan büyük bir direnç geni olan *HaOr7* geni, kromozom 7 üzerinde haritalanmıştır. Irk F'ye direnç sağlayan *HaOr7* geninin işlevini haritalamak ve tanımlamak için genomik ve harita tabanlı klonlama stratejisini birleştirilmiştir. *HaOr7* geninin LRR reseptörü benzeri bir zar proteini olduğunu ve ırk F'ye direnç sağladığını bu genin orobanşın bitki kökünün vasküler sistemine bağlanmasını sınırladığı bildirilmiştir. (Duriez vd., 2019), Hassan vd., (2008) ve Martin-Sanz, (2020) çalışmalarında Or_{sII}'leri kromozom 4'ün üst yarısına yerleştirdi.

G ırkına direnç kazandıran Or_{deb2} geninin, tescilli SNP markırları DHAI000240 ve DHAI007796 arasındaki patent başvurusunda kromozom 4 üzerinde eşleştiği gösterilmiştir (Gao vd., 2018).

Gao vd., (2018) çalışmasında ayçiçeği genetik haritasının kromozom 4'ün üzerinde yer aldığını belirtmesine rağmen genetik haritalaması ve direnç mekanizması hakkında bilgi vermediği için bunun üzerine SNP tabanlı ayrıştırma analizi yoluyla Or_{deb2}'nin kromozom 4'teki konumunu doğrulamak, SSR, SNP ve direnç aday geni markırları kullanarak Or_{deb2}'yi içeren bağlantı haritası geliştirilmek istenmiştir. Sonuç olarak Or_{deb2}'nin kromozom 4'ün üst yarısında 0,9 cM aralığı içinde bulunmasına izin veren SNP markırları ile yoğun şekilde genotiplendirilmiştir. Bu aralık, gen içeren ayçiçeği referans genomunun 1,38 Mbp genom bölgesine karşılık geldiği belirtilmiştir (Fernández-Aparicio, Moral, Munos, Velasco, Perez-Vich, 2021).

Yedi dirençli, toleranslı ve hassas ayçiçeği hattı test edilmiş ve incelenen dört direnç geninin transkripsiyonel aktivitesinde daha yüksek stabilite bildirilmiştir. Sonuçlar, dirençli genotiplerin stres koşullarına maruz kaldıklarında normal metabolizma seviyelerini koruyabildiklerini ve geri kazanabildiklerini göstermiştir (Sestacova, Giscă, Cucereavîi, Port, Duca, 2016).

Bitkilerin tüm genomunun, proteomunun ve metabolomunun analizindeki son biyoteknolojik gelişmeler, dirençle ilgili çok sayıda genin/proteinin daha geniş bir ölçekte keşfedilmesini ve karakterize edilmesini sağlamıştır. Ayçiçeği genomundan yararlanmanın sağlam temeli, son zamanlarda kamuya açık olan genom dizisiyle oluşturulmuştur (Badouin vd., 2017).

Ayçiçeği orobanş genomu, genom dizisinin ek açıklaması için 20 transkriptomik deneyin eklenmesiyle yakın zamanda dizilenmiştir. Bu, ayçiçeğindeki virülans genleri ile etkileşimler olarak orobanş genlerinin tanımlanması için bir başlangıç noktası olabilir.

Ayrıca, ayçiçeği tarafından geliştirilen direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve yeni direnç genlerinin ortaya çıkarılması için bir başlangıç noktası olabileceği belirtilmiştir (Gouzy vd., 2017).

Konakçı genotipler genellikle birden fazla patojen ırkına direnç kazandıran allelik olmayan *R* genleri taşıdığı, örneğin, ayçiçeği iki çok büyük NBS-LRR kümesi bulundurduğu açıklanmıştır (Bouzidi vd., 2002; Radwan vd., 2003; Radwan, Bouzidi, Nicolas, Mouzeyar, 2004).

Bugüne kadar RGA tekniği kullanılarak birçok bitki türünde çeşitli patojenlere karşı dayanıklılıla ilişkili (pirinç, domates, tütün, keten, buğday ve arpada) birçok RGA tanımlanmıştır (Leister, Ballvora, Salamini, Gebhardt, 1996; Kanazin, Marek, Shoemaker, R. 1996; Yu, Buss, Saghai Maroof, 1996; Michelmore, 2000).

Fenotipik tarama, orobanşa direnç için ıslahın önemli bir öğesi olsa da yeni direnç kaynaklarını tanımlama süreci, orobanş *R* genlerini klonlayarak ve belirli lokuslar ve alleller için teşhis amaçlı DNA markırları geliştirerek hızlandırılabilir ve NBS-LRR, *R* ayçiçeği gen kümeleri için büyük ölçüde geliştirilebilmektedir (Bouzidi vd., 2002; Radwan vd., 2003; 2004; 2007).

Yüksek oleik asit içeren ayçiçeği hibritlerinde hem oleik asit içeriği hem de orobanşa direnci belirlemek için SCAR (RTS28, RTS29, RTS40 ve RTS41) ve SSR (ORS1036 ve ORS1040) markırları *Or5* genine bağlantısına bakılmıştır. Analizlere göre, çalışılan ayçiçeği melezleri A-E ırklarına karşı dirençli bulunmuştur (Bilgen vd., 2018).

200 primer çiftinden dirençli ve hassas bitkiler arasında yalnızca 4 polimorfik markır tespit etmiştir. Yeni tanımlanmış NBS-LRR lokusları için SSCP markırları, LG3'ün üst segmentiyle eşleşmiştir. *Or5* lokusuna en yakın markır (2,6 cM) RGA181 olurken, RGA172 ise *Or5* lokusundan 7.5 cM'de bulunmuştur. Öte yandan, RGA206 ve RGA192, *Or5* lokusunun 33 cM proksimalinde eşleşmiştir (Radwan vd., 2009).

Or6'dan daha yüksek bir direnç geni taşıyan ayçiçeği hattı HA-267'de tek bir resesif direnç geni bildirilmiştir (Imerovski vd., 2016; 2019).

Tang vd., (2003) *Or5* lokusunun 6,2 cM proksimalinde en yakın SSR markır eşleşmesi ile bağlantı grubu 3'ün telomerik bölgesine yerleştirmiştir.

LG3'ten gelen primerlerin, LC1093 hattından sokulan orobanş direnç geni ile bağlantılı olduğunu doğrulamıştır. Üç SSR markırı (ORS1114, ORS1036 ve ORS1222),

direnç için farklı oranlarda (%56, %81 ve %65) bulunmuştur. *Or5* için MAS'daki RAPD ve SSR primerlerinin etkinliği test edilmiş ve primerlerin hiçbirinin yeterince verimli veya doğru olmadığı vurgulanmıştır (Iuoras, Stanciu, Ciucã, Nãstase, Geronzi, 2004).

Or genlerinin tek baskın genler olduğunu, LG3'ten belirlediği üç markırın durum katsayıları sonucuna göre direnç genleri arasında ilişki olduğunu belirtmiştir. *Or6* geninin ORS1036-240 bp., ORS1114-265 bp. allelleri arasında ilişki bulmuş, *Or4* geninde ORS665-281 bp., ORS1114-264 bp ile ilişkilendirmiş ve *Or2* geni içinse ORS1114-260 bp. allelleri arasında yüksek oranda ilişki tespit etmiş ve B, D, F ırklarına direnç kazandırmıştır (İmerovski vd., 2013).

Ekspresyonu çevre tarafından etkilenen ve F2:3 ailelerinin evrimine bağlı olarak digenik modeli doğrulayan ikinci bir gen olan *Or7*'nin varlığını öne sürerek, *Or6* alellerinin eksik baskınlığının ve *H. grosseserratus'*tan türemiş germplasmanın farklı bir ayrımı olduğu belirtilmiştir (Velasco, vd., 2007).

Üretilen çok yıllık yabani *H. grosseserratus*, *H. maximiliani* ve *H. divaricatus* türlerin poliploidleri F ırkına dayanıklı ve BR1 ile BR4 arasında isimlendirilen F ırkına dirençli dört germplasm popülasyonunun ortaya çıkarılmasına neden olduğu vurgulanmıştır (Jan, Fernández, 2002; Rodriguez-Ojeda vd., 2001).

İspanya'dan çalışılan 50 orobanş popülasyonu ile 15 SSR primeri denenerek genetik farklılığın belirlenmesi hedeflenmiştir. Orobanş parazitinin kontrol altına alınması ve devamlılığının sağlanmasının önemi vurgulanmıştır (Pineda-Martos, Velasco, Fernández-Escobar, Fernández-Martínez, Pérez-Vich, 2013).

3.4. Yabani Ayçiçeğinde Akış Sitometrisi Çalışmaları

İlk olarak akış sitometrisi, insan hücrelerindeki DNA miktarını ölçmek için kullanılmıştır. Farklı hücreleri ayırt eden ışık sinyallerini tespit edebilmek için mikroskop bazlı bir akış sitometrisi tasarımı uygulamışlardır (Kamensky, Melamed, Derman, 1965). Daha sonraları yapılan çalışmalar sonucunda genel tasarımda önemli değişiklikler meydana gelmiş ve günümüz sitometrilerine oldukça benzeyen bir tasarım ortaya çıkarılmıştır (Fulwyler, 1965).

Feulgen metodu kullanılarak nükleer DNA içeriği bilgisi, poliploidlerin genom yapısını ve progenitörlerini belirlemek için de kullanılabileceği belirtilmiştir (Rees ve Walters, 1965).

Akış sitometrisi yöntemi bitkilerde oldukça yaygın bir kullanım potansiyeline sahip olmasının yanısıra, en çok çekirdek DNA analizlerinde ve bitkilerin ploidi seviyelerinin belirlenmesinde kullanıldığı belirtilmiştir (Galbraith, Harkins, Maddox, Ayres, Dharam, 1983).

Akış sitometrisi yönteminin bitkilerde hayvandan sonra kullanılmaya başlanmasının nedeni tek hücre süspansiyonu gerektirmesinden dolayıdır. Çekirdeklerin uygun süspansiyonlarının hazırlanmasındaki zorluklar nedeniyle flow sitometrinin bitki analizlerinde kullanımının zaman aldığı vurgulanmıştır (Shapiro, 1985).

"C" harfi haploid kromozom takımına sahip bir hücre çekirdeği içerisindeki DNA miktarını, 2C değeri ise diploid genomun DNA miktarını ifade etmektedir. Bitkilerin çekirdek DNA'larına ait C değerleri 0.1 pg ile 125 pg arasında değişim gösterir. Ayrıca pikogram cinsinden belirlenen DNA miktarları nükleotid baz çiftine (1pg=980 Mbp) dönüştürülebildiği belirtilmiştir (Bennett ve Leitch, 1995; Tuna, 2009).

Çekirdek DNA miktarı hem bir bitkinin hücreleri arasında sabit kalmakta, hem de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmemektedir. Bundan dolayı çekirdek DNA içeriği her türde spesifiktir, bu özellikte, sitotaksonomi ve evrim çalışmaları büyük önem taşımaktadır. (Bennett ve Leitch, 1995; Bennett ve Smith, 2000).

Sims ve Price (1985) ise, 19 diploid *Helianthus* türünü mikrospektrofotometri yöntemiyle belirlemişlerdir.

Ayçiçeği Dünya'da kültürü yapılan önemli bitkilerinden birisidir. Bu nedenle çekirdek DNA analizlerinin bazı ayçiçeği türlerinde daha önceden yapılmıştır (Baack, Whitney, Rieseberg, 2005; Kantar, 2014; Kallamadi ve Mulpuri, 2016). Kantar vd., (2014), ayçiçeğindeki genomik çeşitlilik üzerine çalışmış, kullandıkları 21 tür ayçiçeğinin aksesyonlarının çekirdek DNA içeriğini akış sitometrisi yöntemi ile belirleyip, kullandıkları türlerin diploid olduklarını belirtmişlerdir.

Dünya'da da bu yöntemle ayçiçeği türlerinde ploidi analizleri yapılmış ve mevcut ayçiçeği türlerinin kromozom sayıları ve ploidi düzeyleri belirlenmiştir. Daha önce

ayçiçeğinde yapılmış olan çekirdek DNA içeriği analizlerinin çoğunluğu eski bir yöntem olan ve çekirdek DNA içeriğinin oldukça kaba bir şekilde hesaplanabildiği mikrodensitometri yöntemiyle yapılmıştır. Daha yakın zamanlarda ise çekirdek DNA analizleri uygun bir metot olan akış sitometrisi kullanılarak bazı ayçiçeği türlerine ait aksesyonların çekirdek DNA içerikleri belirlenmiştir. Özet olarak ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri ile ilgili literatürde bulunan bilgilerin önemli bir kısmı uygun olmayan yöntemlerle ve yeterli hasasiyet gösterilmeden elde edilmiş ve dolayısıyla bu bilgilerin güvenirlilikleri tartışılmıştır (Kallamadi ve Mulpuri, 2016).

Aynı zamanda, Kallamadi ve Mulpuri, (2016), diploidler, tetraploidler ve hekzaploidler dahil olmak üzere 19 *Helianthus* türüne ait aksesyonların nükleer DNA içeriği incelenmiş ve 2C nükleer DNA içeriğinin *Helianthus* türlerinde 6.8 pg ila 22.4 pg arasında değiştiğini belirlemiştir. Ayrıca, pigmentasyon dahil vejetatif özellikler için yabani ayçiçeği türlerinde geniş bir değişiklik gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar çalışmalarında, yabani *Helianthus* türlerinin ploidi seviyesini belirlemek için flow sitometri kullanmışlar ve melez türlerin ploidi seviyelerini doğrulamak için çok yararlı bir yöntem olduğunu vurgulayarak, aynı zamanda, bu yöntemin ayçiçeğindeki ıslah programlarına türler arası melezlerin entegre edilmesine yardımcı olacağını belirtmişlerdir.

Geleneksel olarak ploidi seviyeleri, kök uçlarının meristem dokularını kullanarak hazırlanmış preparatlar üzerindeki hücrelerin kromozomlarının ışık mikroskobu ile sayılmasıyla belirlenmektedir. Ancak bu klasik yöntem oldukça zor olup, *Helianthus* cinsinde genelde kromozom sayıları yüksek olduğundan hatalara neden olabilmektedir. Bu nedenle, geniş hibritleşmeleri içeren ayçiçeği ıslah programlarında ebeveynlerin ve bunun sonucunda ortaya çıkan melezlerin saflığını analiz etmek için daha uygun ve doğru alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Seiler ve Marek, 2011).

Michaelson vd., (1991), *H. annuus*'un kültür ve yabani formlarında çekirdek DNA içeriğinin 6.01-7.95 pg arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir.

Akış sitometrisi ile 13 ayçiçeği türüne ait 70 ayçiçeği aksesyonunun çekirdek DNA içeriği ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi üzerine çalışılmış, yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda çalışmada kullanılan 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. Bu da bazı türlere ait aksesyonların 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 vurgulanmıştır (Şahin, 2019).

BÖLÜM 4

MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi

Bu tez çalışmasında orobanşa dayanıklılık için kullanılan bitki materyali; TTAE tarafından ayçiçeği ıslah programlarında kullanılan materyaller içerisinden belirlenmiştir. Seçilen melezleme popülasyonunda, 9728 B çeşidi dayanıklı ebeveyn (DE) olarak, 2517 B çeşidi ise hassas ebeveyn (HE) olarak kullanılmıştır. Tez çalışması bu ebeveynlerin melezlenmesi ve kendilenmesi ile elde edilen toplam 60 F2 materyali ile ebeveyn çeşitler çalışma için kullanılmıştır. Hastalık testleri sonucunda taranan F2 genotipleri dayanıklı F2, hassas F2 olarak ayrılmıştır ve bu bireyler moleküler markırların seçiciliğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Moleküler markır taramaları yabani türlerden önce bu melez popülasyonunda yapılmıştır. Böylece *Or5* ile bağlantılı olan ve seleksiyon için kullanılabilir markırlar tespit edlimeye çalışılmış ve ardından yabani türlerin taranması hedeflenmiştir. Ancak bu amaçla kullanılabilecek bir moleküler markır tespit edilemediği için, yabani türler sadece flow sitometri denemelerinde kullanılmıştır.

4.2. Moleküler Markır Analizleri

Bu tez çalışması için yapılan tüm moleküler çalışmalar, Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1).




Şekil 4.1 Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı

4.2.1. Homojenizasyon

Bitki materyalinden DNA izolasyonu için öncelikle homojenizasyon yapılmıştır. 60 adet bitkinin -20°C'lik dondurucuda muhafaza edilen taze yapraklarından yaklaşık 150-200 mg kadarı küçük parçalar halinde 2 ml'lik tüpler içerisine alınmıştır. Her bir tüp, sıvı azot (-196°C) içerisinde dondurulmuştur. Daha sonra parçalama işleminin gerçekleştirilmesi için her bir tüp içerisine zirkonyum oksit boncuklar eklenip 10 mg PVP ilave edilerek, doku homojenizatörü (Next Advance, Bullet Blender) ile 2 tekrarlı saniyede 30 devir hızında 1,5 dakika maksimum hızda parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2). Bu işlem, örnekler tamamen homojen bir şekilde parçalanmış hale gelene kadar 2-3 defa tekrar edilmiştir. Böylece örnekler DNA izolasyonu için hazır hale getirilmiştir.

4.2.2. Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu

Bitki materyaline ait yaprak örneklerinin DNA'ları aşağıda detayları verilen Doyle&Doyle'nin (1990) CTAB (Cetyl Trimethylammonium Bromide) yöntemleri kullanılarak izole edilmiştir.

1) Örnekler 65°C'ye ısıtılmıştır ve kullanmadan hemen önce %0,2 β-mercaptoethanol ilave edilmiştir, %2 CTAB Extraction Buffer'dan 750µl eklenmiştir (%2 CTAB, 20mM EDTA, 100mM Tris, 1,4M NaCl, pH:8,1).

2) Dakikada 500 devir ısıtıcılı çalkalayıcıda 65°C'de 25 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

3) Oda sıcaklığına soğutulan örneklere 750µl fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) ilave edilerek 20-25 defa ters-düz edilmiştir.

4) Örnekler 13000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilmiştir.

5) Santrifüj sonrası oluşan üst faz (süpernatant) dikkatlice 1,5ml'lik tüplere alınmıştır ve oda ısısında 750µl kloroform eklenmiştir.

6) Örnekler 13000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj yapılmıştır.

7) Santrifüj sonrası oluşan üst faz tekrar 1,5ml'lik tüplere alınarak, alınan hacmin 0,5 katı oda sıcaklığında 5M NaCl ve 2 katı -20°C'de soğutup %99,8 etanol ilave edilerek 5-10 defa ters-düz edilmiştir.

8) Örnekler +4°C'de 20 dakika beklenmiştir.

9) Örnekler soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek DNA pelletlerinin dibe çökmesi sağlanmıştır.

10) Santrifüj sonrası DNA pelletlerinin düşmediğinden emin olunarak üst sıvı atılmış ve 1ml %75 etanol ilave edilerek pelletlerin serbest hale geçmeleri sağlanmıştır (Şekli 4.2).

11) 13000 rpm de 5 dk santrifüj yapılmış ve üst sıvı tekrar atılarak DNA pelletleri kurutulmuştur.

12) Kurutulan pelletlere 200µl TE Buffer (10mM Tris, 1mM EDTA, pH:8) eklenmiş ve pelletlerin çözünmeleri sağlanmıştır.

13) Örneklere 2'şer µl RNase A (10mg/ml) ilave edildi 37°C'de 30 dakika enzim aktivasyonu için inkübasyon sağlanıp ve ardından 65°C'de 10 dakika enzim inaktivasyonu için bekletilmiştir.

14) Örneklere 300µl TE Buffer ilave edilerek hacim 500µl'ye tamamlanmıştır.

15) Örneklere 500µl fenol: kloroform: izoamilalkol ilave edilerek 10-15 defa ters-düz edilmiştir.

16) 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

17) Üst faz yeni 1,5ml'lik tüplere alınmış ve alınan örnek hacminin 0,1 katı kadar +4°C'de 3M Na-asetat (pH:4,8) ve 2 katı kadar -20°C'de %99,8 Etanol ilave edilerek 5-10 defa ters-yüz edilmiştir.

18) Örnekler -20°C'de 1 saat beklemeye bırakılmıştır.

19) +4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

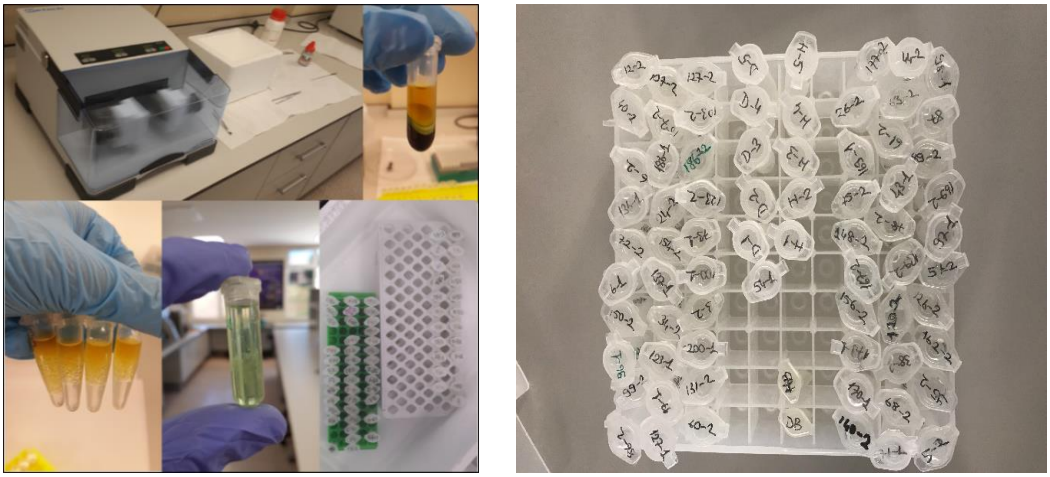
20) Üst sıvı atılmış ve 1ml -20°C'de soğutuldu %70 Etanol ilave edilerek pelletlerin serbet hale geçmesi sağlanmıştır.

21) Örnekler +4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

22) Üst sıvı atılarak pelletlerin kurutulması sağlanmıştır.

23) Kurutulan pelletlere 200µl TE ilave edilerek çözündürülmüştür.

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



Şekil 4.2 Ayçiçeği örneklerinden DNA izolasyonu

4.2.3. DNA Miktar ve Kalite Tayini

DNA miktar tayini için OPTİZEN NanoQ Spektrofotometresi kullanılmış ve örnekler için DNA miktarı ng/µl cinsinden OD260/OD280 (nükleik asit saflığı için) oranına dikkat edilerek kaydedilmiştir.

4.2.4. Agaroz Jel Elektroforez Sistemi ve Jel Görüntüleme

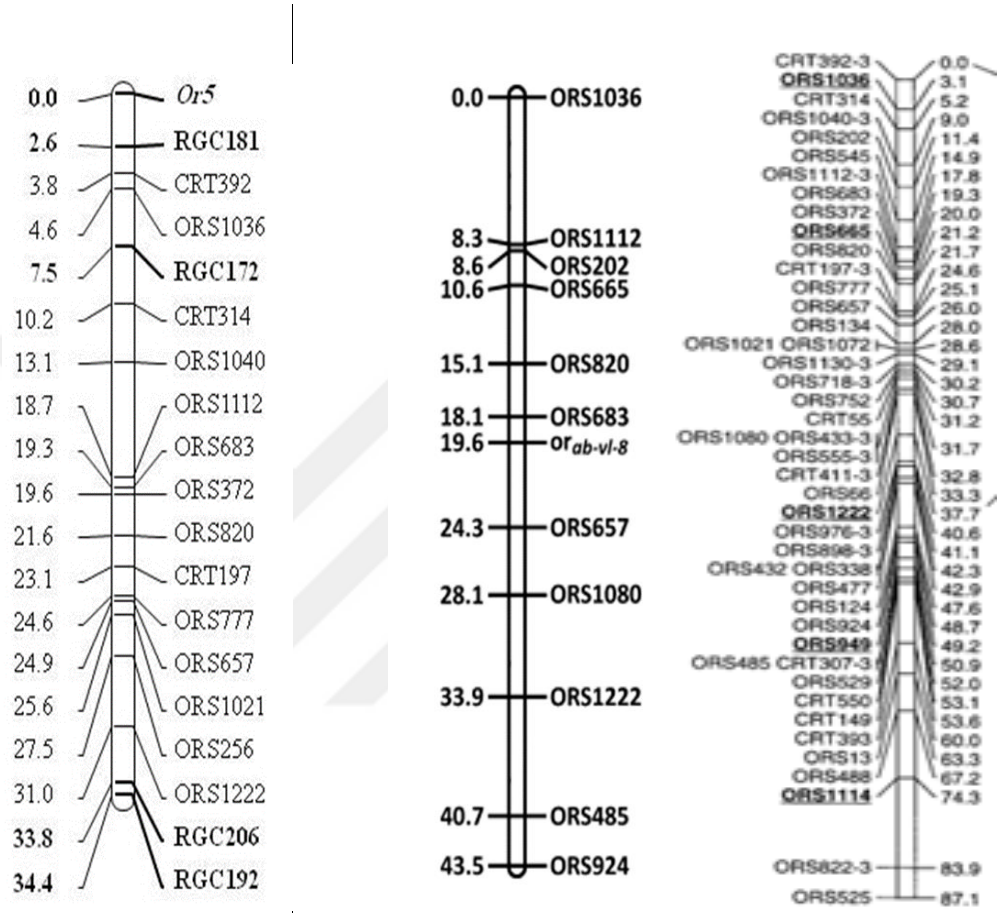
Elektroforez sistemi için öncelikle floresan işaretleyeci boya olarak etidyum bromür'ün (30 mg/L) (EtBr) kullanıdığı %2 lik agaroz jel hazırlanmıştır. PCR ürünleri, hazırlanan bu jelde uygun taraklar ile oluşturulan kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez tankına yerleştirilen jel %2 lik TAE (Tris 1.6 M, asetik asit 0.8 M, EDTA 40 mM) tamponu içerisinde 120 Volt/80 Amper'de 1 saat süresince yürütülmüştür. Elektroforezde standart olarak 100bp DNA Ladder (Cat no: 10488-058) kullanılmıştır. Elektroforez işlemi bittikten sonra DNA bantları gel görüntüleme cihazı (Bio-İmaging System MınıBIS Pro) ile görüntülenerek, Gel Quant Express programı ile analiz edilmiştir.

4.2.5. *Or5* Geni İçin Markır Çalışmaları

Markır analizleri için dayanıklı ve hassas ebeveyn hatlar ile bunların melezlenmesi sonucu elde edilen F2 genotipler kullanılmıştır. Dayanıklı ve hassas F2 genotiplerden 30'ar adet kullanılmış ve gDNA'ları eşit miktarda (25 ng/ul) bir araya getirilerek dayanıklı F2 bulk (DB) ve hassas F2 bulk (HB)'lar oluşturulmuştur. Her bir markır 6 adet örnek (Dayanıklı ebeveyn (DE), Hassas Ebeveyn (HE), İki Dayanıklı F2 bulk (DB), İki Hassas F2 bulk (HB)'de taranmıştır.

Tez çalışması için bölgedeki orobanş ırklarına dayanıklılık sağlayan *Or* genleri hedef alınmış, markırın gen bölgesine yakınlığına dikkat edilmiştir. Gen ile bağlantılı markırlar literatür taraması sonucunda belirlenmiştir. Bunlar RGA172, RGA181, RGA192, RGA206 (Radwan vd., 2008), ORS1114, ORS1036, ORS665, ORS1021 (İmerovski vd., 2013) markırlarıdır. Markır çalışmaları için uygun PCR reaksiyon koşullarının belirlenmesi oldukça önem taşımaktadır. Bunun için optimizasyon

çalışmaları yapılmıştır. Denemeler sonucunda primerlerin çalıştığı en uygun sıcaklık ve döngü koşulları bulunmuş olup, taramalar bu koşullarda gerçekleştirilmiştir. Rekombinasyon oranı markırın gen bölgesine göre değişir. Bu mesafeye yakın markırların denenmesi gereklidir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Ayçiçeği *Or* gen bölgesi genetik haritalamasında markırlar ve uzaklıkları (Radwan vd., 2008; Imerovski vd., 2016; Tang vd., 2003)

Ayrıca bu çalışma kapsamında, çeşitli bitkilerin *R* genlerinde bulunan korunmuş P-loop, kinase-2, kinase-3, GLPLAL ve LRR bölgelerine özgün olarak tasarlanmış dejenere primerlerin kullanıldığı "Resistance Gene-Analog Polymorphism (RGAP)" markırları da test edilmiştir. RGAP analizleri kapsamında 40 adet RGA primeri farklı kombinasyonlarda ileri-geri primeri olarak kullanılmış, aşağıda tanımlanan 40 adet primer (Çizelge 4.2), 52 kombinasyonda denenmiş ve orobanş dayanıklılığı ile bağlantılı başka bir markır belirlemeye çalışılmıştır.

Çizelge 4.1 Ayçiçeği *Or* gen bölgesi için kullanılan gen, ırk ve markırlar

Gen	Irk	Markır	Kaynaklar
Or2	E	ORS1114	Imerovski vd., 2013
Or4	E	ORS665 ORS1114	Imerovski vd., 2013
Or5	E	ORS1112 ORS1114 ORS1036 RGC172 RGC192 RGC181 RGC206	Iuoras vd., 2004; Tang vd., 2003; Radwan vd., 2008
Or6	E	ORS1036 ORS1114	Imerovski vd., 2013
Or7	G	ORS683 ORS1112 ORS202 ORS1040	Guchetl vd., 2020
Or $_{ab\text{-}vl\text{-}8}$	G	ORS683 ORS657 ORS 202 ORS1112 ORS820 ORS1080 ORS1222 ORS924	Imerovski vd., 2016

Çizelge 4.2 Çalışmada SSR analizi için kullanılan primerler

Primer Adı	Dizisi (5'-3')	Gen	Domain	Referans	Markır Tipi
CLRR-INV1	GCAGCAACTTGTGC	Cf9	LRR	Shi vd. (2001)	RGA
CLRR-INV2	TCTTCAGCTATCTGC	Cf9	LRR	Chen vd. (1998)	RGA
NLRR.INV1	TGCTACGTTCTCCGGG	N	LRR	Yan vd. (2003)	RGA
NLRR.INV2	TCAGGCCGTGAAAAATAT	N	LRR	Chen vd. (2007)	RGA
Cre3.LRR.r	CAGGAGCCAAAAATACGTAAG	Cre	LRR	Yan vd. (2003)	RGA
XLRR.f-r	CCGTTGGACAGGAAGGAG	Xa21	LRR	Chen vd. (1998)	RGA
XLRR.INV1	TTGTCAGGCCAGATACCC	Xa21	LRR	Shi vd. (2001)	RGA
XLRR.INV2	GAGGAAGGACAGGTTGCC	Xa21	LRR	Shi vd. (2001)	RGA
AS3.INV	CCIGAIGGIGAICGIG	N, Rps2	LRR	Yan vd. (2003)	RGA
RLRR.F-R	CGCAACCACTAGAGTAAC	Rps2	LRR	Chen vd. (1998)	RGA
S2	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG	L6, N, Rps2	NBS	Leister vd. (1996)	RGA
AS1	CAACGCTAGTGGCAATCC	N, L6, RPS2	NBS	Leister vd. (1996)	RGA
AS3 (GLPLAL-1)	IAGIGCIAGIGGIAGICC	N, L6, RPS2	NBS	Leister vd. (1996)	RGA
Xa1NBS.f	GGCAATGGAGGGATAGG	Xa1	NBS	Shi vd. (2001)	RGA
Xa1NBS.r	CTCTGTATACGAGTTGTC	Xa1	NBS	Shi vd. (2001)	RGA
NBS.f1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC	N, RPS2	NBS	Yu vd. (1996)	RGA
NBS.r1	YTCAGTTGTRAYDATDAYYYTRC	N, RPS2	NBS	Yu vd. (1996)	RGA
Ptokin1	GCATTGGAACAAGGTGAA	Pto	Kinase	Chen vd. (1998)	RGA
Ptokin2	AGGGGGACCACCACGTAG	Pto	Kinase	Chen vd. (1998)	RGA
Ptokin3	TAGTTCGGACGTTTACAT	Pto	Kinase	Pahalawatta ve Chen (2005a)	RGA
Ptokin4	AGTGTCTTGTAGGGTATC	Pto	Kinase	Shi vd. (2001)	RGA
RLK.f	GAYGTNAARCCIGARAA	LrK10	Kinase	(Feuillet C, Keller B. 1997)	RGA
RLK.r	TCYGGYGCRATRTANCCNGGITGICC	LrK10	Kinase	(Feuillet C, Keller B. 1997)	RGA
S2.INV	CAICAIAAIGGITGIGGIGG	N, Rps2	P-loop	Pahalawatta ve Chen (2005)	RGA
S2(PLOOP)	GGIGGIRTIGGIAAIACIAC	Ploop	NBS-LRR	Hunger vd. (2003)	RGA
AS1.INV	CCTAACGGTGATCGCAAC	N, Rps2	P-loop	F. Lin· X. M. Chen (2007)	RGA

LM637	ARIGCTARIGGIARICC	L6, N, Rps2	P-loop	Kanazin vd. (1996)	RGA
LDD.AS	CCAIACATCATCMAGSACAA	Kinase-2	NBS-LRR	Hunger vd. (2003)	RGA
P1	GGIAAIACIACICTIGCI	N, Ploop	NBS-LRR	Hasançebi vd., (2009)	RGA
P15	IATGGAICCTTCIGCCATCCA	Kinase-2	NBS-LRR	Hasançebi vd., (2009)	RGA
P3N	GGIGGIGTIGTIGATGAT	Kinase-2	NBS-LRR	Hasançebi vd., (2009)	RGA
P17	IAGIGCIAGGGIIAGICC	Kinase-2	NBS-LRR	Hasançebi vd., (2009)	RGA
P8	ATCCTGGTGACIACICGI	LRR	NBS-LRR	Di Gaspero ve Cipriani (2003)	RGA
P10	ATGICGCAAGTTGATIAG	LRR	NBS-LRR	Hasançebi vd., (2009)	RGA
Pto-Fen-S	ATGGGAAGCAAGTATTCAAGGC	Pto	Fen	Pahalawatta ve Chen (2005a)	RGA
Pto-Fen-AS	TTGGCACAAAATTCTCATCAAGC	Pto	Fen	Pahalawatta ve Chen (2005a)	RGA
RG2	ICCIAGIACYTTIARIGCIARIGGIAR	GLPL	NBS-LRR	Aarts vd. (1998)	RGA
NLRR.f	TAGGGCCTCTTGCATCGT	N	LRR	Chen vd. (1998)	RGA
NLRR.r	TATAAAAAGTGCCGGACT	N	LRR	Chen vd.. (1998)	RGA
Xa1LR.r	GAGATTGCCAAGCAATTGC	Xal	LRR	Lin ve Chen (2007)	RGA
P172 (EL452113)	F:TACCATGTGTCTCCCTCTGATGT R:GATGTCCTTGATGTTCCCAATAA			Radwan vd. (2008)	RGA
P181 (EL455612)	F:TGGCATTAGATATGAGGTTTGGA R:TTGGACAAGAAGTCAAGTCAAGG			Radwan vd. (2008)	RGA
P192 (EL468211)	F:ACGATCAAAGTTCTGGGTTCATT R: AACGACGAACGATATTCTTACCC			Radwan vd. (2008)	RGA
P206 (DY908907)	F:CGGTCTTCTATGATGTGGAACCT R: GGTTTCCTGACATTTCCCTTACA			Radwan vd. (2008)	RGA
ORS1036	F:CCCTTTCACTTCCTATTTTCTATTCA R:CTAAGAGGGGTCGGTATGATTTC			İmerovski vd. (2013)	SSR
ORS665	F: GCACATGAGGTATGGATCTCCT R: TGCAAATACAACTCGGGAAA			İmerovski vd. (2013)	SSR
ORS1114	F: AGATGGTGGCAGGAGAGTTAAAG R: GCAGAAACAGATCAGGAGGGTAT			İmerovski vd. (2013)	SSR
ORS1021	F: AACCCTAATCCAACCAGATACGA R: TACCACCAGCTCATCCTTAACCT			İmerovski vd. (2013)	SSR

PCR reaksiyonu için gerekli olan bileşenler ve miktarları aşağıdaki gibidir;

Çizelge 4.3 Markır analizleri için yapılan PCR'ların içerikleri

PCR İçeriği (20 µl)	**Final Konsantrasyonu**
Forward Primer (10 µM)	1 µl
Reverse Primer (10 µM)	1 µl
gDNA Örneği (10 ng/µl)	2 µl
H_2O	6 µl
Master Mix	10 µl

Çizelge 4.4 RGA markırları için kullanılan PCR koşulları

Adım	**Sıcaklık (°C)**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
Başlangıç Denatürasyon	94	3 dk.	1
Denatürasyon	94	45 sn.	35
Bağlanma	40-60	1 dk.	
Sentez	72	45 sn.	
Final Sentez	72	10 dk.	1

Çizelge 4.5 RGA markırları için kullanılan PCR koşulları (Touchdown)

Primer Adı	**Adım**	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
RGA 172 RGA 181 RGA 192 RGA 206	B. Denatürasyon	94	3 dk.	1
	Denatürasyon	94	30 sn.	35 (10 döngüye kadar 1°C azalıyor)
	Bağlanma	68 ⇨ 58	1 dk.	
	Sentez	72	30 sn.	
	Final Sentez	72	15 dk.	1

Çizelge 4.6 SSR'lar için kullanılan PCR koşulları (Touchdown)

Markır Adı	**Adım**	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
ORS 1114 ORS 1036 ORS 1021 ORS 665	B. Denatürasyon	95	5 dk.	1
	Denatürasyon	95	1 dk.	40 (10 döngü sonrası her döngüde 1°C)
	Bağlanma	62 ⇨ 55	1 dk.	
	Sentez	72	2 dk.	
	Final Sentez	72	10 dk.	1

4.2.6. PCR Ürünlerinin Kapiller Elektroforezde Analizi

PCR'ı yapılan ürünlerin başarılı olup olmadığını görmek için önce agaroz jel elektroforezinde yürütülerek görüntülenmiş ve başarılı olanlar kapiller elektroforeze (Advance Analytical Fragment Analyzer) yüklenmiştir. Başarılı PCR ürünlerinde DNA fragment boyutlarına göre karşılaştırmalar yapılarak seleksiyonda kullanılabilirlikleri test edilmiştir. PCR ürünleri, 1/5 oranında dilution buffer ile sulandırılarak 96'lı plate'lere yerleştirilmiştir. Plate de her bir sıranın son kuyusuna 1-500 veya 1-1500 bç boyutlu standart 1/6 oranında sulandırılarak eklenmiştir. PCR ürününe ait DNA fragmentleri 80 dakika boyunca 9,0 kV elektrik 20 akımı uygulanarak elektroforez işlemi ile birbirlerinden ayrılmıştır. Elektroforez işleminin sonuçları cihaza özgü ProSize programı ile analiz edilmiştir.

4.2.7. Akış Sitometrisi ile Çekirdek DNA Analizi

Çekirdek DNA analizlerinde, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarında bulunan Akış sitometrisi cihazından (PARTEC) faydalanılmıştır.

4.2.7.1. Materyal

Çalışmada toplam 52 yabani ayçiçeği türü analiz edilmiş olup bunlara ait liste Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Araştırmada kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri

Aksesyon	**Taksonomisi**	**Orijini**
PI 673205	*Helianthus agrestis*	US Florida
PI 597890	*Helianthus annuus*	US Florida
PI 468651	*Helianthus argophyllus*	US Florida
PI 468659	*Helianthus atrorubens*	US North Carolina
PI 435641	*Helianthus bolanderi*	US Kaliforniya
PI 649953	*Helianthus californicus*	US California
PI 653552	*Helianthus ciliaris*	US New Mexico
PI 531040	*Helianthus cusickii*	US Washington
PI 435654	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	US Teksas
PI 613753	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	US Florida
PI 649971	*Helianthus decapetalus*	Canada Ontario
PI 435675	*Helianthus divaricatus*	US Nevada

PI 649981	*Helianthus eggertii*	US South Carolina
PI 649891	*Helianthus exilis*	US California
PI 468716	*Helianthus floridanus*	US Georgia
PI 468720	*Helianthus giganteus*	US North Carolina
PI 664715	*Helianthus glaucophyllus*	US Tennessee
PI 664644	*Helianthus gracilentus*	US California
PI 468725	*Helianthus grosseserratus*	US Oklahoma
PI 435703	*Helianthus hirsutus*	US Oklahoma
PI 653562	*Helianthus laciniatus*	US New Mexico
PI 503291	*Helianthus laetiflorus*	US New Hampshire
PI 503228	*Helianthus laevigatus*	US Virginia
PI 650001	*Helianthus longifolius*	US Alabama
PI 468746	*Helianthus maximiliani*	US Kentucky
PI 435759	*Helianthus mollis*	US Missouri
PI 592341	*Helianthus nuttallii*	Canada Manitoba
PI 531044	*Helianthus nuttallii s. nuttallii*	US Idaho
PI 597918	*Helianthus nuttallii s. rydbergii*	US North Dakota
PI 673322	*Helianthus occidentalis*	US Illinois
PI 435788	*Helianthus occidentalis s. occidentalis*	US Missouri
PI 494592	*Helianthus occidentalis s. plantagineus*	US Texas
PI 673253	*Helianthus paradoxus*	US Texas
PI 664751	*Helianthus pauciflorus s. pauciflorus*	US Kansas
PI 650031	*Helianthus pauciflorus s. subrhomboideus*	US Iowa
PI 597923	*Helianthus petiolaris*	US Missouri
PI 468842	*Helianthus petiolaris s. petiolaris*	US California
PI 649911	*Helianthus porteri*	US North Carolina
PI 468846	*Helianthus praecox*	US Texas
PI 435855	*Helianthus praecox s. hirtus*	US Texas
PI 435847	*Helianthus praecox s. praecox*	US Texas
PI 435853	*Helianthus praecox s. runyonii*	US Texas
PI 650048	*Helianthus pumilus*	US Colarado
PI 673184	*Helianthus radula*	US Alabama
PI 664672	*Helianthus resinosus*	US Mississippi
PI 664759	*Helianthus salicifolius*	US Kansas
PI 664788	*Helianthus silphioides*	US Arkansas
PI 664724	*Helianthus simulans*	US Georgia
PI 468889	*Helianthus smithii*	US North Carolina
PI 435888	*Helianthus strumosus*	US Tennessee
PI 357299	*Helianthus tuberosus*	US Former
PI 673290	*Helianthus winteri*	US Texas

4.2.7.2. Nukleus İzolasyonu

Nukleus İzolasyonu: Genç (5-6 haftalık) ve sağlıklı bitkilere ait yaprak dokuları Partec firmasına ait ticari kitler (CyStain PI absolute P) ile izole edilmiştir. Her tür için tek aksesyon ve tek tür kullanılmıştır. Nukleus izolasyonu aşağıdaki adımlarla yapılmıştır;

1. Ayçiçeği ve *Vicia sativa* (standart)'ya ait genç ve sağlıklı bitkilerden yaklaşık 20 mg taze yaprak dokusu alınarak petri kabı içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 4.4. /1).

2. Petri kabı içerisine 500 µl izolasyon buffer ilave edilmiştir (Şekil 4.4. /2).

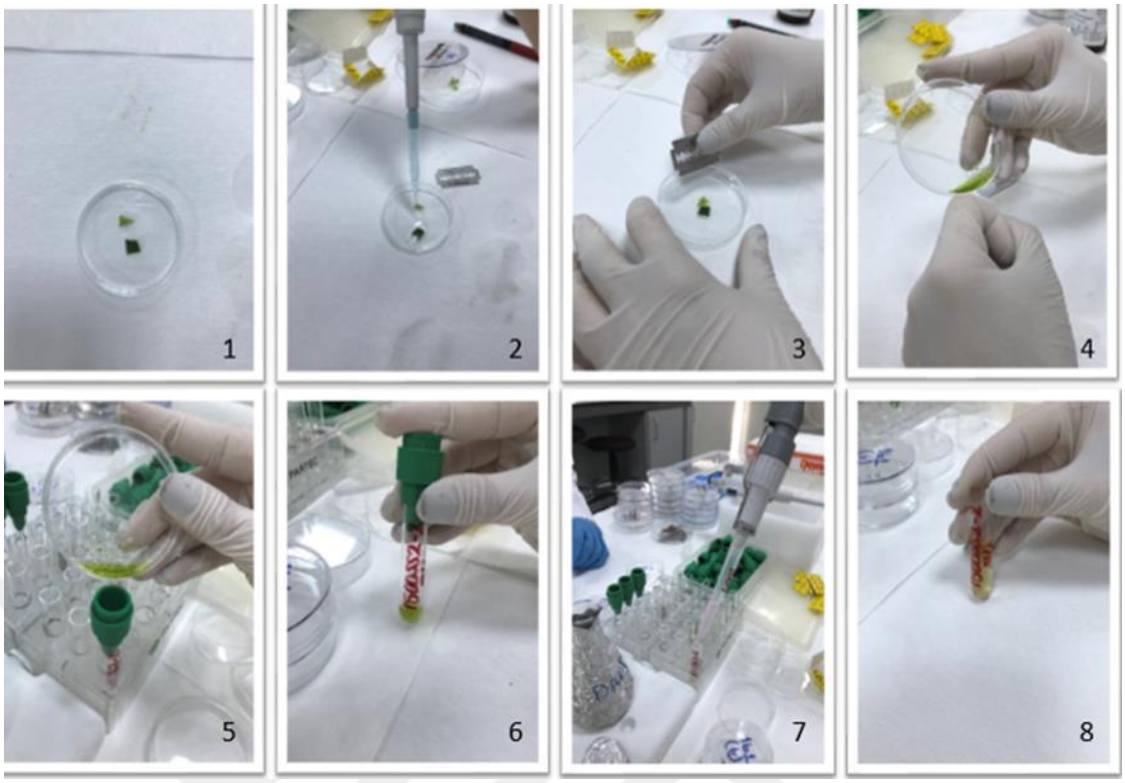
3. Solüsyon içerisindeki yaprak dokuları keskin jilet (bistürü) yardımıyla çok küçük parçalara ayrılana kadar (30-60 saniye) parçalanmıştır (Şekil 4.4. /3).

4. Hazırlanan örnek petri kabı içerisinde 15-20 saniye çalkalanmıştır (Şekil 4.4. /4).

5. Parçalama işlemi tamamlandıktan sonra petri kabı içerisindeki solüsyon, 30-33 µm lik açıklıklara sahip filtreden geçirerek mikro-santrifüj tüpüne aktarılarak çekirdeklerin bitki doku kalıntılarından ayrılması sağlanmıştır (Şekil 4.4. /5).

6. Tüpün içerisine daha önceden hazırlanmış olan 2 µl staining solüsyonu eklenmiştir (Şekil 4.4. /7).
7. Örnekler karanlık ortamda 37°C de yaklaşık 1 saat inkübe edilmiştir.

8. İnkübasyon süresi tamamlanmasından sonra örnekler flow sitometri cihazına yüklenerek analiz edilmiştir.



Şekil 4.4 Akış sitometrisi için örnek hazırlama aşamaları

4.2.7.3. Akış sitometrisi ile DNA içeriğinin ölçülmesi ve mutlak değerin hesaplanması

Yaprak dokularına uygulanan işlem sonunda bitki dokusu hücreleri ayrılarak hücre çekirdekleri serbest hale gelmiştir. Sonra bufferın içerisinde bulunan belli kimyasallar çekirdeğin zarına zarar vererek, çekirdek zarı üzerinde delikler oluşturmuştur. Floresan boya oluşan deliklerden nüfus ederek nükleik asitlere bağlanmıştır. Bağlanan floresan boya ışıma bağlandığı DNA miktarı kadar ışıma yaparak sinyal oluşturur. Oluşan sinyaller bilgisayar programında analiz edilerek hesaplama yapılır.

Çalışmamızda florasan boya olarak PI (Propidium iodide) kullanılmıştır. PI DNA'yı oluşturan tüm nükleotitlere eşit şekilde bağlandığından DNA'yı homojen bir şekilde boyamaktadır. Yayılan floresanlar ışınlar cihazdaki optik bölümlerde geçerek elektrik sinyallerine dönüşmekte ve bu sinyaller cihazın bağlı olduğu bilgisayar monitörüne histogram olarak iletilmektedir. Histogramın yatay ekseni, analiz edilen örneklerin florasan yoğunluğunu belirtirken, dikey ekseni analiz edilen hücre sayısını

ifade etmektedir. Floresan yoğunluğu arttıkça, çekirdek DNA içeriği de aynı oranda artmaktadır.

Bir bitkinin çekirdek DNA içeriğini doğru bir şekilde tanımlayabilmek için bu bitkinin çekirdek DNA içeriği, daha önce çekirdek DNA içeriği bilinen bir standart ile karşılaştırılması gerekmektedir. Standart olarak çekirdek DNA içeriği bilinen bir bitki kullanılırken; onun dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla beraber hazırlanmıştır. 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 hesaplanmıştır.

$$\textbf{Örneğin Çekirdek DNA miktarı } (pg) = \frac{\text{Örneğin florasan yoğunluğu } (G1 \text{ pikinin değeri})}{\text{Standard florasan yoğunluğu } (G1 \text{ pikinin değeri})} \times \textbf{standartın DNA içeriği}$$

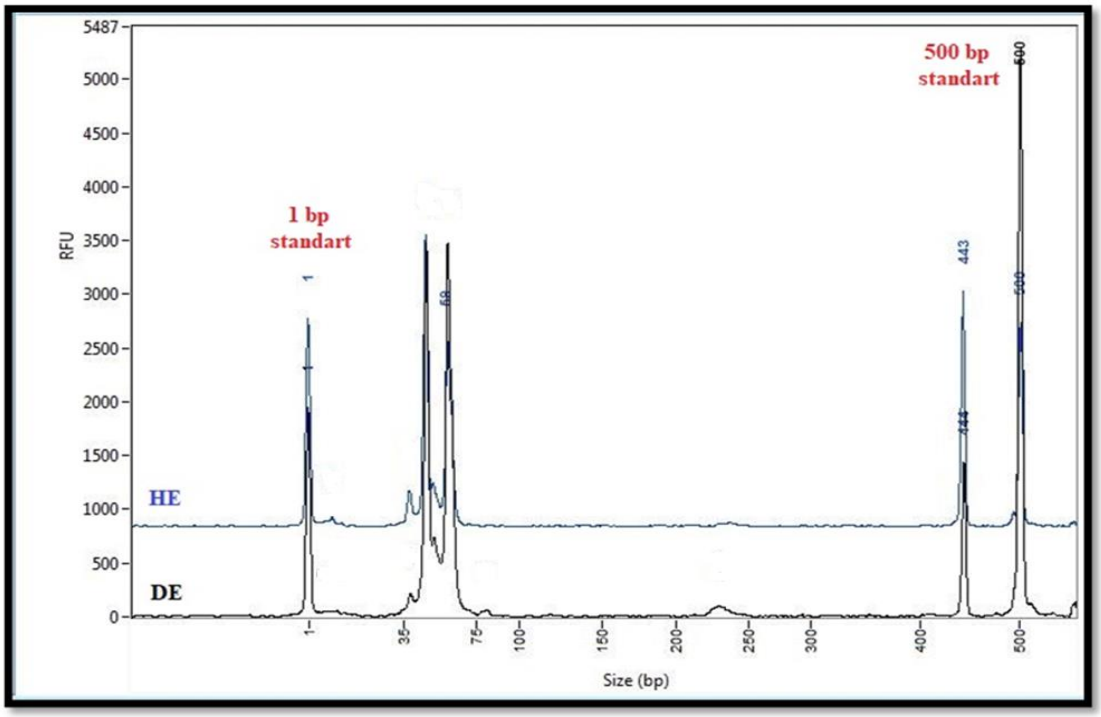
BÖLÜM 5

BULGULAR

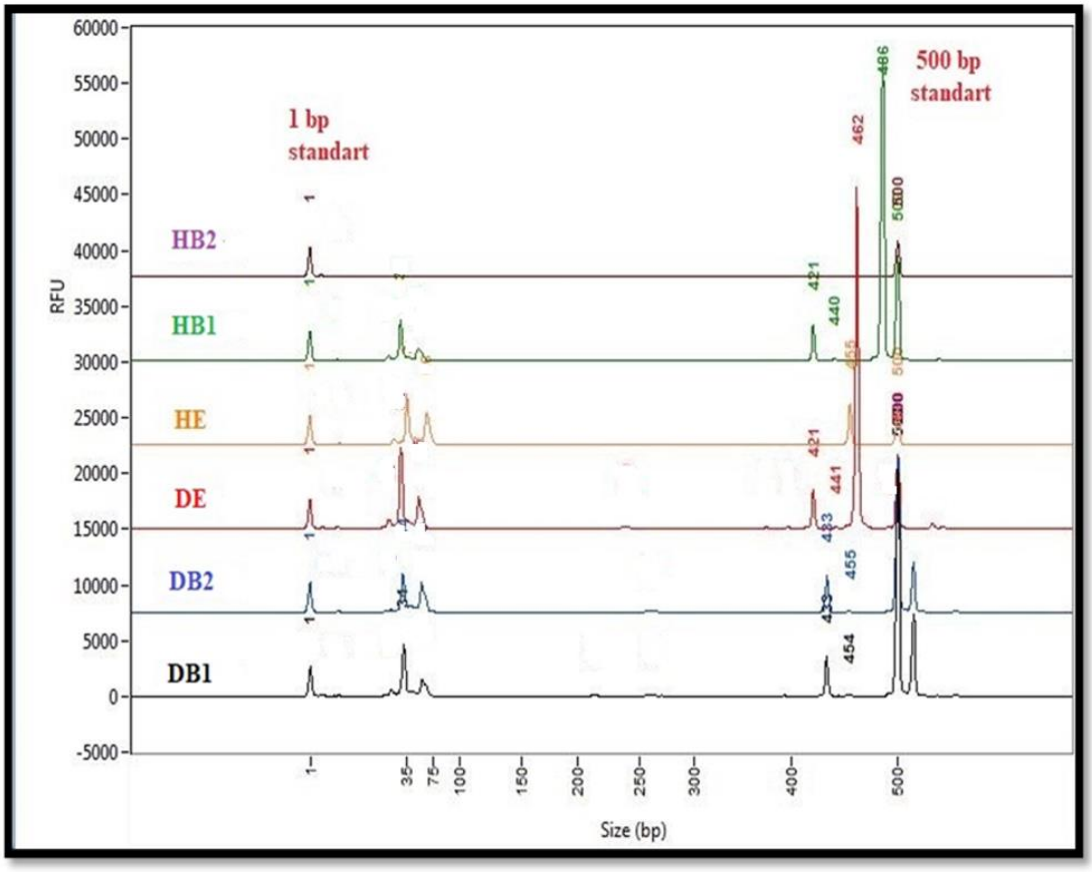
5.1. *Or5* Geni için Kullanılan Markırların Sonuçları

5.1.1. RGA172 Markırı

Yapılan çalışma sonucu RGA172 markırı ile popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarda 443bp ve 444 bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 5.1) dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.2).



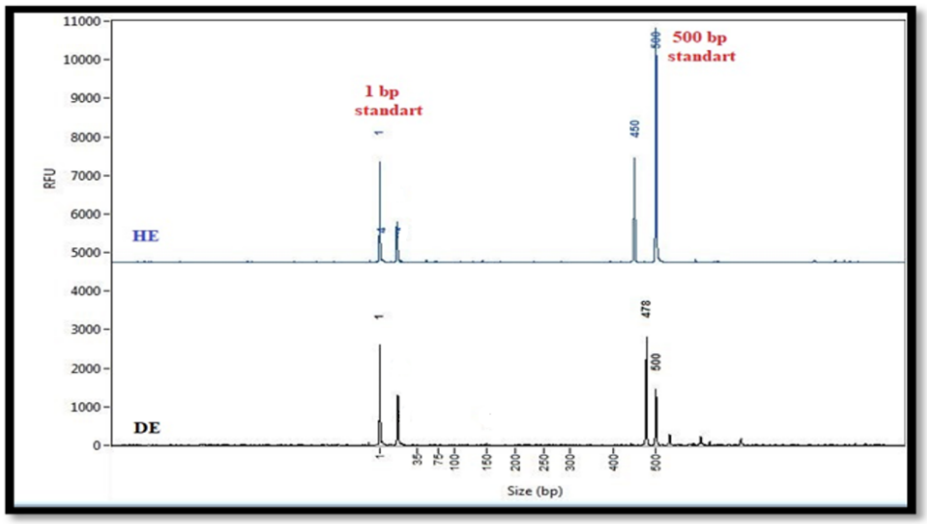
Şekil 5.1 RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



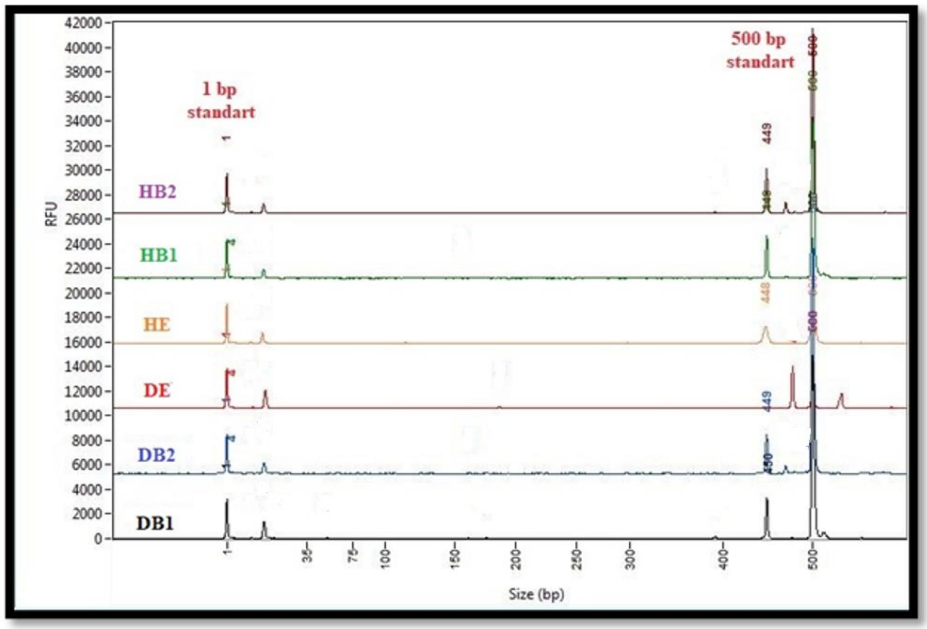
Şekil 5.2 RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.2. RGA181 Markırı

Yapılan çalışma sonucu RGA181 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 478 bp, hassas ebeveynde 450 bp çoğaltılmıştır (Şekil 5.3). F2 bulklarda ise 448 bp, 449 bp bantları çoğaltılmıştır (Şekil 5.4). Bu sonuçlara göre dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.



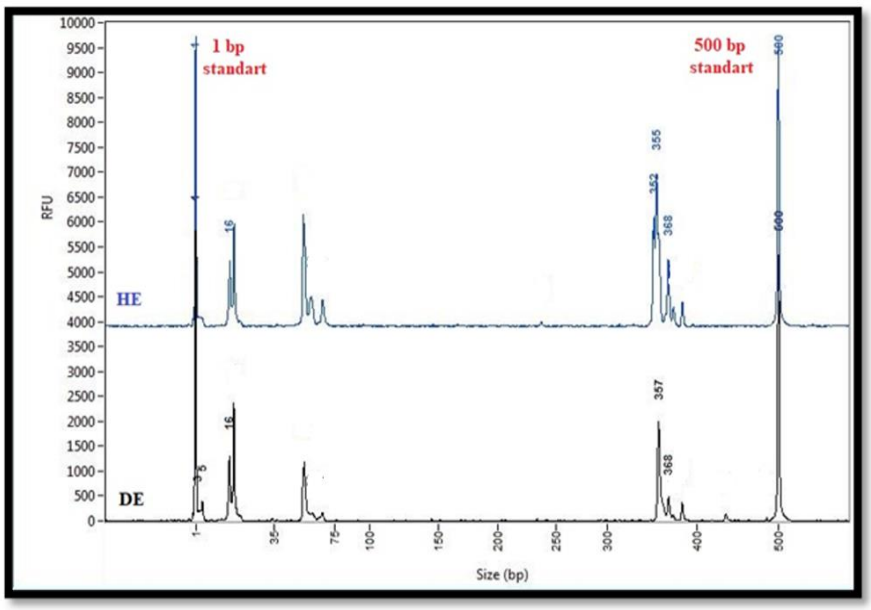
Şekil 5.3 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



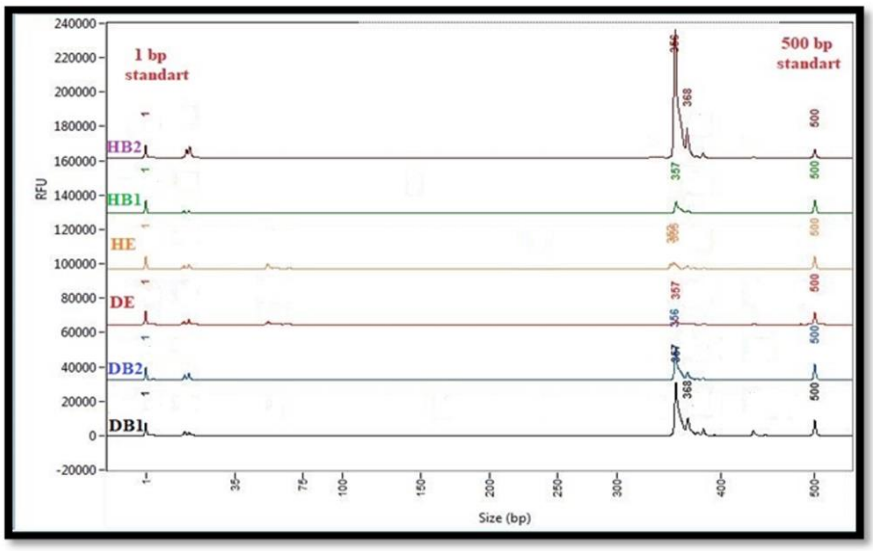
Şekil 5.4 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.3. RGA192 Markırı

Yapılan çalışma sonucu RGA192 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 357 bp, hassas ebeveynde 355 bp gözlenmiştir (Şekil 5.5). F2 bulklarda ise 356 bp, 357 bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 5.6) dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.



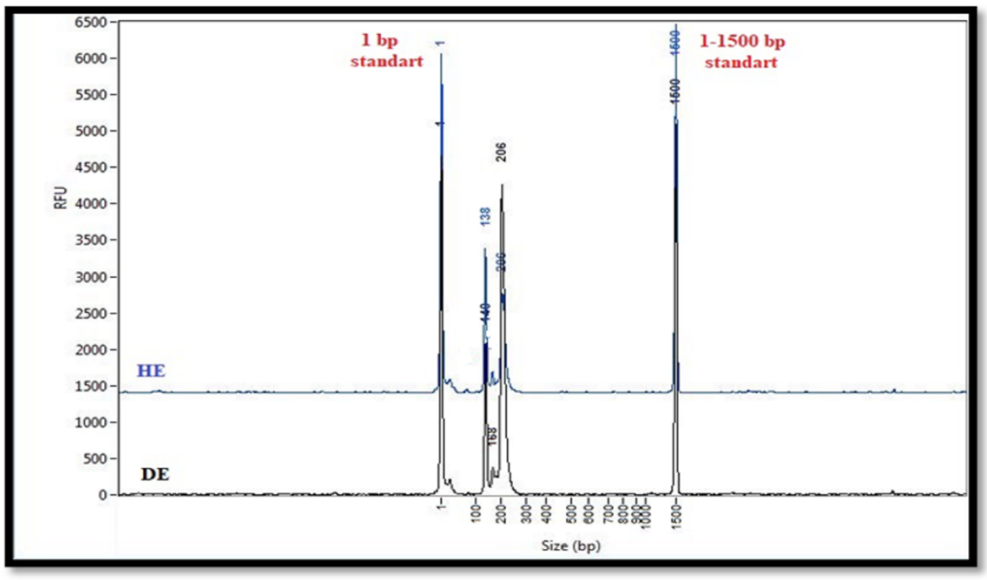
Şekil 5.5 RGA192 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



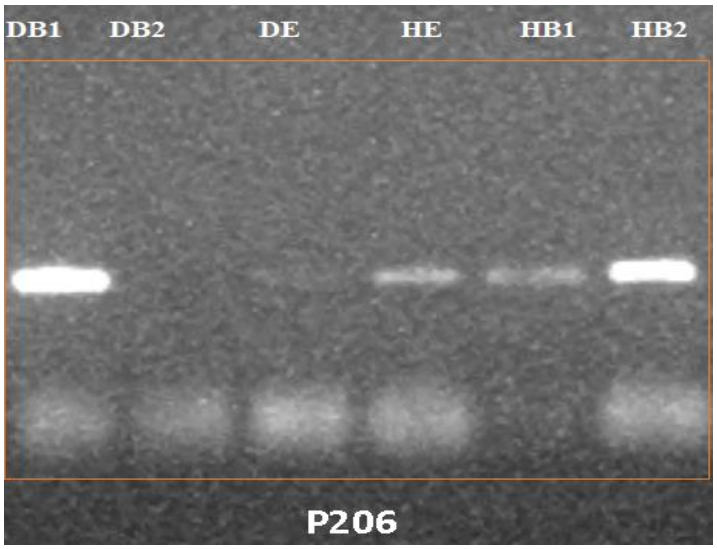
Şekil 5.6 RGA192 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.4. RGA206 Markırı

Yapılan çalışma sonucu RGA206 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn ve hassas ebeveynlerde 138 bp ve 206 bp gözlenmiştir (Şekil 5.7). Fakat F2 bulklarda ise istenilen bantlar çoğalmadığından (Şekil 5.8), dayanıklı/hassas genotipleri için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.



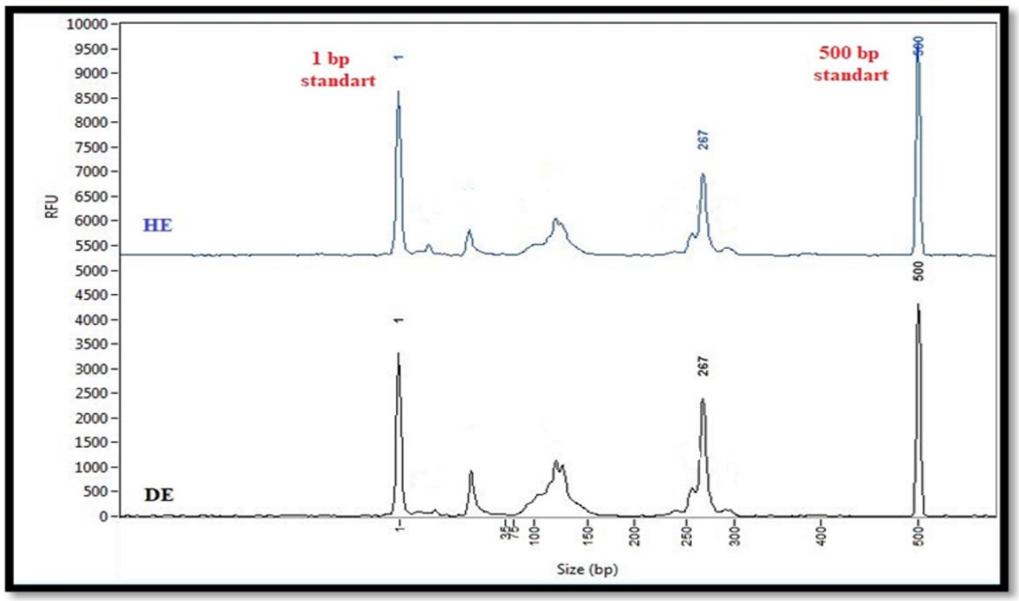
Şekil 5.75 RGA206 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



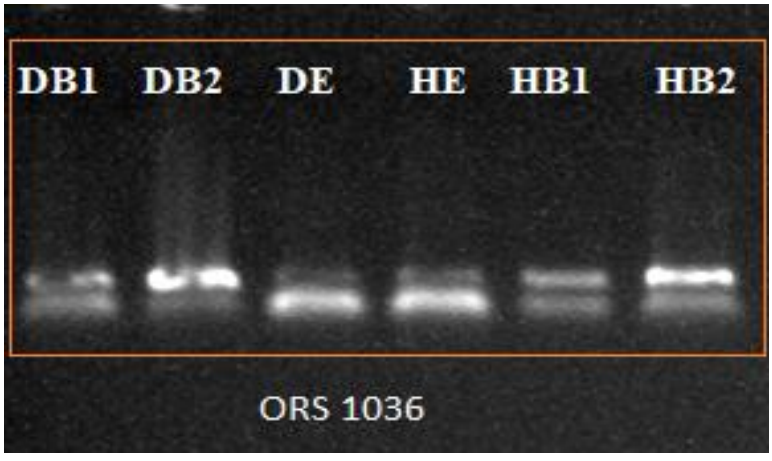
Şekil 5.86 RGA206 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.5. ORS1036 Markırı

Yapılan çalışma sonucu ORS1036 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn ve hassas ebeveynlerde 267 bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 5.9), F2 bulklarında benzer bantlar çoğaldığından, dayanıklı/hassas genotipleri için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.10).



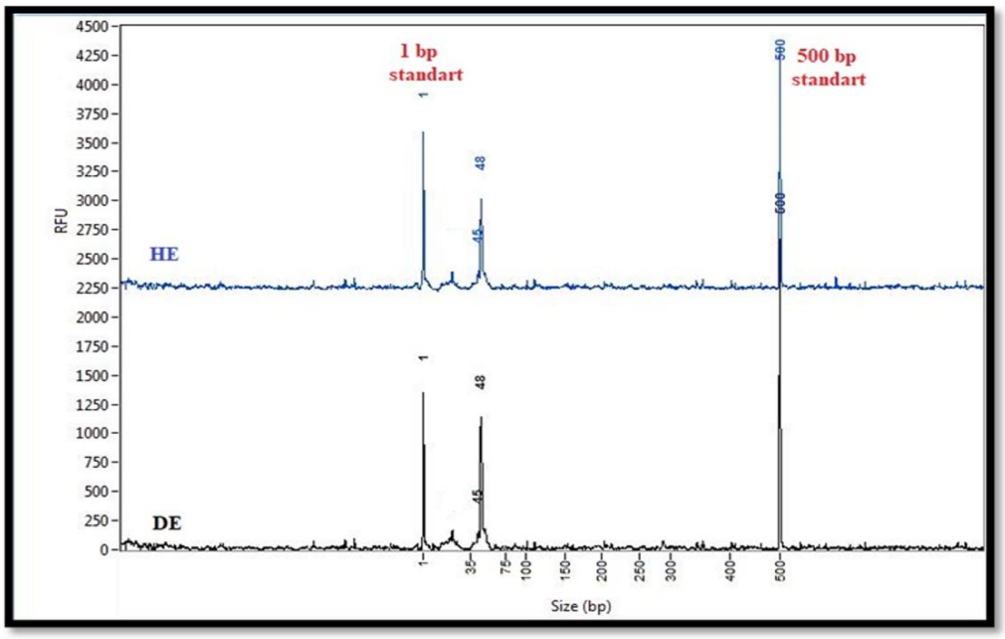
Şekil 5.97 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



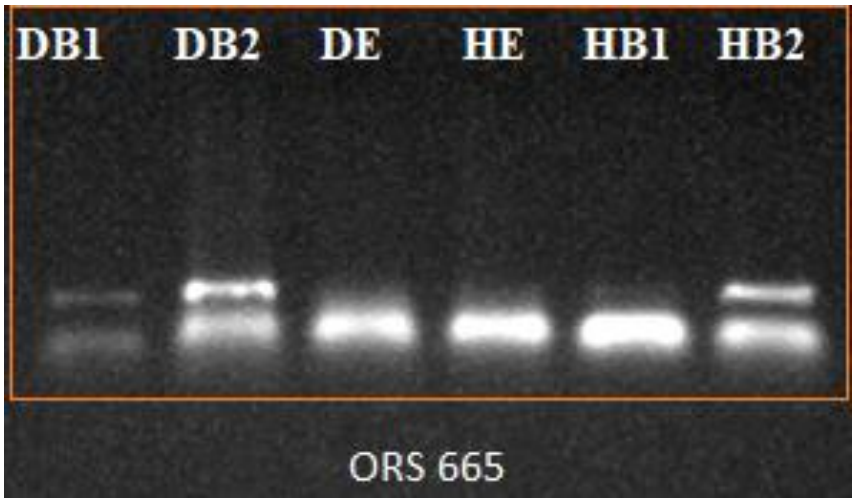
Şekil 5.10 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.6. ORS665 Markırı

Yapılan çalışma sonucu ORS665 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveyn (Şekil 5.11) ve F2 bulklarında herhangi bir bant çoğalmadığı için dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.12).



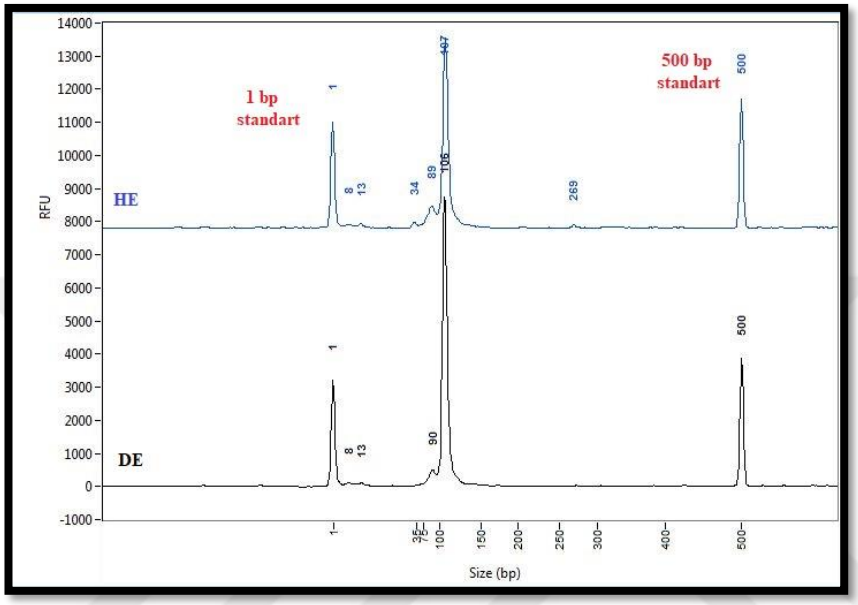
Şekil 5.11 ORS665 markırı ile elde edilen pcr sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



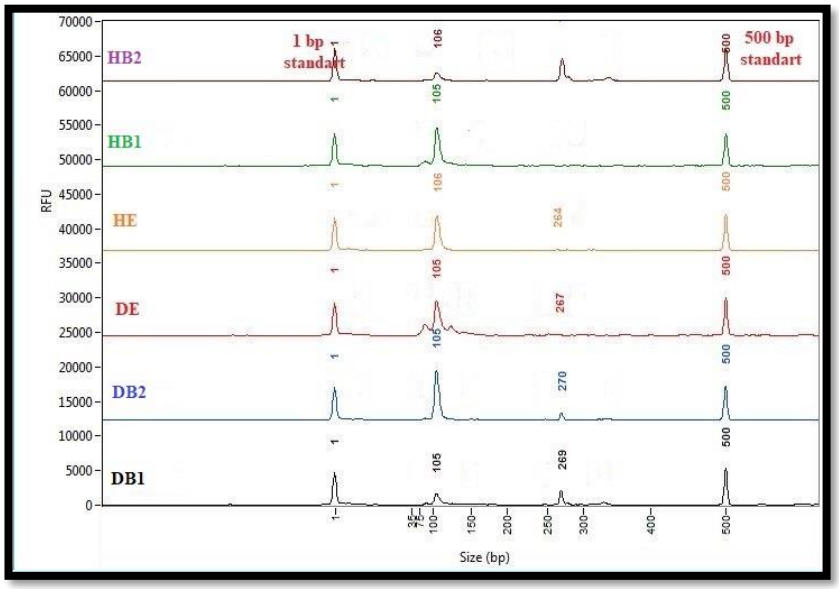
Şekil 5.12 ORS665 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.7. ORS1021 Markırı

Yapılan çalışma sonucu ORS1021 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynde (Şekil 5.13), F2 bulklarında benzer bantlar çoğaldığından, dayanıklı/hassas genotiplerde ayırıcı DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.14).



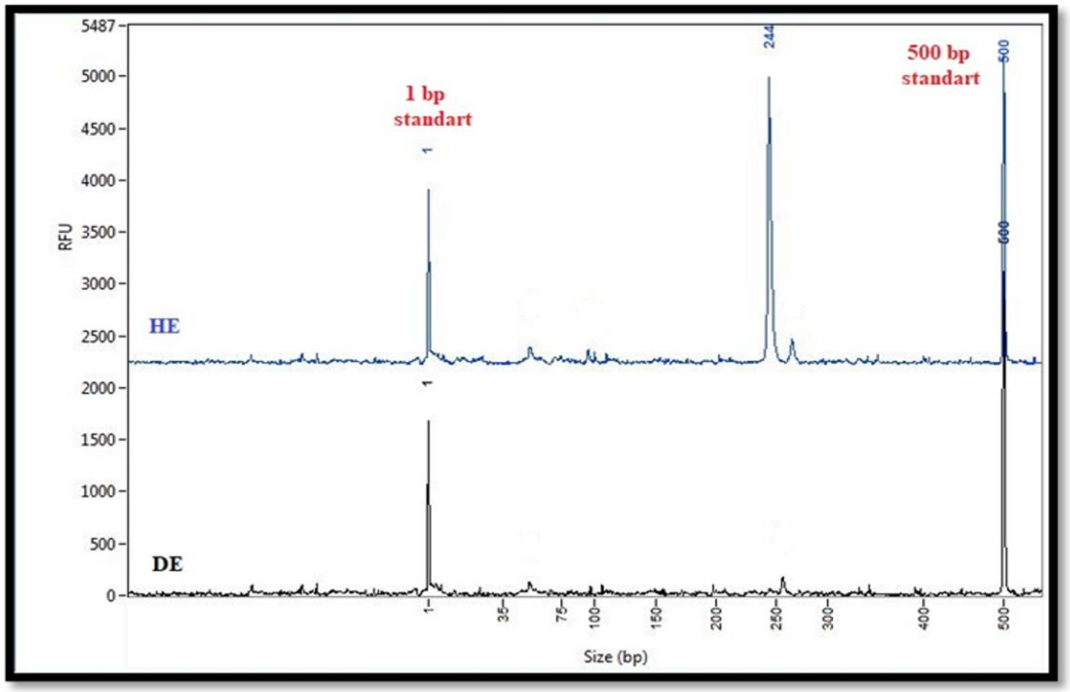
Şekil 5.13 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



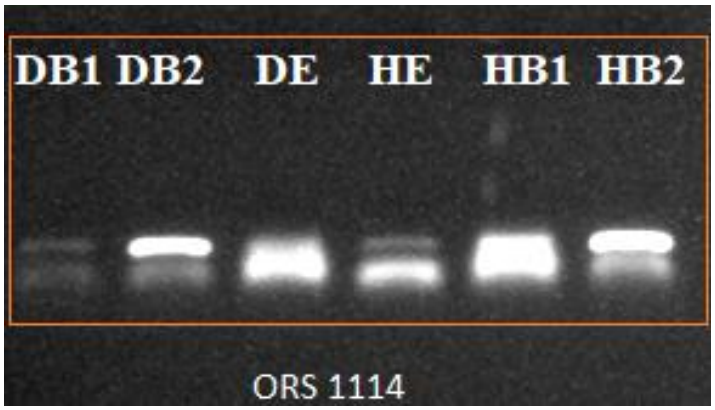
Şekil 5.148 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.8. ORS1114 Markırı

Yapılan çalışma sonucu ORS1114 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 257 bp, hassas ebeveynde 244 bp gözlenmiştir (Şekil 5.15). F2 bulklarında aynı bantlar çoğaldığından, dayanıklı/hassas genotiplerde ayırıcı DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.16).



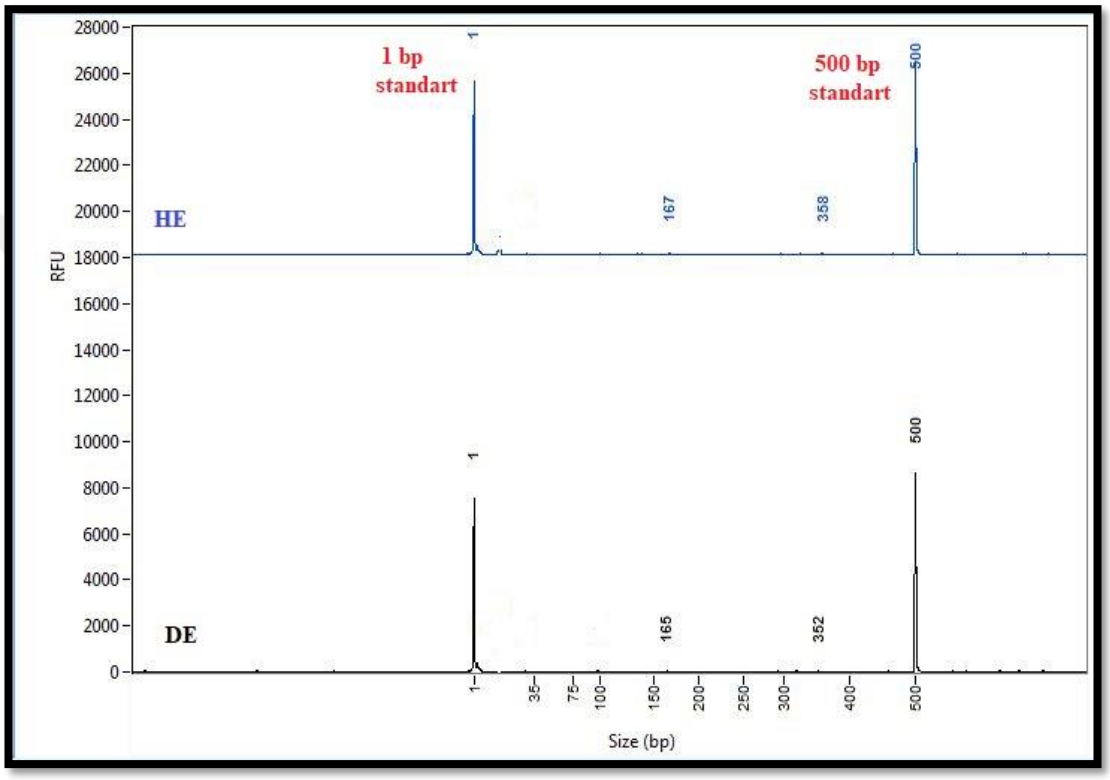
Şekil 5.159 ORS1114 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



Şekil 5.16 ORS1114 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.9. RGA P1-P15 Primer Kombinasyonu

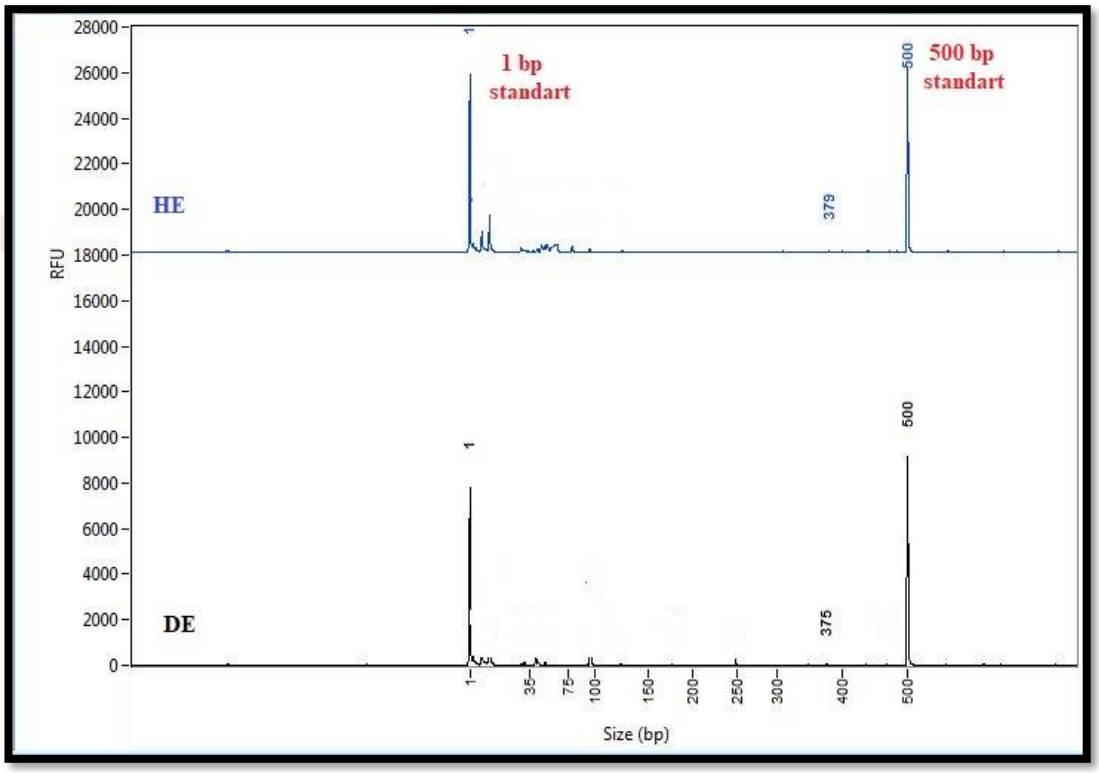
Yapılan çalışma sonucu RGA P1-P15 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.17).



Şekil 5.17 RGA P1-P15 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)

5.1.10. RGA P8-P10 Primer Kombinasyonu

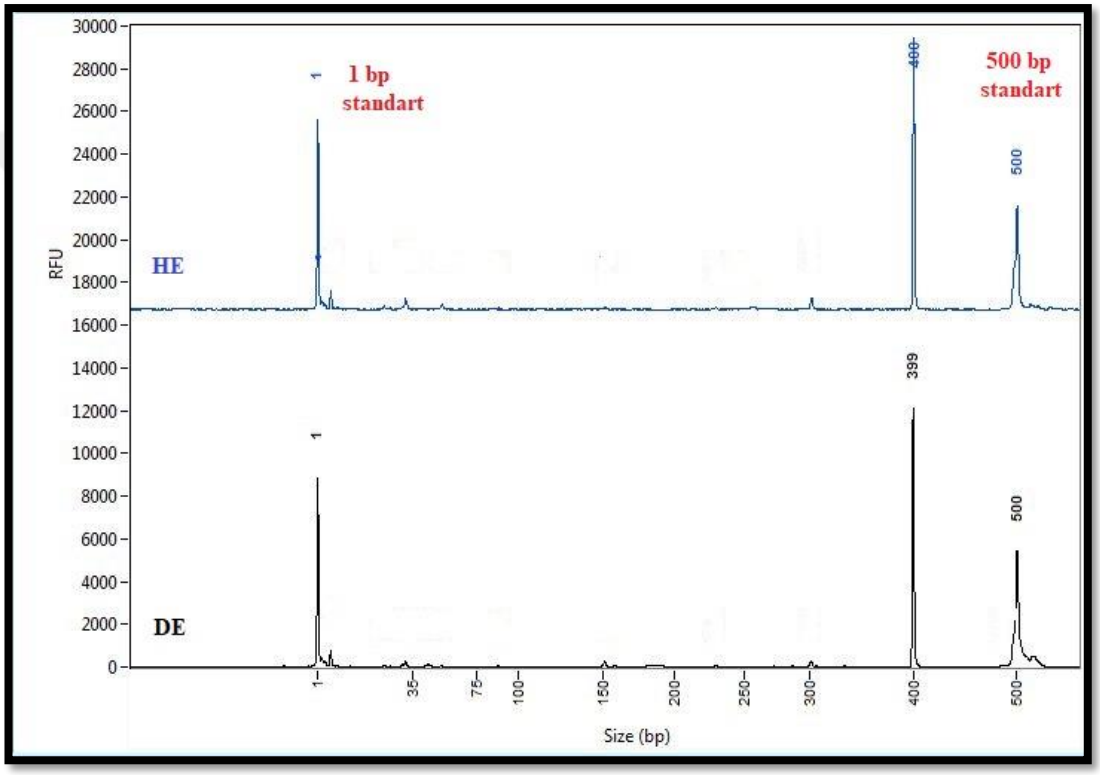
Yapılan çalışma sonucu RGA P8-P10 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünleri spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.18).



Şekil 5.18 RGA P8-P10 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)

5.1.11. RGA P17-P3N Primer Kombinasyonu

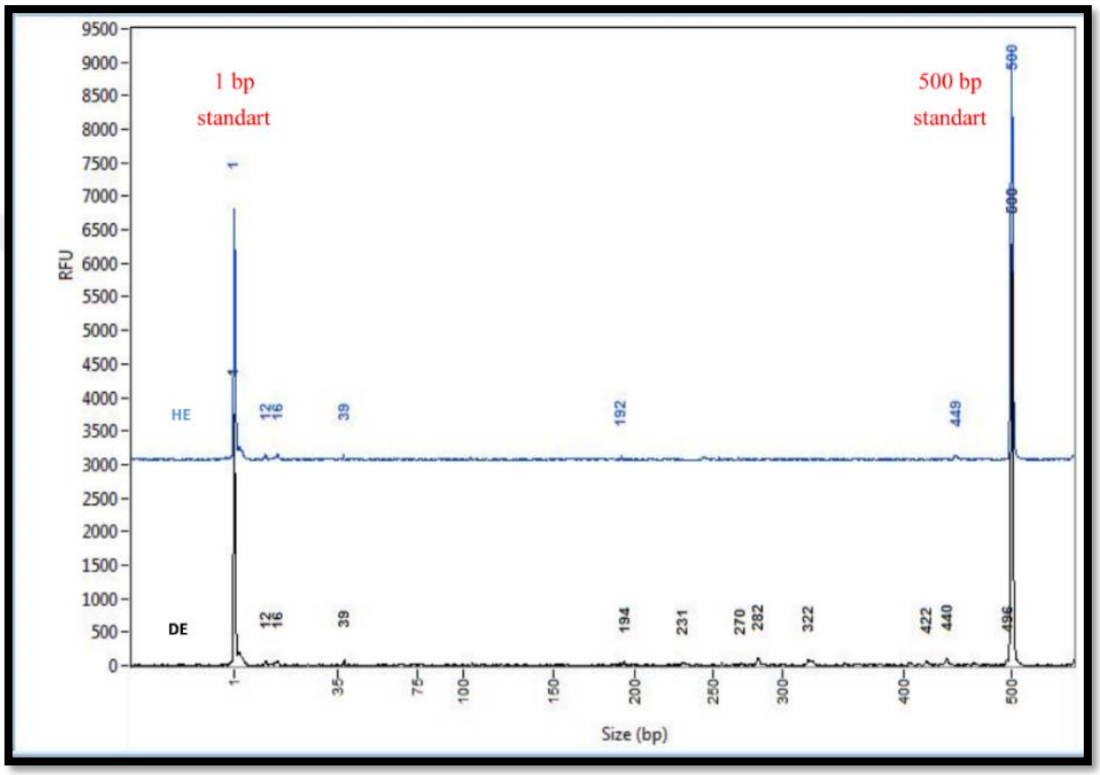
Yapılan çalışma sonucu RGA P17-P3N primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynlerde ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti bulunmamaktadır (Şekil 5.19).



Şekil 5.19 RGA P17-P3N primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)

5.1.12. RGA S2.INV-AS3 Primer Kombinasyonu

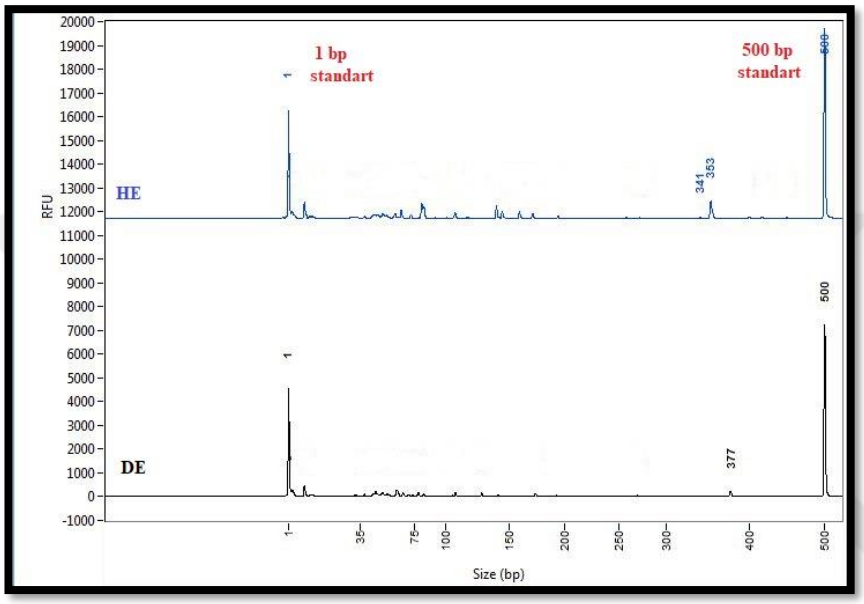
Yapılan çalışma sonucu RGA S2.INV-AS3 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.20).



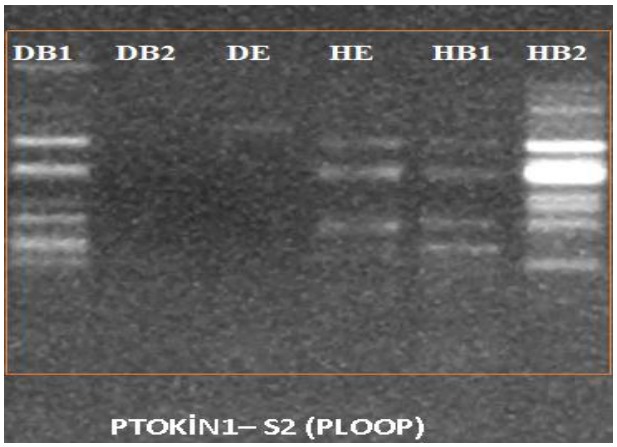
Şekil 5.2010 RGA S2.INV-AS3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)

5.1.13. RGA Ptokin1-S2(Ploop) Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin1-S2(Ploop) primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn (Şekil 5.22) ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.21).



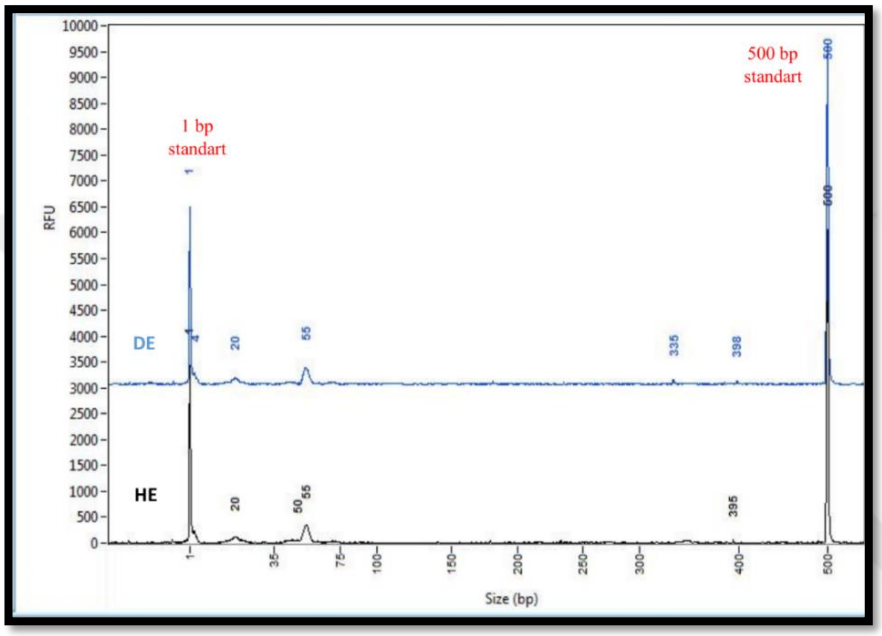
Şekil 5.21 RGA Ptokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



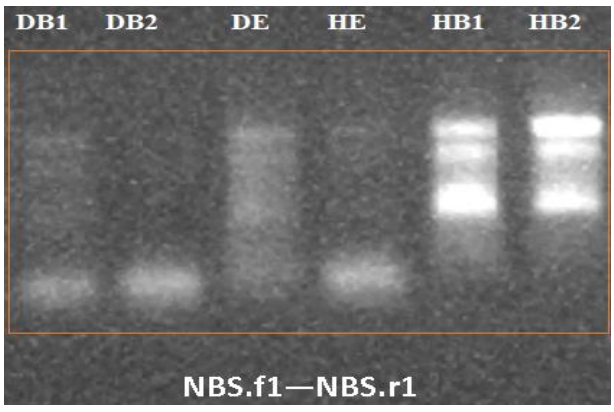
Şekil 5.22 RGA Ptokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü, (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.14. RGA NBS f1-NBS r1 Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA NBS f1-NBS r1 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveyn (Şekil 5.24) ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.23).



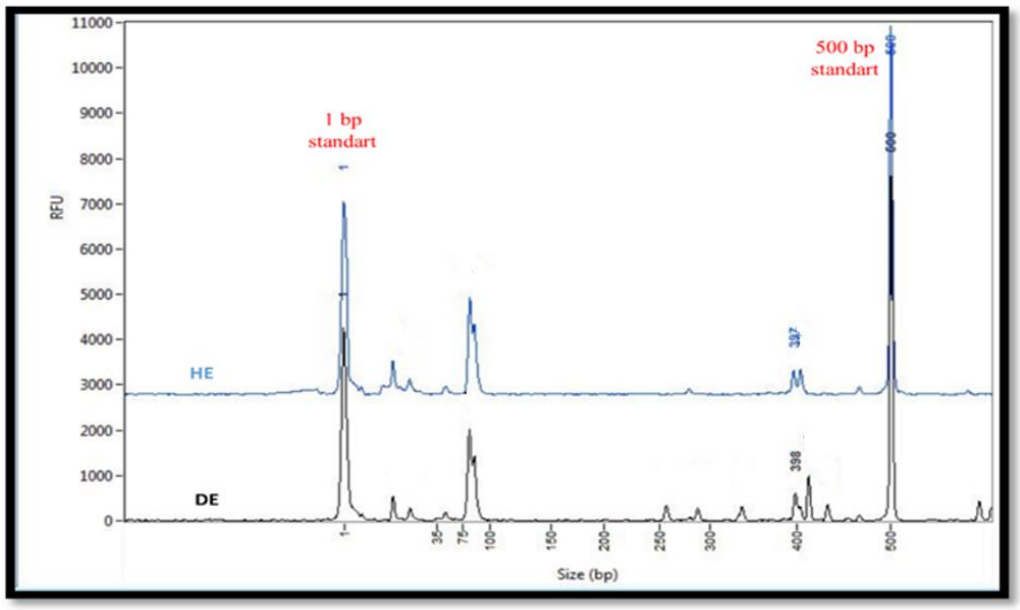
Şekil 5.23 RGA NBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



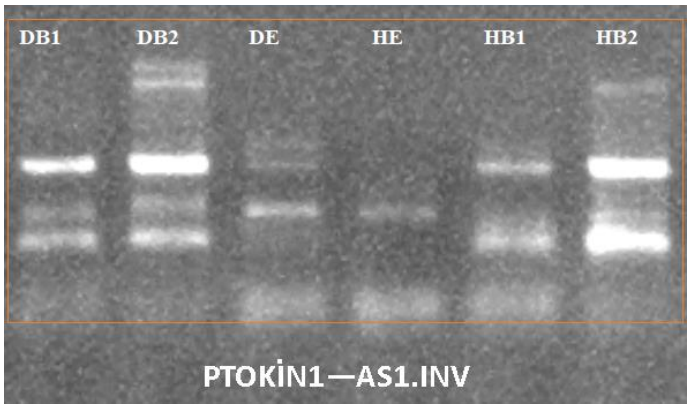
Şekil 5.24 RGA NBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.15. RGA Ptokin 1 – AS1.INV Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 1 – AS1.INV primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn (Şekil 5.26) ve F2 bulklarında benzer bantlar çoğaldığından dayanıklı/hassas genotipler için, herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.25).



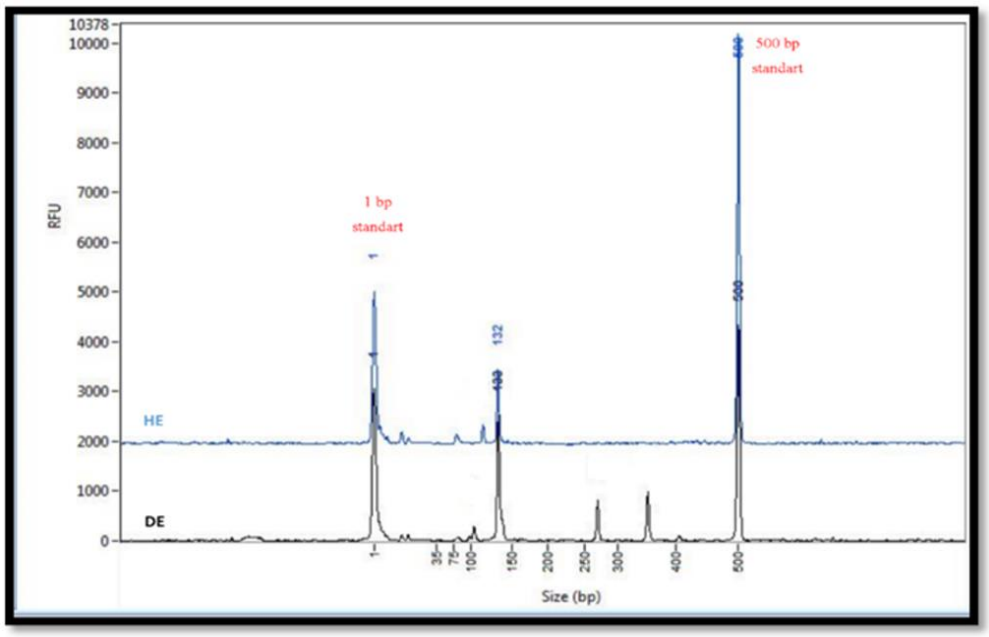
Şekil 5.25 RGA Ptokin 1 – AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



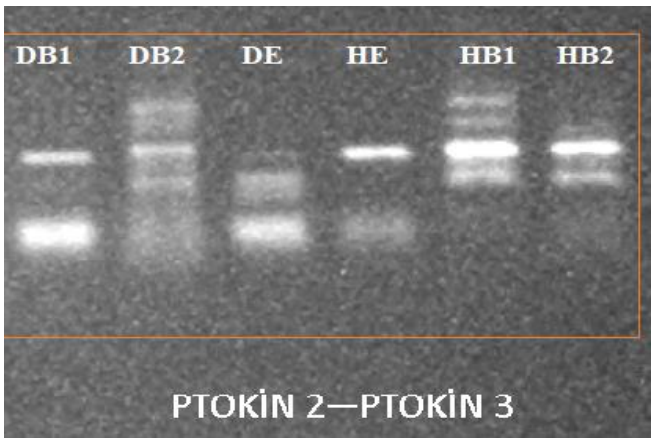
Şekil 5.2611 RGA Ptokin 1–AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü, (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.16. RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn (Şekil 5.28) ve F2 bulklarında benzer bantlar çoğaldığından dayanıklı/hassas genotipler için, herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.27).



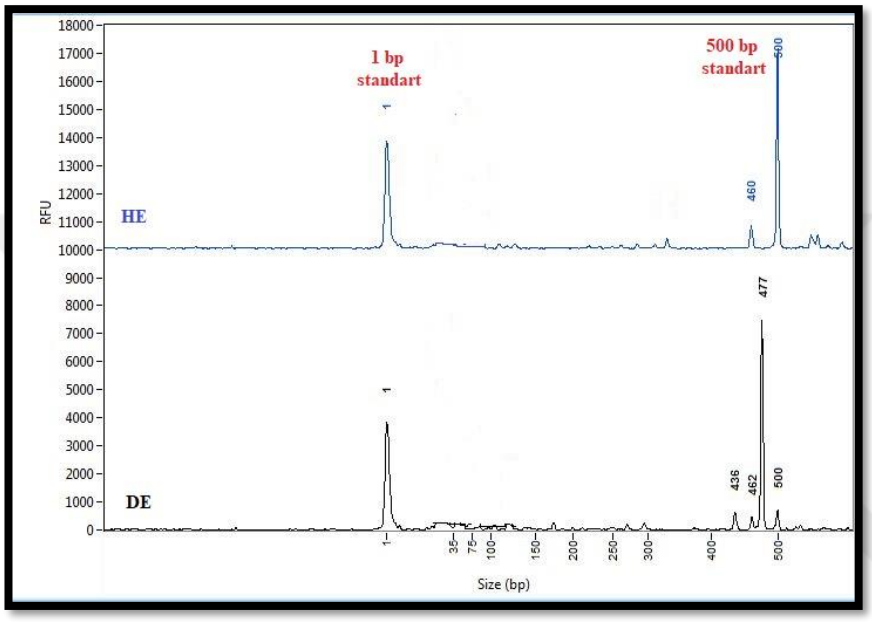
Şekil 12 RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



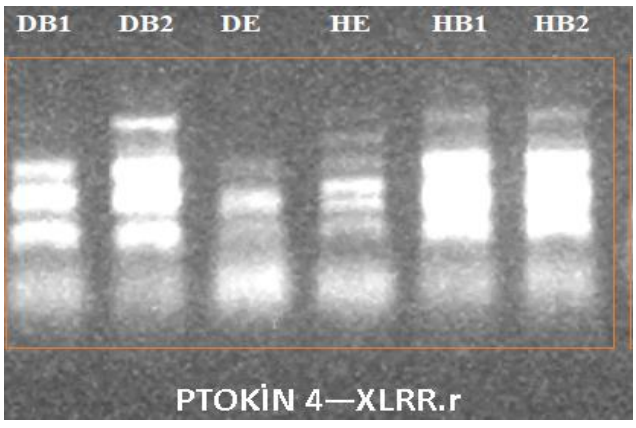
Şekil 13 RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.17. RGA Ptokin 4 – XLRR. R Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 4 – XLRR. R primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn (Şekil 5.30) ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.29).



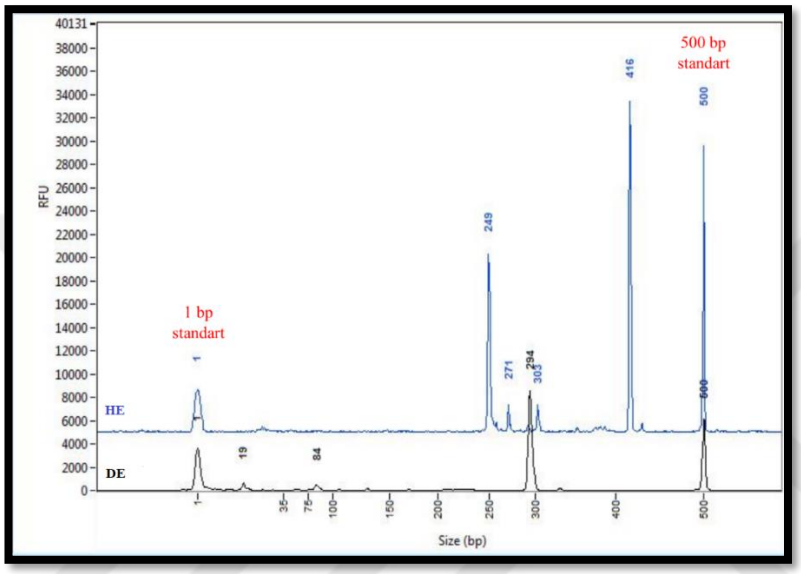
Şekil 5.29 RGA Ptokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



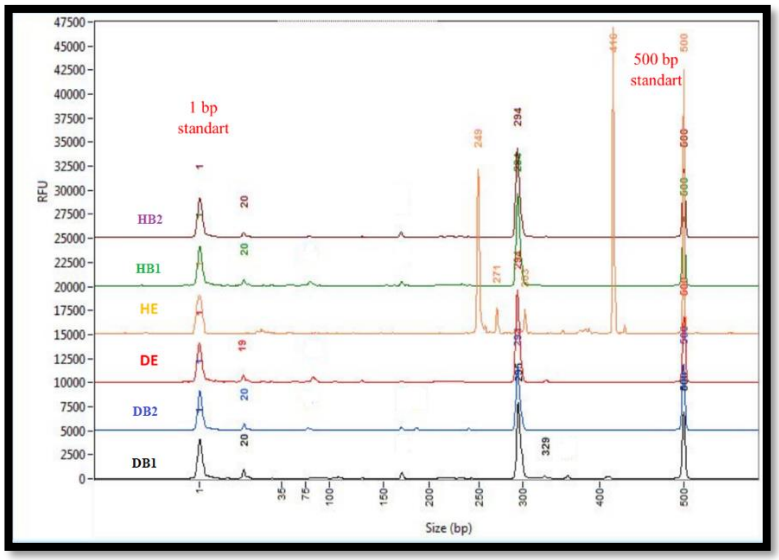
Şekil 5.30 RGA Ptokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.18. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile dayanıklı ebeveynde 294 bp, hassas ebeveynde 249 bp ve 416 bp gözlenmiştir (Şekil 5.31). Tüm F2 bulklarının tümünde 294 bp bantları gözlemlendiği için dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.32).



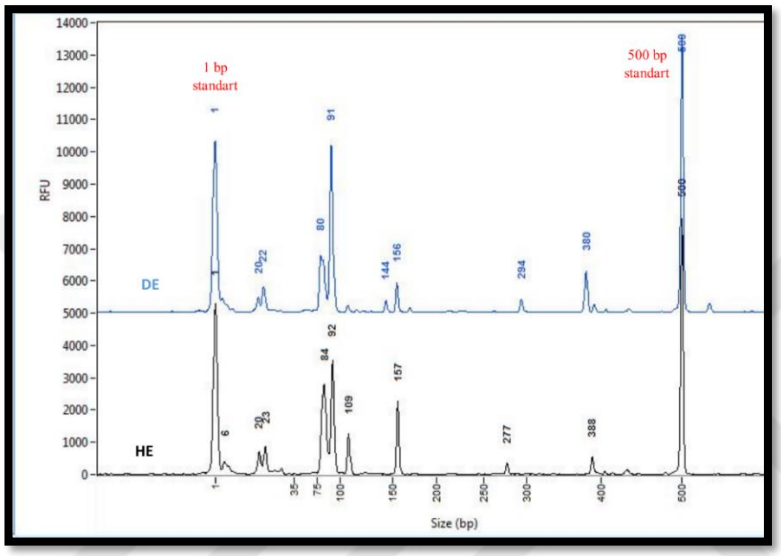
Şekil 14. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



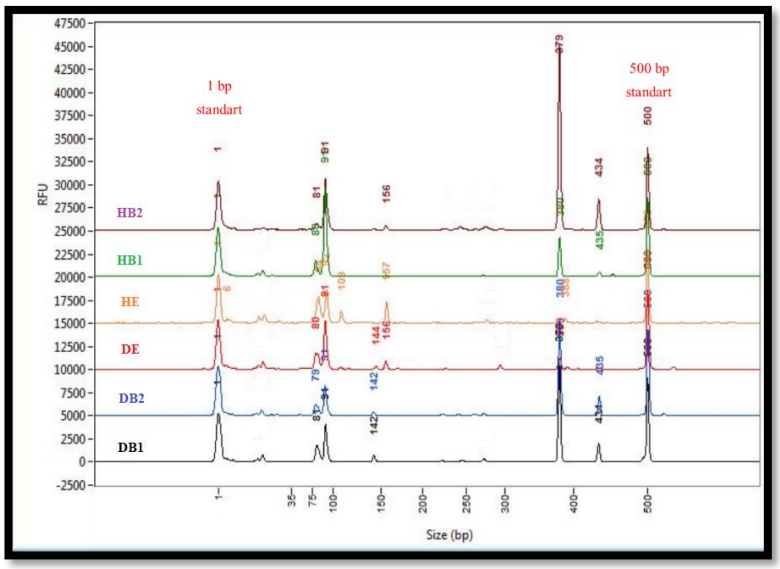
Şekil 5.32. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.19. RGA Ptokin 1 – PtoFen. S Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 1 – PtoFen. S primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynde, F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir (Şekil 5.34). Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.33).



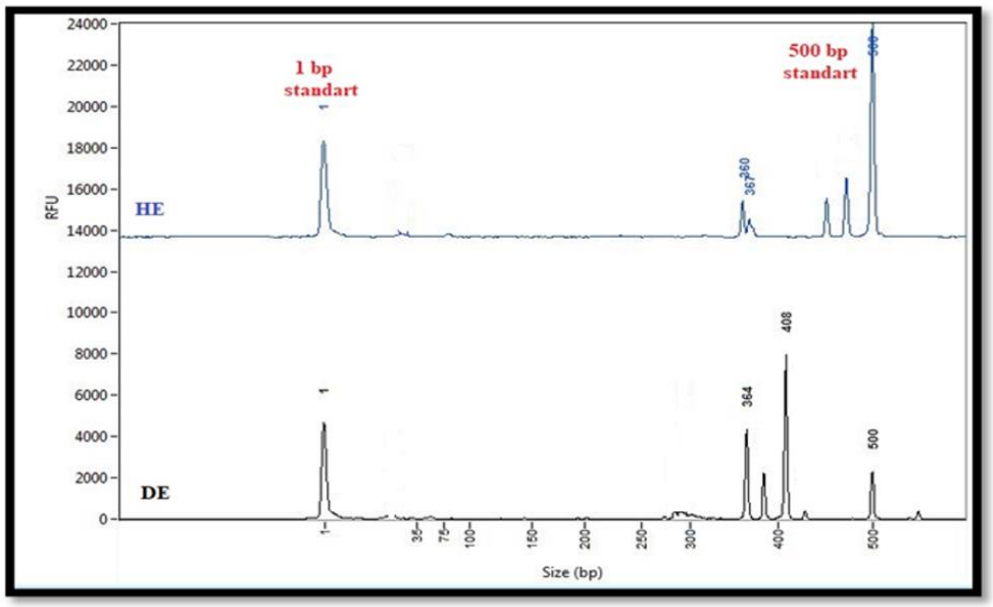
Şekil 5.3315 RGA Ptokin 1 – PtoFen. S primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



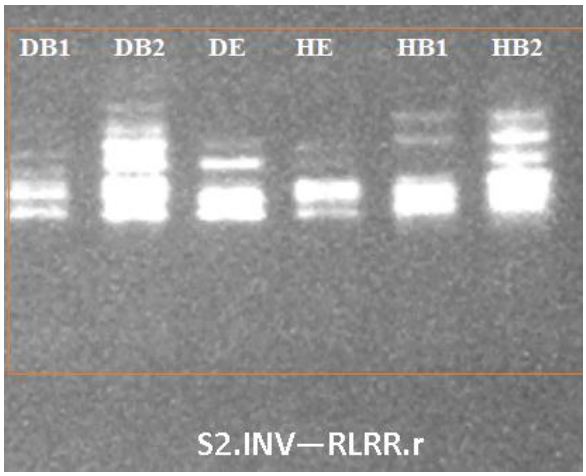
Şekil 5.3416 RGA Ptokin 1 – PtoFen.S primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.20. RGA S2.INV – RLRR. R Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA S2.INV – RLRR. R primerleri ile dayanıklı, hassas ebeveynde, F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir (Şekil 5.35). Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.36).



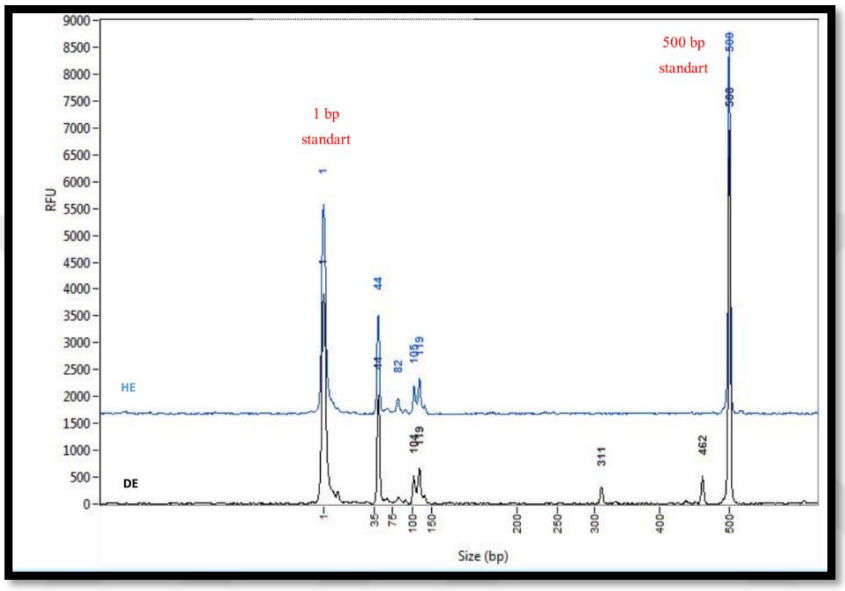
Şekil 5.35 RGA S2.INV – RLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



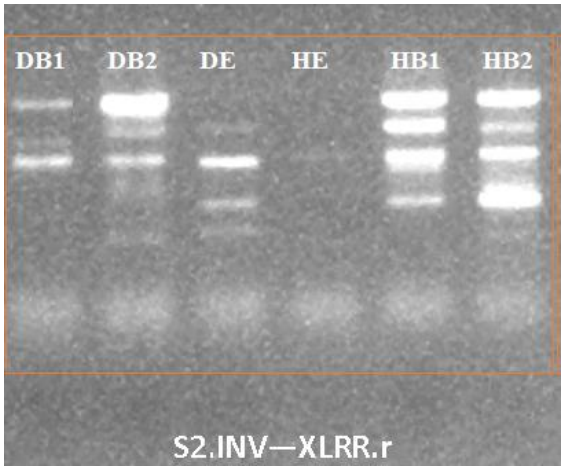
Şekil 5.36 RGA S2.INV – RLRR.R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.21. RGA S2.INV – XLRR.R Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA S2.INV – XLRR.R primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveyn (Şekil 5.37) ve F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir. Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.38).



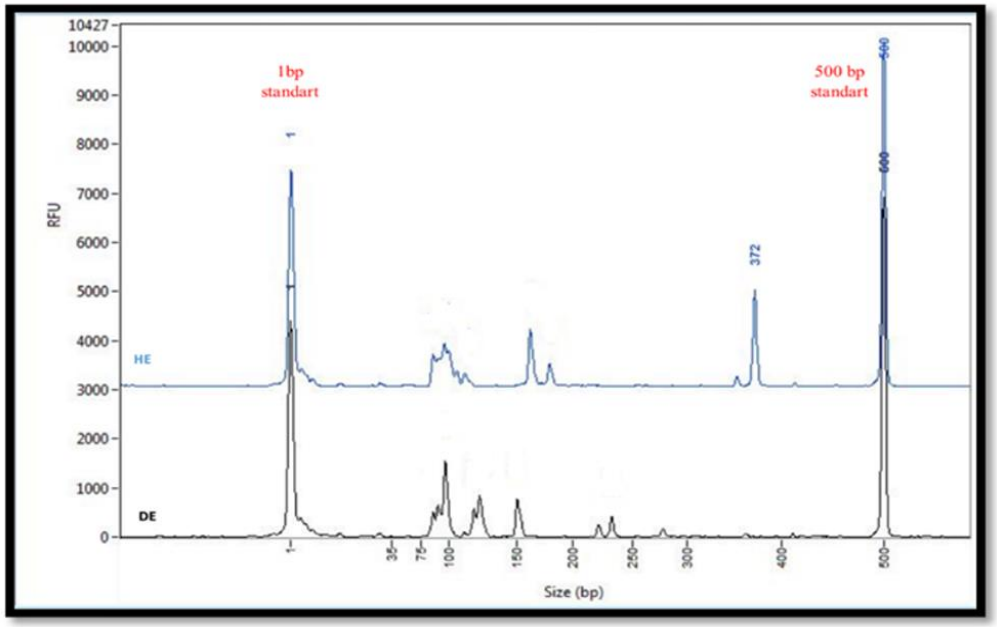
Şekil 5.37 RGA S2.INV – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



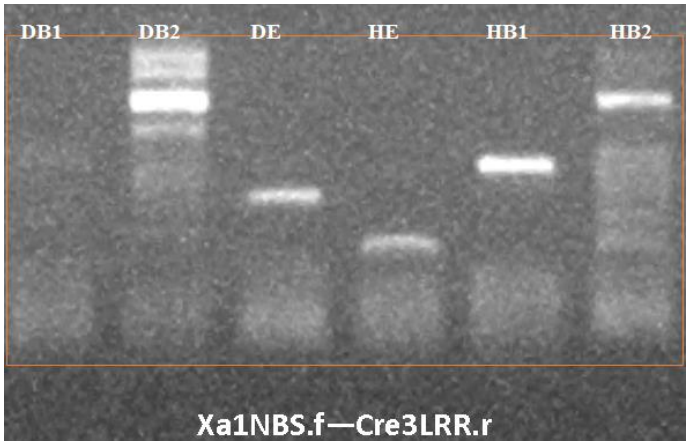
Şekil 5.38 RGA S2.INV – XLRR.R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.22. RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn (Şekil 5.39) ve F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir. Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.40).



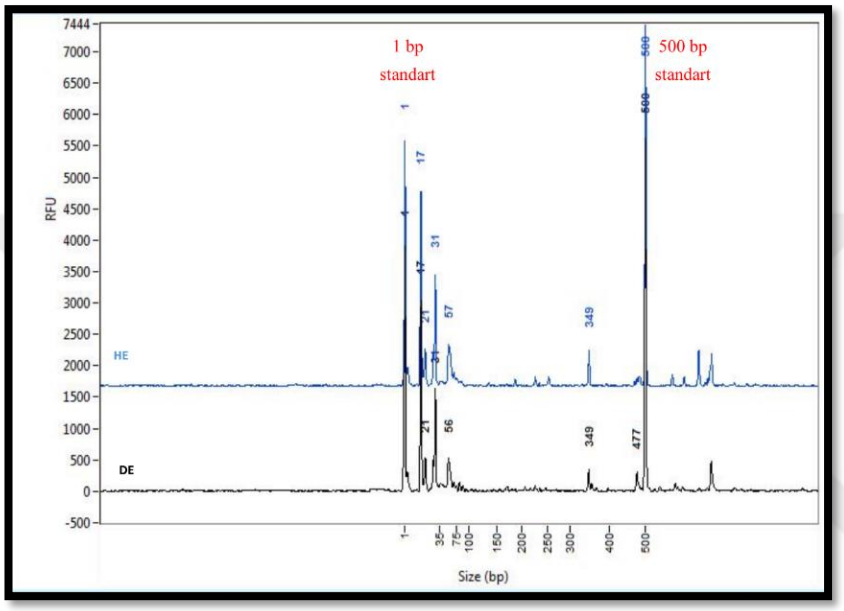
Şekil 5.39 RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



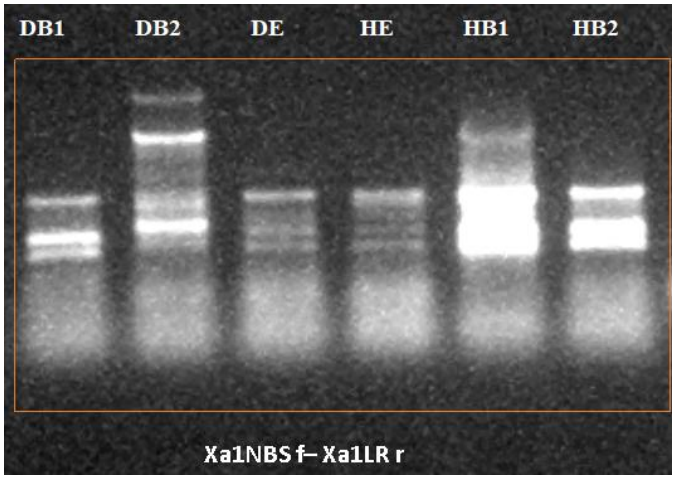
Şekil 5.40 RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.23. RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynlerde F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir (Şekil 5.41). Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.42).



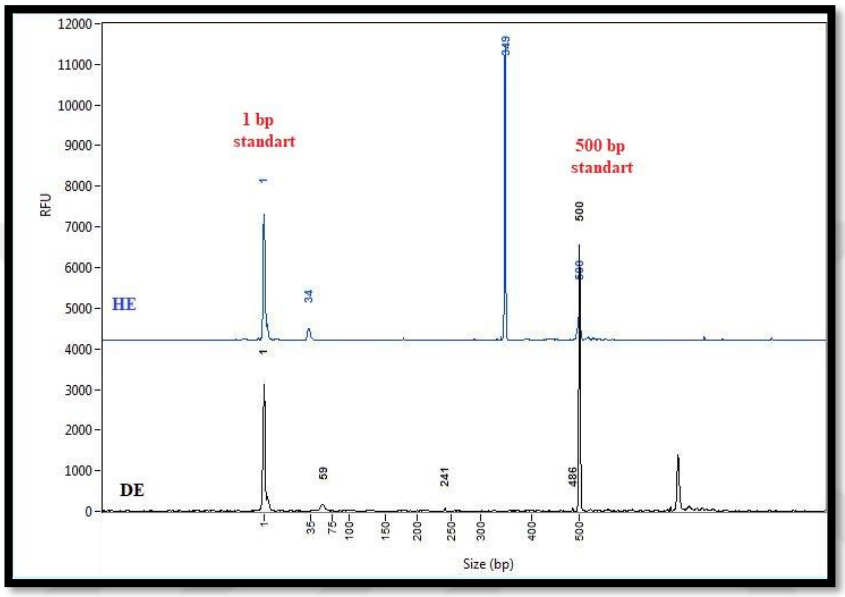
Şekil 5.41 RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



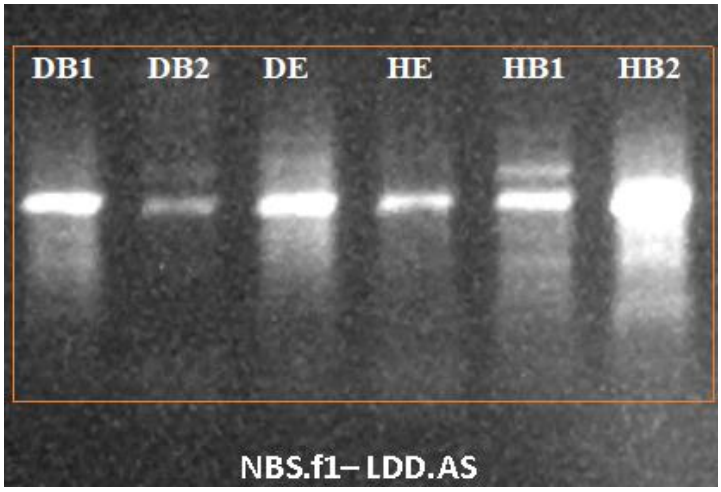
Şekil 5.42 RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.24. RGA NBS. f1 – LDD. AS Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 486 bp, hassas ebeveynlerde 349 bp gözlenmiş (Şekil 5.43) ve F2 bulklarında da aynı bantlar çoğaldığından, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.44).



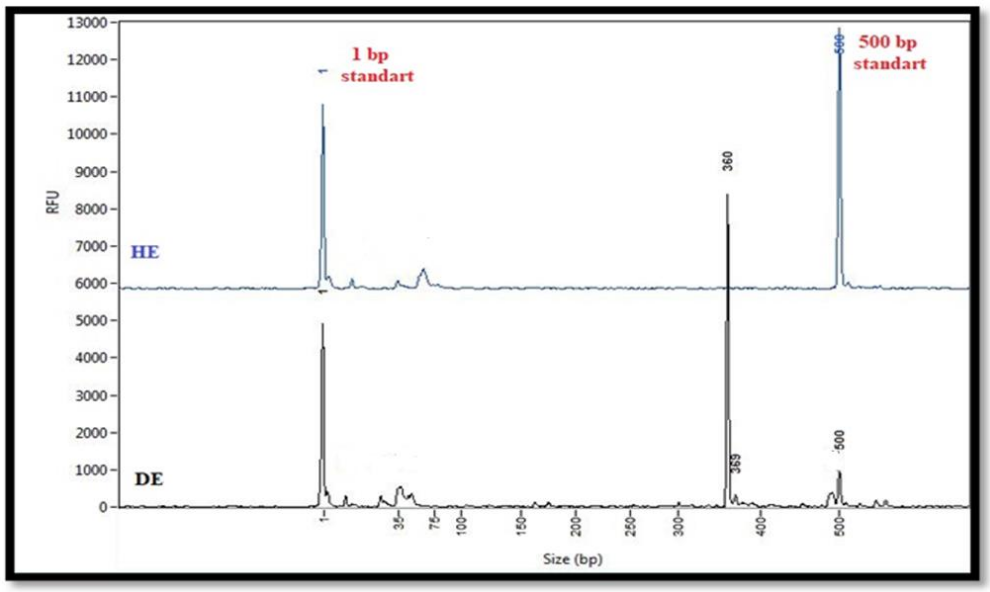
Şekil 5.43 RGA NBS. f1 – LDD. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



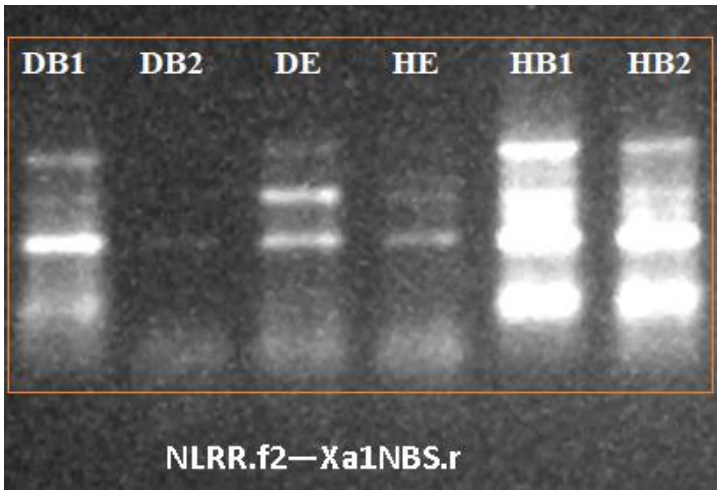
Şekil 5.44 RGA NBS. f1 – LDD. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.25. RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynde (Şekil 5.45) ve F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir. Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.46).



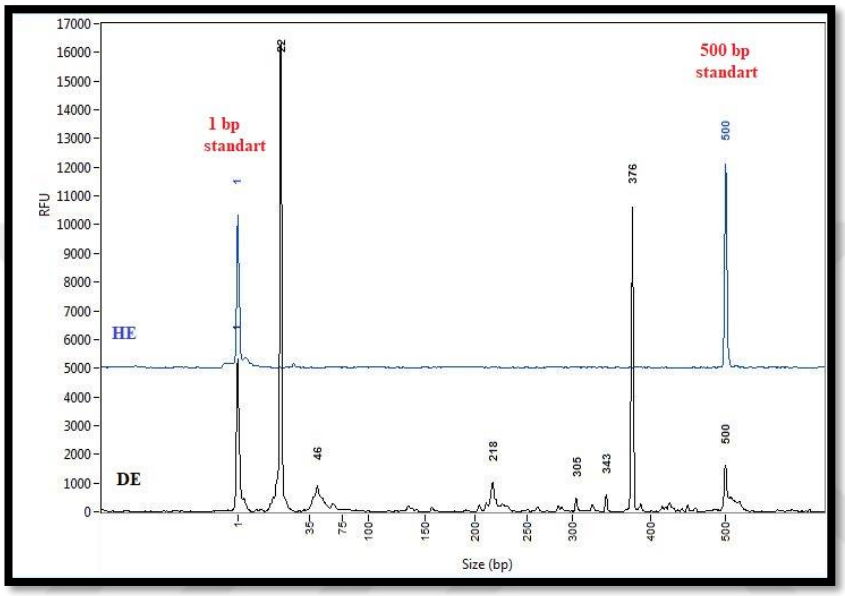
Şekil 5.45 RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



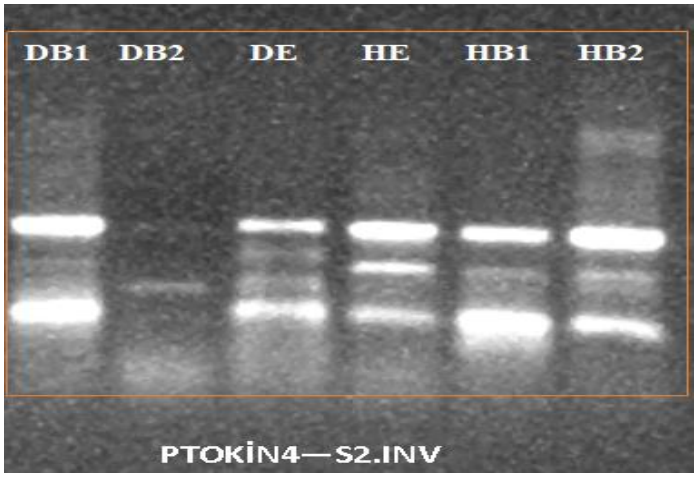
Şekil 5.4617 RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.26. RGA Ptokin 4 – S2.INV Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA Ptokin 4 – S2.INV primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynde (Şekil 5.47) ve F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir. Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.48).



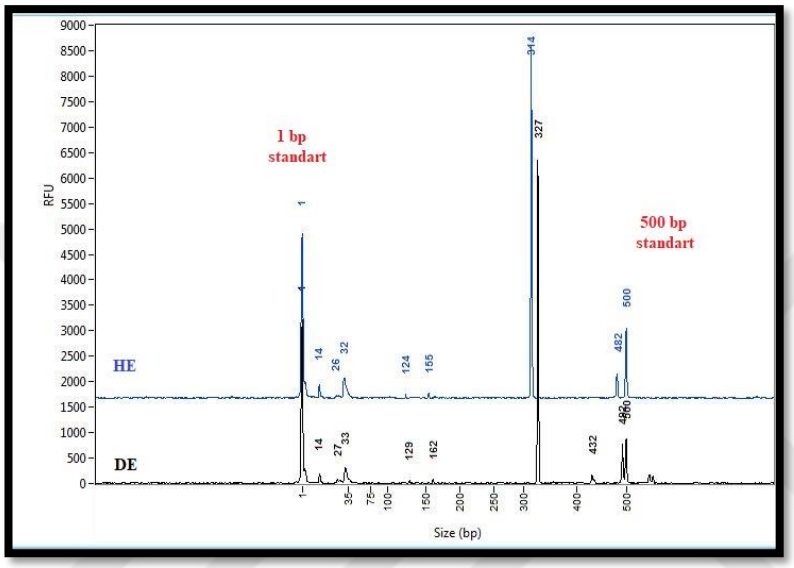
Şekil 5.4718 RGA Ptokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



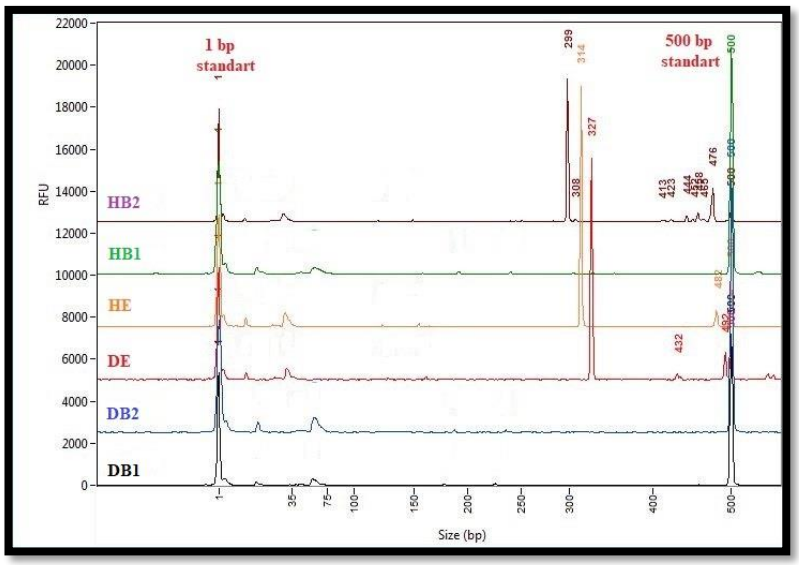
Şekil 5.48 RGA Ptokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.27. RGA PtoFen.S – S2.INV Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA PtoFen.S – S2.INV primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 327 bp, hassas ebeveynde 314 bp gözlenmiş (Şekil 5.49), F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığından, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.50).



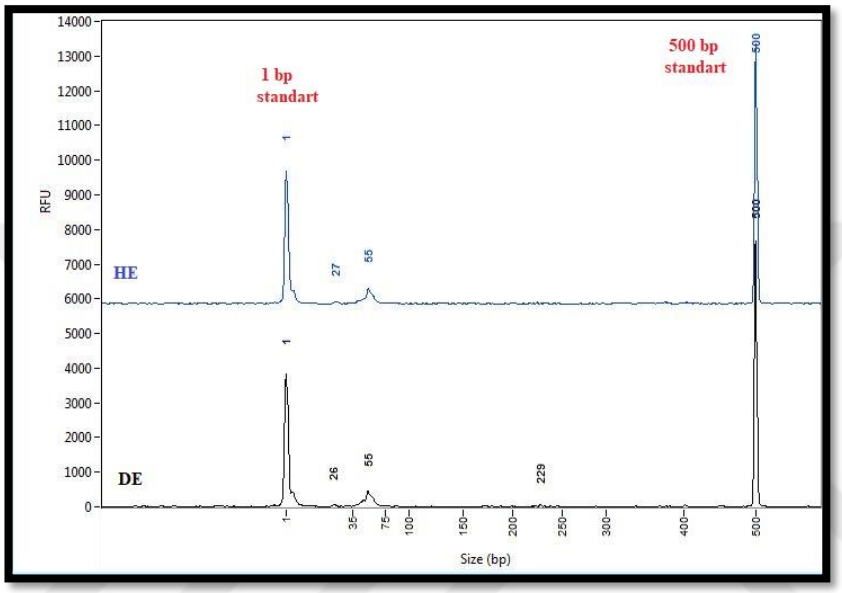
Şekil 5.49 RGA PtoFen.S – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



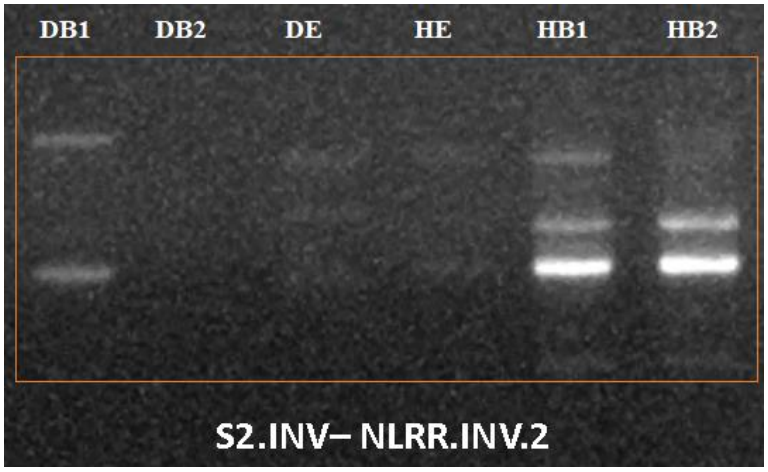
Şekil 5.50 RGA PtoFen.S – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.28. RGA S2.INV – NLRR.INV Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA S2.INV – NLRR.INV primerleri ile popülasyona ait dayanıklı, hassas ebeveynde (Şekil 5.51) ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.52).



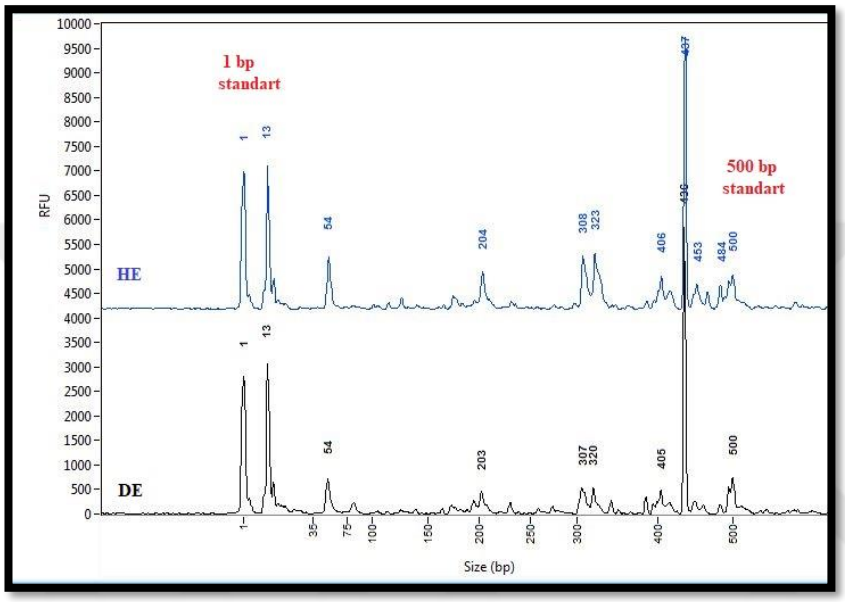
Şekil 5.51 RGA S2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



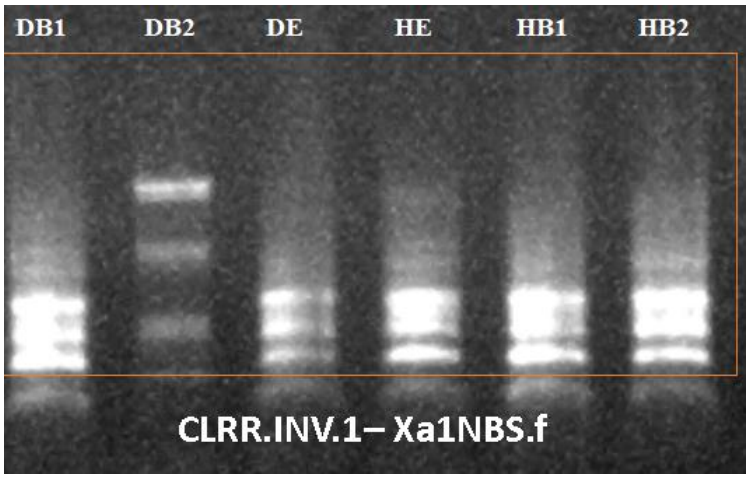
Şekil 5.52 RGA S2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.29. RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f Primer Kombinasyonu

Yapılan çalışma sonucu RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile popülasyona ait dayanıklı ebeveynde ve hassas ebeveynde 437 bp gözlemlenirken (Şekil 5.53), F2 bulklarının tümünde benzer bantlar görülmektedir. Bu nedenle dayanıklı/hassas genotipler için herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.54).



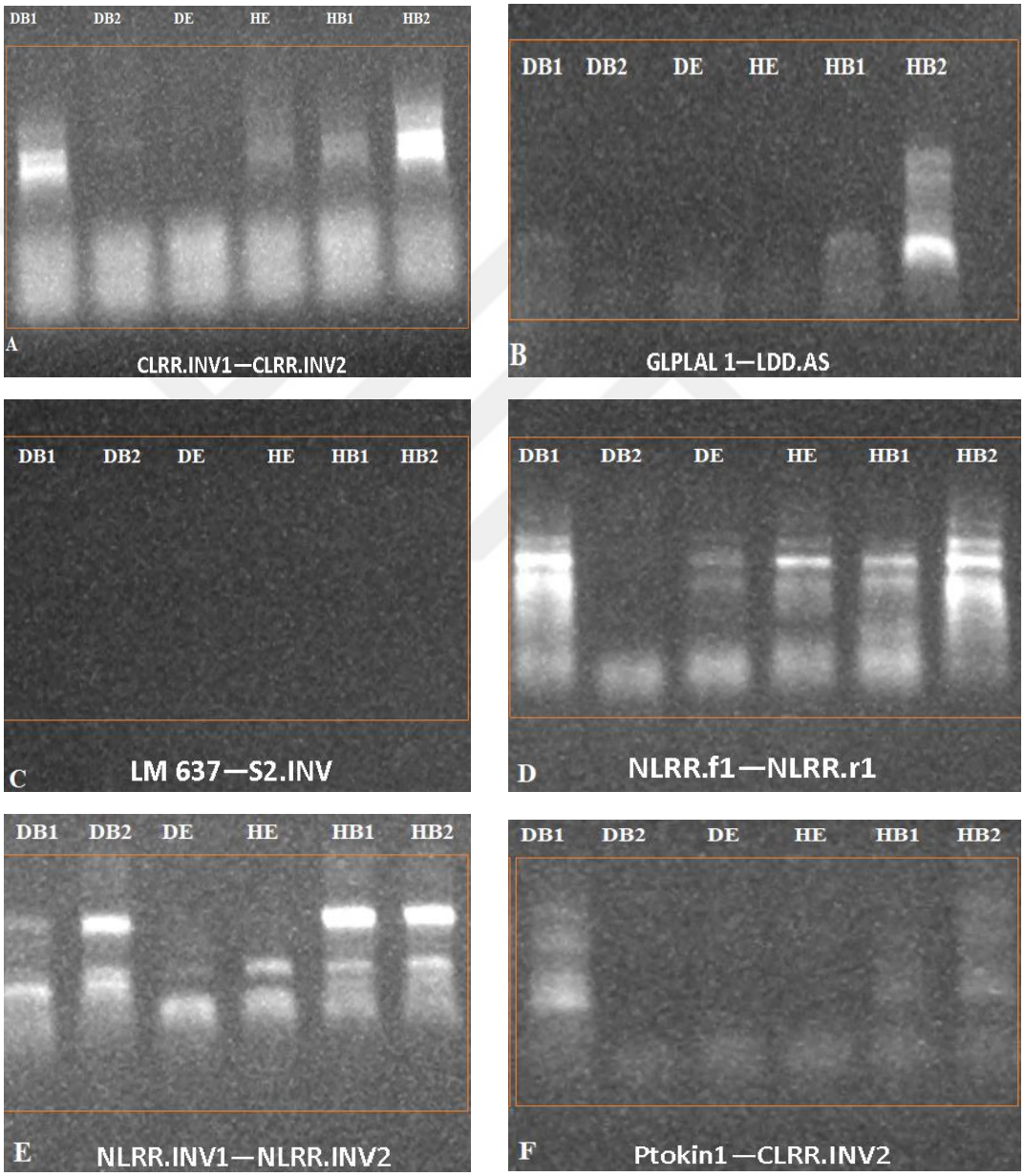
Şekil 5.53 RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



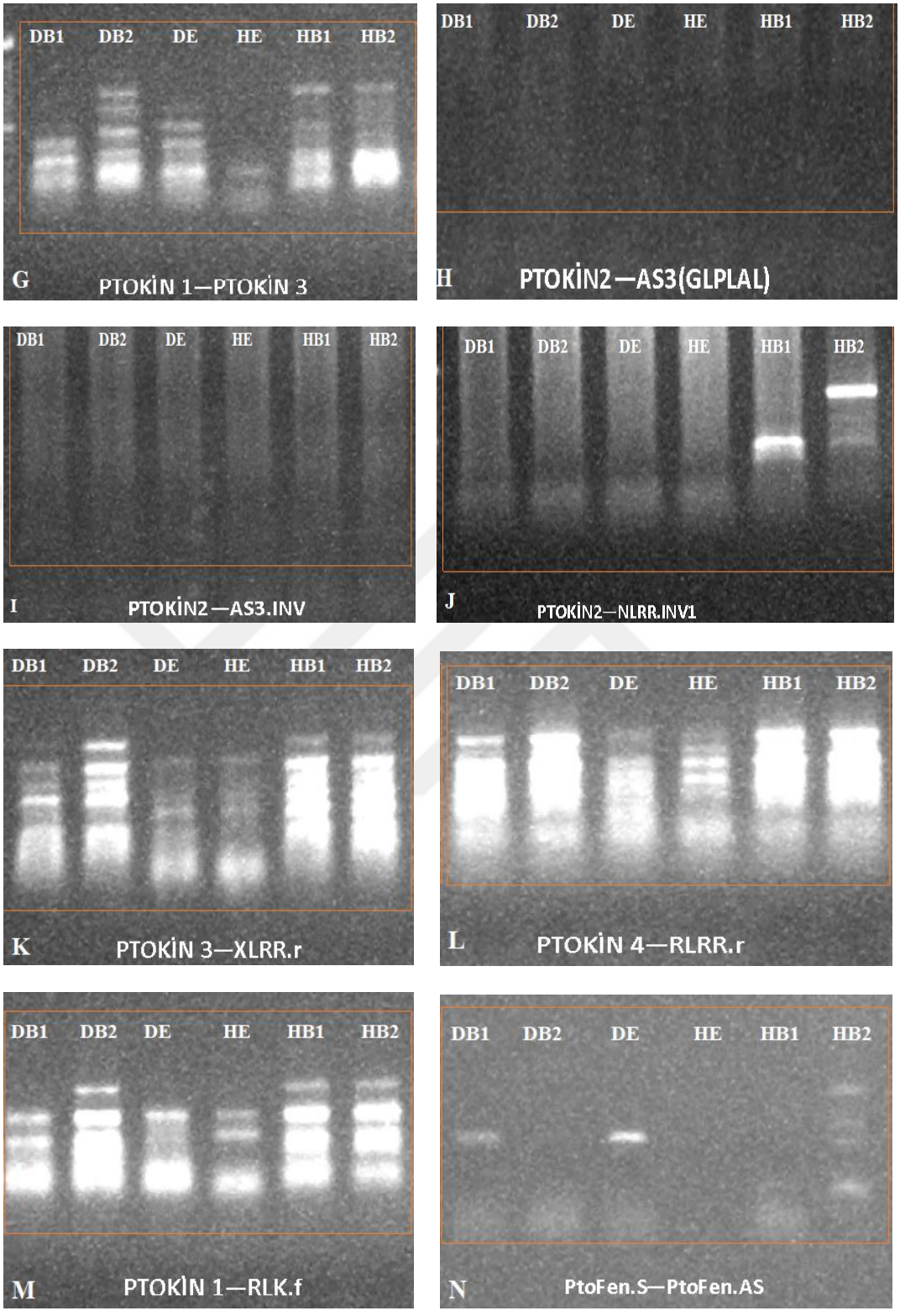
Şekil 5.54 RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

5.1.30. Diğer Markırlar

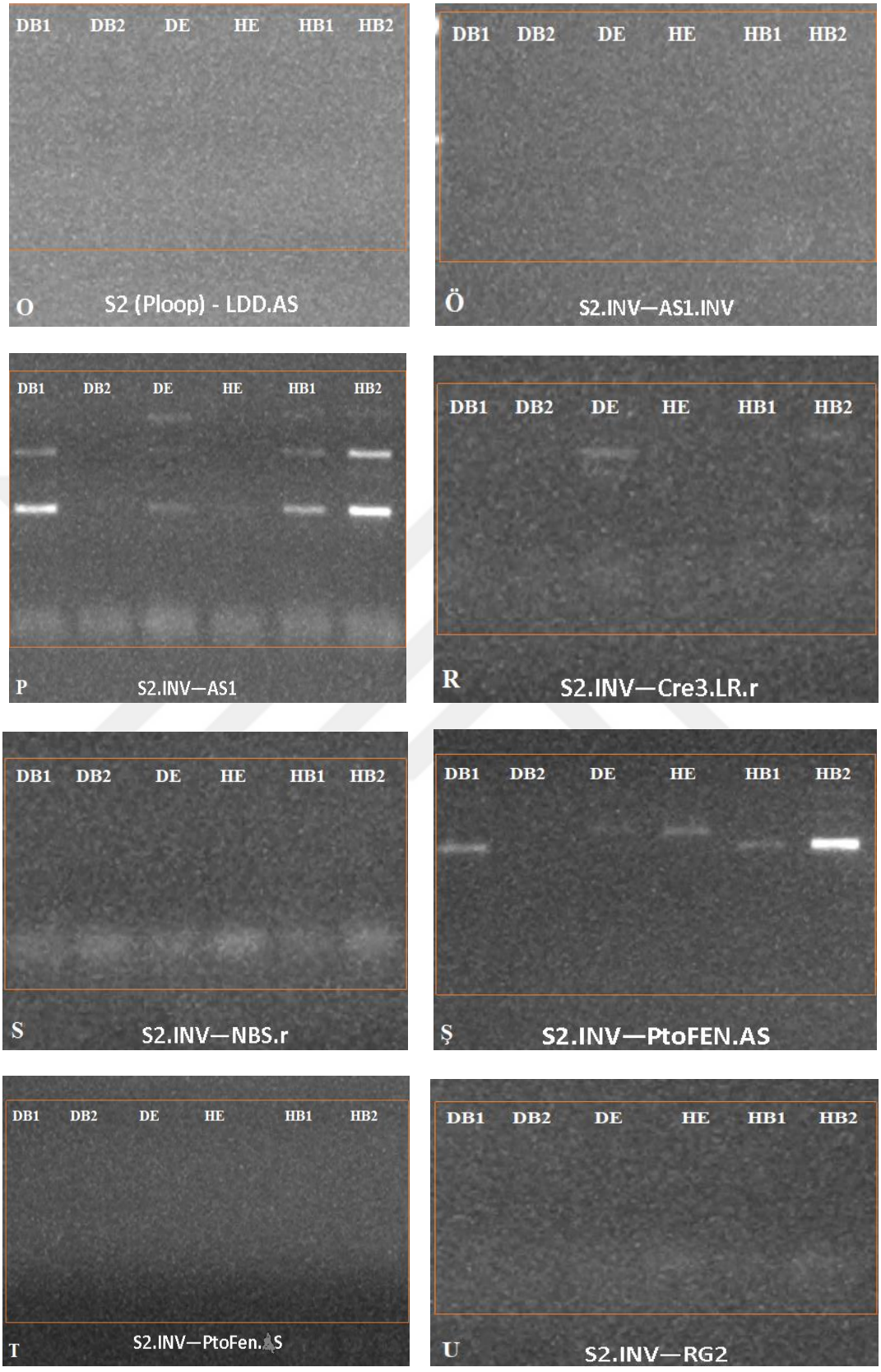
Yapılan çalışmada aşağıdaki markır çiftlerinde, PCR çalışmadığı için ya da dayanıklı, hassas ve F2 bulklarına ait olan bantlar spesifik çalışmadığı için kapiller elektroforez yapılması uygun görülmemiştir.



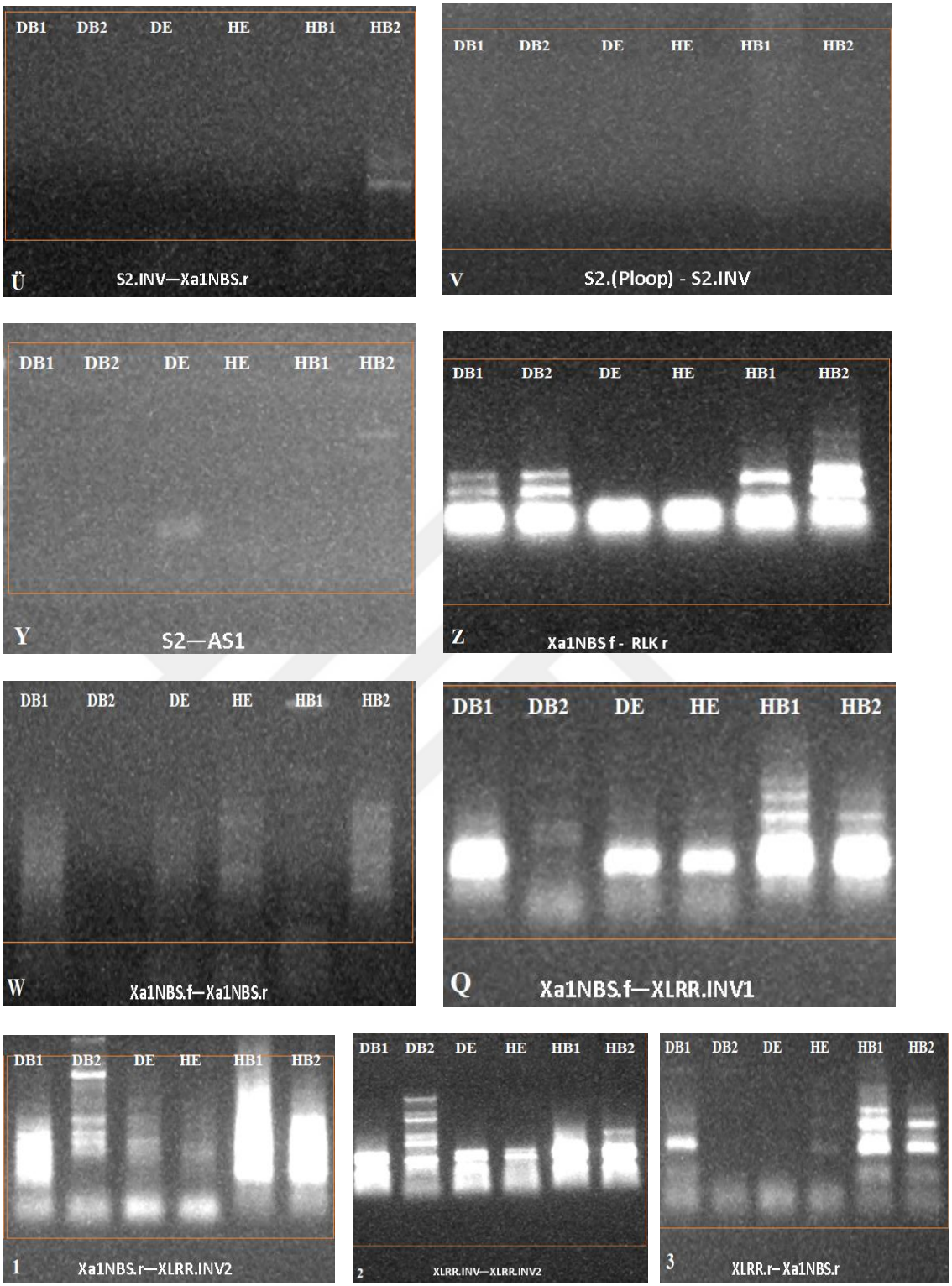
Şekil 5.55 A-F arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



Şekil 5.56 G-N arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



Şekil 5.57 O-U arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



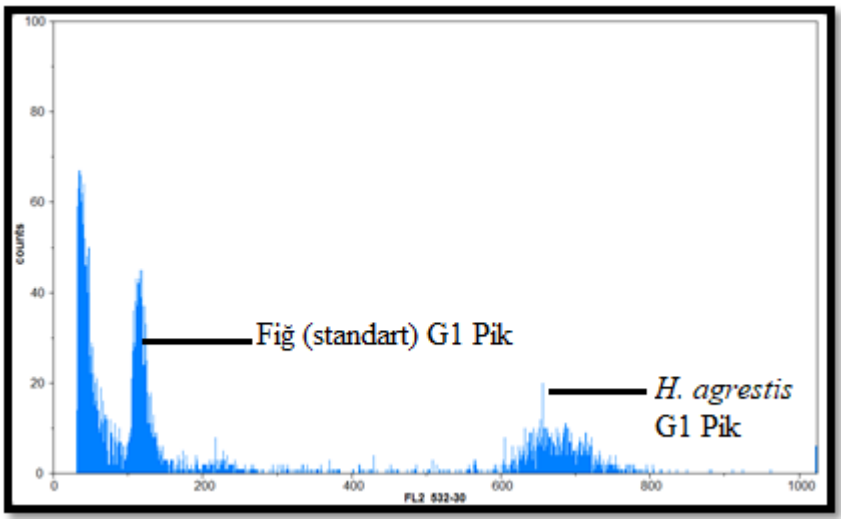
Şekil 5.58 Ü-Q ve 1-3 arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri

5.2.Yabani Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek DNA Analiz Sonuçları

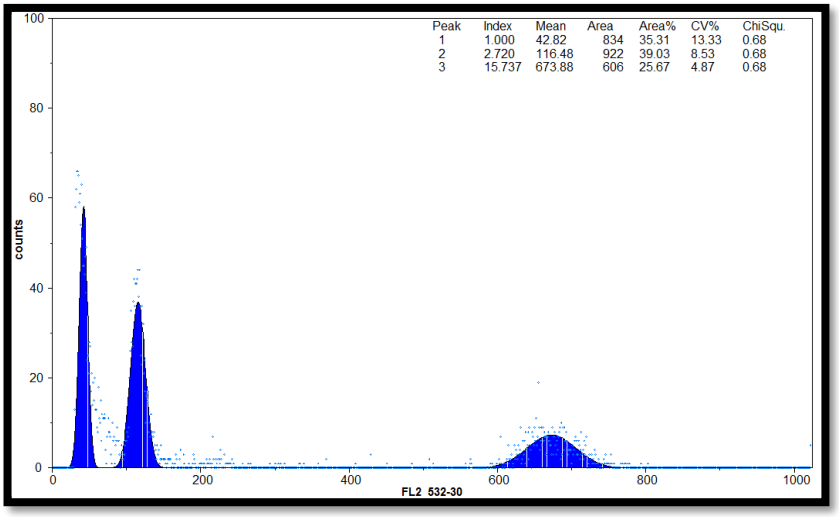
Yabani ayçiçeği aksesyonlarına ait bitkilerin yaprak dokuları kullanılarak materyal ve metod kısmında açıklandığı şekilde hazırlanmış olan örneğin akış sitometrisi cihazında analiz edilmesi sonucu elde edilen orijinal histogram ilk resimde sunulmuştur. Histogramda dikey eksen analiz edilen çekirdek sayısını, yatay eksen ise floresan yoğunluğunu göstermektedir. Bu orijinal histogram akış sitometrisi sisteminin sahip olduğu flomax paket programı aracılığı ile analiz edildikten sonra ikinci resimde sunulan ve sağ üst kısmında tabloya sahip olan bir histograma dönüştürülmüştür. Örneğin çekirdek DNA içeriği bu tabloda yer alan G1 piklerine ait mean değerleri kullanılarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

5.2.1. *H. agrestis*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.60'ta sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 673,88 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 116,48 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (673,88/116,48) x 3,65 = 21,11 pg olarak hesaplanmıştır.



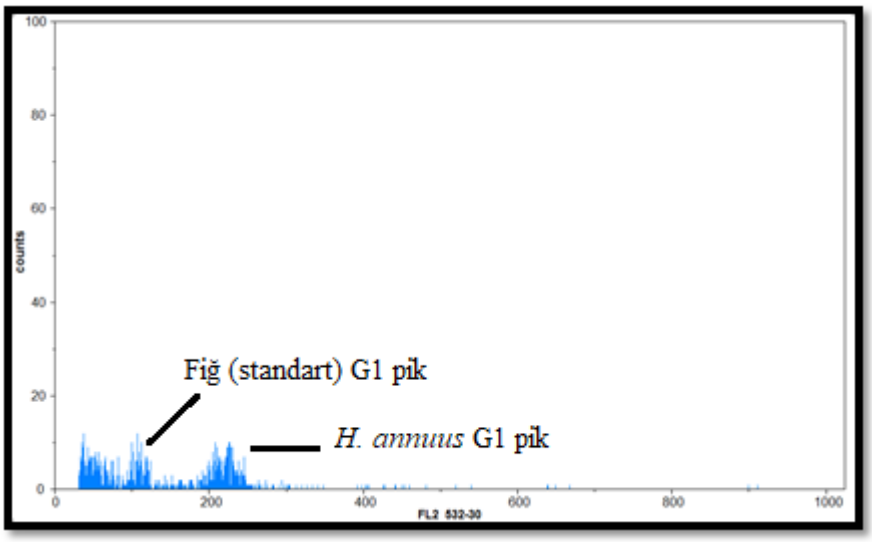
Şekil 5.59 PI 673205 *Helianthus agrestis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



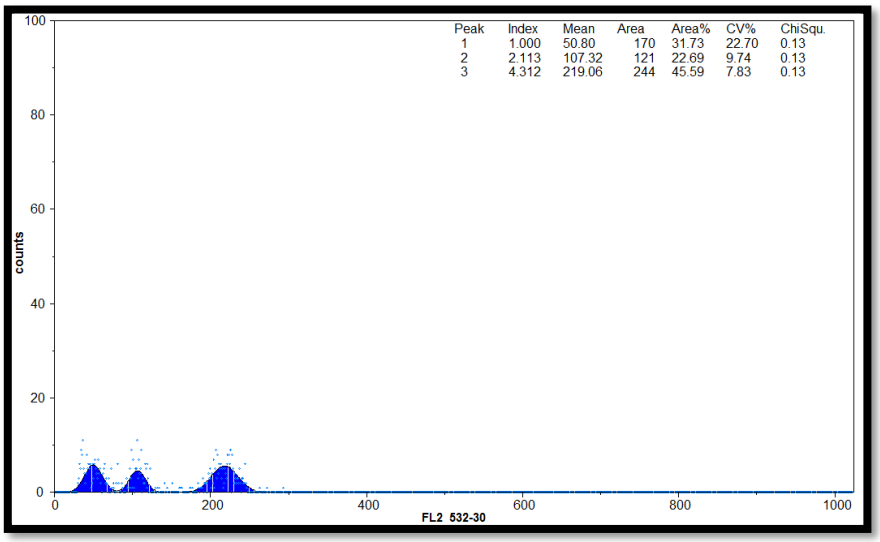
Şekil 5.60 Şekil 5.59'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.2. *H. annuus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.62'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 219,06 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 107,32 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (219,06/107,32) x 3,65 = 7,45 pg olarak hesaplanmıştır.



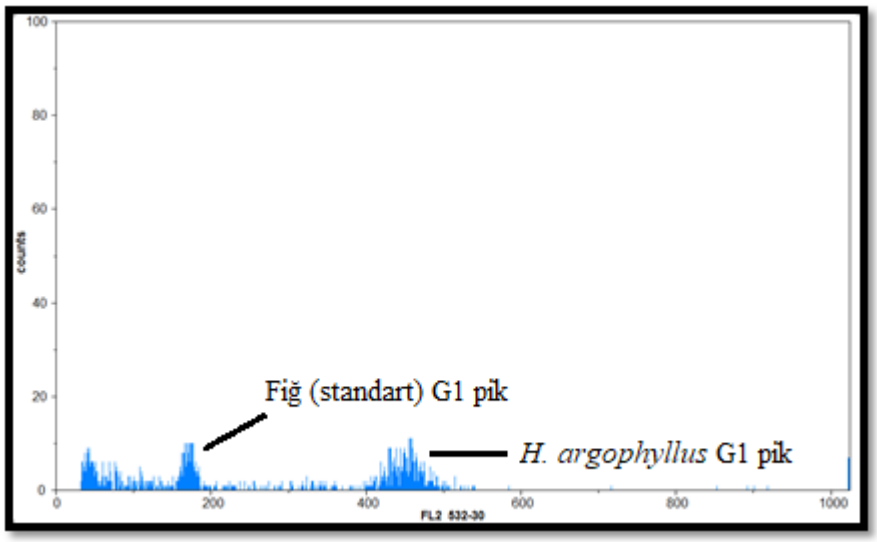
Şekil 5.61 PI 597890 *Helianthus annuus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



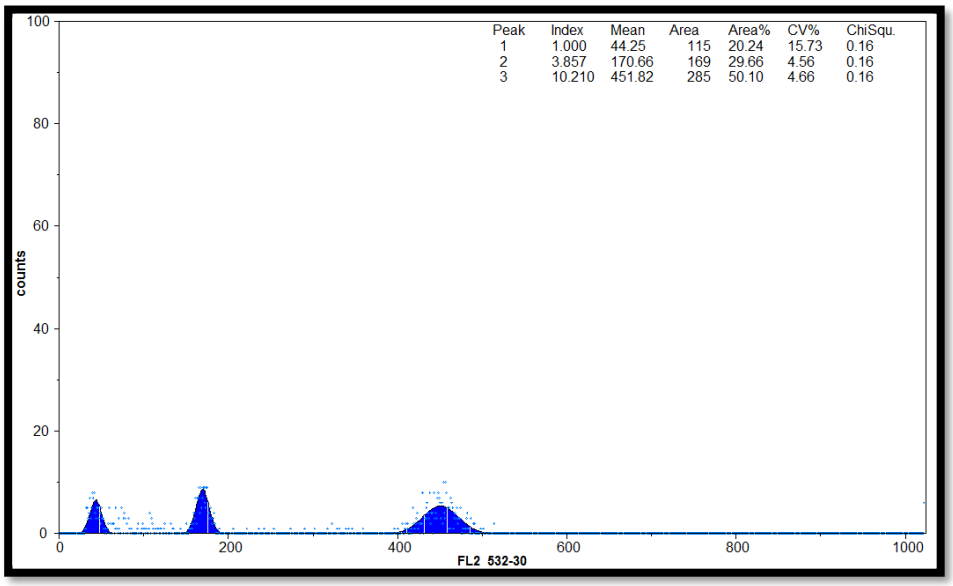
Şekil 5.62 Şekil 5.61'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.3. *H. argophyllus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.64'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 451,82 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 170,66 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (451,82/170,66) x 3,65 = 9,66 pg olarak hesaplanmıştır.



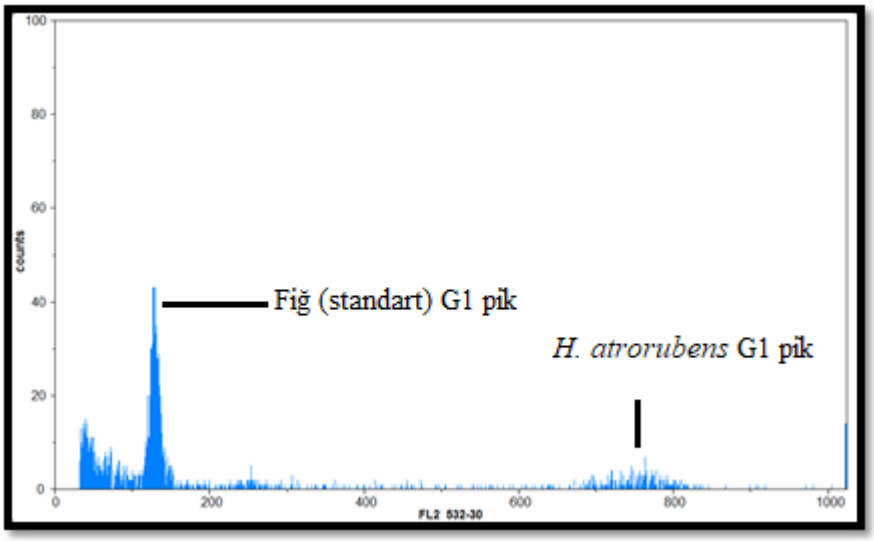
Şekil 5.63 PI 468651 *Helianthus argophyllus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



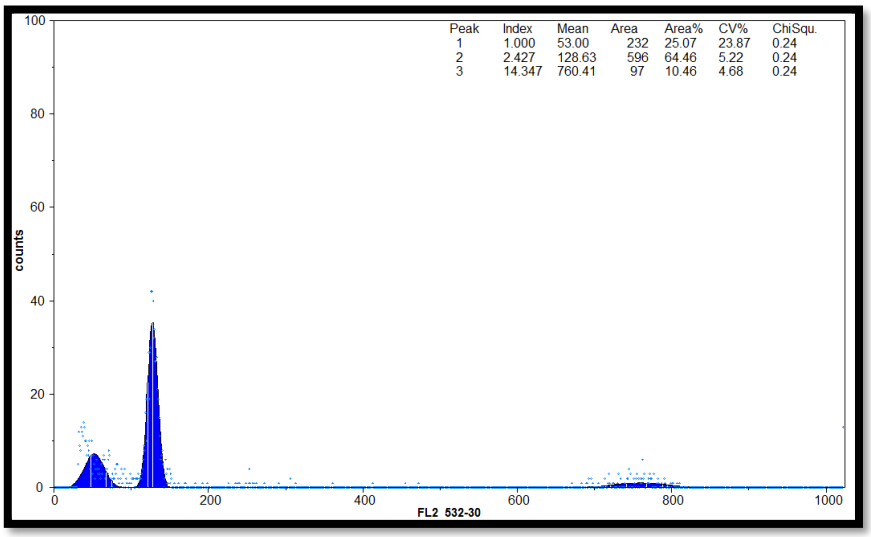
Şekil 5.64 Şekil 5.63'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.4. *H. atrorubens*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.66'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 760,41iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 128,63 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (760,41/128,63) x 3,65 = 21,58 pg olarak hesaplanmıştır.



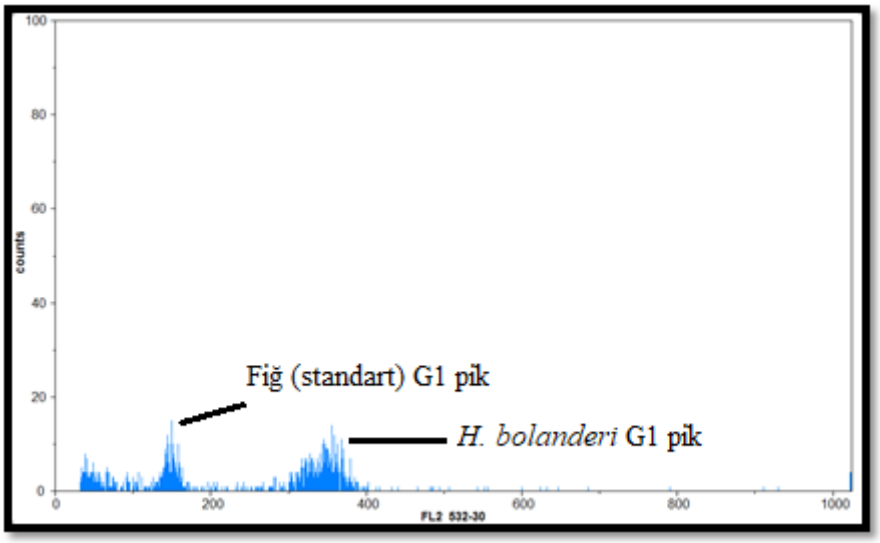
Şekil 5.65 PI 468659 *Helianthus atrorubens* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



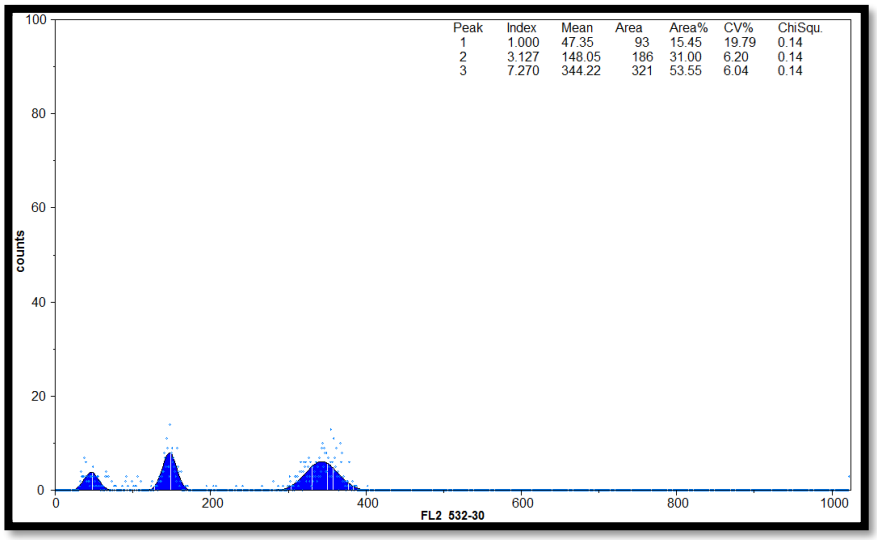
Şekil 5.66 Şekil 5.65'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.5. *H. bolanderi*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.68'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 344,22 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 148,05 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (344,22/148,05) x 3,65 = 8,49 pg olarak hesaplanmıştır.



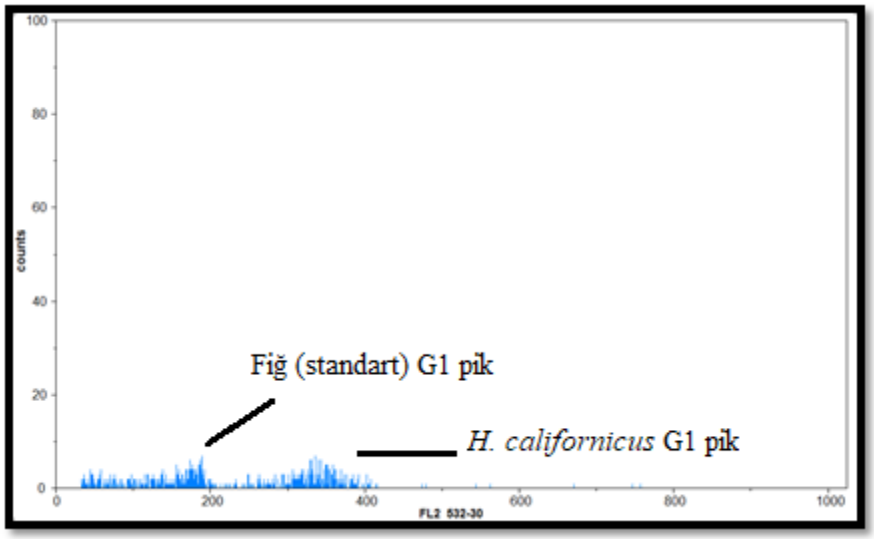
Şekil 5.67 PI 435641 *Helianthus bolanderi* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



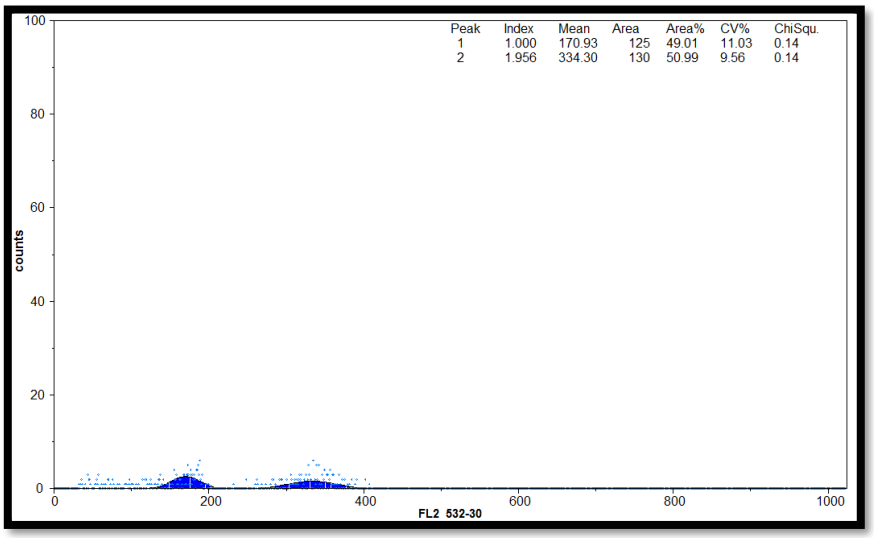
Şekil 5.68 Şekil 5.67'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.6. *H. californicus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.70'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 344,30 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 170,93 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (344,30/170,93) x 3,65 = 7,35 pg olarak hesaplanmıştır.



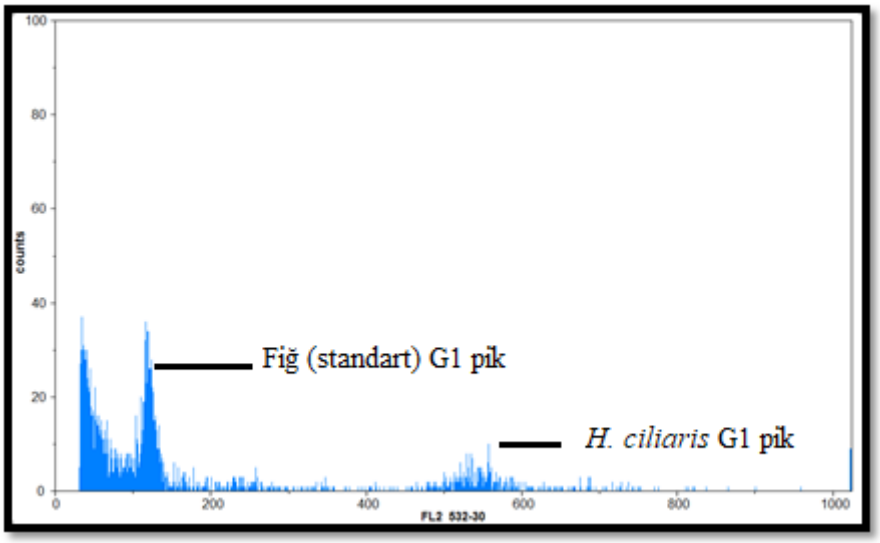
Şekil 5.69 PI 649953 *Helianthus californicus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



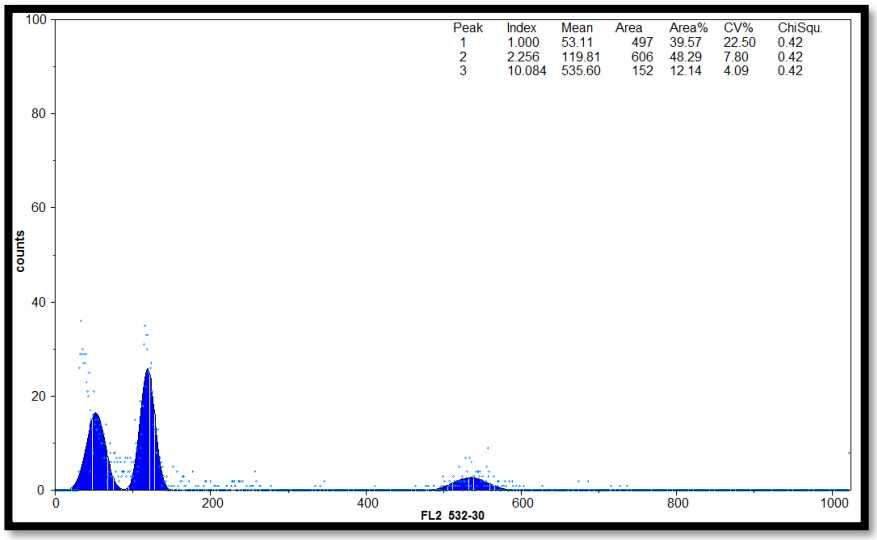
Şekil 5.7019 Şekil 5.69'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.7. *H. ciliaris*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.72'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 535,60 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 119,81 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (535,60/119,81) x 3,65 =16,31 pg olarak hesaplanmıştır.



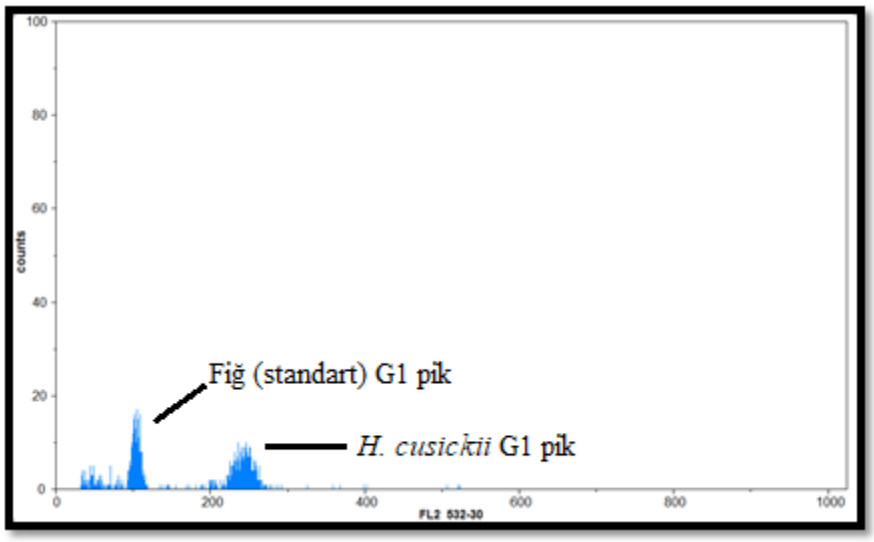
Şekil 5.71 PI 653552 *Helianthus ciliaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



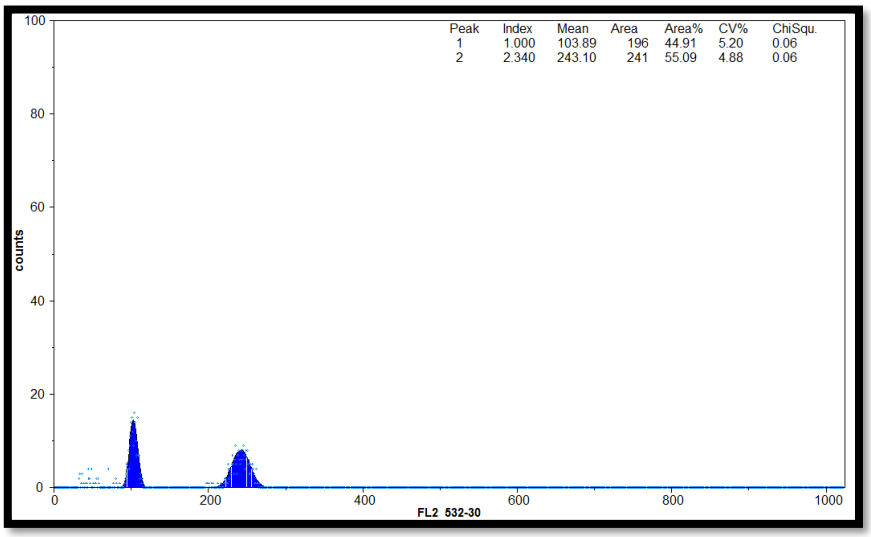
Şekil 5.72 Şekil 5.71'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.8. *H. cusickii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.74'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 243,10 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 103,89 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (243,10/103,89) x 3,65 = 8,54 pg olarak hesaplanmıştır.



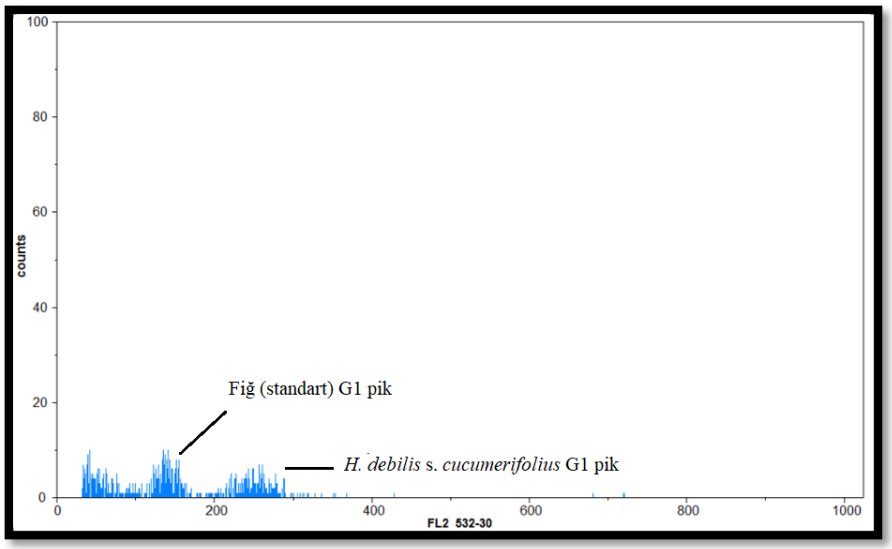
Şekil 5.73 PI 531040 *Helianthus cusickii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



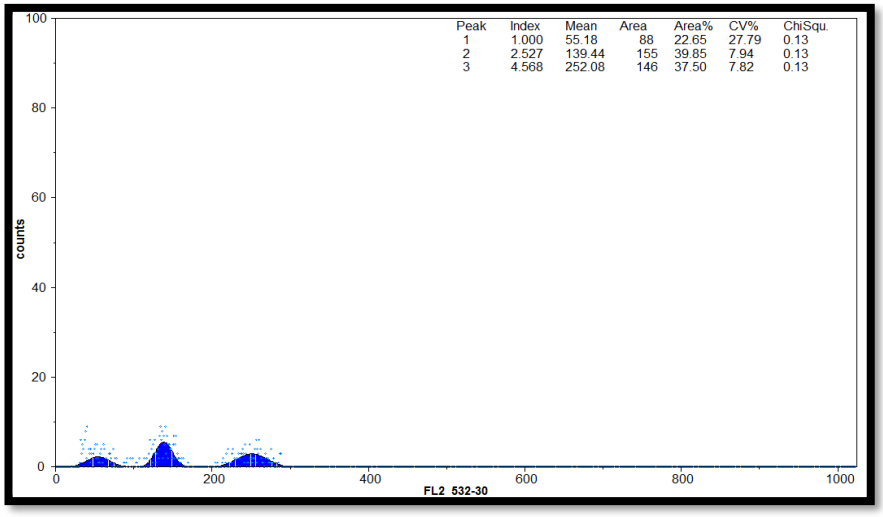
Şekil 5.74 Şekil 5.73'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.9. *H. debilis* subsp. *cucumerifolius'un* Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.76'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 252,08 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 139,44 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (252,08/139,44) x 3,65 = 6,61 pg olarak hesaplanmıştır.



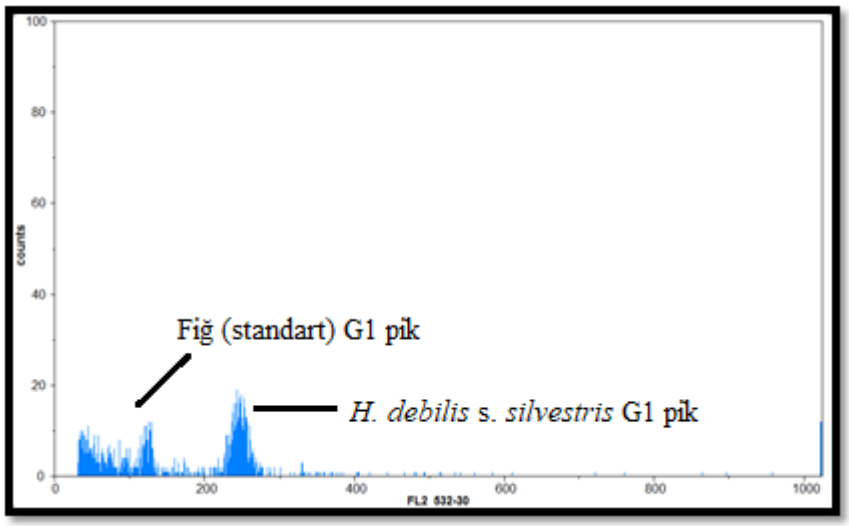
Şekil 5.75 PI 435654 *Helianthus debilis* subsp. *cucumerifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



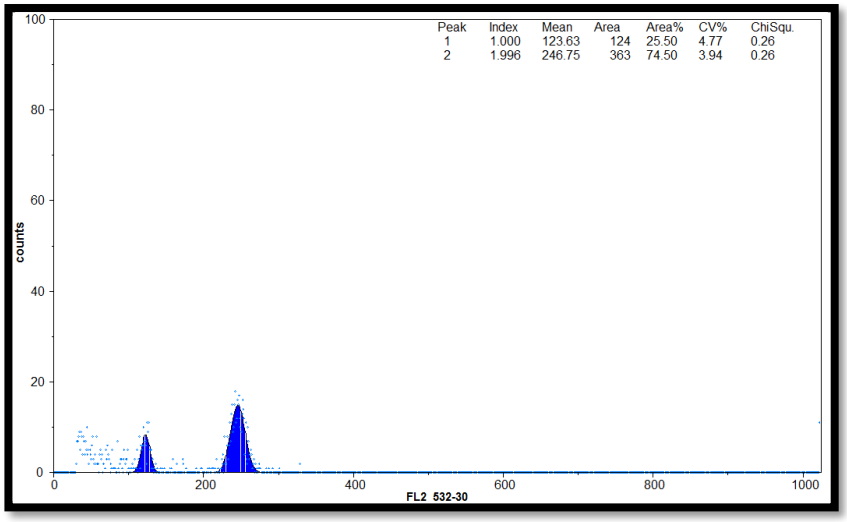
Şekil 5.76 Şekil 5.75'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.10. *H. debilis* subsp. *silvestris* Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.78'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 246,75 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 123,63 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (246,75/123,63) x 3,65 = 7,28 pg olarak hesaplanmıştır.



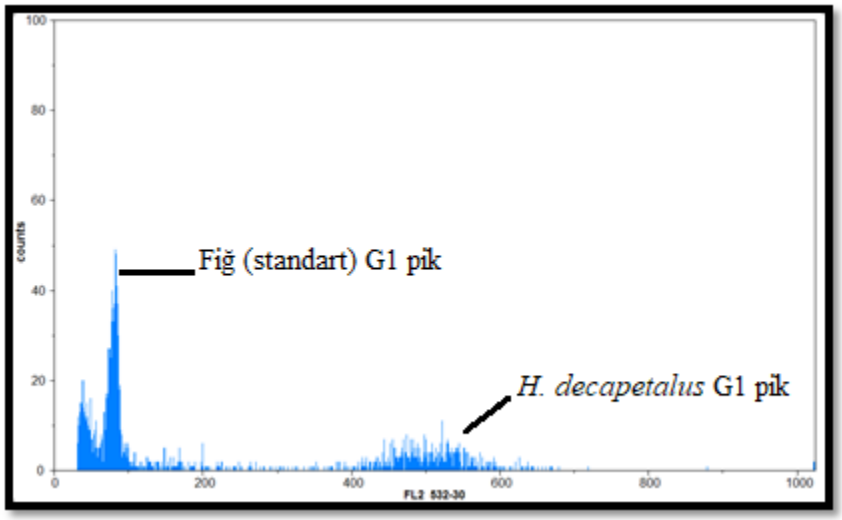
Şekil 5.77 PI 613753 *Helianthus debilis* subsp. *silvestris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



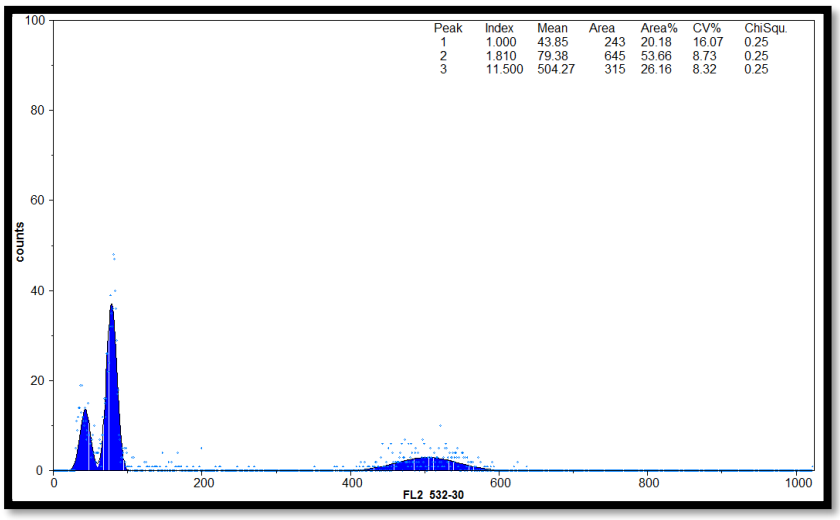
Şekil 5.78 Şekil 5.77'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.11. *H. decapetalus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.80'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 504,27 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 79,38 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (504,27/79,38) x 3,65 = 23,18 pg olarak hesaplanmıştır.



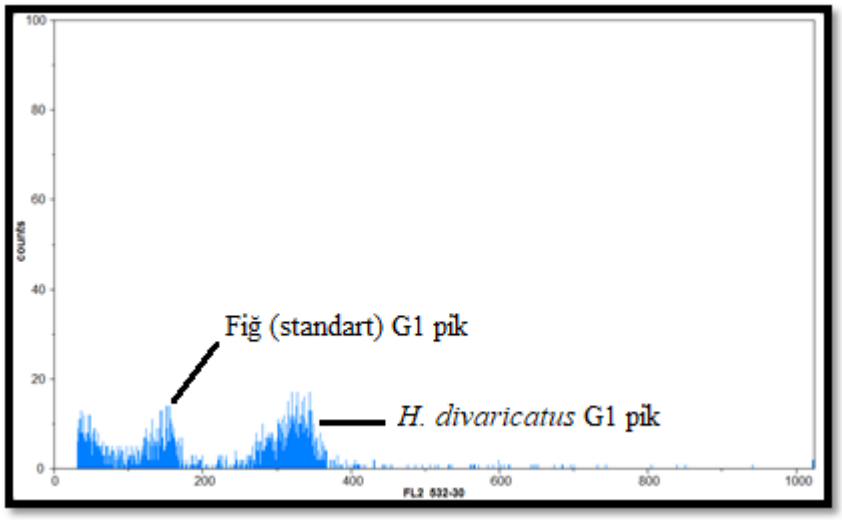
Şekil 5.79 PI 649971 *Helianthus decapetalus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



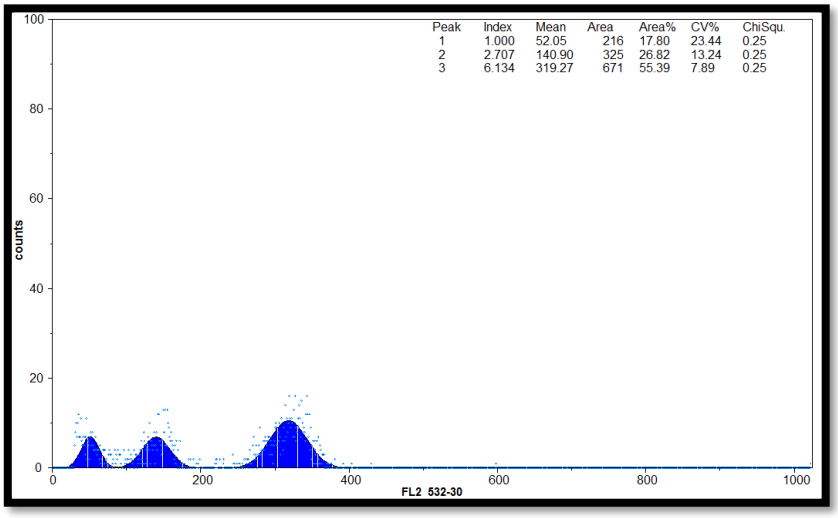
Şekil 5.80 Şekil 5.79'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.12 *H. divaricatus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.82'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 319,27 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 140,90 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (319,27/140,90) x 3,65 = 8,27 pg olarak hesaplanmıştır.



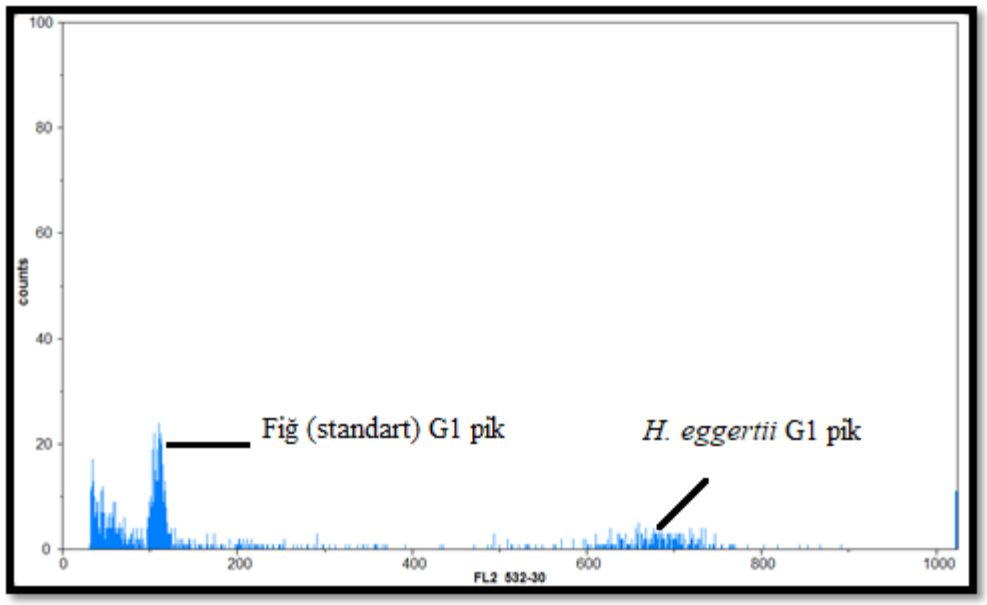
Şekil 5.81 PI 435675 *Helianthus divaricatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.82 Şekil 5.81'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.13. *H. eggertii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

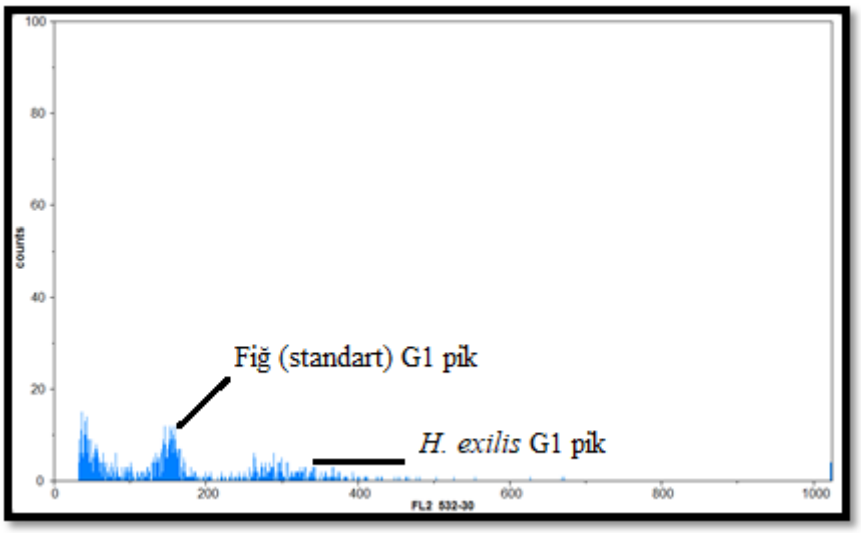
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 679,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 109,17 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (679,69/109,17) x 3,65 = 22,72 pg olarak hesaplanmıştır.



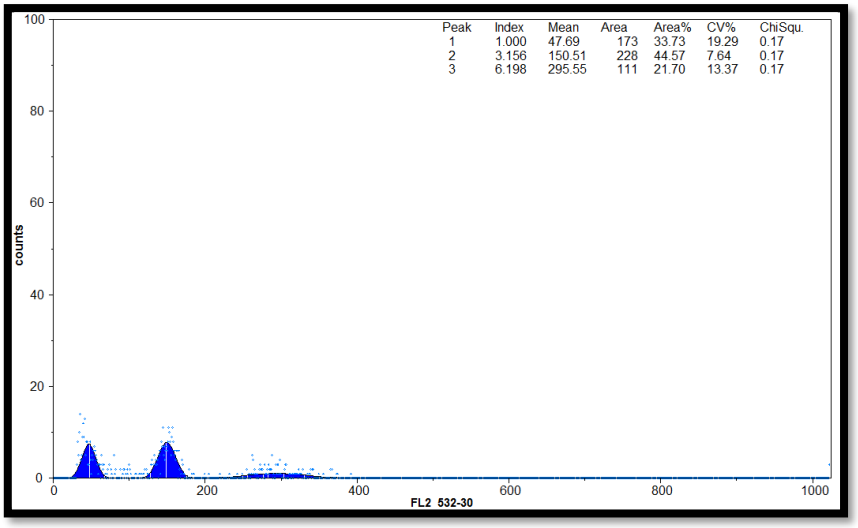
Şekil 5.83 PI 649981 *Helianthus eggertii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.14. *H. exilis*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.85'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 295,55 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 150,51 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (295,55/150,51) x 3,65 = 7,16 pg olarak hesaplanmıştır.



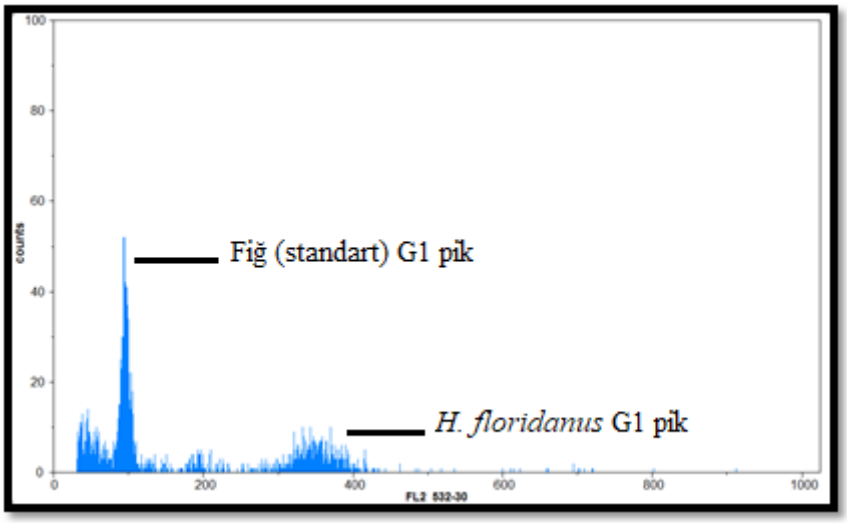
Şekil 5.8 PI 649891 *Helianthus exilis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



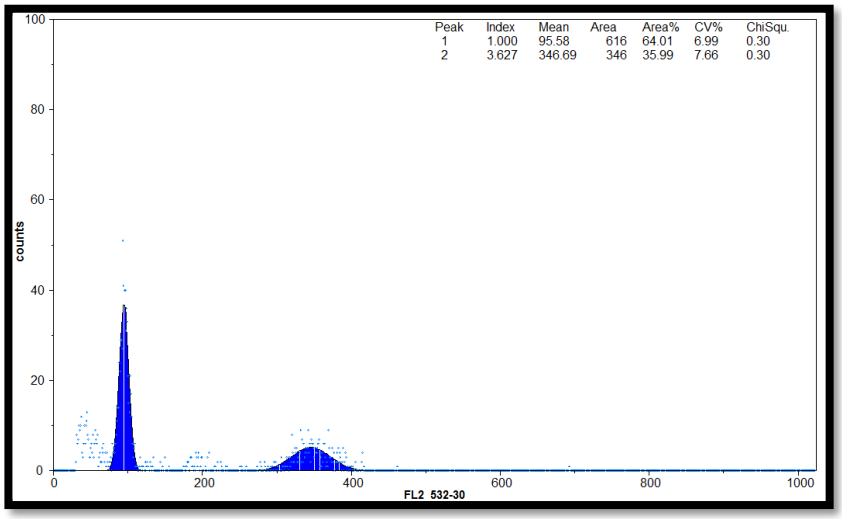
Şekil 5.85 Şekil 5.84'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.15. *H. floridanus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.87'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 346,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 95,58 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (346,69/95,58) x 3,65 = 13,23 pg olarak hesaplanmıştır.



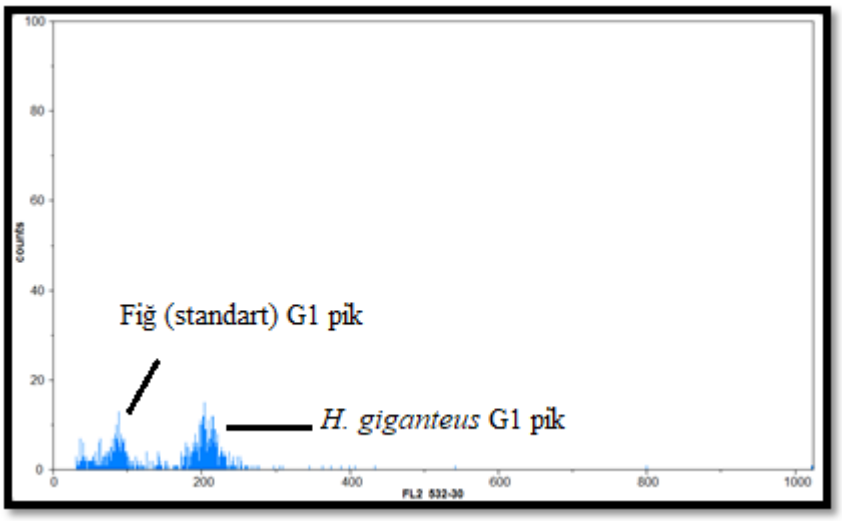
Şekil 5.86 PI 468716 *Helianthus floridanus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



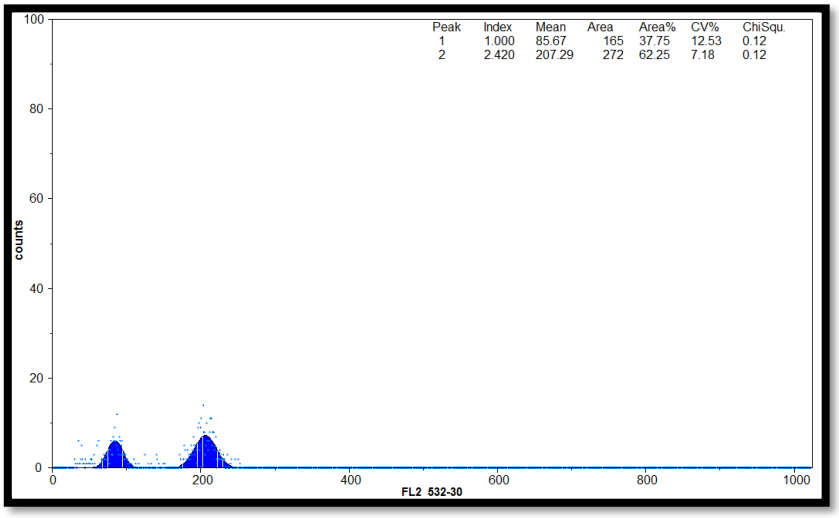
Şekil 5.87 Şekil 5.86'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.16. *H. giganteus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.89'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 207,29 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 85,67 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (207,29/85,67) x 3,65 = 8,83 pg olarak hesaplanmıştır.



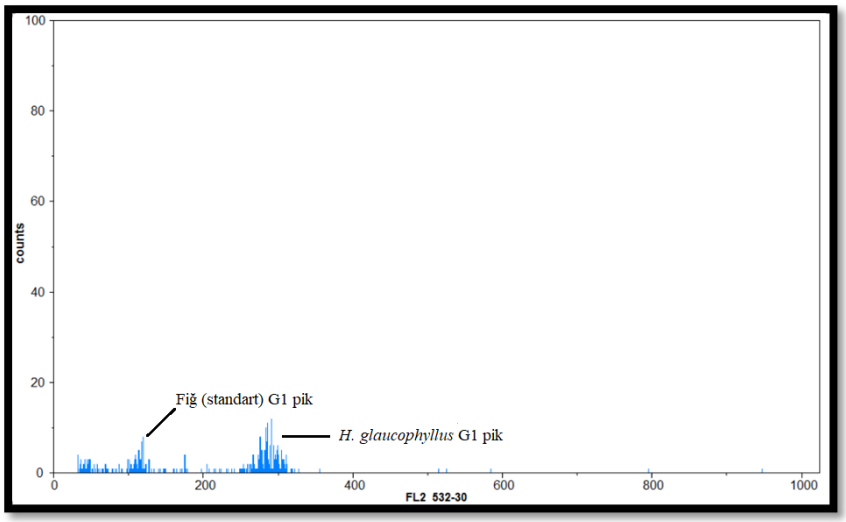
Şekil 5.88 PI 468720 *Helianthus giganteus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



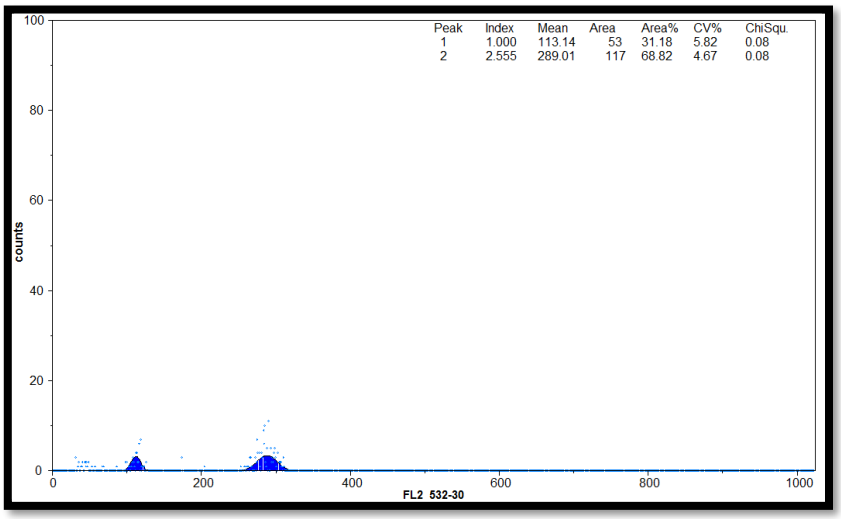
Şekil 5.89 Şekil 5.88'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.17. *H. glaucophyllus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.91'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 289,01 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 113,14 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (289,01/113,14) x 3,65 = 9,32 pg olarak hesaplanmıştır.



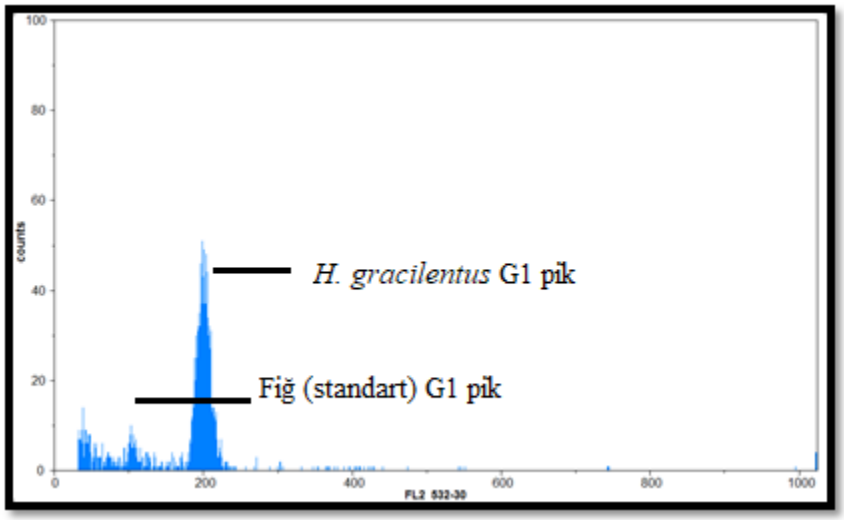
Şekil 5.90 PI 664715 *Helianthus glaucophyllus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



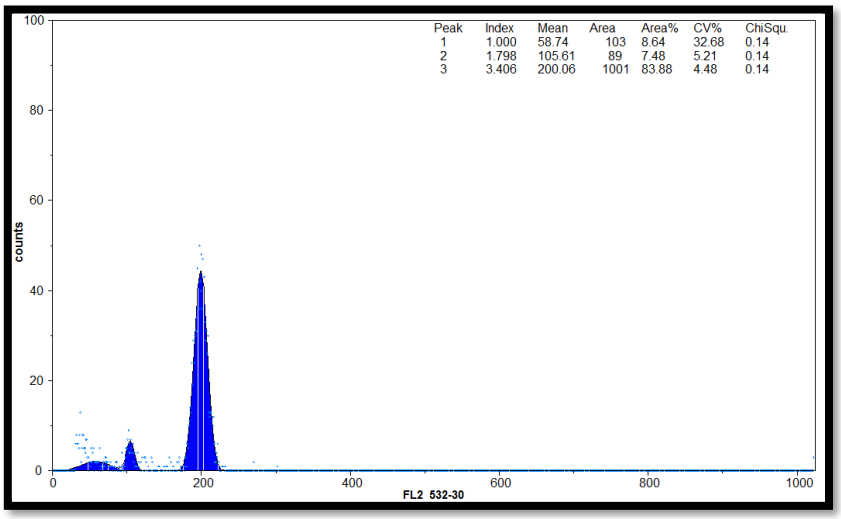
Şekil 5.91 Şekil 5.90'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.18. *H. gracilentus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.93'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 200,06 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 105,61 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (200,06/105,61) x 3,65 = 6,91 pg olarak hesaplanmıştır.



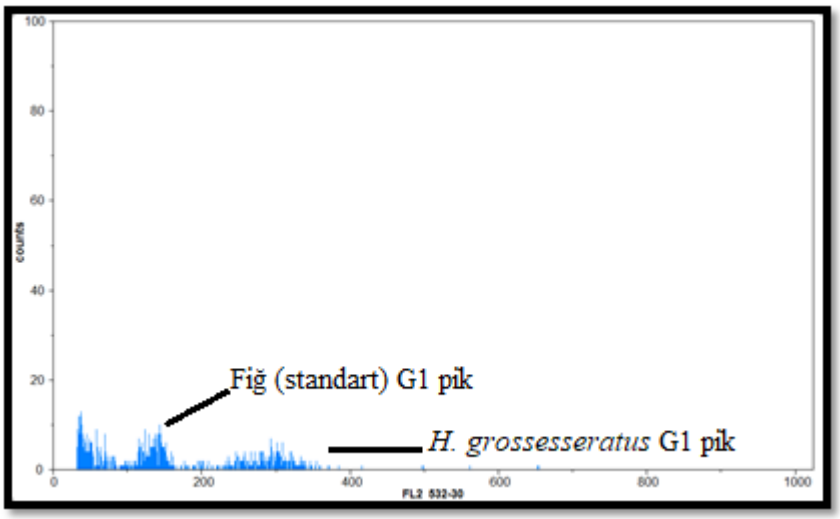
Şekil 5.92 PI 664644 *Helianthus gracilentus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



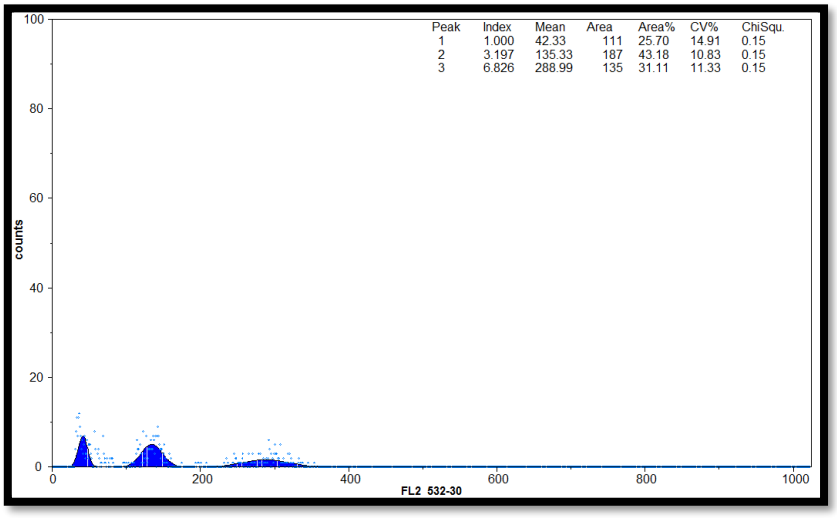
Şekil 5.93 Şekil 5.92'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.19. *H. grossesseratus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.95'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 288,99 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 135,33 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (288,99/135,33) x 3,65 = 7,79 pg olarak hesaplanmıştır.



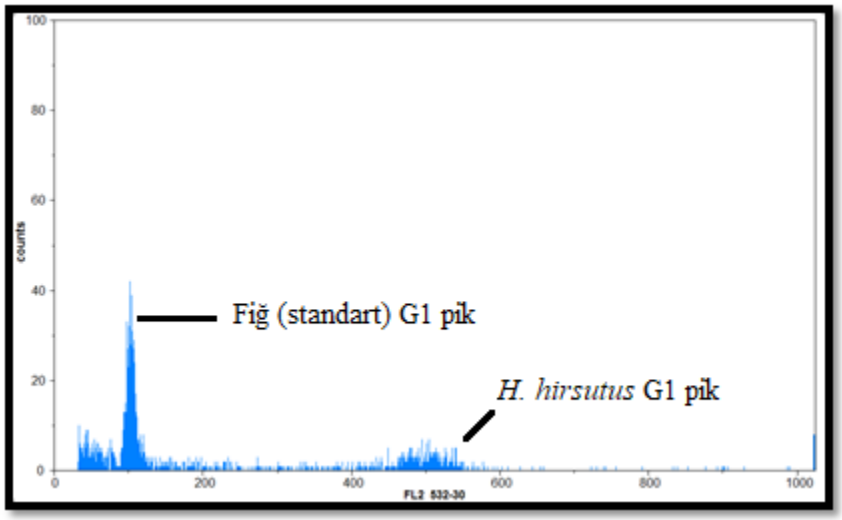
Şekil 5.94 PI 468725 *Helianthus grosseserratus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



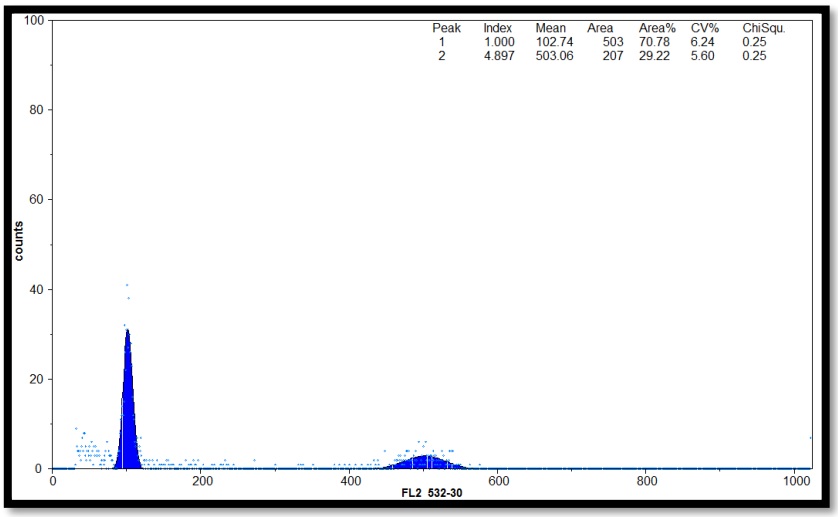
Şekil 5.95 Şekil 5.94'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.20. *H. hirsutus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.97'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 503,06 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 102,74 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (503,06/102,74) x 3,65 =17,87 pg olarak hesaplanmıştır.



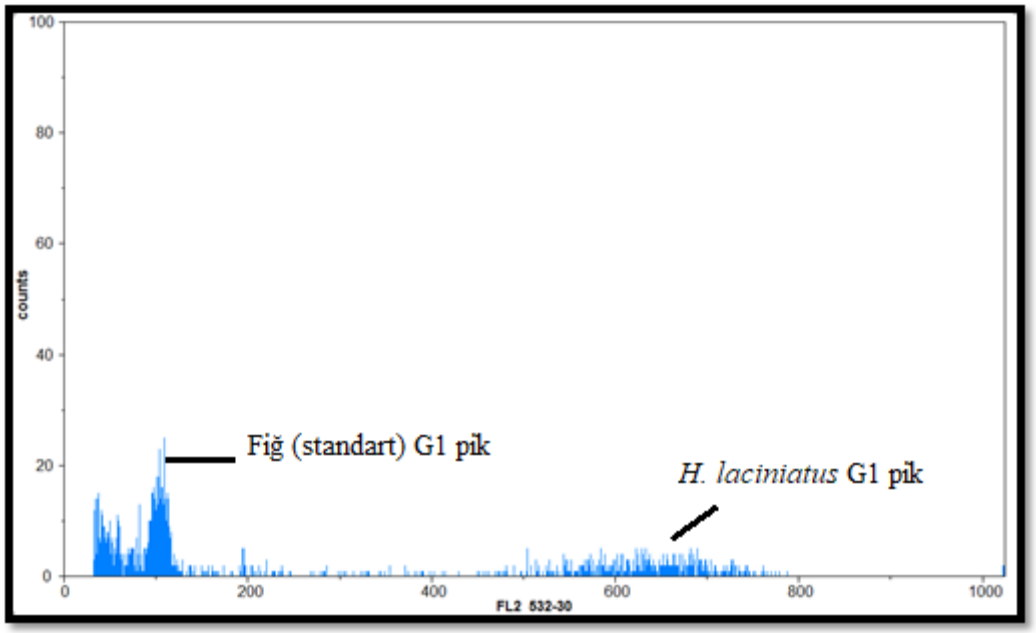
Şekil 5.96 PI 435703 *Helianthus hirsutus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.97 Şekil 5.96'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.21. *H. laciniatus*'un Çekirdek DNA Miktarı

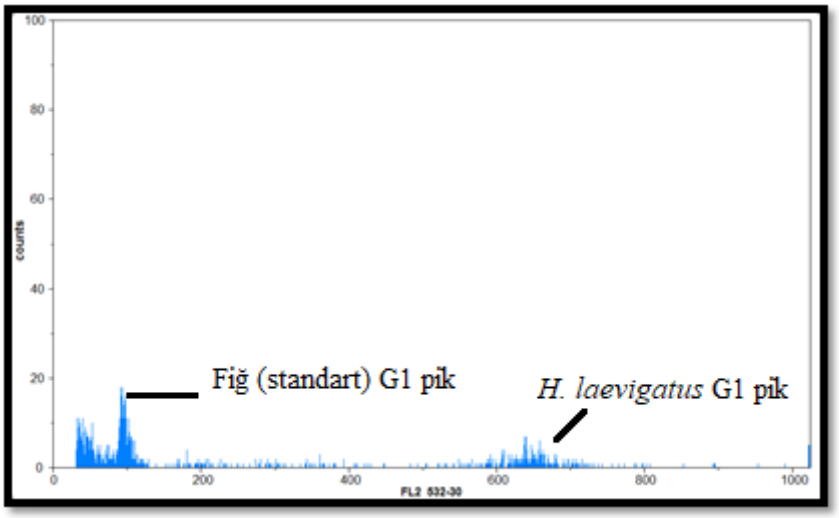
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 290,3 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 138,81 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (290,3/138,81) x 3,65 = 7,63 pg olarak hesaplanmıştır.



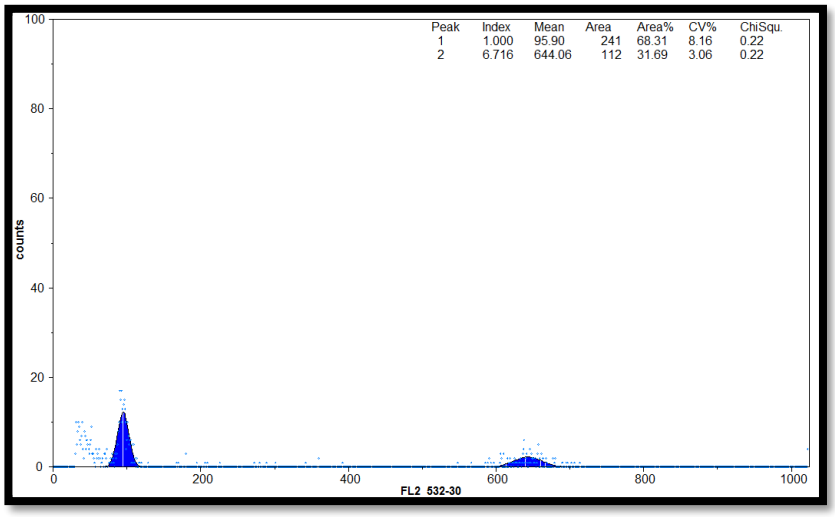
Şekil 5.98 PI 653562 *Helianthus laciniatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.22. *H. laevigatus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.100'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 644,06 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 95,90 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (644,06/95,90) x 3,65 = 24,51 pg olarak hesaplanmıştır.



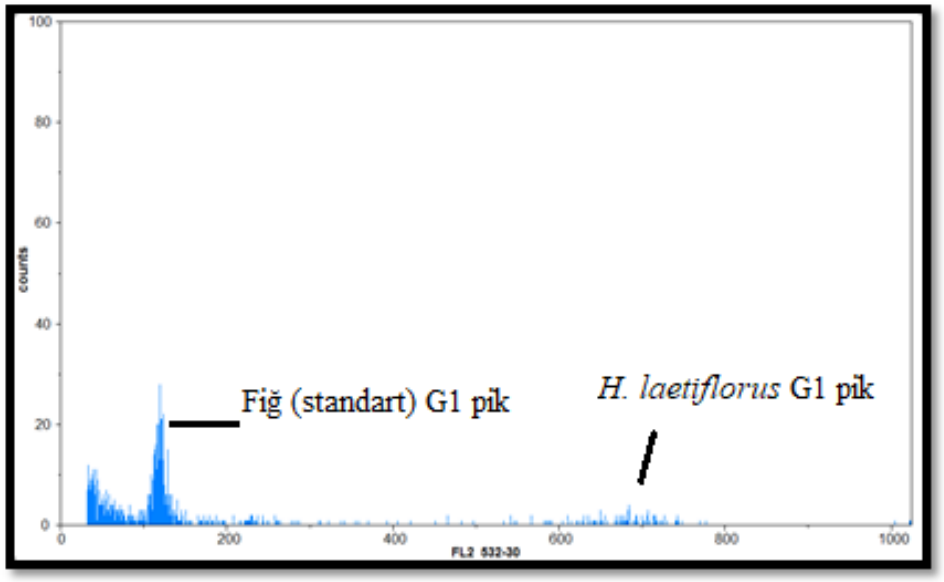
Şekil 5.99 PI 503228 *Helianthus laevigatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.100 Şekil 5.99'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.23. *H. laetiflorus*'un Çekirdek DNA Miktarı

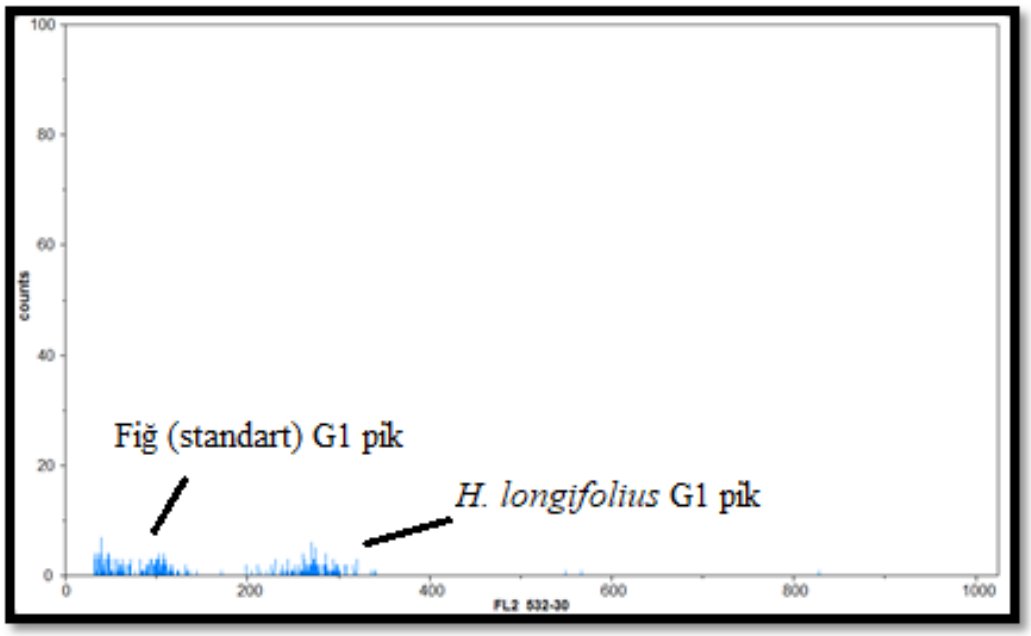
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 677,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 117,86 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (677,69/117,86) x 3,65 = 20,99 pg olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.101 PI 503291 *Helianthus laetiflorus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.24. *H. longifolius*'un Çekirdek DNA Miktarı

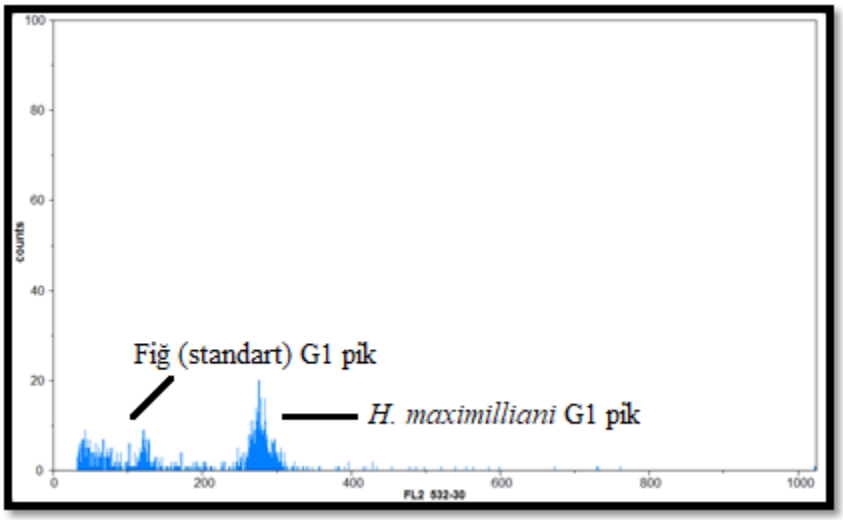
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 277 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 101,24 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (277/101,24) x 3,65 = 9,99 pg olarak hesaplanmıştır.



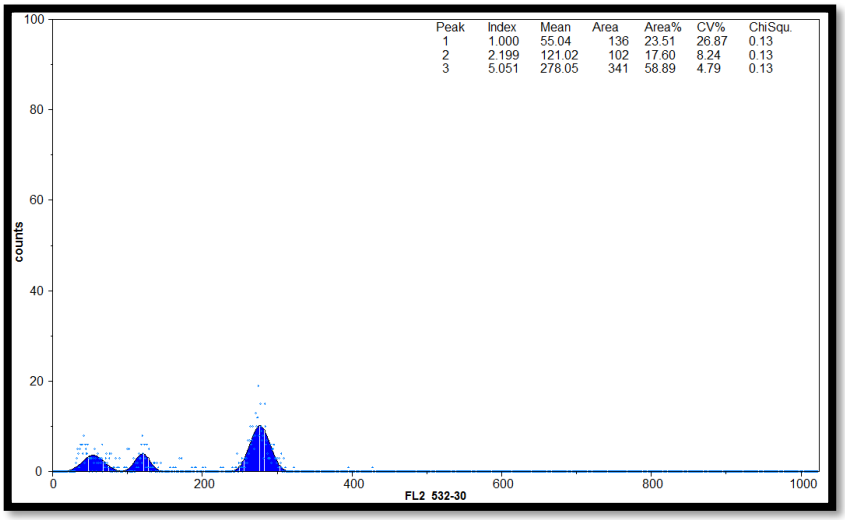
Şekil 5.102 PI 650001 *Helianthus longifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.25. *H. maximilliani*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.104'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 278,05 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 121,02 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (278,05/121,02) x 3,65 = 8,38 pg olarak hesaplanmıştır.



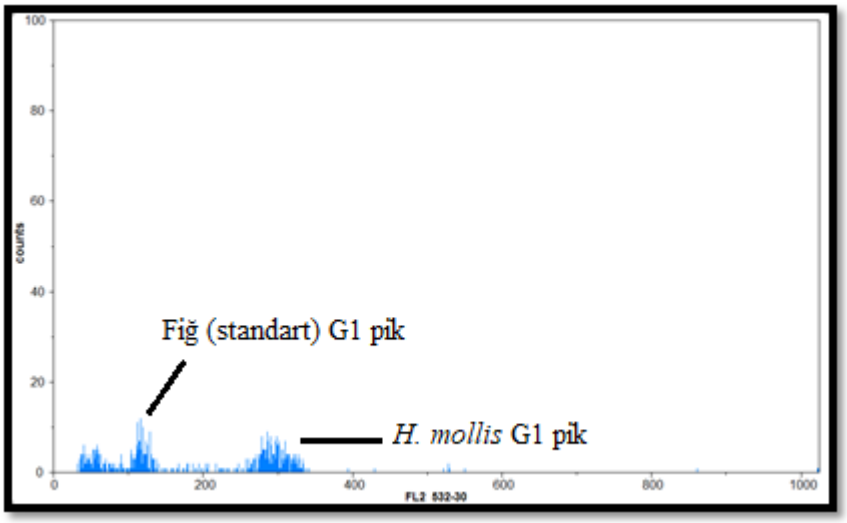
Şekil 5.103 PI 468746 *Helianthus maximiliani* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



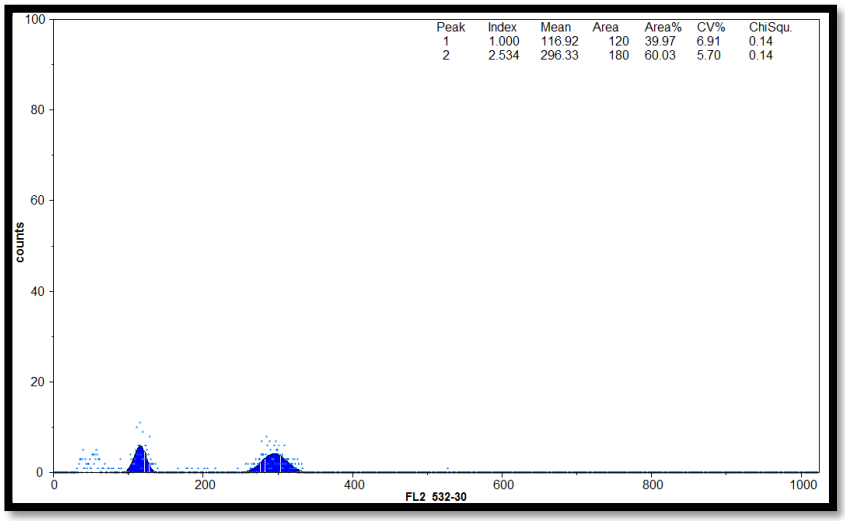
Şekil 5.104 Şekil 5.103'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.26. *H. mollis*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.106'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 296,33 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 116,92 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2c DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (296,33/116,92) x 3,65 = 9,25 pg olarak hesaplanmıştır.



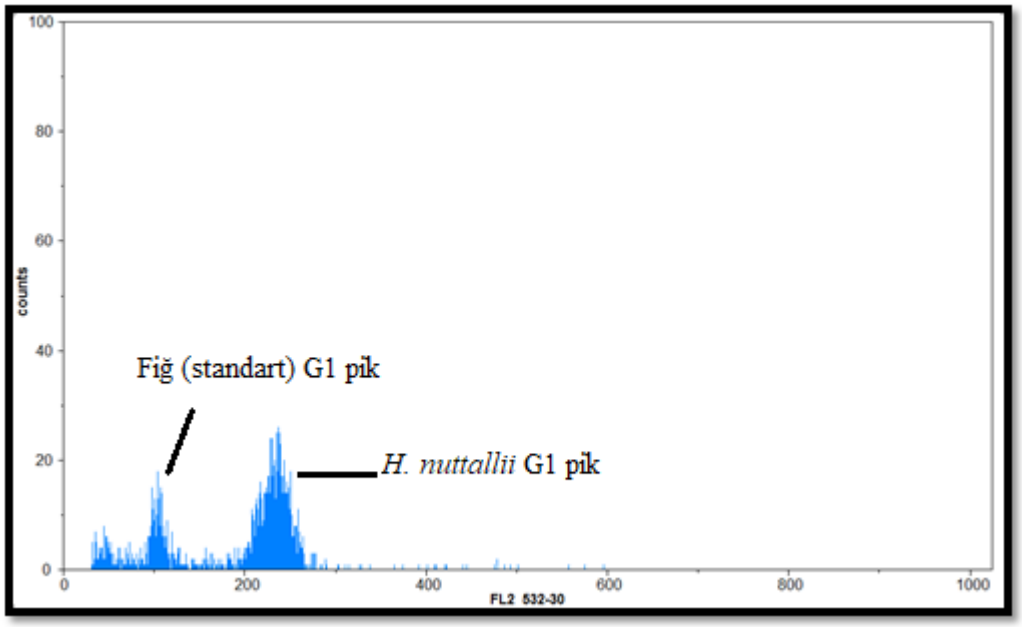
Şekil 5.105 PI 435759 *Helianthus mollis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.106 Şekil 5.105'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.27. *H. nuttalli*'nin Çekirdek DNA Miktarı

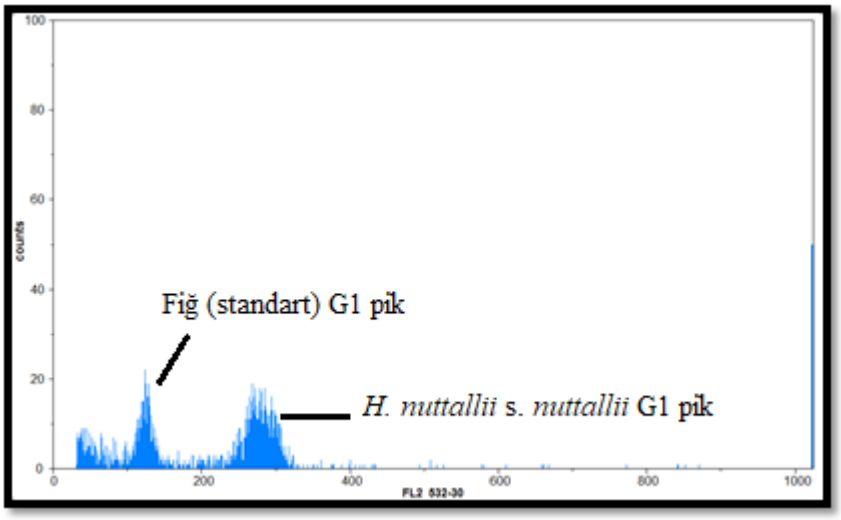
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 232,36 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 103,19 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (232,36/103,19) x 3,65 = 8,22 pg olarak hesaplanmıştır.



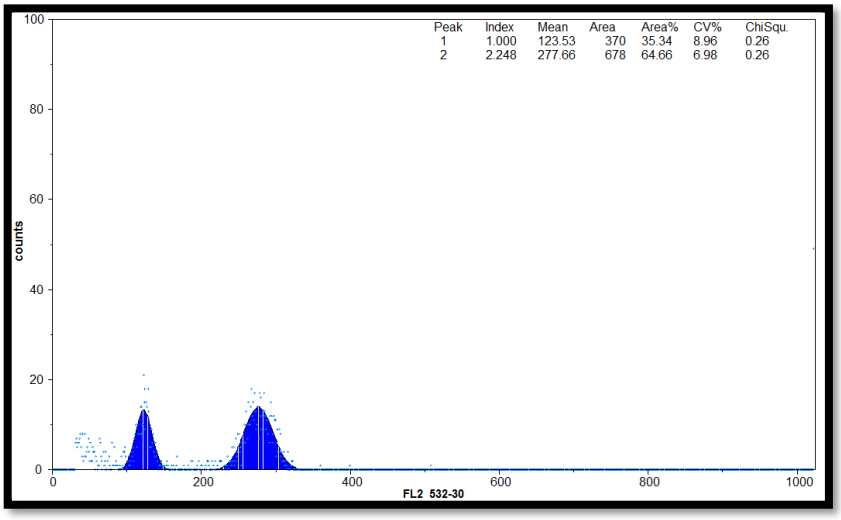
Şekil 5.107 PI 592341 *Helianthus nuttalli* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.28. *H. nuttallii* subsp. *nuttallii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.109'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu iken 277,66 standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 123,53 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (277,66/123,53) x 3,65 = 8,20 pg olarak hesaplanmıştır.



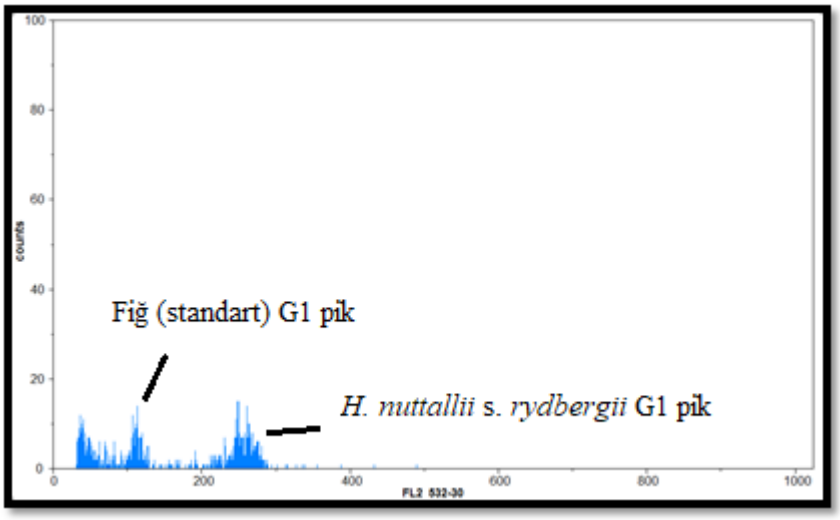
Şekil 5.108 PI 531044 *Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



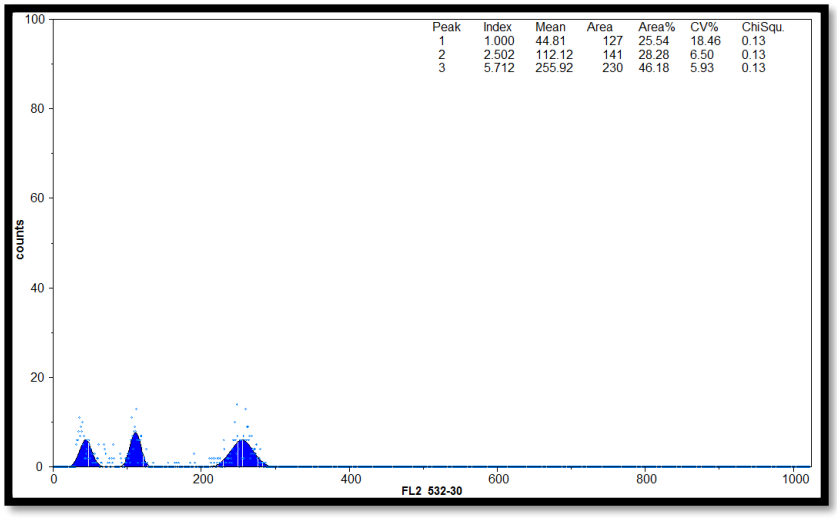
Şekil 5.109 Şekil 5.108'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.29. *H. nuttalii* subsp. *rydbergi*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.111'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 255,92 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 112,12 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (255,92/112,12) x 3,65 = 8,33 pg olarak hesaplanmıştır.



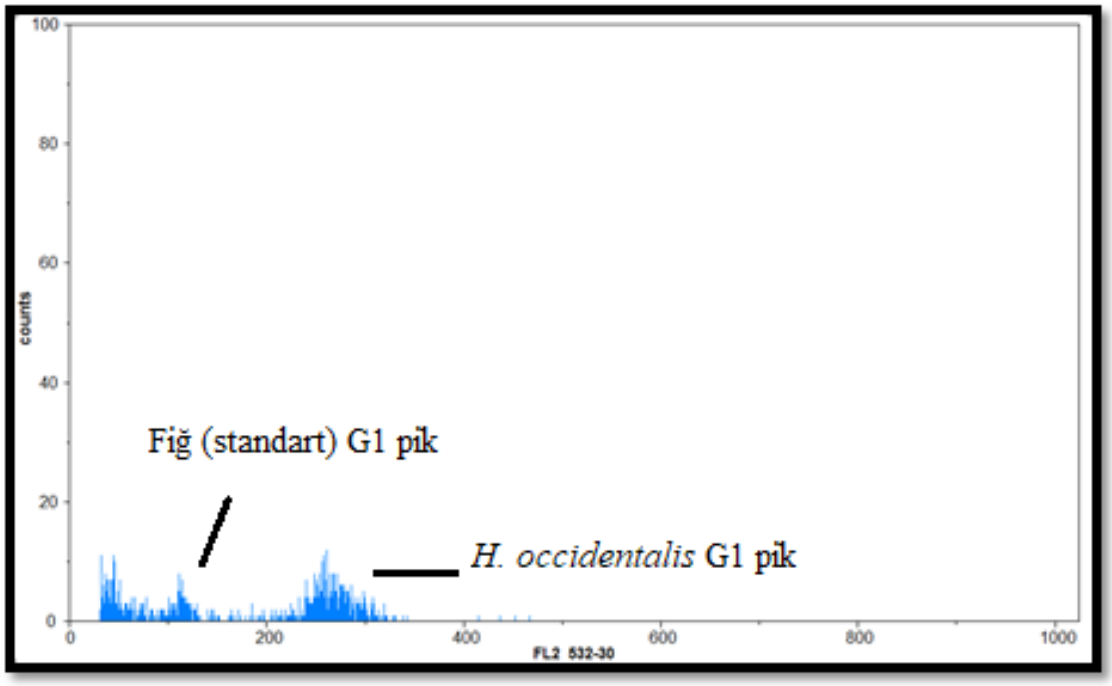
Şekil 5.110 PI 597918 *Helianthus nuttallii* subsp. *rydbergii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.111 Şekil 5.109'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.30. *H. occidentalis*'in Çekirdek DNA Miktarı

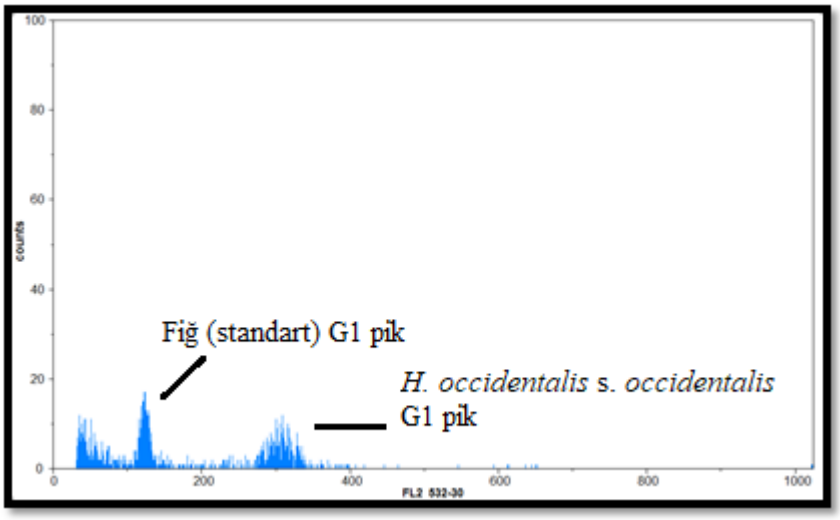
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 267,23 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 115,67 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (267,23/115,67) x 3,65 = 8,43 pg olarak hesaplanmıştır.



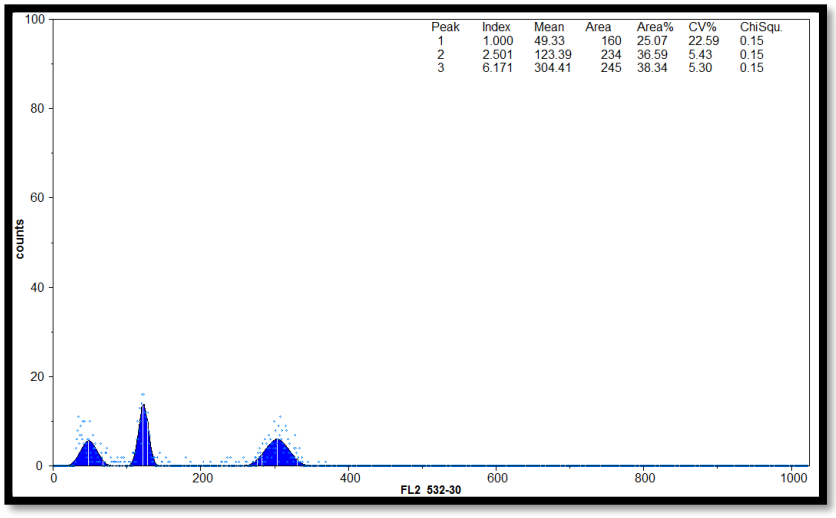
Şekil 5.112 PI 673322 *Helianthus occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.31. *H. occidentalis* subsp. *occidentalis*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.114'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 304,41 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 123,39 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (304,41/123,39) x 3,65 = 9,00 pg olarak hesaplanmıştır.



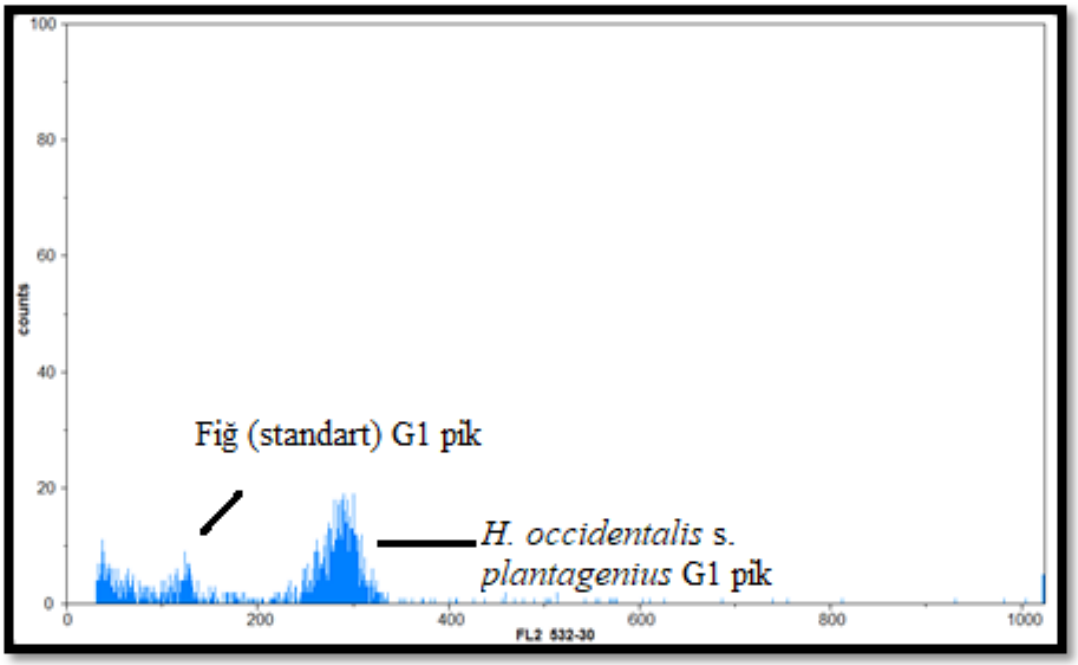
Şekil 5.113 PI 435788 *Helianthus occidentalis* subsp. *occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.114 Şekil 5.113'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.32. *H. occidentalis* subsp. *plantagineus*'un Çekirdek DNA Miktarı

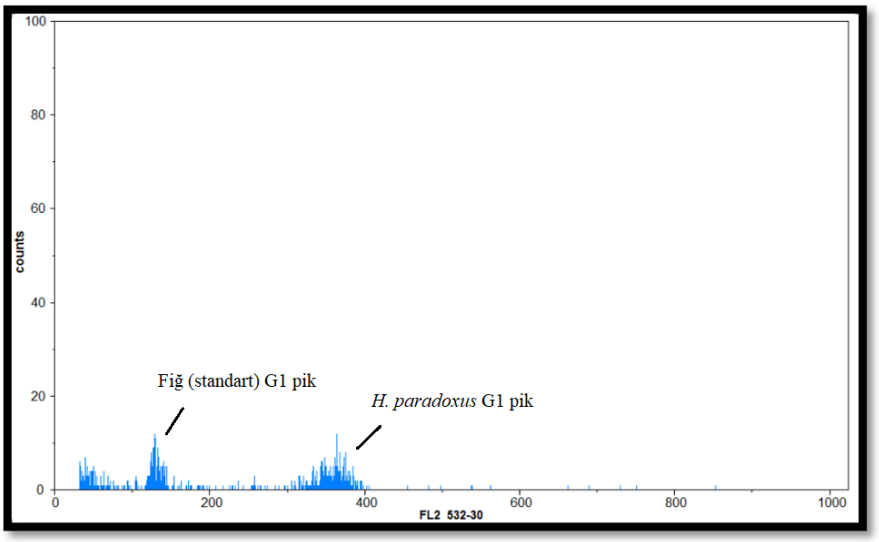
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 287,14 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 125,47 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (287,14/125,47) x 3,65 = 8,35 pg olarak hesaplanmıştır.



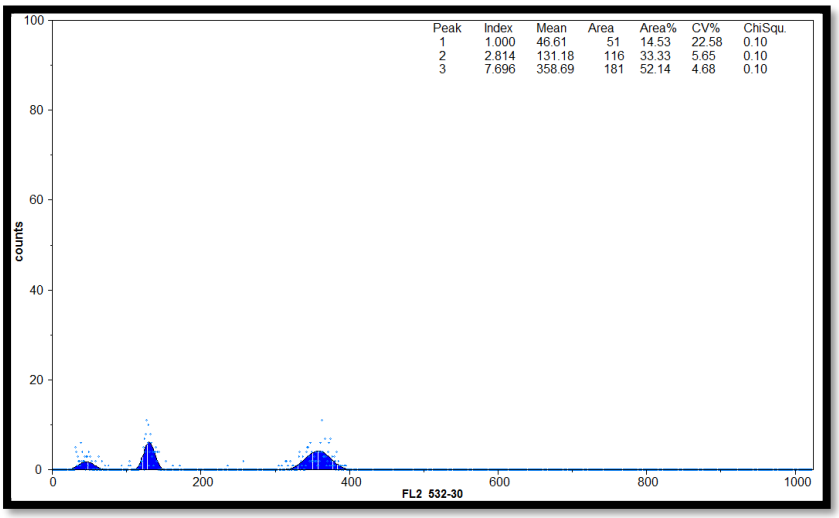
Şekil 5.115 PI 494592 *Helianthus occidentalis* subsp. *plantagineus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.33. *H. paradoxus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.117'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 358,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 131,18 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (358,69/131,18) x 3,65 = 9,98 pg olarak hesaplanmıştır.



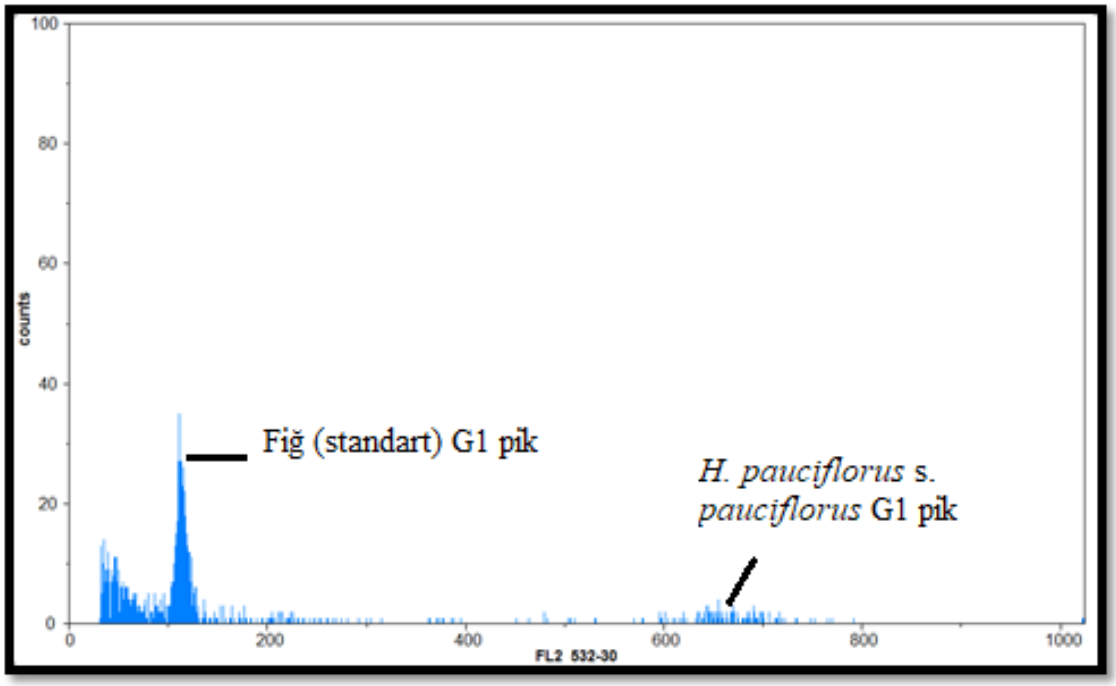
Şekil 5.116 PI 673253 *Helianthus paradoxus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.117 Şekil 5.116'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.34. *H. pauciflorus* subsp. *pauciflorus*'un Çekirdek DNA Miktarı

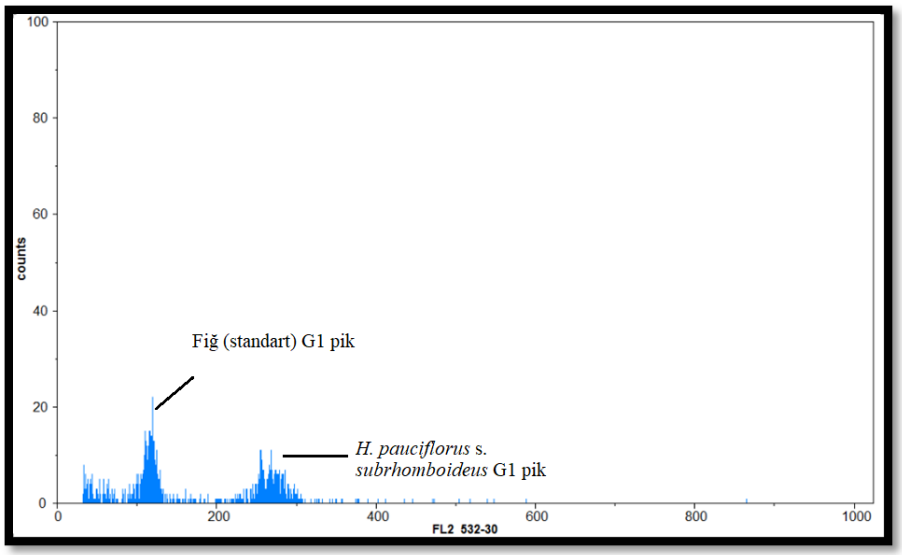
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 667,78 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 113,96 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (667,78/113,96) x 3,65 = 21,39 pg olarak hesaplanmıştır.



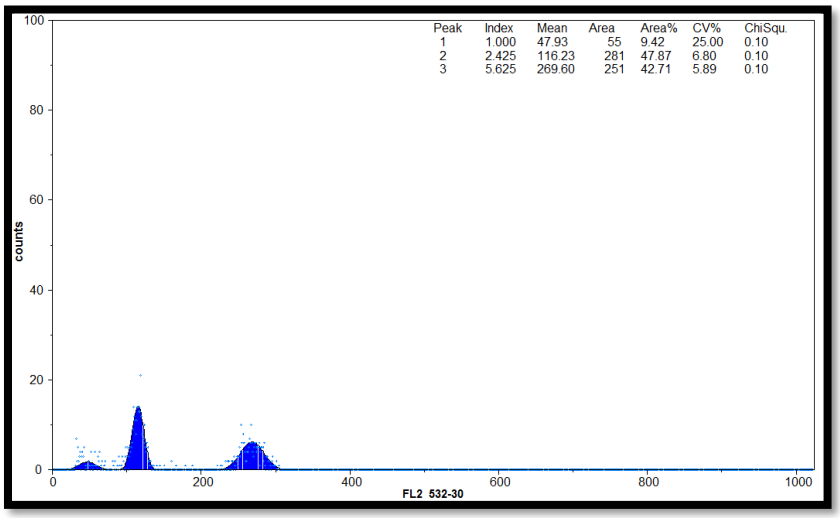
Şekil 5.118 PI 664751 *Helianthus pauciflorus* subsp. *pauciflorus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.35. *H. pauciflorus* subsp. *subrhomboideus* Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.120'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 269,6 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 116,23 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (269,6/116,23) x 3,65 = 8,47 pg olarak hesaplanmıştır.



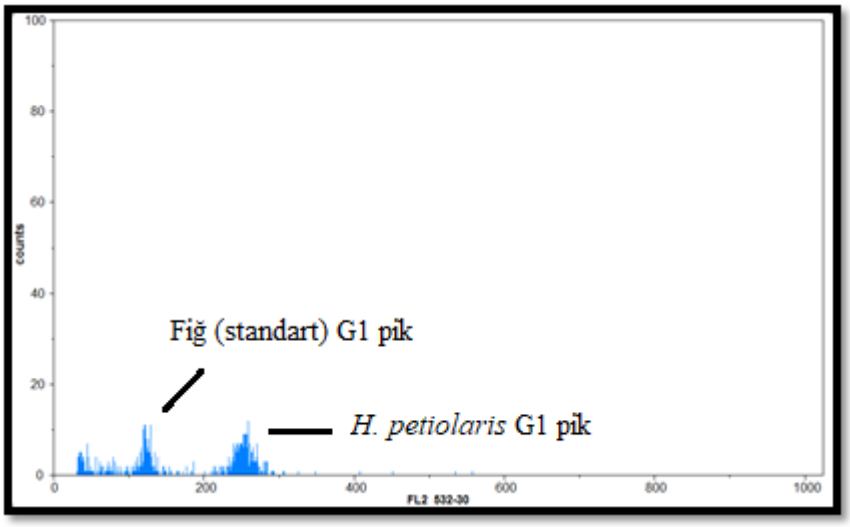
Şekil 5.119 PI 650031 *Helianthus pauciflorus* subsp. *subrhomboideus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



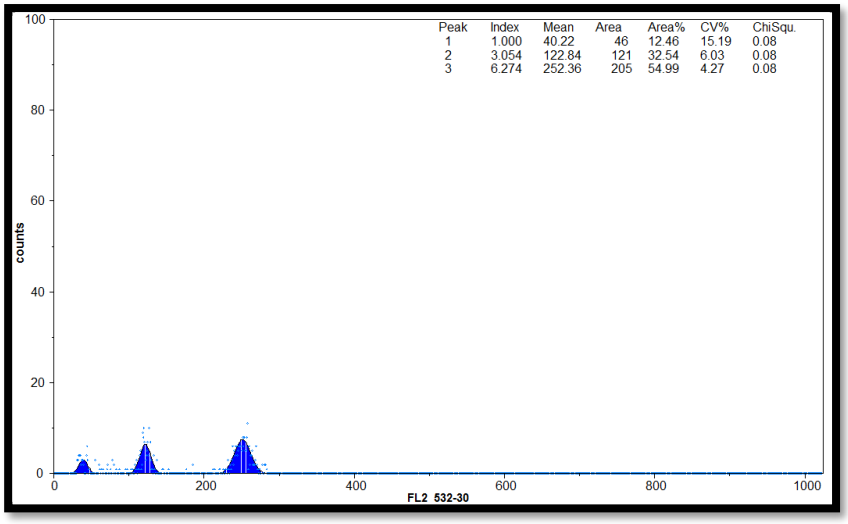
Şekil 5.120 Şekil 5.119'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.36. *H. petiolaris*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.122'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 252,36 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 122,84 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (252,36/122,84) x 3,65 = 7,49 pg olarak hesaplanmıştır.



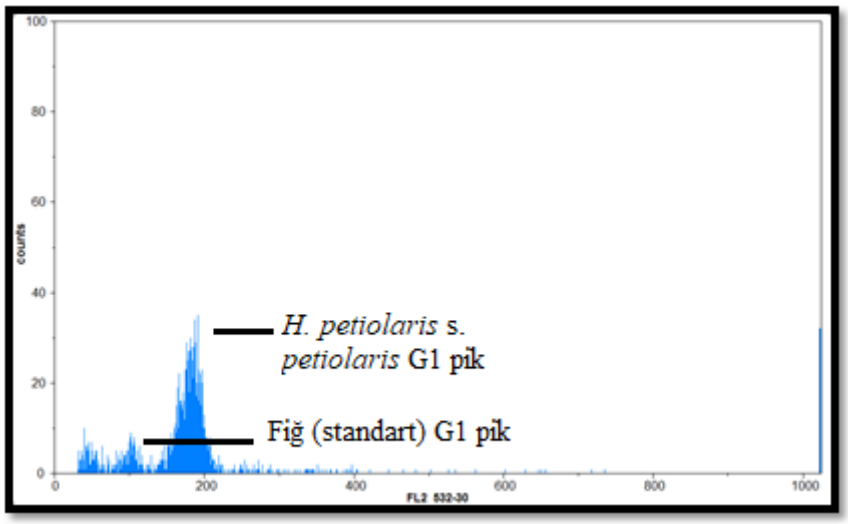
Şekil 5.121 PI 597923 *Helianthus petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



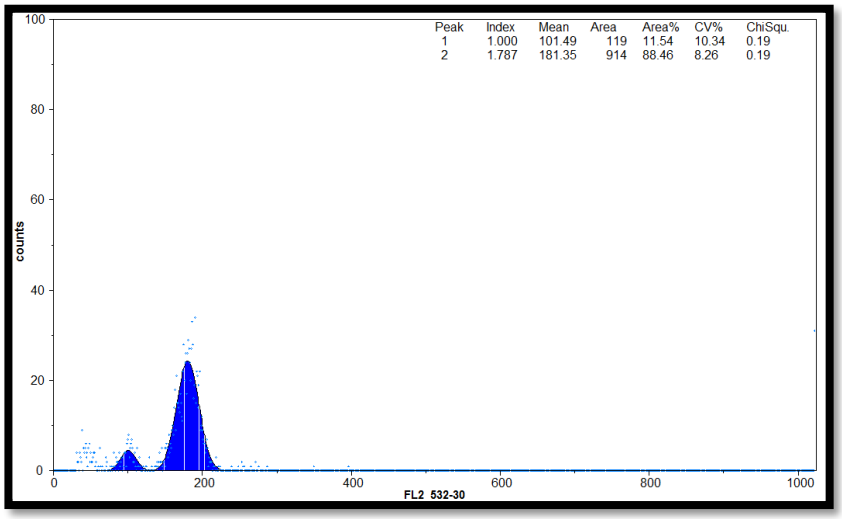
Şekil 5.122 Şekil 5.121'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.37. *H. petiolaris* subsp. *petiolaris*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.124'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 252,36 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 122,84 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (252,36/122,84) x 3,65 = 7,49 pg olarak hesaplanmıştır.



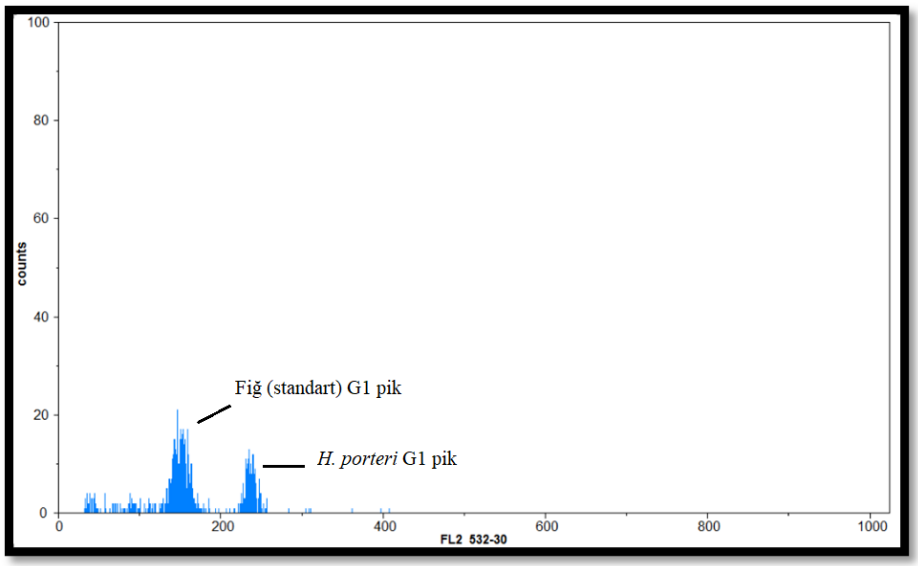
Şekil 5.123 PI 468842 *Helianthus petiolaris* subsp. *petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



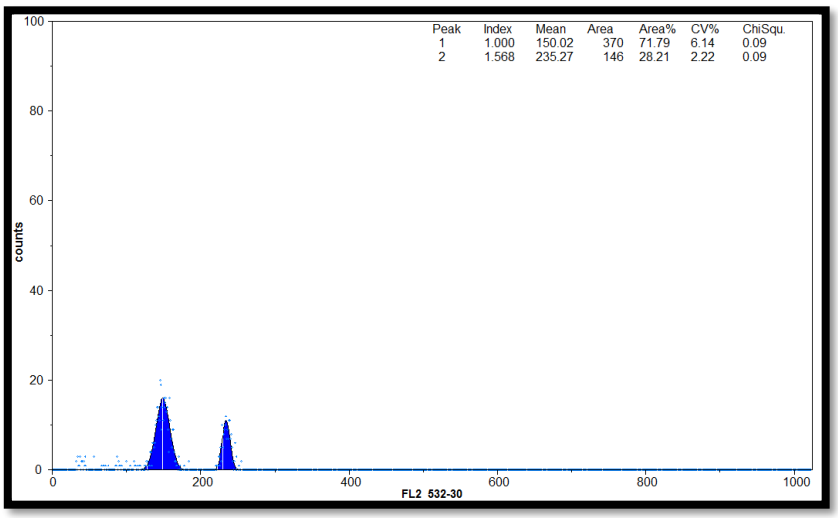
Şekil 5.124 Şekil 5.123'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.38. *H. porteri*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.126'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 235,27 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 150,02 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (235,27/150,02) x 3,65 = 5,72 pg olarak hesaplanmıştır.



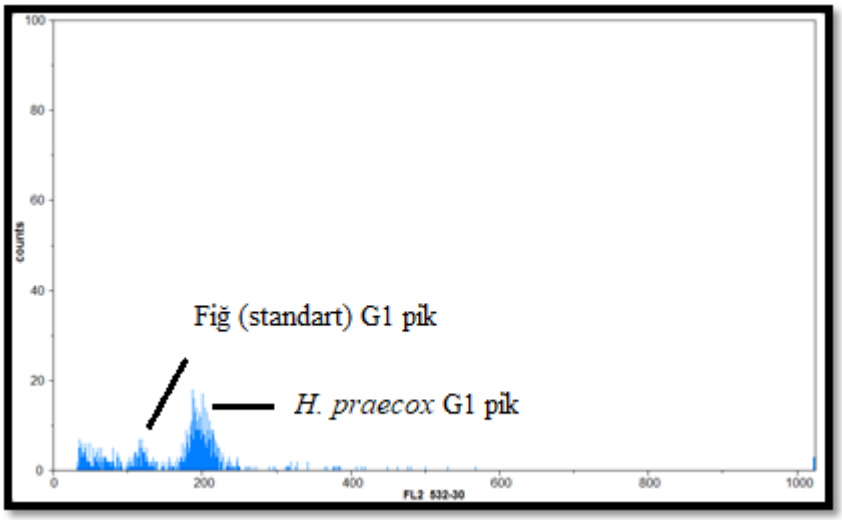
Şekil 5.125 PI 649911 *Helianthus porteri* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



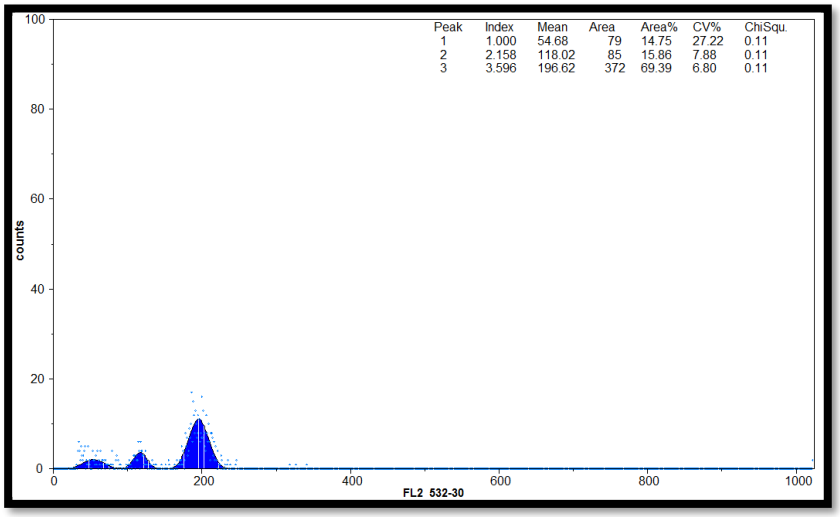
Şekil 5.126 Şekil 5.125'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.39. *H. praecox*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.128'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 196,62 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 118,02 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (196,62/118,02) x 3,65 = 6,08 pg olarak hesaplanmıştır.



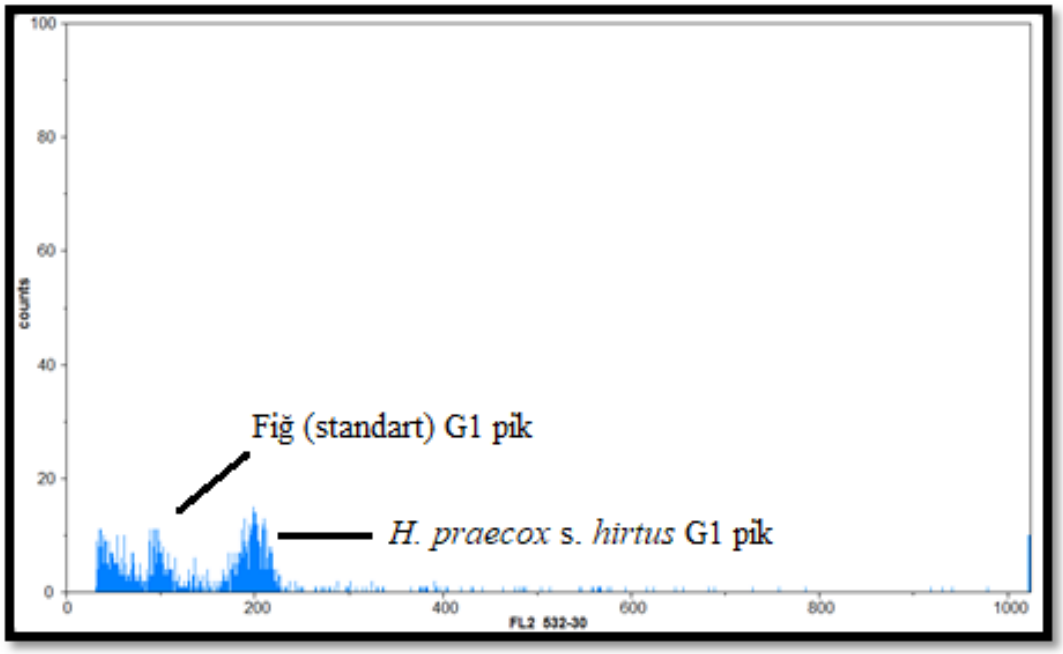
Şekil 5.127 PI 468846 *Helianthus praecox* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.128 Şekil 5.127'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.40. *H. praecox* subsp. *hirtus* Çekirdek DNA Miktarı

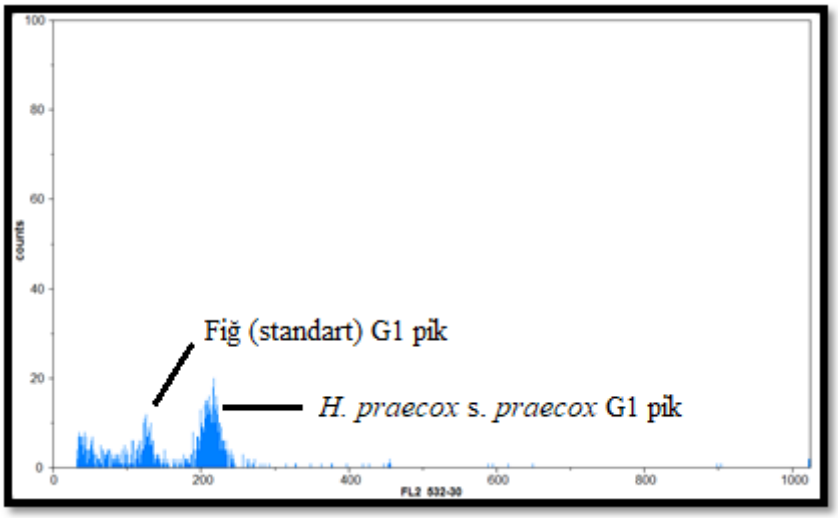
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 199,78 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 98,37 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (199,78/98,37) x 3,65 =7,41 pg olarak hesaplanmıştır.



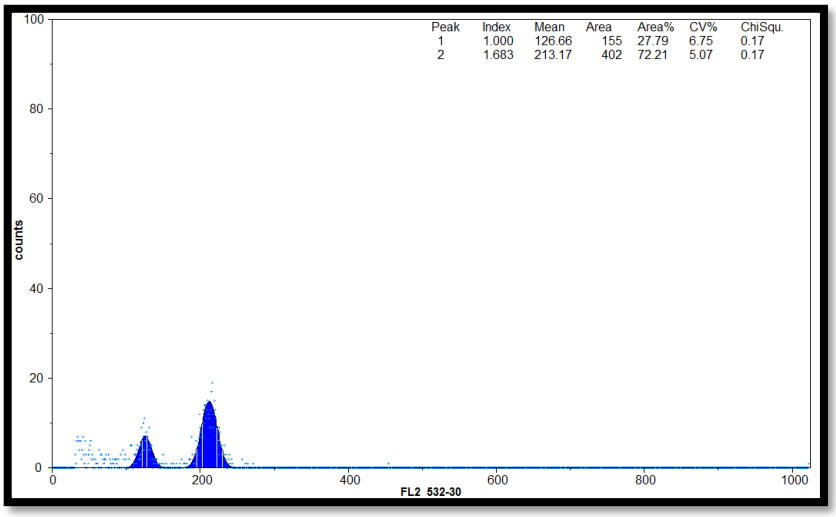
Şekil 5.129 PI 435855 *Helianthus praecox* subsp. *hirtus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.41. *H. praecox* subsp. *praecox* Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.131'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 213,77 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 126,66 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (213,77/126,66) x 3,65 = 6,16 pg olarak hesaplanmıştır.



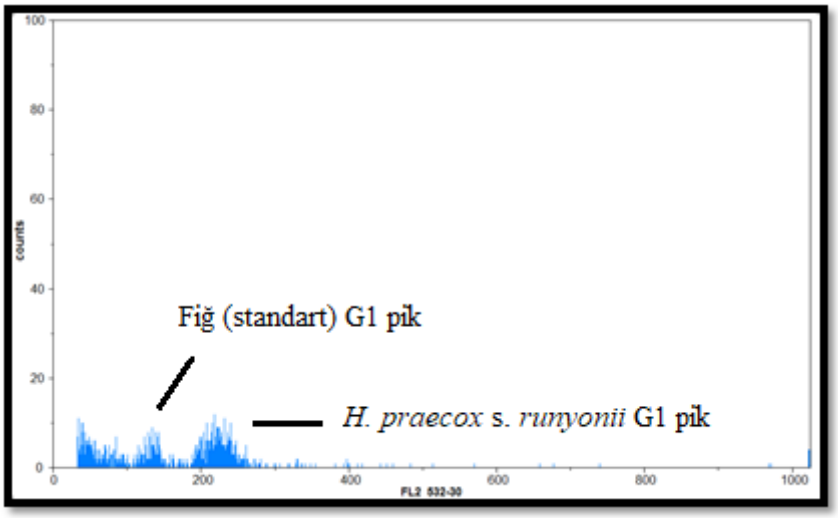
Şekil 5.130 PI 435847 *Helianthus praecox* subsp. *praecox* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



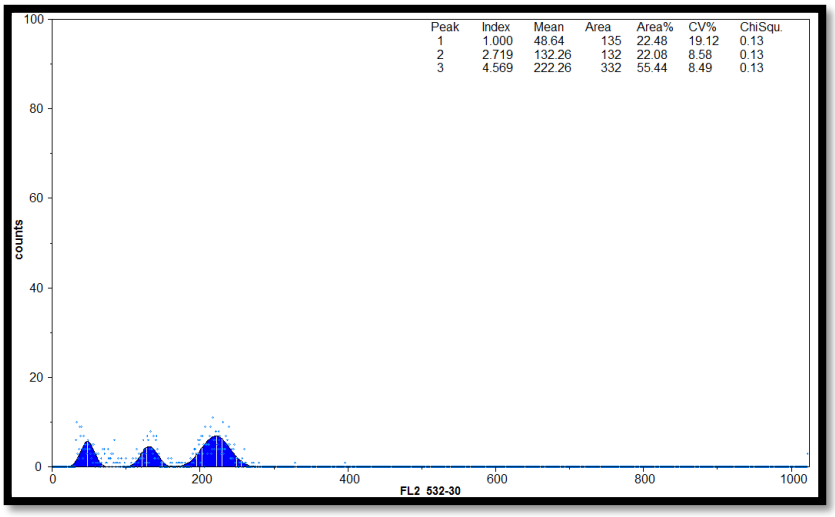
Şekil 5.131 Şekil 5.130'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.42. *H. praecox* subsp. *runyonii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.133'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 222,26 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 132,26 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (222,26/132,26) x 3,65 = 6,13 pg olarak hesaplanmıştır.



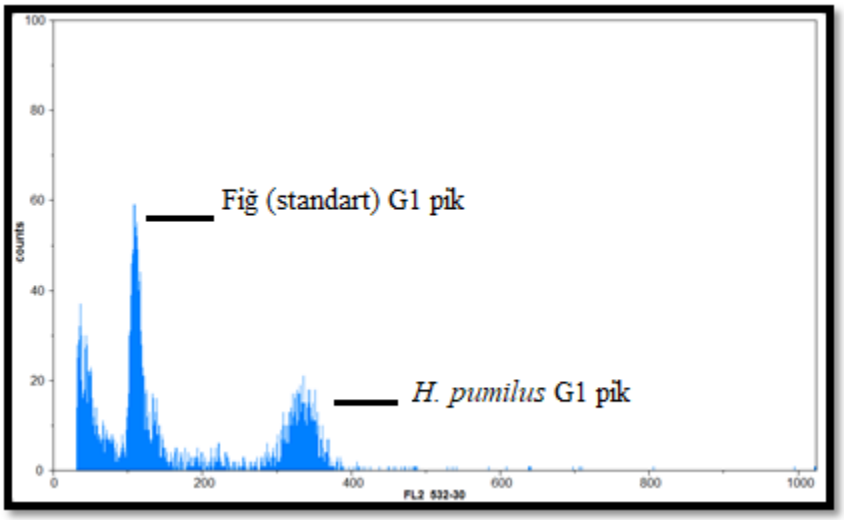
Şekil 5.132 PI 435853 *Helianthus praecox* subsp. *runyonii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



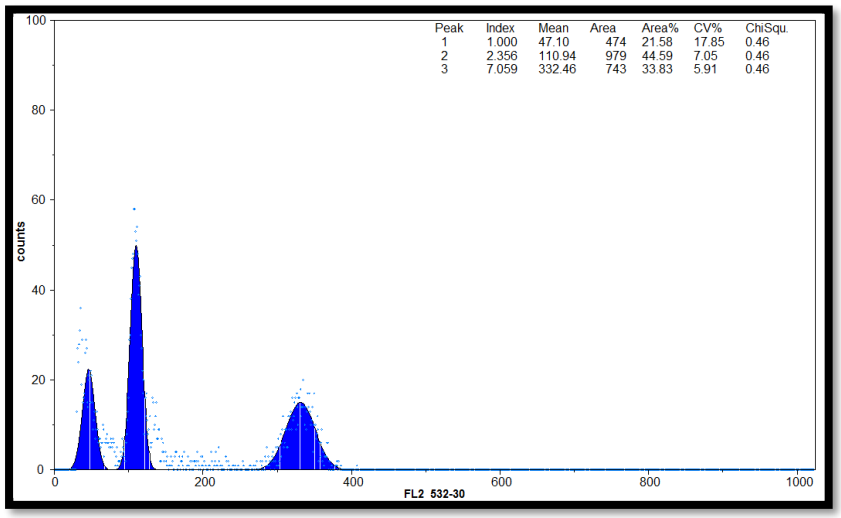
Şekil 5.133 Şekil 5.132'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.43. *H. pumilus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.135'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 332,46 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 110,94 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (332,46/110,94) x 3,65 = 10,93 pg olarak hesaplanmıştır.



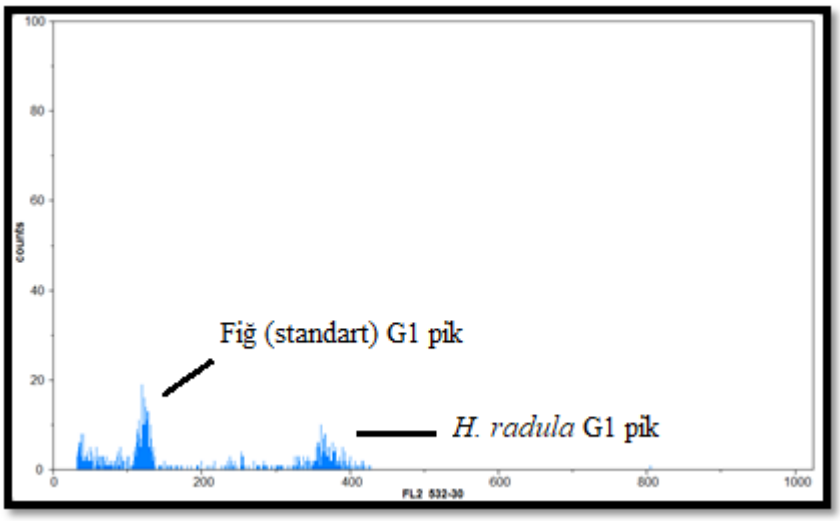
Şekil 5.134 PI 650048 *Helianthus pumilus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



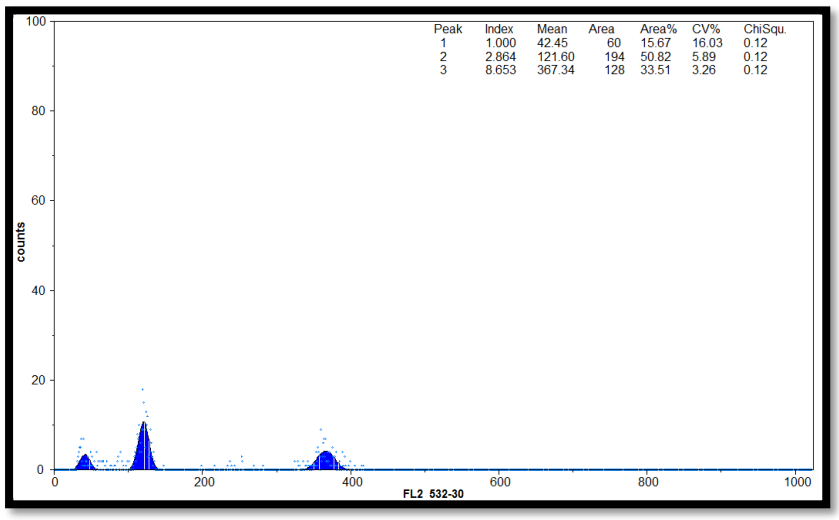
Şekil 5.135 Şekil 5.134'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.44. *H. radula*'nın Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.137'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 367,34 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 121,60 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (367,34/121,60) x 3,65 =11,02 pg olarak hesaplanmıştır.



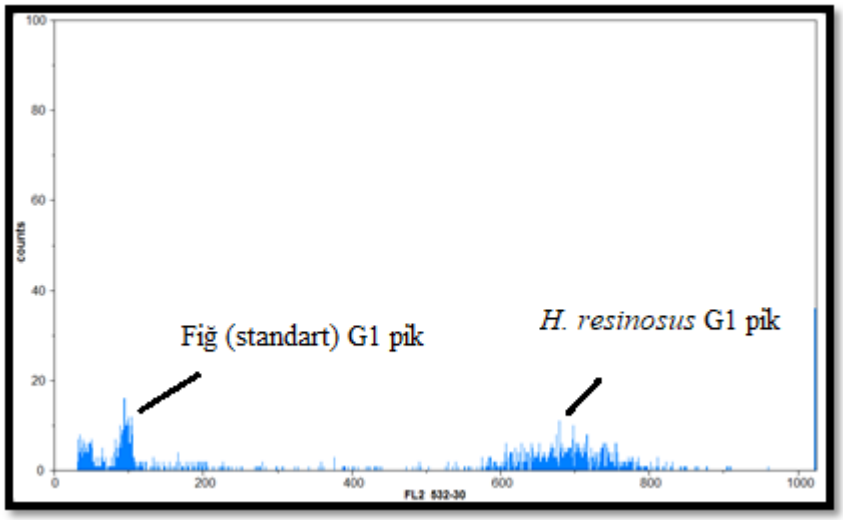
Şekil 5.136 PI 673184 *Helianthus radula* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



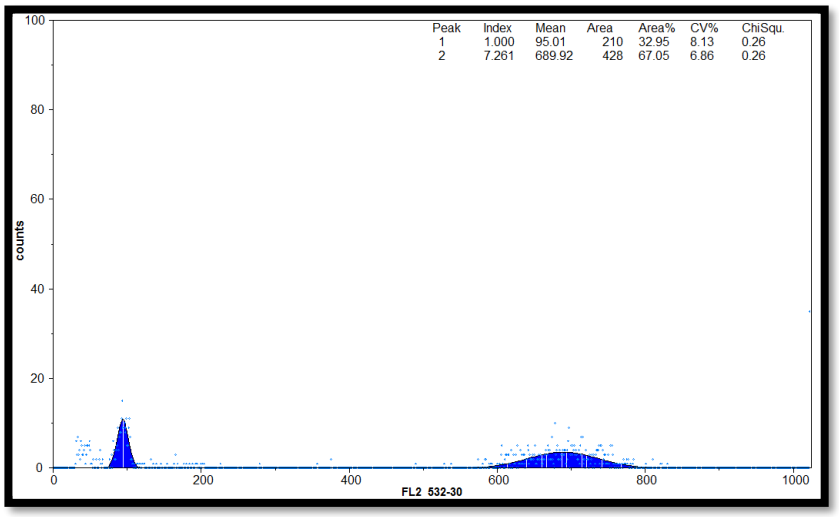
Şekil 5.137 Şekil 5.136'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.45. *H. resinosus*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.139'da sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 689,92 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 95,01 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (689,92/95,01) x 3,65 = 26,50 pg olarak hesaplanmıştır.



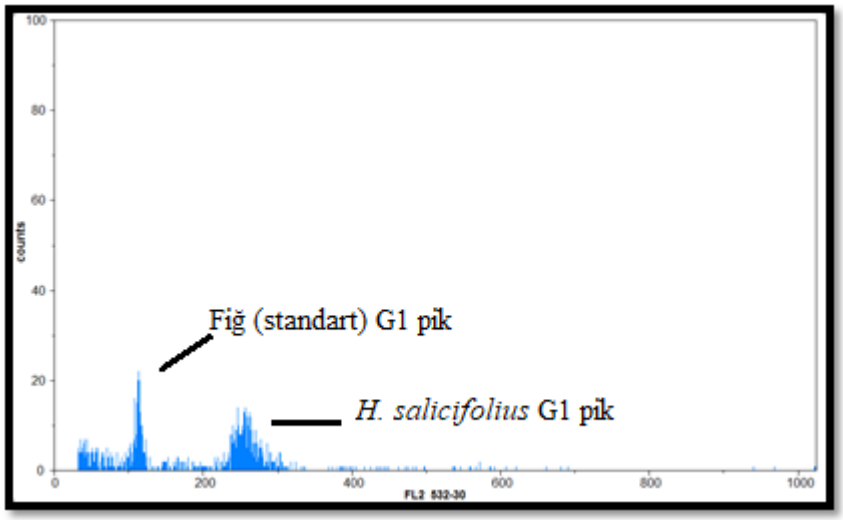
Şekil 5.138 PI 664672 *Helianthus resinosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



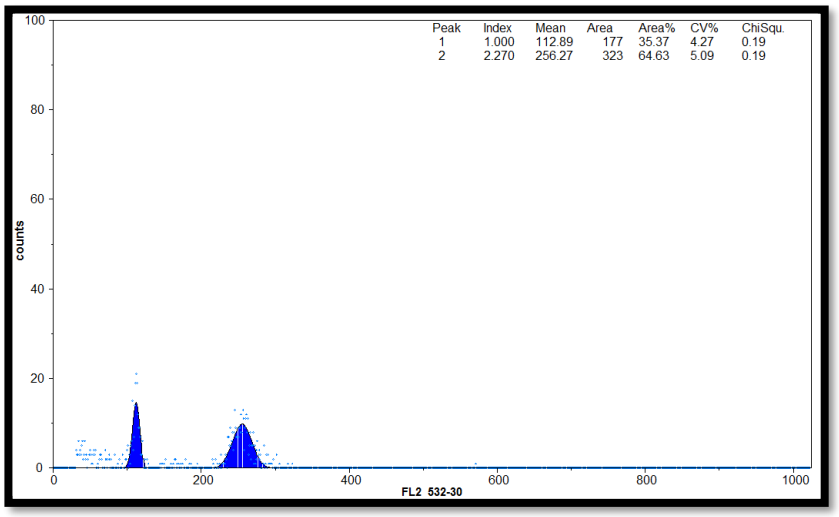
Şekil 5.139 Şekil 5.138'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.46. *H. salicifolius*'un Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.141'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 256,27 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 112,89 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (256,27/112,89) x 3,65 = 8,28 pg olarak hesaplanmıştır.



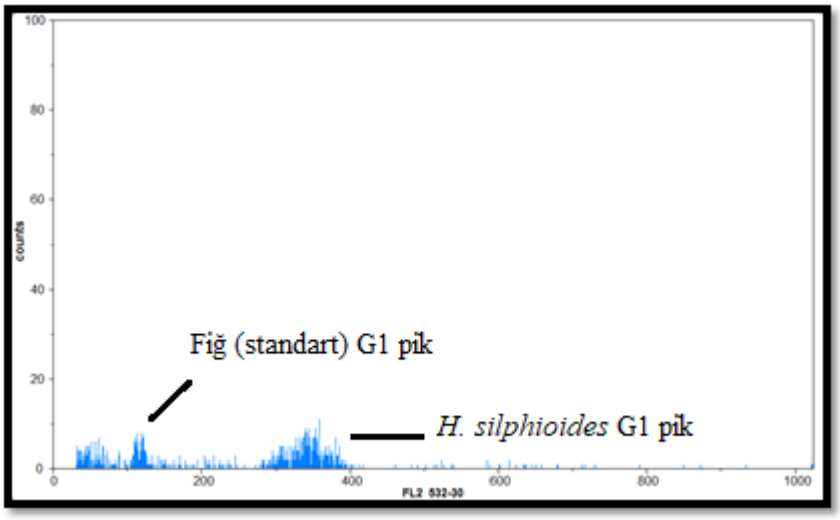
Şekil 5.140 PI 664759 *Helianthus salicifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



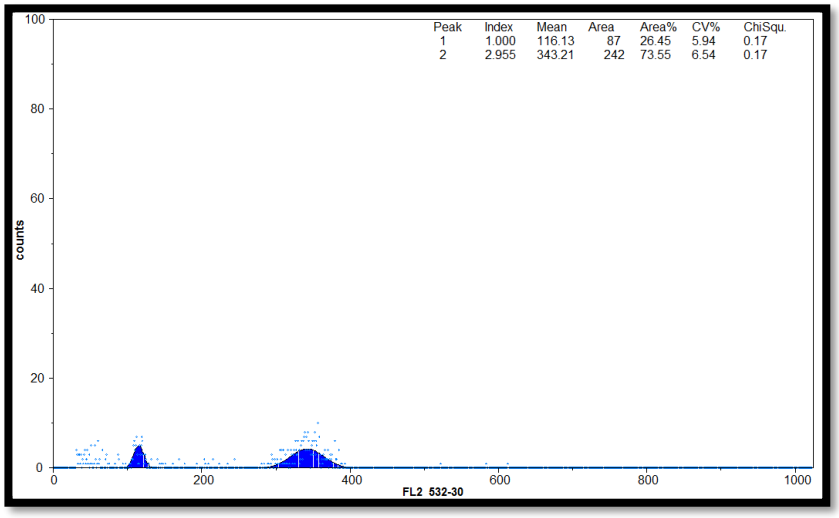
Şekil 5.141 Şekil 5.140'ta sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.47. *H. silphioides*'in Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.143'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 343,21 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 116,13 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (343,21/116,13) x 3,65 = 10,79 pg olarak hesaplanmıştır.



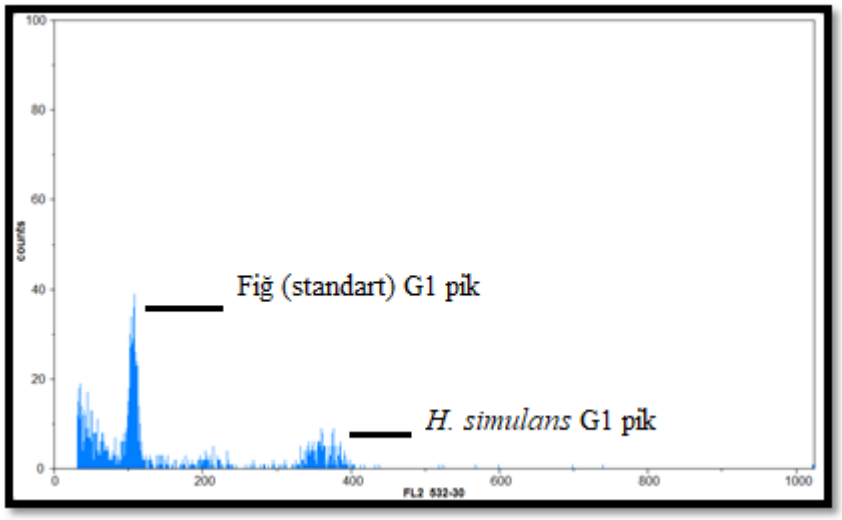
Şekil 5.142 PI 664788 *Helianthus silphioides* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



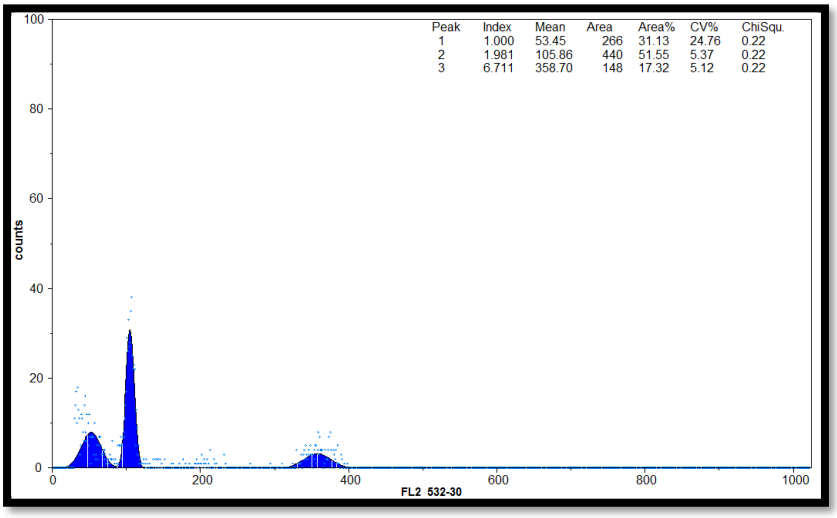
Şekil 5.143 Şekil 5.142'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.48. *H. simulans*'ın Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.145'te sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 358,70 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 105,86 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (358,70/105,86) x 3,65 = 12,36 pg olarak hesaplanmıştır.



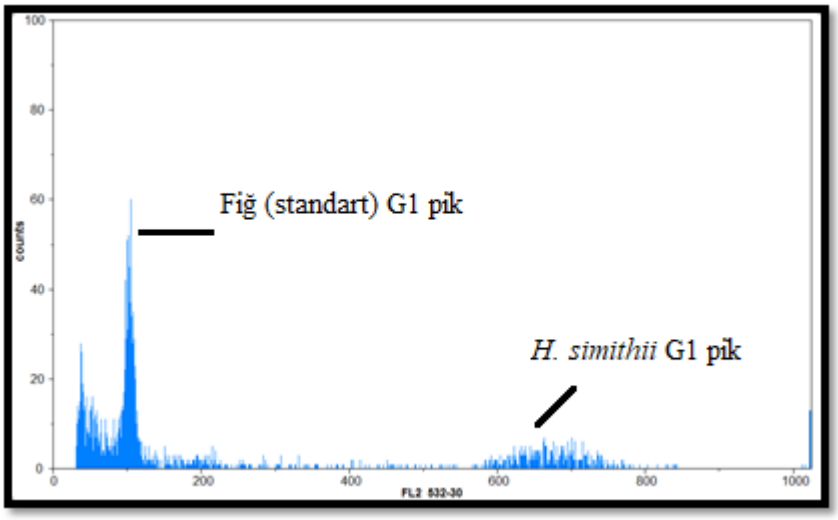
Şekil 5.144 PI 664724 *Helianthus simulans* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



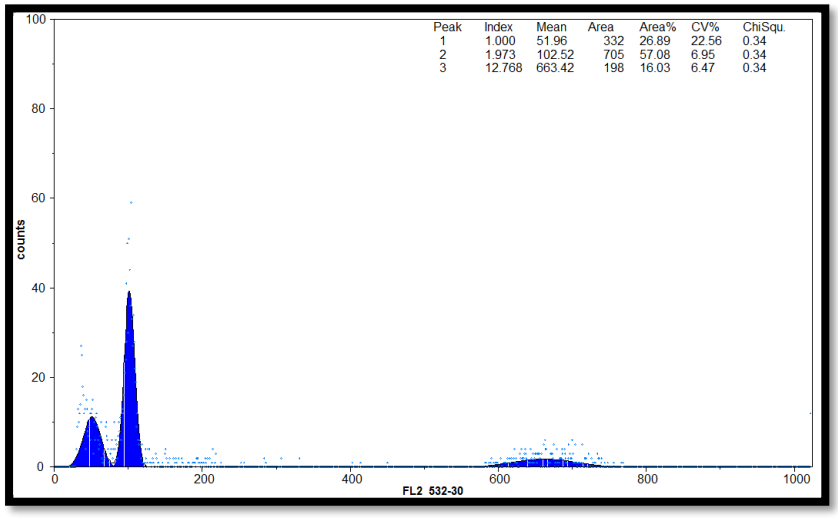
Şekil 5.145 Şekil 5.144'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.49. *H. smithii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.147'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 663,42 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 102,52 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (663,42/102,52) x 3,65 = 23,61 pg olarak hesaplanmıştır.



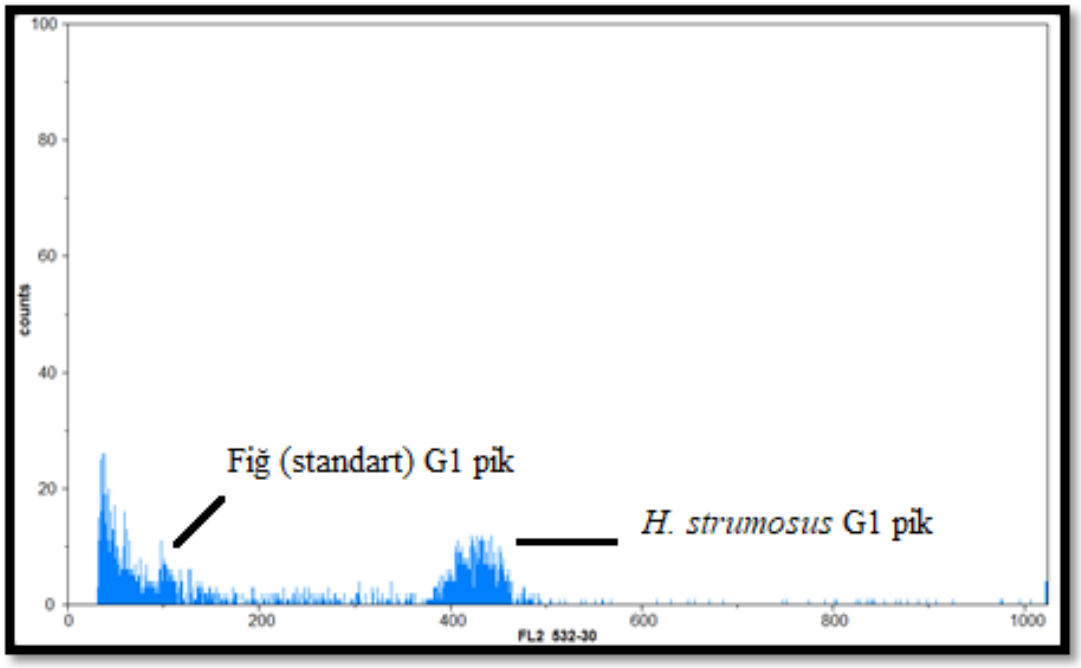
Şekil 5.146 PI 468889 *Helianthus simithii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.147 Şekil 5.146'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

5.2.50. *H. strumosus*'un Çekirdek DNA Miktarı

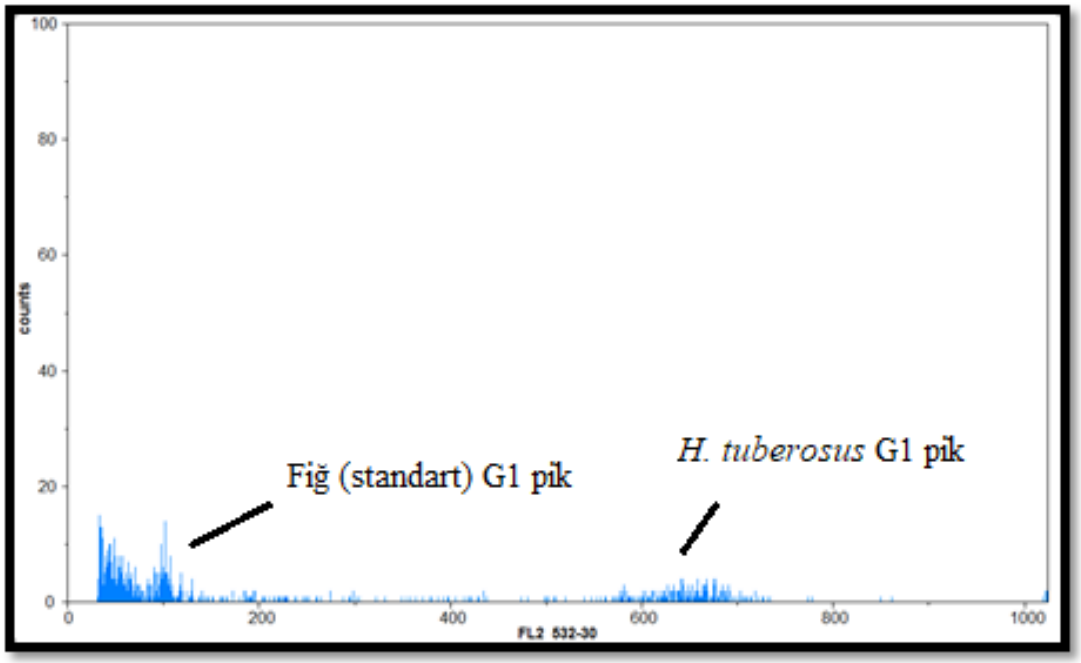
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 426,82 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 103,04 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (426,82/103,04) x 3,65 =15,12 pg olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.148 PI 435888 *Helianthus strumosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.51. *H. tuberosus*'un Çekirdek DNA Miktarı

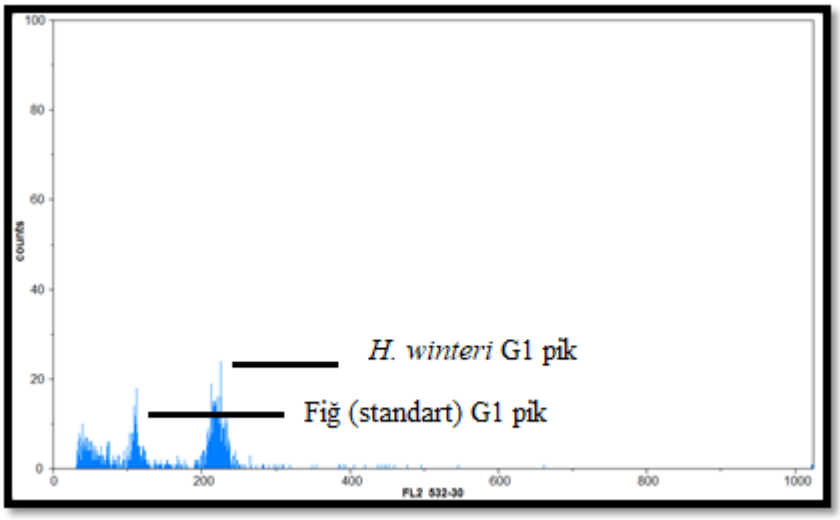
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 747,42 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 100,63 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA ağırlığı 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (747,42/100,63) x 3,65 = 27,11 pg olarak hesaplanmıştır.



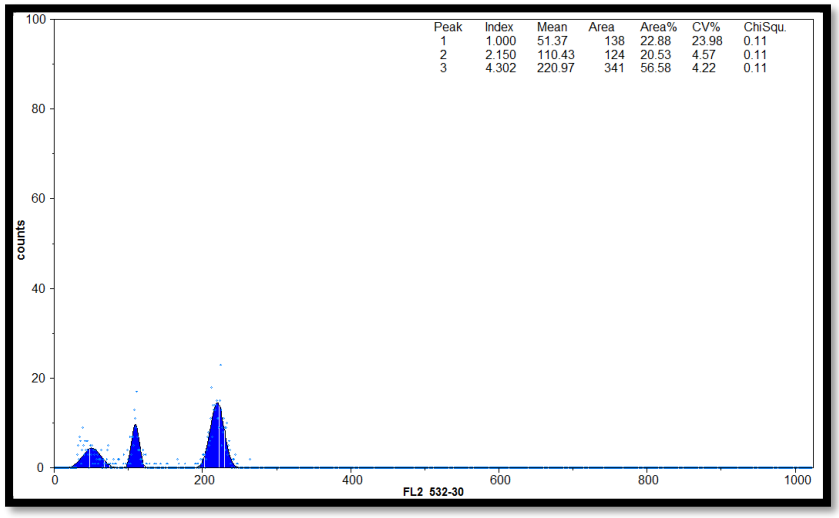
Şekil 5.149 PI 357299 *Helianthus tuberosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

5.2.52. *H. winteri*'nin Çekirdek DNA Miktarı

Şekil 5.151'de sunulmuş olan tabloda örneğin florasan yoğunluğu 220,97 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 110,43 olarak görülmüştür. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak çekirdek 2C DNA içeriği; (220,97/110,43) x 3,65 = 7,30 pg olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.150 PI 673290 *Helianthus winteri* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 5.151 Şekil 5.150'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

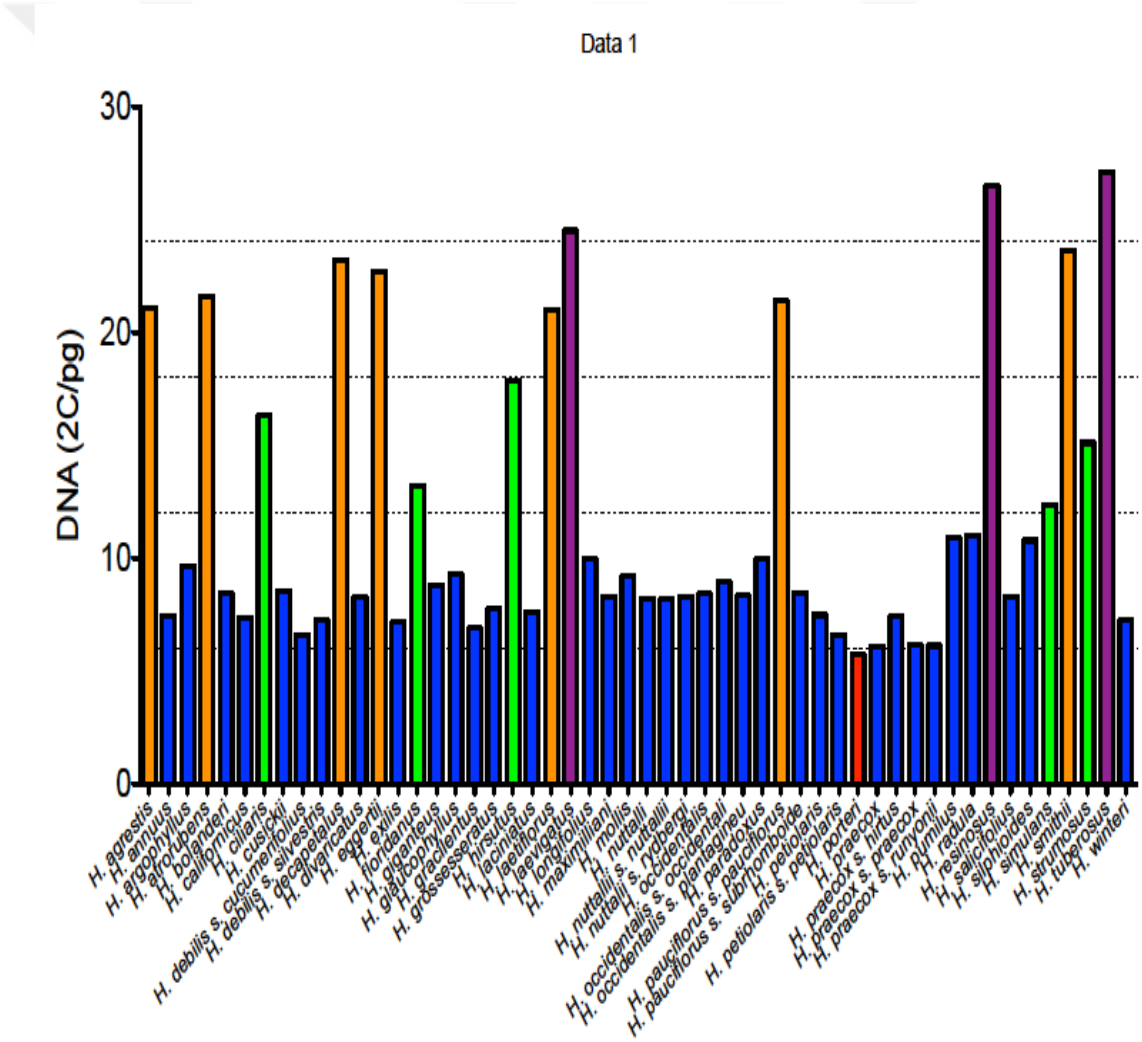
Akış sitometrisi analizi yapılan 52 yabani ayçiçeği türlerinin analiz sonuçları çizelge olarak (Çizelge 5.1.) aşağıda sunulmuştur. Çalışmada kullanılan yabani ayçiçeği türlerinin 2C çekirdek DNA içerikleri 5.72 pg (*H. porteri*) ile 27.11 pg (*H. tuberosus*) arasında değişim göstermiştir.

Çizelge 5.1 Yabani ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri

TÜR ADI	**NO**	**ÖRNEK PİK**	**STANDART PİK**	**STANDART DNA**	**DNA (2C/pg)**
H. porteri	181	235,27	150,02	3,65	5,72
H. praecox	184	196,62	118,02	3,65	6,08
H. praecox s. *runyonii*	187	222,26	132,26	3,65	6,13
H. praecox s. *praecox*	186	213,77	126,66	3,65	6,16
H. petiolaris s. *petiolaris*	168	190,99	105,61	3,65	6,6
H. debilis s. *cucumerifolius*	44	252,08	139,44	3,65	6,61
H. gracilentus	82	200,44	105,11	3,65	6,91
H. exilis	68	295,55	150,51	3,65	7,16
H. debilis s. *silvestris*	49	246,75	123,63	3,65	7,28
H. winteri	237	220,97	110,43	3,65	7,3
H. californicus	33	334,3	170,93	3,65	7,35
H. praecox s. *hirtus*	185	199,78	98,37	3,65	7,41
H. annuus	9	219,06	107,32	3,65	7,45
H. petiolaris	164	252,36	122,84	3,65	7,49
H. laciniatus	105	290,3	138,81	3,65	7,63
H. grossesseratus	84	288,99	135,33	3,65	7,79
H. nuttallii s. *nuttallii*	137	277,66	123,53	3,65	8,2
H. nuttalli	134	232,36	103,19	3,65	8,22
H. divaricatus	58	319,27	140,9	3,65	8,27
H. salicifolius	203	256,27	112,89	3,65	8,28
H. maximilliani	114	278,05	121,02	3,65	8,32
H. nuttalii s. *rydbergi*	144	255,92	112,12	3,65	8,33
H. occidentalis s. *plantagineus*	148	287,14	125,47	3,65	8,35
H. occidentalis	146	267,23	115,67	3,65	8,43
H. pauciflorus s. *subrhomboideus*	160	269,6	116,23	3,65	8,47
H. bolanderi	27	344,22	148,05	3,65	8,49

H. cusickii	40	243,1	103,89	3,65	8,54
H. giganteus	74	207,29	85,67	3,65	8,83
H. occidentalis s. *occidentalis*	147	304,41	123,39	3,65	9
H. mollis	120	296,33	116,92	3,65	9,25
H. glaucophyllus	81	289,01	113,14	3,65	9,32
H. argophyllus	14	451,82	170,66	3,65	9,66
H. paradoxus	151	358,69	131,18	3,65	9,98
H. longifolius	112	277	101,24	3,65	9,99
H. silphioides	208	343,21	116,13	3,65	10,79
H. pumilus	189	332,46	110,94	3,65	10,93
H. radula	196	367,34	121,6	3,65	11,02
H. simulans	212	358,7	105,86	3,65	12,36
H. floridanus	71	346,69	95,58	3,65	13,23
H. strumosus	219	426,82	103,04	3,65	15,12
H. ciliaris	39	535,6	119,81	3,65	16,31
H. hirsutus	97	503,06	102,74	3,65	17,87
H. laetiflorus	240	677,69	117,86	3,65	20,99
H. agrestis	2	673,88	116,48	3,65	21,11
H. pauciflorus s. *pauciflorus*	157	667,78	113,96	3,65	21,39
H. atrorubens	23	760,41	128,63	3,65	21,58
H. eggertii	65	679,69	109,17	3,65	22,72
H. decapetalus	54	504,27	79,38	3,65	23,18
H. smithii	214	663,42	102,52	3,65	23,61
H. laevigatus	107	644,06	95,9	3,65	24,51
H. resinosus	198	689,92	95,01	3,65	26,5
H. tuberosus	224	747,42	100,63	3,65	27,11

Şekil 5.152'de verilen sonuçlar ayrıca aşağıdaki grafikte de gösterilmiş ve 52 yabani ayçiçeği türünün çekirdek DNA içeriklerine bakılmıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada yabani ayçiçeği türlerinin nükleer DNA içerikleri en düşük yaklaşık olarak 6 bulunduğundan (Şahin, 2019), bu çalışmadaki grafik çekirdek DNA içeriği 6 ve katları olacak şekilde bölümlere ayrılmıştır. Şekil 5.152'de de görülebileceği gibi her bir bölgede bulunan türler farklı bir renkle gösterilmiştir. Sonuçlara göre çekirdek DNA içerigi 6'dan küçük (kırmızı renk) olan sadece bir tür ve 6 ile 11.99 arasında (mavi renk) olan 36 tür bulunmuştur. Ayrıca 5 türün çekirdek DNA içeriği 12-17.99 arasında (yeşil renk), 7 türün çekirdek DNA içeriği 18-23.99 arasında (turuncu renk) ve 3 türün çekirdek DNA içeriği 24-30 arasında (mor renk) olduğu bulunmuştur.



Şekil 5.152 Yabani ayçiçeği türlerinin nükleer DNA içeriği

6. BÖLÜM

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Ülkemizde yağlı tohum üretimi ihtiyacı karşılamadığı için, yüksek oranda döviz ödeyerek ithalatla karşılanmaktadır. Bununla birlikte en önemli yağ bitkisi olan ayçiçeğinde verim ve kaliteyi etkileyen en önemli etkenlerden biri de orobanş parazitidir. Ülkemizin hemen hemen tüm ekim alanlarında giderek yaygınlaşmakta olan orobanş paraziti, belirli dönemlerde yeni ırklar meydana getirerek genetik dayanıklılığı kırmakta olup, bu yüzden geliştirilen ayçiçeği hibritlerinin orobanşa dirençli olması büyük önem taşımaktadır. Yabani ayçiçeği türleri orobanşın yeni ırklarına dirençli çeşitli gen kaynağına sahiptir. Bu nedenle dayanıklılık genlerinin kültür edilen ayçiçeğine aktarılması devamlı bir direnç için mutlak gereklidir.

Islah çalışmalarında moleküler metotların kullanılması, hem etkin ve doğru bir seleksiyon, hem de çalışmalara oldukça fazla bir hız kazandırarak ıslah süresini kısaltmaktadır. Bizde çalışmamızda farklı *Or* genleri olan veya olmayan kendi içinde melezlenmiş ayçiçekleri, LG3 bölgesinde bulunan bir dizi markır ile taranmıştır. Amaç, olası markır-gen ilişkisini kurmak ve MAS kullanılabilecek markırları belirleyip bu parazite moleküler düzeyde direnci anlamaktır.

Günümüze kadar moleküler çalışmalar daha çok direnç geni *Or5* için yapılmıştır (Hahn ve Wieckhorst, 2010; Kaya vd., 2012). Dayanıklı çeşit ıslahında MAS amaçlı kullanılacak markırların tespiti amacıyla birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte seleksiyon etkinliği olan ve MAS amaçlı kullanılabilir nitelikte markır sayısı oldukça sınırlıdır.

Radwan vd., (2009) makalesinde yaptığı çalışmada, orobanşa dayanıklı genotiplerin seleksiyonunda kullanılması planlanan markırların A'dan E'e kadar tüm ırklarda dayanım sağlayan *Or5* ile bağlantılı markırlar olduğunu belirtmiştir.

200 primer çiftinden dirençli ve hassas bitkiler arasında yalnızca 4 polimorfik markır tespit etmiştir. Yeni tanımlanmış NBS-LRR lokusları için SSCP markırları, LG3'ün üst segmentiyle eşleşmiştir ve daha önce Tang vd., (2003) makalesi tarafından haritalanmış bir telomerik orobanş direnç lokusuna bağlanmıştır. *Or5*, LG3'ün üst ucunda bulunan birkaç allelden veya sıkıca bağlı orobanş direnç lokuslarından (*Or1-Or5*) biridir. NBS-LRR lokus adaylarının hiçbiri, (RGA172, RGA181, RGA192, RGA206) tamamen *Or5* ile ayrılmamıştır. Son olarak, *Or*'lere bağlı dört NBS-LRR lokusunun üçü *H. tuberosus*'tan (RGA172, RGA181, RGA192), dördüncüsü ise yaygın yabani *H. annuus*'tan tanımlanmıştır (RGA206). *H. tuberosus*, orobanş *R* genlerinin zengin kaynağı olmuştur ve ayçiçeğinde tanımlanan ilk orobanş *R* geni olan *Or*'nin kaynağıdır (Vranceanu vd., 1980; Parker ve Riches, 1993). *Or5* lokusuna en yakın markır (2,6 cM) RGA181'dir. RGA172 ise Or5 lokusundan 7.5 cM'de bulunur. Öte yandan, RGA206 ve RGA192, *Or5* lokusunun 33 cM proksimalinde eşleşmiştir.

Bu çalışmadaki RGA'larin aminoasitlerin dizi analizi, *R* genlerinin TIR-NBS-LRR alt ailesinin üyeleri olduğunu ortaya koymaktadır. RGA206, TIR alanının tamamını ve NBS alanının bir kısmını içerirken, RGA172, TIR alanının bir kısmını ve NBS alanının bir kısmını içerir. RGA181, LRR alanının bir kısmını içerirken RGA192, TIR-NBS-LRR alt ailesini karakterize eden Kin-2 motifindeki son aminoasit olarak RNBS-A TIR motifi ve NBS alanının bir kısmını içerir (Meyers vd., 2003). RGA172 ve RGA206 arasındaki aminoasit özdeşliği %32, Nematod *R* genine benzerliği ise RGA206'da %42, RGA172'de ise %34'tür.

Sonuç olarak Radwan vd., (2009) makalesinde, bağlantı grubu 3 üzerindeki bir kümede bulunan NBS-LRR genleri, ayçiçeğinde orobanşın tanınmasında ve konak savunma yanıtlarının tetiklenmesinde merkezi rol oynadığını ve bağlantı grubu 3 (*Or1-Or6*) üzerindeki bilinen direnç genleri, bitkilerde bulunan NBS-LRR genlerinin ayırt edici özelliğine sahip olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, bağlantı grubu 3 üzerindeki kümede NBS-LRR lokuslarının, orobanş tarafından enfeksiyona karşı aşırı duyarlı ırka özgü direnç kazandıran R proteinlerini kodladığını bildirmiştir.

İmerovski vd., (2013) çalışmasında, Iuoras vd., (2004)'te, LG3'ten gelen markırların orobanş direnci ile bağlantılı olduğu vurgulamıştır. Tang vd., (2003) makalesinde ise, *Or5* geni, LG3'te haritalanırken, İmerovski vd., (2013) çalışmasında ise, aynı bağlantı grubunun yeni bir direnç geni de taşıdığını belirtmiştir. LG3 direnç genleri bölgesi açısından zengin bir bölge olarak işaretlendiğinden amaç, bu bağlantı grubundan SSR markırlarını test etmek ve farklı *Or* genlerinin tanımlanmasında kullanılıp kullanılmayacağına bakmaktır.

Iuoras vd., (2004), araştırmasında ORS1114 markırını MAS için faydalı bulmuştur. İmerovski vd., 2013 çalışmasında ise *Or5* ile ORS 1114 markırı korelasyon göstermemiştir. Belli bir markırın ebeveyn ile tanımlandığını düşünürsek (Hassan vd., 2011), test edilen hatlardaki E ırkı direnci hatları, Iuoras vd. (2004) çalışmasında kullanılanlardan farklı olduğu düşünülmektedir.

Spesifik fragmanların belirli bir *Or* geni ile anlamlı bir ilişkisi olup olmadığını kontrol etmek için durum katsayısı testi yapılmaktadır. Her allel, bp'deki artan uzunluğa göre alfabetik olarak işaretlenir. Her bir SSR markırın polimorfizm bilgi içeriği (PIC) hesaplanır. SSR markırları ve *Or* genleri arasındaki ilişkiye olası durum katsayısı olarak ölçülmüştür. Imerovski vd., (2013), yaptığı çalışmada *Or* genlerinin tek baskın genler olduğunu, LG3'ten belirlediği üç markırın durum katsayıları sonucuna göre direnç genleri arasında ilişki olduğunu belirtmiştir.

İmerovski vd., (2013), *Or6* geninin ORS1036-240 bp., ORS1114-265 bp. allelleri arasında ilişki bulmuş, *Or4* geninde ORS665-281 bp., ORS1114-264 bp. ilişkilendirmiş ve *Or2* geni içinse ORS1114-260 bp. allelleri arasında yüksek oranda ilişki tespit etmiştir. LG3'te bulunan markırlar ile bu üç markırın arasındaki ilişki, Tang vd., (2003)'nin önerdiği gibi direnç genlerinin aynı bağlantı grubu üzerinde yakından ilişkili olduğu anlamına gelmektedir.

Iuoras vd., (2004) yaptığı çalışmada, orobanş saldırısına dirençli veya oldukça töleranslı olan ayçiçeği melezleri, tüm melez kombinasyonlarında dirençli kaynaklar olarak kullanılmış olan LC 1093 kendi içinde melezlenmiş hattaki *Or5* lokusunda dirençli alleller içerir. Çaprazlama genotiplerine uygulanan SSR markırları, yüksek orobanş istilasının olduğu alanda gerçekleştirilen fenotipik karakterizasyona göre beklenmedik bir şekilde ayrılmıştır. ORS1222 markırı, dirençli olarak karakterize edilen genotiplerin

%65'inde 100 bp.'lık bandı tanımlanmıştır ve *Or5* lokusunun 29,5 cM. proksimalinde eşleşmiştir. ORS 1114 markırı, dirençli olarak karakterize edilen genotiplerin %56'sında 280 bp.'lık bandı tanımlamıştır ve *Or5* lokusunun 74,3 cM proksimalinde eşleşmiştir. ORS 1036 markırı, dirençli olarak kabul edilen genotiplerin %81'inde 245-246 bp. bandı tanımlamıştır ve *Or5* lokusunun 7,5 cM proksimalinde eşlendiğini belirtmiştir.

Tang vd., (2003), *Or5*'i LG3'ün telomerik bölgesine yerleştirmiş ve en yakın SSR markırın 7,5 cM akış aşağısında olan ORS1036 markırı belirlemiştir. *Or5* yakınındaki DNA markırlarının azlığı, DNA polimorfizmlerinin azlığından kaynaklanabildiğini, bununla birlikte *Or5* ve diğer orobanş direnç genleri yabani ayçiçeklerinden introgresyona uğradığından, sürüklenen DNA segmentlerinde DNA polimorfizmlerinin kıtlığını olası görmemektedir. Tam tersine, yabani ayçiçeklerinden elde edilen orobanş direnç genlerini çevreleyen DNA dizileri, kültüre edilmiş ayçiçeğinin elit soylarında yaygın olarak bulunan DNA dizileri ile karşılaştırıldığında olağanüstü polimorfik olması gerektiğini belirtmiştir.

Cvejic vd., (2020)'de yaptığı derlemede, sürekli yeni gelişen orobanş ırkına dirençli ayçiçeği çeşitlerinin geliştirilmesine geleneksel ve moleküler vurgu yaparak, orobanşa karşı geliştirilmiş direnç için ayçiçeği çeşitlerinin genetiği, genomu ve ıslahına odaklanılması gerektiğini ileri sürmüştür. Ayrıca yeni ırkların fizyolojik yapısı ve dağılımı, duyarlı ayçiçeği çeşitlerinin direnç kaynakları, kalitatif ve kantitatif direnç genleriyle birlikte ayçiçeği direncini arttırma sürecinde uygulanan gen piramidi ve MAS stratejisi ile ilgilenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan dayanıklılık kaynağı *Or5* gen bölgesi için seçilen RGA172, RGA181, RGA192, RGA206 aday markırlarının hiçbirinde dayanıklı/hassas genotipleri ayırt edecek DNA fragmenti gözlenememiştir. RGA172 markırı dayanıklı, hassas ebeveynlerde ve bulklarında 443-444 bp.'lik bölgesinde aynı fragment çoğalmış, RGA181 markırı dayanıklı ebeveynde 478 bp, hassas ebeveynde 450 bp çoğalmış ancak F2 bulklarında hepsinde 448 bp ve 449 bp bantları çoğalmıştır. RGA192 markırı dayanıklı ebeveynde 357 bp ve hassas ebeveynde 355 bp gözlenmiştir. F2 bulklarında ise 356-357 bp bantları çoğalmıştır. Yapılan çalışma sonucu RGA206 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn ve hassas ebeveynlerin ikisinde de 138 bp ve 206 bp

gözlenmiştir. F2 bulklarında ise istenilen bantlar oluşmamış bu nedenle dayanıklı/hassas genotipleri ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.

ORS1036 markırının *Or* gen bölgesinin İmerovski vd., (2013) çalışmasında, 240 bp.'lik bölgesinde, Iuoras vd., (2004)'te ise 245-246 bp.'lik bölgesinde selektif bir bant ürettiği bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada agaroz jel elektroforezi görüntüsü sonuçlarından yola çıkarak PCR ürünlerinin çalıştığı ve bant oluşumu gözlemlendiği söylenebilir. ORS1036 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveynlerde 121 bp ve 267 bp bantları çoğaltılmış olup, F2 bulklarında ise 107 bp ve 248 bp bantları çoğalmış olduğundan dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.

ORS1114 markırının *Or* gen bölgesinin İmerovski vd., (2013) çalışmasında, 264-265 bp.'lik bölgesinde, Iuoras vd., (2004)'te ise 280 bp.'lik bölgesinde selektif bir bant ürettiği bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada agaroz jel ve kapiller elektroforezi görüntüsü sonuçlarından yola çıkarak PCR ürünlerinin çalıştığı ve bant oluşumu gözlemlendiği söylenebilir. ORS1114 markırı ile yapılan çalışma sonucu, popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 257 bp, hassas ebeveynde 244 bp ve 266 bp gözlenmiştir fakat F2 bulklarında ebeveynlerle eşdeğer pikler gözlenmemiştir, bu nedenle dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.

ORS665 markırının *Or* gen bölgesinin İmerovski vd., (2013) çalışmasında, 281 bp.'lik bölgesinde selektif bir bant ürettiği bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada agaroz jel elektroforezi görüntüsü sonuçlarından yola çıkarak PCR ürünlerinin çalıştığı ve bant oluşumu gözlemlendiği söylenebilir. ORS665 markırı ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveynde ve hassas ebeveynde herhangi bir bant oluşmamıştır. Benzer şekilde, F2 bulklarında da belli pikler oluşmadığından dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.

ORS1021 markırında literatürde rapor edilmiş olan çalışmada (Imerovski ve ark, 2013) sunulduğu üzere fragment boyutu ve direnç genleri arasında doğru bir korelasyon olmadığı bilinmektedir. Agaroz jel elektroforezi görüntüsünden yola çıkarak PCR ürünlerinin çalıştığı ve bant oluşumu gözlemlendiği söylenebilir. Yapılan çalışma sonucu ORS1021 markırı ile popülasyona ait dayanıklı ebeveynde 106 bp, hassas ebeveynde 107

bp gözlenmiştir. F2 bulklarında da aynı pikler gözlendiğinden ORS1021 markırının orobanşa direnç bölgelerini ayırt edici nitelikte olmadığı düşünülmektedir.

Ayrıca çalışmamızda, RGAP analizleri kapsamında literatürde sunulan markırların yanı sıra 40 adet RGA primeri farklı kombinasyonlarda ileri-geri primeri olarak kullanılmış ve 1'er adet dayanıklı ve hassas ebeveynler ve 2'şer adet dayanıklı ve hassas bulklar taranarak melezleme popülasyonu açısından RGA markırları ve orobanş *R* gen bölgeleri tespit edilmeye çalışılmıştır. 52 farklı kombinasyonda eşleştirilen primer çiftleri ile yapılan analizlerin hiçbirinde dayanıklı/hassas genotipleri ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir.

Yabani ayçiçeklerinden önce bu melezlenmiş ve kendilenmiş ayçiçeği hatlarında markır denemesi yapılmış fakat denenen markırlarda orobanş dayanımını ayırt eden bölge tespit edilemediği için yabani ayçiçeği türlerinde, orobanşa dayanıklı ve hassas olanların moleküler markır ile seleksiyonu kapsamında bir uygulama yapılamamıştır. Moleküler markır çalışmasında başarı sağlanamaması, fenotipik analizlerde orobanşın popülasyon olarak kullanılması ve bu farklı ırkların karışımından oluşan popülasyonda hangi ırkların bulunduğunun bilinmemesine bağlanmıştır.

Çalışmamızda akış sitometrisi ile 52 yabani ayçiçeği türünün çekirdek DNA analizleri ve ploidi düzeyleri başarı ile tamamlanmıştır. Kullanılan yabani ayçiçeği türlerinin 2C çekirdek DNA içerikleri 5.72 pg (*H.porteri*) ile 27.11 pg (*H.tuberosus*) arasında değişim göstermiştir. Bu çalışmada daha önceki çalışmalarda olmayan birçok yeni türün (25 tür) çekirdek DNA içerikleri ilk kez belirlenmiştir (*H. glaucophyllus, H. gracilentus, H. laciniatus, H. laetiflorus, H. longifolius, H. nuttalii* s. *nuttalii, H. nuttalii* s. *rydbergi, H. occidentalis* s. *occidentalis, H. occidentalis* s. *plantagenius, H. pauciflorus* s. *pauciflorus, H. pauciflorus* s. *subrhomboideus, H. pumilus, H. silphioides, H. simulans, H. smithii, H. floridanus, H. californicus, H. ciliaris, H. cusickii, H. atrorubens, H. eggerti, H. strumosus, H. praecox* s. *hirtus* (Tek yıllık), *H. deblis* s. *silvestris* (Tek yıllık), *H. praecox* s. *runyoni* (Tek yıllık)). Ayrıca, yapılan literatür çalışmaları ve kromozom sayıları dikkate alındığında 52 yabani türün yaklaşık %78'inin (41 tür) (15 Tek yıllık, 26 çok yıllık) diploid (2n) oldukları ortaya konulmuştur. Çalışılan diğer %12'lik türlerin ise ploidi düzeyleri farklılık göstermiştir. 3 türün tetraploid (4n), 8 türün hekzaploid (8n) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamız da kullanılan türlerden elde edilen sonuçlar, daha önce çalışılmış olan çekirdek DNA içerik sonuçları ile benzerdir (Sims ve Price, 1985; Michaelson, vd., 1991; Kantar vd., 2014; Kallamadi ve Mulpuri, 2016, Şahin, 2019).

Sims ve Price, (1985), 19 diploid *Helianthus* türünü mikrospektrofotometri yöntemiyle belirlemişlerdir. *H. neglectus*'un en düşük (6.40 pg), *H. agrestis*'in en yüksek (25.91 pg) DNA içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir.

Michaelson vd., (1991), *H. annuus*'un hem kültür hem de yabani formununun çekirdek DNA içeriklerini belirlemiş ve ortalama 6.01-7.95 pg arasında değiştiği bildirilmiştir.

Kantar vd., (2014), ayçiçeğindeki genomik çeşitlilik üzerine çalışmış, kullandıkları 22 ayçiçeği aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriğini akış sitometrisi yöntemi ile belirleyip, kullandıkları türlerin diploid olduklarını belirtmişlerdir.

Aynı zamanda, Kallamadi ve Mulpuri, (2016), diploidler, tetraploidler ve hekzaploidler dahil olmak üzere 19 *Helianthus* türünün aksesyonlarının nükleer DNA içeriğini araştırmış ve 2C nükleer DNA içeriğinin *Helianthus* türlerinde 6.8 pg ila 22.4 pg arasında değiştiğine karar vermiştir. Ayrıca, pigmentasyon dahil vejetatif özellikler için yabani ayçiçeği türlerinde geniş bir değişiklik gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında, yabani *Helianthus* türlerinin ploidi seviyesini belirlemek için akış sitometrisi kullanmışlar ve melez türlerin ploidi seviyelerini doğrulamak için çok yararlı bir yöntem olduğunu vurgulayarak, aynı zamanda, bu yöntemin ayçiçeğindeki ıslah programlarına türler arası melezlerin entegre edilmesine yardımcı olacağını belirtmişlerdir.

Şahin M., (2019), çalışmasında 70 ayçiçeği aksesyonuna ait bitkilerin DNA içerikleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan türlerden tezimizde kullanılar türleri incelendiğimizde; *H. petiolaris* türüne ait 19 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 6,36 ile 7,18 pg arasında değişim göstermektedir. *H. praecox* türüne ait 4 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri birbirine oldukça benzer olup 6,73 ile 7 pg arasında değişiklik göstermektedir. *H. argophyllus* türüne ait 5 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 7,73 ile 8,175 pg arasında değişim göstermektedir. *H. porteri* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların

ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 7,8 ile 8,5 pg arasında değişim göstermektedir. *H. exilis* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri birbirine oldukça benzer olup sadece 9,86 ile 9,92 pg arasında değişim göstermektedir *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.

Çalışmada, dünyada ilk defa bu kadar sayıda yabani ayçiçeği türünün DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri belirlenmiştir. Bu türlerin çalışmada belirlenen çekirdek DNA içerikleri ile literatürde yer alan değerleri birbirlerine yakın olmakla birlikte aralarında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. 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 vd., 2005; Kantar vd., 2014). Çalışmamızda ortak olarak çekirdek DNA içeriği analizi yapılan türlerin sonuçları yakın ama farklı sonuçlar vermiştir. Akış sitometrisi ile analiz edilmiş çekirdek DNA içeriği sonucu; 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.

Sonuç olarak, bu çalışmada ülkemizde tarımı yapılan ayçiçeğinin genotiplerindeki orobanş direncine karşı dayanıklılık genleri ile bağlantılı markır potansiyeli yüksek RGA primer çiftlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Orobanş direncine karşı dayanıklı ayçiçeği genotiplerinin seleksiyonu için kullanılabilecek RGA markırları belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılacak moleküler taramalarla bu gen kaynaklarında orobanşa dayanıklı gen içerip içermedikleri belirlenmiştir. Yabani türlerden önce bu melezlenmiş ve kendilenmiş ayçiçeği hatlarında markır araştırması yapılmış fakat orobanş dayanımının seleksiyonda kullanılabilir bir markır tespit edilememiştir. Bu nedenleyabani ayçiçeği türlerinde, orobanşa dayanıklılıkla ilgili moleküler markır taraması kapsamında bir uygulama yapılamamıştır. Moleküler markır çalışmasında başarı sağlanamaması, fenotipik analizlerde kullanılan orobanş parazitinin saf bir ırk olmayıp popülasyon olarak kullanılmasına bağlanmıştır.

Ayrıca, akış sitometrisi analizi ile doğru ve güvenilir bir yöntemle 52 tür yabani ayçiçeği türünün çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri belirlenmiştir. Literatür araştırması ve kromozom sayısına göre 52 yabani türün yaklaşık %78'inin (41 tür) (15 Tek yıllık, 26 çok yıllık) diploid (2n) oldukları ortaya konulmuştur. Çalışılan diğer %12'lik türlerin ise ploidi düzeyleri farklılık göstermiştir. 3 türün tetraploid (4n), 8 türün hekzaploid (8n) olduğu belirlenmiştir.

Bitki ıslahı artan nüfusun sürekli ihtiyacını karşılamak açısından önem taşımaktadır ve bitkilerin ıslah programlarında kullanım özelliklerini çoğaltmak son derece önemlidir. Uygun stratejinin belirlenmesi için ploidi seviyesinin bilinmesi bitki ıslah programı açısından önemlidir. Ayrıca bu tür bilgilerin varlığı gelecekte bundan sonra yapılacak ıslah programlarına da öncülük edecektir. Tür veya türe ait genetik kaynakların biyolojik, taksonomik, genetik ve agronomik bilgilerinin ıslah çalışmalarında yeni çeşitlerin başarılı bir şekilde geliştirilebilmesi için önem arz etmektedir. Bununda hızlı ve güvenilir şekilde yapılması için akış sitometrisi gibi yeni teknolojik gelişmelere ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Aarts, N., Metz, M., Holub, E., Staskawicz, B. J., Daniels, M. J., & Parker, J. E. (1998). Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two *R* gene-mediated signaling pathways in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(17), 10306–10311. https://doi.org/10.1073/pnas.95.17.10306.

Abang, M. M., Bayaa, B., Abu-Irmaileh, B., & Yahyaoui, A. (2007). A participatory farming system approach for sustainable broomrape (*Orobanche* spp.) management in the Near East and North Africa. *Crop Protection*, *26*(12), 1723–1732.

Abbes, Z., Kharrat, M., & Chaibi, W. (2008). Seed germination and tubercle development of *Orobanche foetida* and *Orobanche crenata* in presence of different plant species. *Tunisian Journal of Plant Protection*, *3*(2), 101.

Akhtouch, Bassou, del Moral, L., Leon, A., Velasco, L., Fernández-Martínez, J. M., & Pérez-Vich, B. (2016). Genetic study of recessive broomrape resistance in sunflower. Euphytica, 209(2), 419–428.

Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Melero-Vara, J., Fernández-Martínez, J., & Domínguez, J. (2002). Inheritance of resistance to race F of broomrape in sunflower lines of different origins. *Plant Breeding*, *121*(3), 266–268. https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.00701.x.

Aksoy, E., Pekcan, V. (2014). Canavar Otları (*Orobanche* spp., *Phelipanche* Spp.) ve Mücadelesi. *T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı,* 15, Ankara.

Alonso LC, Fernández-Escobar J, López G, Sallago F. (1996). New highly virulent sunflower broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) pathotypes in Spain. Proc. 6th Int. Parasitic Weed Symposium. Dirección General de Investigación Agraria, Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla, Spain. pp: 639-644.

Aly, R. (2007). Conventional and biotechnological approaches for control of parasitic weeds. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, *43*(4), 304–317.

Amri, M., Abbes, Z., Youssef, S.B., Bouhadida, M., Salah, H.B., Kharrat, M. (2012). Detection of the parasitic plant, *Orobanche cumana* on sunflower (*Helianthus annuus* L.) in Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(18), pp. 4163-4167, http://www.academicjournals.org/AJB DOI: 10.5897/AJB11.3031 ISSN 1684–5315 © 2012 Academic Journals.

Anashchenko, A.V. (1974). On the taxonomy of the genus *Helianthus* L. Bot. *Zhurn.* 59:1472-1481.

Anton, F.G., Pacureanu Joita M., Sauca F., Risnoveanu L. (2017). Evaluating of Wild Heliantus Species of Sunflower and Interspecific Hybridization for Resistance To Broomrape *(Orobanche Cumana* Wallr.*)*. Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series Vol. XLVII 7–11.

Antonova, T. S., Araslanova, N. M., Strelnikov, E. A., Ramazanova, S. A., Guchetl, S. Z., & Chelyustnikova, T. A. (2013). Distribution of highly virulent races of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in the southern regions of the Russian Federation. *Russian Agricultural Sciences*, *39*(1), 46–50. https://doi.org/10.3103/s1068367413010023.

Antonova, T. S., Araslanova, N. M., Strelnikov, E. A., Ramazanova, S. A., Tchelustnikova, T. A., & Guchetl, S. Z. (2011). Screening of wild *Helianthus* species for resistance to high virulent *Orobanche cumana* Wallr., affecting sunflower in the Rostov region of the Russian federation. *Helia*, *34*(55), 115–124.

Atlagić, J., Terzić, S., Škorić, D., Marinković, R., Vasiljević, L., Panković-Saftić, D. (2006). The Wild Sunflowers Collection in Novi Sad. *Helia*, *29*(44), 55–64. https://doi.org/10.2298/hel0644055a.

Baack, E. J., Whitney, K. D., & Rieseberg, L. H. (2005). Hybridization and genome size evolution: Timing and magnitude of nuclear DNA content increases in Helianthus homoploid hybrid species. *New Phytologist*, *167*(2), 623–630. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01433.x.

Badouin, H., Gouzy, J., Grassa, C. J., Murat, F., Staton, S. E., Cottret, L., Lelandais-Brière, C., Owens, G. L., Carrère, S., Mayjonade, B., Legrand, L., Gill, N., Kane, N. C., Bowers, J. E., Hubner, S., Bellec, A., Bérard, A., Bergès, H., Blanchet, N., … Langlade, N. B. (2017). The sunflower genome provides insights into oil metabolism, flowering and Asterid evolution. *Nature*, *546*(7656), 148–152..

Batchvarova R. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Bulgaria. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (Orobanche spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 51-54.

Bennett, M. D., Smith, J. B. (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Botany*. https://doi.org/10.1098/rstb.1976.0044.

Bennett, M.D., Leıtch, I.J.(1995). Nuclear DNA Amounts in Angiosperms. *Annals of Botany* , August 1995, Vol. 76, No. 2 (August 1995), pp. 113-176. https://www.jstor.org/stable/42764624.

Bent, A. F. (1996). Plant Disease Resistance Genes: Function Meets Structure. *The Plant Cell*, *8*(10), 1757. https://doi.org/10.2307/3870228.

Berry, S. T., Leon, A. J., Hanfrey, C. C., Challis, P., Burkholz, A., Barnes, S. R., Rufener, G. K., Lee, M., & Caligari, P. D. S. (1994). Molecular marker analysis of *Helianthus annuus* L. 2. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *91*(2), 195–199.

Bilgen, B.B., Daneshvar, S., Evci, G., Pekcan, V., Yılmaz, M.İ., Kaya, Y. (2018). Determination of High Oleic Type and Broomrape Resistant Sunflower Hybrids By DNA Markers. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*, 4(1):22-30.

Bouzidi, M. F., Badaoui, S., Cambon, F., Vear, F., De Labrouhe, D. T., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2002). Molecular analysis of a major locus for resistance to downy mildew in sunflower with specific PCR-based markers. *Theoretical and Applied*

Genetics, *104*(4), 592–600. https://doi.org/10.1007/s00122-001-0790-3

Branković, G. R., Balalić, I. M., Zorić, M. Z., Miklič, V. J., Jocić, S. B., & Šurlan Momirović, G. G. (2012). Characterization of sunflower testing environments in Serbia. *Turk J Agric For*, *36*, 275–283. https://doi.org/10.3906/tar-1106-45.

Bretting, P.K., Widrlechner, M.P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. *North Central Regional Plant Introduction Station*, 32(77).

Bulbul, F., Aksoy, E., Uygur, S., & Uygur, N. (2009). Broomrape (*Orobanche* spp.) problem in the eastern mediterranean region of Turkey. *Helia*, *32*(51), 141–152. https://doi.org/10.2298/HEL0951141B.

Burke, J. M., Lai, Z., Salmaso, M., Nakazato, T., Tang, S., Heesacker, A., Knapp, S. J., & Rieseberg, L. H. (2004). Comparative mapping and rapid karyotypic evolution in the genus Helianthus. *Genetics*, *167*(1), 449–457. https://doi.org/10.1534/genetics.167.1.449.

Burlov, V., & Burlov, V. (2010). Breeding of sunflower resistant to new races of broomrape (O*robanche cumana* Wallr.). Helia 53, 165–172.doi:10.2298/HEL1053165B

Castañeda-Álvarez, N.P., Khoury, C.K., Achicanoy, H.A., Bernau, V., Dempewolf, H., Eastwood R.J. (2016). Global conservation priorities for crop wild relatives. *Nat. Plants* 2:16022. doi:10.1038/nplants.2016.22.

Chen, X. M., Line, R. F., & Leung, H. (1998). Genome scanning for resistance-gene analogs in rice, barley, and wheat by high-resolution electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics*, *97*(3), 345–355. https://doi.org/10.1007/s001220050905.

Christov, M., Hristova-Cherbadzi, M., Encheva, V., Sindrova, P., Kiryakov, I., Valkova, D., Sabev, G. and Batchvarova, R. (2010). Creating new sunflower forms and lines, resistant to diseases, the broomrape parasite. In: Proc. Int. Symp. "Sunflower breeding on Resistance to diseases" Krasnodar, Russia. Int. Sunfl. Assoc., Paris, France. Pp. 72-84.

Christov, M., Batchvarova, R., & Hristova-Cherbadzhi, M. (2009). Wild species of *Helianthus* L. - Sources of resistance to the parasite *Orobanche cumana* wallr. *Helia*, *32*(51), 65–74. https://doi.org/10.2298/HEL0951065C.

Christov, M, Piskov, A., Encheva, J., Valkova, D., Drumeva, M., Nenova, N., Nikolova, V., Encheva, V., Shindrova, P., Petrov, P., & Georgiev, G. (2009). Developing sunflower hybrid cultivars with increased productivity , resistant to diseases and broomrape using classical and biotechnological methods developıng sunflower hybrıd cultıvars wıth ıncreased productıvıty , resıstant to dıseases and broomrape us. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур УААН*, № 14, 2009: 74-87.

Christov, Michail, & Velasco, L. (2008). *Helianthus* species in breeding research on sunflower. *Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain*, 8–12.

Cockerell, T.D.A. (1929). Shorter artıcles and dıscussıon hybrıd sunflowers. *The*

American Naturalist , Sep. - Oct., 1929, Vol. 63, No. 688 (Sep. - Oct., 1929), pp. 470-475. https://www.jstor.org/stable/2457099.

Cvejić, S., Radanović, A., Dedić, B., Jocković, M., Jocić, S., & Miladinović, D. (2020). Genetic and genomic tools in sunflower breeding for broomrape resistance. *Genes*, 11(2), 1–17. https://doi.org/10.3390/genes11020152.

Cveji´c, S., Joci´c, S., Dedi´c, B., Miladinovi´c, D., Dimitrijevi´c, A., Imerovski, I., Jockovi´c, M., Mikli˘c, V. (2018). Inheritance of resistance to broomrape in sunflower inbred line LIV-17. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 154–162.

Cvejić, S., Jocić, S., Dedić, B., Radeka, I., Imerovski, I., & Miladinović, D. (2014). Determination of resistance to broomrape in newly developed sunflower inbred lines. *Third international symposium on broomrape (orobanche spp.) in sunflower*, Spain.

Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2006). The plant immune system. *Nature*, *444*(7117), 323–329. https://doi.org/10.1038/nature05286.

Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, *411*(June).

Daniel, H. (2004). "A Review and Applications of Flow Cytometry. Department of Chemistry", University of Illinois at Urbana-Champaign.

Davis PH, Mill RR, Tan K. (1988). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1), Vol. 10, pp. 200–201, *Edinburgh: Edinburgh University Press*.

Dehmer, K. J., & Friedt, W. (1998). Development of molecular markers for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Industrial Crops and Products*, *7*(2–3), 311–315. https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00063-0.

Dedic, B., Miladinovic, D., Jocic, S., Cvejic, S., Jockovic, M., Miklic, V. (2018). Increase in virulence of sunflower broomrape in Serbia. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 27–35.

Demirel, D. (1995). "Flow sitometrik DNA analizinin temel prensipleri", *Türk Patoloji Dergisi*,11(2).

Di Gaspero, G., & Cipriani, G. (2003). Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, Pto-like and receptor-like kinases related to disease resistance in grapevine. *Molecular Genetics and Genomics*, *269*(5), 612–623. https://doi.org/10.1007/s00438-003-0884-5.

Dolezel, J., Barto, J. (2005). Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. *Annals of Botany*, 95: 99–110, 2005 doi:10.1093/aob/mci005, www.aob.oupjournals.org.

Doyle, JJ., Doyle, JL. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13–15.

Duca, M., Clapco, S., Nedealcov, M., & Dencicov, L. (2019). Influence of environmental conditions on the virulence and distribution of *Orobanche cumana* Wallr. in the

Republic of Moldova. OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids, 26(1). https://doi.org/10.1051/ocl/2018049.

Duca, M.; Port, A.; Boicu, A. (2017). Molecular Characterisation of Broomrape Populations from Republic of Moldova using SSR Markers. *Helia*, 40, 47–60.

Duca, M. (2014). Current situation of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. *Third International Symposium On Broomrape (Orobanche Ssp.) In Sunflower, June 2014*, 44–51. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4729.7125.

Duriez, P., Vautrin, S., Auriac, M. C., Bazerque, J., Boniface, M. C., Callot, C., Carrère, S., Cauet, S., Chabaud, M., Gentou, F., Lopez-Sendon, M., Paris, C., Pegot-Espagnet, P., Rousseaux, J. C., Pérez-Vich, B., Velasco, L., Bergès, H., Piquemal, J., & Muños, S. (2019). A receptor-like kinase enhances sunflower resistance to *Orobanche cumana*. *Nature Plants*, *5*(12), 1211–1215. https://doi.org/10.1038/s41477-019-0556-z.

Eizenberg, H., Hershenhorn, J., Plakhine, D., Kleifeld, Y., Shtienberg, D., & Rubin, B. (2003). Effect of temperature on susceptibility of sunflower varieties to sunflower broomrape (*Orobanche cumana*) and Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*). *Weed Science*, *51*(3), 279–286. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0279:eotoso]2.0.co;2.

Ellis, J., Dodds, P., & Pryor, T. (2000). The generation of plant disease resistance gene specificities. Trends in Plant Science, 5(9), 373–379.

Elzein A., Kroschel J. (2003). Problem Weeds and Their Management in Crops and Non-Crop Situations. Weed Management for Developing Countries, Labrada L., Addemdum 1, Rome.

Encheva, V. (2018). Distribution and race composition of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria during 2008–2017. I*n Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower,* Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; p. 58.

Encheva, V., Shindrova, P. (1994). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) a hindrance to sunflower production in Bulgaria. *Proceedings of the 3rd International Workshop on Orobanche and Related Striga Research*, Amsterdam, The Netherlands, Amsterdam: Royal Tropical Institute, 619±622.

Evci, G., Pekcan, V., Yılmaz, İ,M., Kaya, Y., Şahin, İ., Çıtak, N., Tuna, N., Ay, O., Pilaslı, A. (2011). Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L,) yağ kalitesi ve verim öğeleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi. Türkiye IX, Tarla Bitkileri Kongresi, S,279, Bursa.

Faure, N., Serieys, H., Kaan, F. (2002). Partial hybridization in wide crosses between cultivated sunflower and the perennial *Helianthus mollis*: effect of in vitro culture compared to natural crosses. *Springer*, *20*(10), 943–947. https://doi.org/10.1007/s00299-001-0426-8.

Fernández-Escobar J, Rodríguez-Ojeda MI, FernándezMartínez JM, Alonso LC. (2008). Sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Castilla-León, a traditionally non broomrape infested area in Northern Spain. Abstr. Int. Symp. on Broomrape

(*Orobanche* spp.) in Sunflower. Trakya Agricultural Research Institute, Edirne, Turkey. p: 18.

Fernández-Martínez, José M., Pérez-Vich, B., Velasco, L. (2015). Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). In Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization, 129-156. AOCS Press. https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-94-3.50011-8.

Fernández-Martínez, J. M., Velasco, L., & Pérez-Vich, B. (2012). Progress in research on breeding for resistance to sunflower broomrape. *Helia*, *35*(57), 47–56.

Fernández-Martínez, J. M., Domínguez, J., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2008). Update on breeding for resistance to sunflower broomrape. *Helia*, *31*(48), 73–84.

Fernández-Martínez, J., Melero-Vara, J., Muñoz-Ruz, J., Ruso, J., & Domínguez, J. (2000). Selection of wild and cultivated sunflower for resistance to a new broomrape race that overcomes resistance of the *Or5* gene. *Crop Science*, *40*(2), 550–555. https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402550x.

Feuillet, C., Schachermayr, G., Keller, B. (1997). Molecular cloning of a new receptor-like kinase gene encoded at the Lr10 disease resistance locus of wheat. *Plant J.* 11:45–52.

Fulwyler, A. M. J. (1965). Electronic Separation of Biological Cells by Volume American Association for the Advancement of Science Stable Science , Nov. 12, 1965, New Series. *Science*, *150*(3698), 910–911.URL : http://www.jstor.org/stable/1717506.

Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. M., Ayres, N. M., & Dharam, P. (1983). Rapid Flow Cytometric Analysis of the Cell Cycle in Intact Plant Tissues. *Science. 220*(4601), 1049–1051.

Gao, W., Ripley, V.L, Channabasavaradhya, A., Meyer, D.H., Velasco, L., Benson, R., Perez Vich, B., Erickson, A.L., Fernandez Martinez, J., Ren, R., Avery, M. (2019). Molecular Markers Associated With Orobanche Resistance In Sunflower. Provisional application No. 62 / 482,368 , filed on Apr. 6 , 2017. United States Patent. Patent No: US 10,883,148 B2. , Indianapolis , US.

Gedil, M. A., Slabaugh, M. B., Berry, S., Johnson, R., Michelmore, R., Miller, J., Gulya, T., & Knapp, S. J. (2001a). Candidate disease resistance genes in sunflower cloned using conserved nucleotide-binding site motifs: Genetic mapping and linkage to the downy mildew resistance gene Pl1. *Genome*, *44*(2), 205–212.

Gedil, M. A., Wye, C., Berry, S., Segers, B., Peleman, J., Jones, R., Leon, A., Slabaugh, M. B., & Knapp, S. J. (2001b). An integrated restriction fragment length polymorphism -amplified fragment length polymorphism linkage map for cultivated sunflower. *Genome*, *44*(2), 213–221.

Geisler, F. (1931). Chromosome numbers in certain species of Helianthus *Butler University* URL : https://www.jstor.org/stable/41822297 2(5), 53–62.

Gentzbittel, L., Vear, F., Zhang, Y. X., Bervillé, A., Nicolas, P. (1995). Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *90*(7–8), 1079–1086.

Gisca I, Acciu A, Glijin A, Duca M. (2013). Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. Proc. Biotech. Cong. Current Opinion in Biotech. 24(1): S132. http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2013. 05.422.

Gray, A., (1889). Essay and reviews pertaınıng to darwınısm. Harvard University.

González, A.C. (2021). Breeding strategies for resistance to sunflower broomrape: New sources of resistance and markers for resistance and avirulence genes. Doktora Tezi.Cordoba Üniversitesi.

González-Torres R, Jiménez-Díaz RM, Melero-Vara JM. (1982). Distribution and virulence of Orobanche cernua in sunflower crops in Spain. J Phytopathol 104: 78-89. http:// dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.1982.tb00008.x.

Gouzy, J., Pouill, N., Boniface, M.-C., Bouchez, O., Carrère, S., Catrice, O., Cauet, S., Claudel, C., Cottret, L., Faure, S., Calderón González, Á., Grand, X., Hu, L., Jéziorski, C., Lechat, M.-M., Legrand, L., Louarn, J., Marnade, W., Ribière, N., … Muños, S. (2017). The complete genome sequence of *Orobanche cumana* (sunflower broomrape). *14th World Congress on Parasitic Plants* http://hdl.handle.net/10261/167964.

Göçmen, D.B. (2016). Doğu Anadolu Dağlık Bölgelerinden Toplanmış *Phelum L.* Popülasyonlarının Agronomik, Morfolojik ve Sitogenetik Karakterizasyonu. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Guchetl, S.Z., Savichenko, D.L., Ramazanova, S.A. (2020). The search for the location of the sunflower resistance gene to race G of broomrape on the linkage map in the lines of breeding of VNIIMK. *DAICRA.* IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 699. doi:10.1088/1755-1315/699/1/012008.

Habimana, S., Nduwumuremyi, A., & Chinama R, J. D. (2014). Management of orobanche in field crops-a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *14*(1), 43–62. https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000004.

Hablak, S., Abdullaeva, Y. (2013). The racial composition of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower crops on the Nothern steppes of Ukraine. ВісникАграрної НаукиПричорномор'я, 73, 116–121.

Haidar, M. A., & Sidahmed, M. M. (2006). Elemental sulphur and chicken manure for the control of branched broomrape (*Orobanche ramosa*). *Crop Protection*, *25*(1), 47–51. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.022.

Hahn, V., Wieckhorst, S. (2010). Mapping and tagging of simply inherited traits. *Genetics, Genomics and Breeding of Sunflower,* 111—124. Science Publishers, Enfield.

Hammond-Kosack, K. E., & Jones, J. D. G. (1997). Plant disease resistance genes. *Annual Review of Plant Biology*, *48*, 575–607.

Hargitay L. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Hungary. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. p: 32.

Hasançebi, S., Çetin, L., Akan, K., Mert, Z., Bolat, N., Yorgancılar, O., Altınkut

Uncuoğlu, A. (2009). Bazı Kışlık Ekmeklik Buğday Genotiplerinde RGAP Analizleri. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi.* Bildiri Kitabı s: 792-795, Hatay. 19-22 Ekim 2009.

Hassan, E.A.R.S.; Hoeft, E.; Tulsieram, L. (2011). Genetic Markers for Orobanche Resistance in Sunflower; United States Patent No. 7872170; United States Patent: Alexandria, VA, USA, 2011; pp. 1–21.

Heiser, C. B., Smith, D. M., Clevenger, S. B., Martin, W. C. (2017). The North Amerıcan Sunflowers (*Helianthus*) *Torrey Botanical Society, Stable* http://www.jstor.org/stable/43390641. *22*(3), 1–218.

Heiser, C. B., Smith, D. M., Clevenger, S. B., Martin, W. C. (1969). The North Amerıcan Sunflowers (Helıanthus). *Memoirs of the Torrey Botanical Club* , January 31, 1969, Vol. 22, No. 3, (January 31, 1969), pp. 1-218.

Hladni, N., Jocí, S., Miklič, V., Saftić-Panković, D., & Škorić, D. (2009). Using new Rf inbred lines originating from an interspecific population with *H. deserticola* for development of sunflower hybrids resistant to broomrape. *Helia*, *32*(51), 81–90. https://doi.org/10.2298/HEL0951081H.

Holt, B. F., Hubert, D. A., & Dangl, J. L. (2003). Resistance gene signaling in plants - Complex similarities to animal innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, *15*(1), 20–25. https://doi.org/10.1016/S0952-7915(02)00014-6.

Honiges, A., Wegmann, K., & Ardelean, A. (2008). Orobanche resistance in sunflower. *Helia*, *31*(49), 1–12. https://doi.org/10.2298/HEL0849001H.

Hu, J., Yue, B., & Vick, B. A. (2007). Integration of TRAP markers onto a sunflower SSR marker linkage map constructed from 92 recombinant inbred lines. *Helia*, *30*(46), 25–36. https://doi.org/10.2298/HEL0746025H.

Huettel, B., Santra, D., Muehlbauer, F. J., & Kahl, G. (2002). Resistance gene analogues of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Isolation, genetic mapping and association with a Fusarium resistance gene cluster. *Theoretical and Applied Genetics*, *105*(2–3), 479–490. https://doi.org/10.1007/s00122-002-0933-1.

Hulbert, S. H., Webb, C. A., & Smith, S. M. (2001). Antimicrobial resistance gene detection in beneficial and pathogenic. *Phytopathol*. 39:285–312285–312.

Hunger, S., Di Gaspero, G., Mohring, S., Bellin, D., Schafer-Pregl, R., Borchardt, D.C., Durel, C-E., Werber, M., Weisshaar, B., Salamini, F., Schneider, K. (2003). Isolation and linkage analysis of expressed disease-resistance gene analogues of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Genome* 46:70–82.

Hvarleva, T., Tarpomanova, I., Hristova-Cherbadji, M., Hristov, M., Bakalova, A., Atanassov, A., & Atanasov, I. (2009). Toward marker assisted selection for fungal disease resistance in sunflower. Utilization of H. bolanderi as a source of resistance to downy mildew. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, *23*(4), 1427–1430. https://doi.org/10.2478/V10133-009-0007-5.

Imerovski, I., Dedić, B., Cvejić, S., Miladinović, D., Jocić, S., Owens, G. L., Tubić, N. K., & Rieseberg, L. H. (2019). BSA-seq mapping reveals major QTL for broomrape

resistance in four sunflower lines. *Molecular Breeding*, *39*(3). https://doi.org/10.1007/s11032-019-0948-9.

Imerovski, I., Dimitrijević, A., Miladinović, D., Dedić, B., Jocić, S., Tubić, N. K., & Cvejić, S. (2016). Mapping of a new gene for resistance to broomrape races higher than F. *Euphytica*, *209*(2), 281–289. https://doi.org/10.1007/s10681-015-1597-7.

Imerovski, I., Dimitrijevic, A., Miladinovic, D., Dedic, B., Jocic, S., Kovacevic, B., & Obreht, D. (2013). Identification of PCR markers linked to different *Or* genes in sunflower. *Plant Breeding*, *132*(1), 115–120. https://doi.org/10.1111/pbr.12022.

Iuoras, M., Stanciu, D., Ciucã, M., Nãstase, D., Geronzi, F. (2004). Prelımınary Studıes Related To The Use Of Marker Assısted Selectıon For Resıstance to *Orobanche cumana* Wallr. In Sunflower. Romanıan Agrıcultural Research,1-6.

Jain, S. K., Kesseli R., Olivieri A. (1992). Biosystematic status of the serpentine sunflower, *Helianthus exilis* Gray. *First Int. Conf. on Serpentine Ecology,* Davis, CA. 19-22. Intercept LTD., Andover, England, UK. p. 391-408.

Jain, S. K., Olivieri, A. M., & Fernandez-Martinez, J. (1977). Serpentine Sunflower, *Helianthus exilis*, as a Genetic Resource 1. *Crop Science*, *17*(3), 477–479. https://doi.org/10.2135/cropsci1977.0011183x001700030034x.

Jan, C. C., & Fernandez-Martinez, J. M. (2002). Interspecific hybridization, gene transfer, and the development of resistance to the broomrape race F in spain. *Helia*, *25*(36), 123–136. https://doi.org/10.2298/hel0236123j.

Jan, C. C., Vick, B. A., Miller, J. F., Kahler, A. L., Butler, E. T. (1998). Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *96*(1), 15–22. https://doi.org/10.1007/s001220050703.

Jestin C., V. Lecomte, F. Duroueix. (2014). Current situation of sunflower broomrape in France. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Broomrape (Orobanche spp.) in Sunflower*. International Sunflower Association, Paris, France, 28-31.

Jockovi´c, M., Joci´c, S., Cveji´c, S., Miladinovi´c, D.M., Dedi´c, B., Terzi´c, S., Marjanovi´c-Jeromela, A., Mikli˘c, V. (2018). *Helianthus* species as a sources for broomrape resistance. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 178–186.

Joel, D. M. (2000). The long-term approach to parasitic weeds control: manipulation of specific developmental mechanisms of the parasite. In *Crop Protection* (Vol. 19).

Johnson, KL. (1992). Basic of flow cytometry, *clin Lab Sci*; 5:22-4.

Kallamadi, P.R., Mulpuri, S. (2016). Ploidy analysis of Helianthus species by flow cytometry and its use in hybridity confirmation. *Springer*, *Nucleus*, 59:123–130, DOI 10.1007/s13237-016-0170-7.

Kanazin, V., Marek, L. F., & Shoemaker, R. C. (1996). Resistance gene analogs are conserved and clustered in soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(21), 11746–11750. https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11746.

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.

Karaboz, İ., Kayar, E., Akar, S. (2008). Flow Sitometri ve Kullanım Alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi) Cilt: 06 Sayı: 2 Sayfa: 01-18 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080201.pdf.

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

Kaya, Y. (2013). Ayçiçeği: Türkiye'nin En Önemli Yağ Bitkisi. TÜRKTOB Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi. 2 (7): 20-23.

Kaya, Y., Jocic S., Miladinovic, D. (2012a). Sunflower breeding. Technological Innovations in Major World Oil Crops: Breeding. *Springer*, 85- 129. Dordrecht, Heidelberg, London, New York.

Kaya, Y., Evci, G., Pekcan, V., Yilmaz, M.I. (2012b). The resistance breeding to broomrape parasite and other stress conditions in sunflower. p. 78. In: Proc. 41st Annual Meeting of ESNA. Stará Lesná, High Tatras, Slovak Republic.

Kaya, Y., G. Evci, V. Pekcan, T. Gucer, and I.M. Yilmaz. (2009). Evaluation of broomrape resistance in sunflower hybrids. *Helia*. 32(51):161-169.

Kaya, Y., Evci, G., Pekcan, V., Gucer, T. (2004). Determining new broomrape infested areas, resistant lines and hybrids in Trakya Region of Turkey. *Helia*. 27(40)211-218.

Kaya, Y. (2003a). Türkiye'deki yağlık ayçiçeği üretiminin mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri. *Cıne Tarım Dergisi*. 5: (43). 34-35.

Kaya, Y. (2003b). Ayçiçeğinde Orobanş ve Mücadelesi. *Tarım İstanbul Dergisi.* 84: 26-28.

Knapp, S.J., Berry, S.T., Rieseberg, L.H. (2001). Genetic Mapping Insunflower. In: DNA Markers in Plants (Philips RL and Vasil IK, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 379-403.

Krupp, A., Heller, A., & Spring, O. (2019). Development of phloem connection between the parasitic plant *Orobanche cumana* and its host sunflower. *Protoplasma*, *256*(5), 1385–1397. https://doi.org/10.1007/s00709-019-01393-z.

Labrousse, P., Arnaud, M. C., Griveau, Y., Fer, A., & Thalouarn, P. (2004). Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop Protection*, *23*, 407–413. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.09.013.

Leister, D., Kurth, J., Laurie, D. A., Yano, M., Sasaki, T., Devos, K., Graner, A., & Schulze-Lefert, P. (1998). Rapid reorganization of resistance gene homologues in cereal genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(1), 370–375. https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.370.

Leister, D., Ballvora, A., Salamini, F., & Gebhardt, C. (1996). A PCR-based approach for

isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics*, *14*(4), 421–429. https://doi.org/10.1038/ng1296-421.

Lin, F., Chen, X. M. (2007). Genetics and molecular mapping of genes for race-specific all-stage resistance and non-race-specific high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat cultivar Alpowa. *Theoretical and Applied Genetics*, *114*(7), 1277–1287. https://doi.org/10.1007/s00122-007-0518-0.

Linke, K.H., Sauerborn, J., Saxena, M.C. (1989). Orobanche field quide. University of Hohenheim, Germany. p. 41.

Lu, Y.H., Melero-Vara, J.M., Garcia-Tejada, J.A., Blanchard, P. (2000). Development of SCAR markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Theor. Appl. Genet.* 100, 625–632. doi: 10.1007/s001220050083.

Lu, Y.H. Gagne, G. Grezes-Besset, B. Blanchard, P. (1999). Integration of a molecular linkage group containing the broomrape resistance gene *Or5* into an RFLP map in sunflower. *Genome*, 42, 453–456.

Ma, D., Jan, C. (2014). Distribution and race composition of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Northern China. Proceedings of the Third Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower. pp. 65-69.

Maklik, E., Kyrychenko, V.V., Pacureanu, M.J. (2018). Race composition and phenology of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Ukraine. *In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower*, Bucharest, Romania, 2–4 July, pp. 67–78.

Malek, J., del Moral, L., Fernandez-Escobar, J., Perez-Vish, B., Velasco, L. (2017). Racial characterization and genetic diversity of sunflower broomrape populations from Northern Spain. Phytopathol. Mediterr. 2017, 56, 70–76.

Marek, L.F. (2016). Sunflower genetic resources. *In Proceedings of the 19th International Sunflower Conference*, Edirne, Turkey, 29 May–3 June 2016; pp. 31–44.

Markell, S.G., Harveson, R.M., Block, C.C., Gulya, T.J. (2015). Sunflower Diseases, Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization, 1 st Edition., Martínez Force, E., Turgut Dunford, N., Salas, J.J. Editors.; AOCS Press., Urbana, IL, USA.

Martín-Sanz, A., Pérez-Vich, B., Rueda, S., Fernández-Martínez, J. M., & Velasco, L. (2019). Characterization of post-haustorial resistance to sunflower broomrape. *Crop Science*, *60*(3), 1188–1198. https://doi.org/10.1002/csc2.20002.

Martín-Sanz, A., Malek, J., Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2016). Increased virulence in sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations from Southern Spain is associated with greater genetic diversity. *Frontiers in Plant Science*, *7*(MAY2016), 1–9. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00589.

Martinez, JE., Beck, JR., AllsbrookWC, Pantazis, CG. (1990). Flow cytometric DNA

analysis. *Clinic Laboratory Science*, 3:180-3.

Matthews, J.F., Allison, J.R., Ware, R.T., Nordman, C. (2002). *Helianthus verticillatus* Small (Asteraceae) Rediscovered and Redescribed. *Castanea* , Mar., 2002, Vol. 67, No. 1, pp. 13-24. https://www.jstor.org/stable/4034312.

Melchinger, A. E. (1990). Use of Molecular Markers in Breeding for Oligogenic Disease Resistance. *Plant Breeding*, *104*(1), 1–19. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00396.x.

Melero-Vara JM., Domínguez J., Fernández-Martínez JM. (1989). Evaluation of differential lines and a collection of sunflower parental lines for resistance to broomrape (*Orobanche cernua*) in Spain. Plant Breeding 102: 322- 326. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0523.1989.tb01263.x.

Meyers, B. C., Kozik, A., Griego, A., Kuang, H., & Michelmore, R. W. (2003). Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis. *Plant Cell*, *15*(4), 809–834. https://doi.org/10.1105/tpc.009308.

Meyers, B. C., Dickerman, A. W., Michelmore, R. W., Sivaramakrishnan, S., Sobral, B. W., & Young, N. D. (1999). Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *Plant Journal*, *20*(3), 317–332. https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.t01-1-00606.x.

Michaelson, MJ, Price, HJ, Johnston, JS, Ellison, JR. (1991). Variation of nuclear DNA content in *Helianthus annuus* (*Asteraceae*). *Am J Bot.* 78:1238–43.

Michelmore, R. (2000). Genomic approaches to plant disease resistance. Curr. Opin. Plant Biol. 3:125-131.

Mihaljčević M. (1996). Distribution and virulence of Orobanche population in Yugoslavia. Proc. EUCARPIA Symp. Breed. Oil Prot. Crop, Zaporozhye, Ukraine. pp: 134-136.

Miladinovic D, Jocic S, Dedic B, Cvejic S, Dimitrijevic A, Imerovski I, Malidza G. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Serbia. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 33-38.

Miladinovic, D., Dedic, B., Quiróz, F., Alvarez, D., Poverene, M., & Cantamutto, M. (2012a). *Orobanche cumana* Wallr. resistance of commercial sunflower cultivars grown in Argentina. *BAG - Journal of Basic and Applied Genetics*, *23*(1), 37–41.

Miladinović, D., Imerovski, I., Dimitrijević, A., Jocić, S., Cvejić, S., Dedić, B., & Miklič, V. (2012b). Conventional and molecular breeding for broomrape resistance in sunflower. *International Conference on BioScience: Biotechnology and Biodiversity - Step in the Future*, *2003*, 180–183.

Molinero-Ruiz, Leire, Delavault, P., Pérez-Vich, B., Pacureanu-Joita, M., Bulos, M., Altieri, E., & Domínguez, J. (2015). History of the race structure of *Orobanche cumana* and the breeding of sunflower for resistance to this parasitic weed: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(4), 1–19. https://doi.org/10.5424/sjar/2015134-8080.

Molinero-Ruiz L., Dominguez J. (2014). Current situation of sunflower broomrape in

Spain. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 19-27.

Molinero-Ruiz, L., García-Carneros, A. B., Collado-Romero, M., Raranciuc, S., Domínguez, J., & Melero-Vara, J. M. (2014). Pathogenic and molecular diversity in highly virulent populations of the parasitic weed *Orobanche cumana* (sunflower broomrape) from Europe. *Weed Research*, *54*(1), 87–96. https://doi.org/10.1111/wre.12056.

Molinero-Ruiz, M. L., Pérez-Vich, B., Pineda-Martos, R., & Melero-Vara, J. M. (2008). Indigenous highly virulent accessions of the sunflower root parasitic weed *Orobanche cumana*. *Weed Research*, *48*(2), 169–178. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2007.00611.x.

Muller-Stöver, D., Kohlschmid, E., & Sauerborn, J. (2009). A novel strain of Fusarium oxysporum from Germany and its potential for biocontrol of *Orobanche ramosa*. *Weed Research*, *49*(2), 175–182. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00686.x.

Mulpuri S., Liu Z., Feng, J., Gulya, T.J., Jan, C. (2009). Inheritance and molecular mapping of a downy mildew resistance gene, Pl13 in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Springer-Verlag. Theor Appl Genet. 119:795–803 DOI 10.1007/s00122-009-1089-z.

Musselman, LJ. (1994). Taxonomy and Spread of Orobanche. Germination Ecology of Striga and Orobanche an Overuiew. Biology and Management of Orobanche, Proceedings of the Third International Workshop on Orobanche and Related Striga Research. Editors, Arnold H. Pieterse Jus A.C., Verkleij Sing, J.ter Burg Royal Tropical Institute, The Netherlands, pp. 27-35.

Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., & Vieira, M. L. C. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, *29*(2), 294–307. https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000200018.

Oliveri, A.M., Jain, S.K. (1977). Variation in the *Helianthus exilis-bolande*ri complex. *Madroo,* vol 24.

Özer Z., Kadıoğlu İ., Önen H., Tursun N. (2001). Herboloji (Yabancı Ot Bilimi) Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:20 Kitap seri No:10 Tokat.

Pacureanu Joita, M., Fernández-Martínez, J., Sava, E., Raranciuc, S. (2009). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), the most important parasite in sunflower. *Analele Institutului Nat, ional de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea*, 77, 49–56.

Pacureanu-Joita, M., Raranciuc, S., Stanciu, D., Sava, E., & Nastase, D. (2008). Virulence and aggressiveness of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations, in Romania. *Romanian Agricultural Research*, 25, 47–50.

Pacureanu-Joita, M., Veronesi, C., Raranciuc, S., & Stanciu, D. (2004). Parasite-host plant interaction of *Orobanche cumana* Wallr. (*Orobanche cernua* Loefl.) with *Helianthus annuus*. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*

(pp. 171–177). Paris: International Sunflower Association.

Pacureanu-Joita, M., Vranceanu, A.V., Soare, G., Marinescu, A., Sandu, I. (1998). The evaluation of the parasite-host interaction in the system *Helianthus annuus* L.–*Orobanche cumana* Wallr. in Romania. *Proceedings of the 2nd Balkan Symposium in Field Crops*, 153—158. pp. 1–20 Novi Sad, Serbia.

Pahalawatta, V., and Chen, X. M. (2005). Genetic analysis and molecular mapping of wheat genes conferring resistance to the wheat stripe rust and barley stripe rust pathogens. *Phytopathology*. 95:427-432.

Pamphilis, C.W., Palmer, J.D. (1990). Loss of Photosynthetic and Chlororespiratory Genes From The Plastid Genome of a Parasitic Flowering Plant. *Nature* ,348: 337-339.

Parker, C. (2009). Observations on the current status of orobanche and striga problems worldwide. *Pest Management Science*, *65*(5), 453–459. https://doi.org/10.1002/ps.1713.

Parker C, Riches CR (1993). Parasitic Weeds of the World: Biology and Control. *CAB International*, Wallingfort, UK, 332 pp.

Pathak, A., & Kannan, C. (2014). A new cost-effective method for quantification of seed bank of Orobanche in soil. *Indian Journal of Weed Science*, *46*(2), 151–154.

Peerbolte, R.P., Peleman, J. (1996). The CARTISOL sunflower RFLP map (146 loci) extended with 291 AFLP markers. *İn Proceedings of the 18th Sunflower Research Forum*, Fargo, ND, USA (Bismarck, ND: National Sunflower Association), 174–178.

Peñuela, S., Danesh, D., & Young, N. D. (2002). Targeted isolation, sequence analysis, and physical mapping of nonTIR NBS-LRR genes in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, *104*(2–3), 261–272. https://doi.org/10.1007/s00122-001-0785-0.

Perez-Vich, B.; Velasco, L.; Rich, P.J.; Ejeta, G. (2013). Marker-assisted and physiology-based breeding for resistance to root parasitic Orobanchaceae. In Parasitic Orobanchaceae; *Springer*: Berlin/Heidelberg, Germany, 2013; pp. 369–391.

Perez-Vich, B., Akhtouch, B., Knapp, S. J., Leon, A. J., Velasco, L., Fernández-Martínez, J. M., & Berry, S. T. (2004). Quantitative trait loci for broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) resistance in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *109*(1), 92–102. https://doi.org/10.1007/s00122-004-1599-7.

Perez-Vich, B., Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Fernández-Martínez, J. M., & Jan, C. C. (2002). Inheritance of resistance to a highly virulent race f of *orobanche cumana* wallr. in a sunflower line derived from interspecific amphiploids. *Helia*, *25*(36), 137–144. https://doi.org/10.2298/hel0236137p.

Pineda-Martos, Rocío, Pujadas-Salvà, A. J., Fernández-Martínez, J. M., Stoyanov, K., Velasco, L., & Pérez-Vich, B. (2014). The genetic structure of wild *orobanche cumana* wallr. (Orobanchaceae) populations in eastern Bulgaria reflects introgressions from weedy populations. *Scientific World Journal*. https://doi.org/10.1155/2014/150432.

Pineda-Martos, R., Velasco, L., Fernández-Escobar, J., Fernández-Martínez, J. M., & Pérez-Vich, B. (2013). Genetic diversity of *Orobanche cumana* populations from Spain assessed using SSR markers. *Weed Research*, *53*(4), 279–289. https://doi.org/10.1111/wre.12022.

Pototskyi G. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Ukraine. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. p: 56.

Quint, M., Dußle, C. M., Melchinger, A. E., & Lübberstedt, T. (2003). Identification of genetically linked RGAs by BAC screening in maize and implications for gene cloning, mapping and MAS. *Theoretical and Applied Genetics*, *106*(7), 1171–1177. https://doi.org/10.1007/s00122-002-1105-z.

Radwan, O., Ahmed, T.A., Knapp, S.J. (2009). Identification of TIR-NBS-LRR resistance gene candidates linked to *Or5* locus for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower.

Radwan, O., Gandhi, S., Heesacker, A., Whitaker, B., Taylor, C., Plocik, A., Kesseli, R., Kozik, A., Michelmore, R. W., & Knapp, S. J. (2008). Genetic diversity and genomic distribution of homologs encoding NBS-LRR disease resistance proteins in sunflower. Molecular Genetics and Genomics, 280(2), 111–125. https://doi.org/10.1007/s00438-008-0346-1.

Radwan, O.E., Abratti, G., Heesacker, A.F., Bazzalo, M.E., Zambelli, A., Leon, A.J., Knapp, S.J. (2007). Discovery, mapping, and expression of NBS-LRR genes linked to downy mildew and rust resistance gene clusters in sunflower. *Plant and Animal Genome Conference*, San Diego, CA, USA, January 13-17.

Radwan, O., Bouzidi, M. F., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2004). Development of PCR markers for the P15/P18 locus for resistance to *Plasmopara halstedii* in sunflower, *Helianthus annuus* L. from complete CC-NBS-LRR sequences. *Theoretical and Applied Genetics*, *109*(1), 176–185. https://doi.org/10.1007/s00122-004-1613-0.

Radwan, O., Bouzidi, M. F., Vear, F., Philippon, J., De Labrouhe, D. T., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2003). Identification of non-TIR-NBS-LRR markers linked to the Pl5/Pl8 locus for resistance to downy mildew in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *106*(8), 1438–1446. https://doi.org/10.1007/s00122-003-1196-1.

Rees, H., & Walters, M. R. (1965). Nuclear DNA and the evolutıon of wheat differences between genotypes to be directly reflected by differences in the total amount of nuclear DNA, in the DNA base ratios and in the order of bases along the DNA chains. Where differences b. 1944.

Rieseberg, L. H., Choi, H., Chan, R., & Spore, C. (1993). Genomic map of a diploid hybrid species. *Heredity*, *70*(3), 285–293. https://doi.org/10.1038/hdy.1993.41.

Rieseberg, L. H., Soltis, D. E., & Palmer, J. D. (1988). A Molecular Reexamination of Introgression between *Helianthus annuus* and *Helianthus bolanderi* (Compositae). *Evolution*, *42*(2), 227. https://doi.org/10.2307/2409227.

Rîsnoveanu, L., Joiţa-Păcureanu, M., & Anton, F. G. (2016). The virulence of Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower crop in Braila area, in Romania. *Helia*, *39*(65), 189–196. https://doi.org/10.1515/helia-2016-0015.

Robinson, R. G. (1978). Production and culture. *Sunflower Science and Technology*, no. 19, pp. 89-143.

Rodriguez-Ojeda, M. I., J., Fernandez-Escobar, Alonso, L.C. (2001). Sunflower inbred line (KI-374) carrying two recessive genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* Loefl./*O. cumana* Wallr. race "F". *Proceedings of 7th International Parasitic Weed Symposium*, 208—211, Nantes, France.

Saavedra del Río M., Fernández-Martínez JM., Melero-Vara JM. (1994). Virulence of populations of *Orobanche cernua* Loefl. attacking sunflower in Spain. Proc. 3rd Int. Workshop on *Orobanche* and related Striga research. Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Netherlands. pp: 139- 141.

Saghir, A.R. (1986). Dormancy and Germination of Orobanche seeds in Relation to Control Methods. In Biology and Control of Orobanche. *Prooceedings of a Workshop in Wageningen, The Netherlands*, 13-17 January 1986. Pages 25-34.

Saftıć-Panković, D., Hladni, N., Satovic, Z., Radovanović, N., Kraljević-Balalić M. (2010). Genetic distance and heterosis for yield components in hybrid combinations of inbred lines from interspecies crosses. *8th European Sunflower Biotechnology Conference SUNBIO*, 1-3 March, Antalya, Turkey, 45.

Sauerborn, J., Buschmann, H., Ghiasvand Ghiasi, K., & Kogel, K. H. (2002). Benzothiadiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *Orobanche cumana*. *Phytopathology*, *92*(1), 59–64. https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.1.59.

Sayago, A., Perez-Vich, B., Fernandez-Martinez, J.M., Velasco, L. (2018). A new source of posthaustorial resistance to sunflower broomrape derived from *Helianthus praecox*. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; p. 147.

Schilling, E.E. (2006). Helianthus. In: Flora of North America Editorial Committee, editors, Flora of North America north of Mexico. Vol. 21. *Oxford Univ. Press, New York and Oxford.* p. 141–169.

Schilling, E.E., Heiser, C. B., Taxon, S., & May, N. (1981). Infrageneric Classification of Helianthus (Compositae). *Wiley*, 30(2), 393–403. Stable URL : https://www.jstor.org/stable/1220139.

Seiler, GJ, Qi, L., Science, L. M.-C. (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Wiley Online Library*, 57(3), 1083–1101. https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0856.

Seiler, G., Marek, F. (2011). Germplasm resources for ıncreasıng the genetıc dıversıty of global cultıvated sunflower. *Helia*, 34(55), 1–20. https://doi.org/10.2298/HEL1155001S.

Seiler, G.J., Jan, C., Gulya, T.J. (2008). Use of Wild Helianthus Species in Sunflower Breeding. *Proceedings of the International Conference on Conventional and Molecular Breeding of Field and Vegetable Crops*, November 24-27, Novi Sad, Serbia. p. 71-76.

Seiler, G., Gulya, T. (2004). Exploration for wild Helianthus species in North America: challenges and opportunities in the search for global treasures. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA. pp: 43–68.

Seiler, G.J., Rieseberg, L.H. (1997). Systematics, Origin, and Germplasm Resources of the Wild and Domesticated Sunflower. In A.A. Schneiter (ed.) *Sunflowertechnology and production*, p.21-65.

Serieys, H. (1994). Report on the past activities of the FAO working group: "identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources", for the period 1991-1993. *Helia*. https://hal.inrae.fr/hal-02699857.

Sestacova, T., Giscă, I., Cucereavîi, A., Port, A., & Duca, M. (2016). Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, *30*(4), 685–691. https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1179591.

Sims, LE, Price, HJ. (1985). Nuclear DNA content variation in *Helianthus* (*Asteraceae*). *Am J Bot*, 72: 1213-19.

Skorić, D., Seiler GJ., Zhao, L., Chao-Chien, J., Miller, JF. (2012a). Sunflower Genetics and Breeding. *International Monogram. Serbian Acad.* Sci. 1-125.

Skoric, D. (2012b). The Genetics of Sunflower. In Sunflower Genetics and Breeding, Editors: Skoric, D., Sakac, Z. *Serbian Academy of Sciences and Arts:* Novi Sad, Serbia, 1–163.

Škorić, D., Pacureanu, M. (2010). Sunflower breeding for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* wallr.). Krasnodar Symposium, June 23-24.

Shapiro, H. M. (1985). *Pages_from_Practical_Flow_Cytometry.pdf*.

Shi, B.X., Chen, G.H., Zhang, Z.J., Hao, J.J., Jing, L., Zhou, H.Y., Zhao, J. (2015). First Report of Race Composition and Distribution of Sunflower Broomrape, *Orobanche cumana*, in China. Plant Dis. 2015, 99, 291.

Shindrova, P. (2006). Broomrape (*Orobanche cumana* wallr) in Bulgaria -distribution and race composition. *Helia*, *29*(44), 111–120. https://doi.org/10.2298/hel0644111s.

Staskawicz, B. J., Ausubel, F. M., Baker, B. J., Ellis, J. G., & Jones, J. D. G. (1995). Molecular Genetics of Plant Disease Resistance. *Science*, 268(6), 661–667.

Sujatha, M. (2006). Wild Helianthus Species Used for Broadening the Genetic Base of Cultivated Sunflower in India. *Helia*, *29*(44), 77–86. https://doi.org/10.2298/hel0644077s.

Şahin, M. (2019). Bazı Yabani Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek Dna İçeriklerinin Belirlenmesi.Trakya Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Edirne.

Sestacova, T.; Giscă, I.; Cucereavîi, A.; Port, A.; Duca, M. (2016). Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. Biotechnol. Biotechnol. Equip. 2016, 30, 685–691.

Tang, S., Heesacker, A., Kishore, V. K., Fernandez, A., Sadik, E. S., Cole, G., & Knapp, S. J. (2003). Genetic mapping of the *Or5* gene for resistance to Orobanche Race E in sunflower. *Crop Science*, *43*(3), 1021–1028. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1021.

Tavoljanskiy, N. P., Tavoljanskiy, A. N., Chiryaev, P. V., & Tikhomirov, V. T. (2004). Interspecific Hybridization in Sunflower Breeding for Economically Valuable Characteristics. *Helia*, *27*(40), 143–148. https://doi.org/10.2298/hel0440143t.

Tavoljanski, N., Yesaev, A., Akhtulova, E., Tikhomirov, V., & Yakutkin, V. (2002). Using the collection of wild species in sunflower breeding. *Helia*, *25*(36), 65–78. https://doi.org/10.2298/hel0236065t.

Terzić, S., Dedić, B., Atlagić, J., Jocić, S., & Tančić, S. (2010). Screening wild sunflower species and F1 interspecific hybrids for resistance to broomrape. *Helia*, *33*(53), 25–30. https://doi.org/10.2298/HEL1053025T.

Tolmachyov VV. (1990). Genetic control of sunflower resistance to broomrape - *Orobanche cumana* Wallr. PhD -thesis, Leningrad. 23 p. [In Russian].

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., 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, K.P., Arumuganathan, K., Gill, K.S. (2001). DNA Content and Ploidy Determination of Bromegrass Germplasm Accessions by Flow Cytometry. *Crop Science*, Vol, 41:1629–1634.

TÜİK. (2019). Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı Ankara. http://www.tüik.gov.tr (Erişim Tarihi: 25.12.2019).

Tüik. (2021). http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16020.

Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: Features and applications. *Trends in Biotechnology*, *23*(1), 48–55. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005.

Vassilevska-Ivanova, R., Tcekova, Z. (2003). Hybridization in perennial sunflowers: *Helianthus annuus* x *Helianthus pauciflorus* ssp. s*ubrhomboideus*. *Bulgarian Academy of Sciences*, 56(12): 97-102.

Vear, F. (2011). Helianthus. In Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Oilseeds (pp. 161–170). *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14871-2_9.

Vear, F., & Grezes-Besset, B. (2010). Progress in breeding sunflowers for resistamce to Sclerotinia. *Proceedings of the International Symposium: Sunflower Breeding on Resistance to Diseases.*, 184.

Vear, F. (2004). Breeding for Durable Resistance to the Main Diseases of Sunflower. Proc. *16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA.

Velasco, L., Pérez-Vich, B., Yassein, A. A. M., Jan, C. C., Fernández-Martínez, J. M. (2012). Inheritance of resistance to sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in an interspecific cross between *Helianthus annuus* and *Helianthus debilis* subsp. *tardiflorus*. *Plant Breeding*, 131(1), 220–221. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01915.x.

Velasco, L., Pérez-Vich, B., Jan, C. C., & Fernández-Martínez, J. M. (2007). Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) race F in a sunflower line derived from wild sunflower species. *Plant Breeding*, *126*(1), 67–71. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01278.x.

Veronesi, C., Bonnin, E., Calvez, S., Thalouarn, P., & Simier, P. (2007). Activity of secreted cell wall-modifying enzymes and expression of peroxidase-encoding gene following germination of *Orobanche ramosa*. *Biologia Plantarum*, *51*(2), 391–394. https://doi.org/10.1007/s10535-007-0084-y.

Vieira, M. L. C., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. de F. (2016). Microsatellite markers: What they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, *39*(3), 312–328. https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.

Vranceanu, A.V., Tudor, V.A., Stoenescu, F. M., Pirvu, N. (1980). Virulence groups of *Orobanche cumana* Wallr., different hosts and resistance sources and genes in sunflower. *Proceedings of 9th International Sunflower Conference*, 74—82. Torremolinos, Spain.

Watson, E. E. (1929). Contributions to a monograph of the genus Helianthus. New York University.

www.faostat.fao.org. (2019).

Yu, J. K., Tang, S., Slabaugh, M. B., Heesacker, A., Cole, G., Herring, M., Soper, J., Han, F., Chu, W. C., Webb, D. M., Thompson, L., Edwards, K. J., Berry, S., Leon, A. J., Grondona, M., Olungu, C., Maes, N., & Knapp, S. J. (2003). Towards a saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower. *Crop Science*, *43*(1), 367–387. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0367.

Yu, Y. G., Buss, G. R., & Saghai Maroof, M. A. (1996). Isolation of a superfamily of candidate disease-resistance genes in soybean based on a conserved nucleotide-binding site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(21), 11751–11756. https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11751.

Zare, G., & Dönmez, A. A. (2013). Two new records of the genus Orobanche (Orobanchaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, *37*(3), 597–603. https://doi.org/10.3906/bot-1205-44.

Zhang, X., Zheng, C., Wang, M., An, Y., Zhao, S., Jan, C.C. (2018). Identification of Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) Biotypes in the Main Sunflower Growing Areas of China. *In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania*, 2–4 July 2018; pp. 19–22.

Zoltán P. (2001). Napraforgószádor - (*Orobanche cumana* Loefl.) populációk patogenitásának vizsgálata. Növényvédelem 37: 173-18

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Müge TÜRKOĞLU KOÇ

EĞİTİM BİLGİLERİ

Doktora: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mühendislik Bölümü Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı / 02.2016 – 01.2022

Doktora Tezi: Akış Sitometri Yöntemiyle Yabani Ayçiçeği Türlerinde Çekirdek DNA İle Ploidi Analizi Ve Orobanşa Dayanım İçin Seçici Moleküler Markırların Araştırılması (Tamamlandı). Danışman: Prof. Dr. Yalçın KAYA

Yüksek Lisans: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı / 09.2011 – 04.2014

Yüksek Lisans Tezi: " Trakya Bölgesi'nde Bulunan *Viola* L. Türleri Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Araştırmalar " (Tamamlandı). Danışman: Prof. Dr. Feruzan DANE

Ön Lisans: Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi/ Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Tarım Programı/8.6.2021

Lisans: Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü / 09.2007 – 06.2011

Lise: Diyarbakır Cumhuriyet Lisesi / 2004 mezunu

İŞ TECRÜBESİ

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde TÜBİTAK'ın Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesinde bursiyer olarak çalışmaktayım.(2019-2022)

Trakya Üniversitesi Devlet Konservatuvarı Bale ve Müzik Ortaokulu'nda Fen Bilimleri Öğretmeni 02.2014 – 01.2018

AKADEMİK VE İDARİ GÖREV

2019-2022 TÜBİTAK Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesi 'Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi' adlı projede bursiyer olarak çalışmaktayım.

2014-2018 Trakya Üniversitesi Devlet Konservatuvarı Bale ve Müzik Ortaokulu'nda Fen Bilimleri derslerine girdim.

2013-2014 Trakya Üniversitesi Balkan Arboretumu Canlı Ağaç Müzesi projesinde çalıştım.

2012-2014 yılından beri EDTU Herbaryum sorumlusu Doç. Dr. Mehmet Aybeke'nin yanında Herbaryum çalışmalarında bulundum.

2009-2013 yılları arasında Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesinde Yrd. Doç. Dr. Nuran Ekici'nin yanında preperasyon çalışmalarında bulundum.

YAYINLAR

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

Koç Türkoğlu, M., Dane F., " Trakya Bölgesi'nde *Viola* L. (*Violaceae*) Cinsi" IJABES, Vol:3, Issue: 2(1-3), 2667-6540, 2021.

Müge Türkoğlu & Feruzan Dane (Reports 110-113) 2012: *Viola* L. (Violaceae), in: Vladimirov V, Dane F.,Matevski. V.,Stevanović V& Tan K.,: New chorological data fortheBalkans: 19 PhytologicaBalcanicae 18 (2): 223, Sofia,

AKBAŞ H. , LEVENTER S. ,DANE F. , **TÜRKOĞLU M.** ve KÖSE B. "Katyonik Gemini Surfaktant (10-2-10), (12-2-12) ve Ticari Surfaktant CTAB'nın Allium cepa L. Üzerindeki Fitotoksik Etkisi" Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 7 (2): 06-09 (Şubat 2014)

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler (Proceedings)

Dane F., Akbaş H., **Türkoğlu M** and Leventer S. "INTERNATIONAL Conference on Chemical, Environment and Biological Sciences (CEBS-2014)", KUALA LUMPUR (MALAYSIA) , "Phytotoxic Effects of dimeric cationic surfactantGemini (16-2-16), (16-6-16)and (16-10-16)" (Eylül 2014)

Uluslararası Konferans ve Sempozyumlar

Dane, F., Akbaş, H., **Türkoğlu M.**, Leventer, S., "Phytotoxic Effects of Dimeric Cationic Surfactant Gemini (16-2-16), (16-6-16) and (16-10-16)." IICBE Kuala Lumpur, MALAYSİA, 17-18 Eylül 2014.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

Koç Türkoğlu, M., Dane F., " Trakya Bölgesi'nde *Viola* L. (*Violaceae*) Cinsi", 8. Ulusal Botanik Kongresi, 22-24 Ekim 2021, Online, Abstracts Book, p. 13, Turkey [Sözlü bildiri, özet metin halinde basılmıştır].

Akbaş, H., Leventer S., Dane, F., **Türkoğlu M.,** Köse B., ''Katyonik Gemini Surfaktant (10-2-10), (12-2-12) ve Ticari Surfaktant CTAB nın Allium cepa L. Üzerindeki Etkileri.'' Ulusal Botanik Kongresi, Antalya, TÜRKİYE, 25-28 Ekim 2014.

PROJELER

TÜBİTAK Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesi 'Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi' (Proje no: 1190218) Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Yalçın KAYA, (2019-2022) Devam ediyor.

"Trakya Bölgesi'nde Bulunan *Viola* L. Türleri Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Araştırmalar" (Yüksek Lisans Tez Projesi-TUBAP-2013 /63), Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Feruzan DANE, Tamamlandı (04. 2014)

Trakya Üniversitesi Arboretumu Canlı Ağaç Müzesi, Bitkilendirme ve Bitkilerin Adlandırılması Çalışmaları, Seraların Kurulması ve Bakımı, 5 Mart 2013

KONGRE VE SERTİFİKALAR

8. Ulusal Botanik Kongresi / Online/ 22-24 Ekim 2021

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **E-AGBİOL 2021 Kongresi** / 1–3 Eylül 2021. (Organizasyon Komitesi)

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **E-AGRİBALKAN 2021 Kongresi** / 29 Ağustos-1 Eylül 2021.(Organizasyon Komitesi)

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Kulübü, **Biyoteknoloji V4 Konferansı** / 26-27 Aralık 2020

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü, **E-AGBİOL 2020 Kongresi** / 1-3 Eylül 2020. (Organizasyon Komitesi)

Trakya Üniversitesi ve Türk **İmmünoloji** Derneği XII. Bölgesel Sempozyumu / 26-27 Ekim 2017

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **19. Uluslararası Ayçiçeği Kongresi** / 29 Mayıs – 3 Haziran 2016

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü **21.Ulusal Biyoloji Kongresi** / 03-07 Eylül 2012

Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde Düzenlenen **DNA ve RNA Tabanlı Moleküler Yöntemler** Çalıştayı / 25-26 Nisan 2012

Trakya Üniversitesi **Kariyer Günleri** 2010 Katılım Belgesi / 28-29 Nisan 2010

SINAV BİLGİLERİ

ALES - Akademik Personel ve Lisansüstü Eğitimi Giriş Sınavı

YÖKDİL – Yabancı Dil Sınavı