T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİ (HELIANTHUS SPP) YABANİ TÜR VE MELEZLERİNİN OROBANŞA DAYANIKLILIK AÇISINDAN GENETİK KARAKTERİZASYONU

HAVVA AKAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. YALÇIN KAYA

EDİRNE-2023

HAVVA AKAR' ın hazırladığı **"AYÇİÇEĞİ (*HELIANTHUS SPP*) YABANİ TÜR VE MELEZLERİNİN OROBANŞA DAYANIKLILIK AÇISINDAN GENETİK KARAKTERİZASYONU"** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalında** bir **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri: İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Danışman

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

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

16/01/2023

Havva AKAR

Yüksek Lisans Tezi
Ayçiçeği (*Helianthus spp*) Yabani Tür ve Melezlerinin Orobanşa Dayanıklılık Açısından Genetik Karakterizasyonu
Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

ÖZET

Ayçiçeği dünyada önemli bir yağlı tohum olarak bilinmekte ve ülkemizde de en çok tercih edilen yağ bitkisi olarak görülmektedir. Ancak ülke üretimi yeterli olmadığından bitkisel ihtiyacımızın yarısının ithalat yoluyla karşılanmaktadır. Üretimi kısıtlayan en büyük sebeplerden biri ise ayçiçeğinde %100' lere varan verim kaybına sebep olan orobanş parazitidir. Ülkemizin birçok bölgesinde ekimi yapılan ayçiçeği bitkisinin ekim alanlarında görülen *Orobanche cumana* Wallr. paraziti, sürekli kendini yenileyerek yeni ırklar meydana getirmektedir. Bu durum araştırmacıları devamlı olarak yeni direnç genlerinin arayışına sokmuştur. Orobanşın yeni ırklarının gen kaynağı olan yabani gen kaynaklarının markır destekli seleksiyon (MAS) ile birlikte kullanılması yeni hibrit ayçiçeği gelişimi için en etkili ve verimli yöntemlerden biridir. Moleküler markırlar sayesinde dayanıklı ırklar kısa sürede belirlenerek hibrit çeşitleri elde etme süresi kısalmakta ve doğru, güvenilir sonuçlarla sürekli bir dayanıklılık sağlanarak yüksek oranda verimler elde etme imkanı ortaya çıkmaktadır.

Yapılan bu tez çalışmasında Trakya bölgesindeki orobanş ırklarına dayanıklılık sağlayan genler hedef alınarak, bu dayanıklılık genlerinin seleksiyonunda kullanılan markırlar, literatür taramaları sonucu belirlenerek kullanılmıştır. Araştırmamızda kullanılan yabani ayçiçeği türleri, alttürleri ve aksesyonları ABD Ames, IA, da bulunan Kuzey Merkez Bölge İstasyonu'ndan alınmıştır. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden dayanıklı, hassas kontrol çeşitleri ve melez çeşitler temin edilmiştir. Yabani tür ve alttürlerden oluşan 65 genotipte ve melez çeşitler olan 33 genotipte orobanş

parazitine dayanıklılık testleri yapılmıştır. Sonrasında moleküler markırlar yoluyla istenilen dayanıklılık genlerinin varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

ORS665 markırıyla yapılan çalışma sonucunda 281bp bantları çoğaltılmış olup morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 67 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 44 tanesinde 281bp büyüklüğünde fragment görüldüğünden; bu 44 bireyin Or_4 dayanıklılık genini içerdiği öngörülmüştür. RGC172 markırıyla yapılan çalışmada 550bp ve 620bp bantları çoğaltılmış olup hastalık testi kapsamında 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 45 tanesi 550bp büyüklüğündeki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 45 bireyin Or_5 dayanıklılık geninin RGC172- 550bp allellerinin ilişkili olduğu düşünülmektedir. RGC172 markırının 620bp büyüklüğündeki DNA fragmenti ise 44 bireyde gözlemlenmiştir ve bu 44 bireyin Or_5 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir. RGC181 markırıyla yapılan çalışmada 550bp ve 600bp bantları çoğaltılmış olup morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında morfolojik olarak 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 38 tanesi RGC181 markırının her iki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 38 bireyin Or_5 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir. ORS1036 markırıyla yapılan çalışmada 240bp bantları çoğaltılmış olup morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 41 tanesi 240bp büyüklüğündeki allel açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 41 bireyin Or_6 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir. ORS1114 markırıyla yapılan çalışmada ise 265bp bantları çoğaltılmış ve morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 67 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 52 tanesi 265bp büyüklüğündeki allel açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 67 bireyin Or_6 dayanıklılık genini içerdiği öngörülmüştür. ORS683 markırıyla yapılan çalışmada ise herhangi bir ayırt edici fragment oluşumu gözlenmemiştir.

Yıl : 2023
Sayfa Sayısı : 86
Anahtar Kelimeler : Ayçiçeği, Yabani ayçiçeği, MAS, Orobanş, Direnç, Moleküler markır

Master's Thesis

The Genetic Characterization of Wild Sunflower Species (*Helianthus spp*.) and Interspecific Hybrids Based on Broomrape Resistance

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Deparment of Genetic and Bioengineering

ABSTRACT

Sunflowers are recognized as a significant source of oil globally and are the most favored oil crop in our country. However, since the country's production is not sufficient, half of our vegetable needs are met through imports. One of the biggest reasons limiting production is the broomrape parasite, which causes yield loss up to 100% in sunflower. *Orobanche cumana* Wallr. parasite creates new races by constantly renewing itself. As a result, researchers are continuously searching for new resistance genes. The use of wild gene sources, which are the gene sources of new strains of broomrape, together with marker assisted selection (MAS) is one of the most effective and efficient methods for the development of new hybrid sunflowers. Thanks to molecular markers, resistant breeds are determined in a short time, the time to obtain hybrid varieties is shortened, and it is possible to obtain high yields by providing continuous resistance with accurate and reliable results.

In this thesis study, by targeting the genes that provide resistance to the orobanche breeds in the Thrace region, the markers used in the selection of these resistance genes were determined as a result of the literature review. The wild sunflower species, subspecies, and varieties used in our study were obtained from the North Central Regional Station in Ames, IA, USA. Resistant, sensitive control varieties and hybrid varieties were obtained from Trakya Agricultural Research Institute. Resilience tests were performed on 65 genotypes consisting of wild species and subspecies and 33 genotypes, which are

hybrid varieties. Afterwards, the presence of desired resistance genes was tried to be determined by molecular markers.

As a result of the study with the ORS665 marker, the 281bp bands were amplified and compared with the morphological observation results. Within the scope of the disease test, it was observed that 67 individuals were resistant and 44 of them had 281bp fragments; these 44 individuals were predicted to contain the Or_4 endurance gene. In the study conducted with the RGC172 marker, the 550bp and 620bp bands were amplified, and 68 individuals were observed to be resistant within the scope of the disease test, and 45 of them gave conclusive results in terms of the 550bp allele, so it is thought that the RGC172-550bp alleles of the Or_5 resistance gene of these 45 individuals are related. The 620bp DNA fragment of the RGC172 marker was observed in 44 individuals and these 44 individuals are thought to contain the Or_5 resistance gene. In the study with the RGC181 marker, the 550bp and 600bp bands were amplified and compared with the morphological observation results. Within the scope of the disease test, it was observed that 68 individuals were morphologically resistant, and 38 of them were considered to contain the Or_5 resistance gene, since they gave conclusive results in terms of both alleles of the RGC181 marker. In the study with the ORS1036 marker, 240bp bands were amplified and compared with the morphological observation results. Within the scope of the disease test, 68 individuals were observed to be resistant, and since 41 of them gave confirmatory results in terms of the 240bp allele, these 41 individuals are thought to contain the Or_6 resistance gene. In the study with the ORS1114 marker, 265bp bands were amplified and compared with the morphological observation results. Within the scope of the disease test, 67 individuals were observed to be resistant, and since 52 of them gave conclusive results in terms of the 265bp allele, it was predicted that these 67 individuals contained the Or_6 resistance gene. No significant fragment formation was observed in the study with the ORS683 marker.

Year : 2023
Number of Pages : 86
Keywords : Sunflower, Wild sunflower, MAS, *Orobanche cumana* Wallr., Resistance, Molecular marker

ÖNSÖZ

Trakya Üniversitesi' nde lisans eğitimimle başladığım bu serüvende; yüksek lisans eğitimim boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi birikimi ve tecrübelerini sevgi ve sabırla aktaran, dünyada sayılı ayçiçeği uzmanlarından olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Yalçın KAYA'ya (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı), iki yıl boyunca gerek teorik dersler, gerekse laboratuvar çalışmalarında her türlü bilgi birikimini, bilime ve hayata dair tüm tecrübelerini benimle paylaşan kıymetli hocam Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ'ye (Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), ıslah konusunda ülkemizin en değerli hocalarından olan Doç. Dr. Necmi BEŞER'e (Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), laboratuvar çalışmalarım boyunca her türlü deneyim ve tecrübelerini benimle sabırla paylaşan çok değerli Öğr. Gör. Emrah AKPINAR ve Arş. Gör. Metin Burak TATLISES'e, orobanş ve bitki materyallerimin temininde yardımlarını esirgemeyen Dr. Veli PEKCAN ve Mehmet İbrahim YILMAZ'a (Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü), teşekkürlerimi borç bilirim. Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Dr. Müge KOÇ'a, çalışmalarımda destek ve yardımlarını hissettiğim çok sevgili arkadaşlarım Elifgül AKSU ve Nilsu İZGİ'ye, çalışmalarımızı beraber yürüttüğümüz 2 yıl boyunca aynı laboratuvarı paylaştığım çok sevgili arkadaşım Simge BAĞCI'ya ayrıca teşekkür ederim. Çalışmam boyunca göstermiş oldukları maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olduklarını bildiğim çok sevdiğim aileme teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TÜBİTAK 119O218 nolu "Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi" projesi ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TUBAP 2020/62

numaralı proje ile desteklenmiştir. TÜBİTAK'a ve TUBAP birimine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT vi
ÖNSÖZ viii
İÇİNDEKİLER x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xii
ÇİZELGELER DİZİNİ xv
ŞEKİLLER DİZİNİ xvi
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
1.1. Ayçiçeği ve Biyolojisi 1
1.2. Ayçiçeği ve Tarihi 2
1.3. Ayçiçeğinin Dünya ve Türkiye Açısından Önemi 2
1.4. Ayçiçeği Tarımını Sınırlayan Faktörler 5
1.5. Bitkilerde Biyotik Stres Faktörlerine Karşı Dayanıklılık 6
1.6. Ayçiçeğinde *Orobanche cumana* Wallr. 7
1.7. Değişen Irk Kompozisyonu ve Direnç Genleri 11
1.8. Yabani Ayçiçeği Gen Kaynakları ve Orobanş 14
1.9. Moleküler Markırlar ve Dayanıklılık Islahında kullanımı 20
1.10. Ülkemizdeki Islah Programlarında Moleküler Markırlara Duyulan İhtiyaç 21
1.11. Literatürde Yer Alan *Or* Genleri ile Bağlantılı Moleküler Markırlar 22
BÖLÜM 2 24
MATERYAL ve YÖNTEM 24
2.1. Bitki Materyali 24
2.2. Orobanş Materyali 28
2.3. Hastalık Testleri 28
2.4. Moleküler Analizler 31

2.4.1. DNA İzolasyonu....31
2.4.2. DNA Konsantrasyon ve Kalite Tayini....32
2.4.3. Or_2, Or_4, Or_5, Or_6, $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ Geni İçin Markır Çalışmaları....33
BÖLÜM 3....37
BULGULAR....37
3.1. Hastalık Testi Sonuçları....37
3.2. *Or4* İçin Kullanılan Markırların Sonuçları....42
3.2.1. ORS665 Markırı....42
3.3. Or_5 İçin Kullanılan Markırların Sonuçları....43
3.3.1. RGC172 Markırı....43
3.3.2. RGC181 Markırı....44
3.4. Or_6 İçin Kullanılan Markırların Sonuçları....45
3.4.1. ORS1036 Markırı....45
3.4.2. ORS1114 Markırı....46
3.5. $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ İçin Kullanılan Markırın Sonuçları....50
3.5.1. ORS683 Markırı....50
BÖLÜM 4....51
SONUÇLAR VE TARTIŞMA....51
KAYNAKLAR....58
ÖZGEÇMİŞ....67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Dizini

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

Kısaltmalar Dizini

ABD :	Amerika Birleşik Devletleri
AFLP :	Amplified Fragment Length Polymorphism (Artırılmış Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)
ark. :	arkadaşları
Bp :	Base Pair (Baz Çifti)
CTAB :	Cetyl trimethylammonium bromide
DNA :	Deoksiribonükleikasit
DNA :	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP :	Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
EDTA :	Etilendiamin tetraasetik asit
EtBr :	Etidyum Bromür
HCl :	Hidroklorik Asit
Helianthus annuus :	Ayçiçeği
LG :	Bağlantı Grubu
MAMPs :	Microbe Associated Molleculer Patterns (Mikropla İlgili Moleküler Yapılar)
MAS :	Markır Destekli Seleksiyon
$MgCl_2$:	Magnezyum Klorür
MÖ :	Milattan önce
NaCl :	Sodyum Klorür
NaOCl :	Sodyum Hipoklorit
NCRPIS :	Kuzey Merkez Bölge Bitki Tanıtım İstasyonu
NPGS :	Ulusal Bitki Germplazm Sistemi
OD :	Optik dansite

***Or*:**	Orobanş Dayanıklılık Genleri
PAMPs :	Pathogen Associated Molleculer Patterns (Patojen ile İlgili Moleküler Yapılar)
PCR :	Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
ppm :	Milyonda bir birim
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)
SAR :	Sistemik Kazanılmış Direnç
SDS :	Sodyum Dodesil Sülfat
SSR :	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
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
TÜİK :	Türkiye İstatistik Kurumu
USDA-ARS :	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı- Tarımsal Araştırma Servisi
UV :	Ultraviole Işığı
vd. :	Ve diğerleri

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2022 yılı ülkelere göre ayçiçeği üretimi (USDA, 2022). 4
Çizelge 1.2. 2020-2021 Bitkisel Ürün Denge Tabloları (TÜİK, 2022). 5
Çizelge 1.3. Bazı ülkelerde bulunan *Orobanche cumana* ırkları (González, 2021; Molinero-Ruiz vd., 2015)..... 10
Çizelge 1.4. Ayçiçeğinde görülen orobanş ırkları ve bunları kontrol eden dayanıklılık genleri (Fernández-Martínez vd., 2008)..... 13
Çizelge 1.5. Tek yıllık *Helianthus* türleri (Schilling 2006; Schilling ve Heiser, 1981).. 15
Çizelge 1.6. Çok yıllık *Helianthus* türleri (Schilling 2006; Schilling ve Heiser, 1981; Stebbins vd., 2013)..... 16
Çizelge 1.7. Tek yıllık yabani türler ve orobanş ırklarına dayanıklılık durumları..... 19
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan ayçiçeği türlerinin aksesyon numaraları ve orijinleri 24
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan melez ayçiçeği çeşitleri 26
Çizelge 2.3. Çalışmada standart olarak kullanılan bitki materyali listesi 27
Çizelge 2.4. Çalışmada kullanılan moleküler markırlar ve bağlantılı olduğu *Or* genleri 34
Çizelge 2.5. Orobanşın son ırklarına dayanıklılık genlerinin tespitinde kullanılan markırlar..... 34
Çizelge 2.6. Kullanılan primerlerin PCR içerikleri..... 35
Çizelge 2.7. SSR'lar için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları (Touchdown) 35
Çizelge 2.8. RGA' lar için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları (Touchdown)..... 35
Çizelge 2.9. ORS683 için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları 35
Çizelge 3.1. Aksesyonların orobanş testleri sonucu orobanş dayanım durumları 38
Çizelge 3.2: Aksesyonların orobanş dayanım durumları ve moleküler markır testleri... 47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. 2021/2022 yılı verilerine göre dünya çapında yağlı tohum üretim miktarları (milyon ton)....3
Şekil 1.2. Ülkemizde ayçiçeği ekim alanlarının illere göre dağılımı (Ayçiçeği Ürün Raporu, 2022)....3
Şekil 1.3. *Orobanche cumana*....8
Şekil 1.4. Orobanşın ayçiçeğine olan etkisi....8
Şekil 2.1. Hastalık testleri yapılmış örneklerin toplanması....27
Şekil 2.2. Çalışmada parazit olarak kullanılan materyal....28
Şekil 2.3. Bitki örneklerinin çimlendirilmesi ve morfolojik gözlemi....30
Şekil 2.4. Ayçiçeği Or_5 Gen Bölgesi Genetik Haritalamasında Markırlar ve Uzaklıkları (Tang vd., 2003)....33
Şekil 3.1. Yabani ayçiçeği ve melez ayçiçeği genotiplerinin orobanşa dayanıklılığının kontrolü....41
Şekil 3.2. (a): Orobanşa dayanıklı P130 bitkisi; (b): Orobanşa hassas 9661 bitkisi……41
Şekil 3.3. ORS665 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)....42
Şekil 3.4. RGC172 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü 43
Şekil 3.5. RGC181 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)....44
Şekil 3.6. ORS1036 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130, LC1093A= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)....45
Şekil 3.7. ORS1114 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= Negatif Kontrol)..46
Şekil 3.8. ORS683 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü 50

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Ayçiçeği ve Biyolojisi

Gen merkezi Kuzey Amerika olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.); *Asterales* takımının, *Asteraceae* (Papatyagiller) familyasının *Helianthus* cinsine ait olup 2n=34 kromozomlu olan tek yıllık kapalı tohumlu bir bitkidir. Genel olarak *Helianthus* cinsi 51 tür ve 19 alt türe sahip olup bunlardan 14 çeşidin tek yıllık ve 37 çeşidin çok yıllık büyüme alışkanlığı vardır ve bu türler farklı kromozom sayıları içermektedir (Meral, 2019). Somatik kromozom diploid tür sayısı 2n = 2x = 34' tür. Bununla birlikte, çeşitli *Helianthus* türlerinde tetraploid (2n = 4x = 68) ve hekzaploid (2n = 6x = 102) gibi ploidi seviyeleri de gözlenmiştir. Bunlar arasında, diploid türler tek yıllıkken poliploid türler çok yıllıktır (Rauf, 2019). Ayçiçeğinin gözlemlenebilen morfolojik özellikleri genellikle toprak özelliklerine göre değişerek, deniz seviyesinde ve deniz seviyesinden 3000 m yüksekliğe kadar yetişebilme kabiliyeti göstermektedir. Bitkiler olgunlaşınca bitki fenotiplerinde değişik varyasyonlar gözlemlenmektedir. Boyları 11,4 m- 1,6 m arasında değişmektedir. Yaprak ve sap yüzeyleri pürüzsüz ya da tüylü ve bitkiler dallı veya dalsız olabilmektedirler. İçerisinde bol miktarda karbonhidrat, protein, vitamin ve mineral maddeleri içeren ayçiçeği, tohumlarında da doymuş ve doymamış yağ asitlerini barındırmaktadır (Meral, 2019).

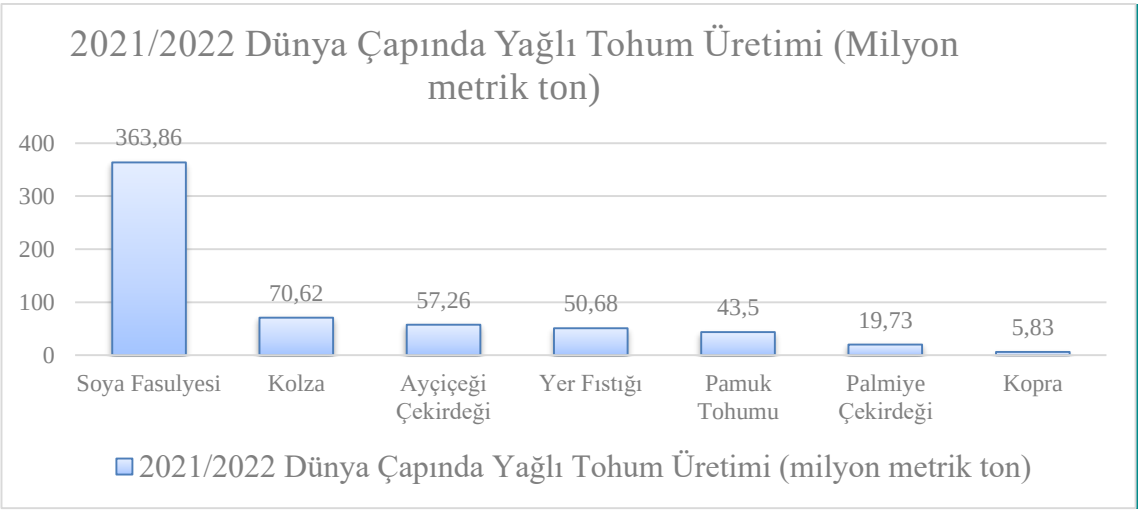
1.2. Ayçiçeği ve Tarihi

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Kuzey Amerika'ya özgü bir bitki olup, ABD, Kanada ve Meksika'nın çoğunda yabani olarak yetişmektedir. 1500'li yılların başında İspanyol kaşifler çekici ve gösterişli şekli nedeniyle, ayçiçeğini süs bitkisi olarak kullanmışlardır. Ayçiçeği ekiminin ilk defa Arizona ve New Mexico' da M.Ö. 3000 yıllarında, Amerikan Kızılderilileri tarafından başladığı belirtilmektedir (Semelczi, 1975). İlk Avrupalı kâşifler Amerika'ya geldiklerinde, arazilerde yaygın olarak yetiştirildiği görülmüştür (Heiser, 1951). İlk olarak un veya ekmek yapımı için, sonrasında ilaç, boya ve gıdalar için bir yağ kaynağı olarak, saça uygulamak için ve çanak çömlek yapımında kullanılan veya özel törenlerde kullanılan boyalar için pigment olarak kullanılmıştır. Ayçiçeği, 16. yüzyılda Avrupa'ya tanıtılmış ve yavaş yavaş Rusya'ya yayılarak, burada yaygın olarak yağlı tohum bitkisi olarak tanınmıştır (Fick ve Miller, 1997). Şu anda Antarktika hariç her ülkede ayçiçeği bulunmaktadır.

1.3. Ayçiçeğinin Dünya ve Türkiye Açısından Önemi

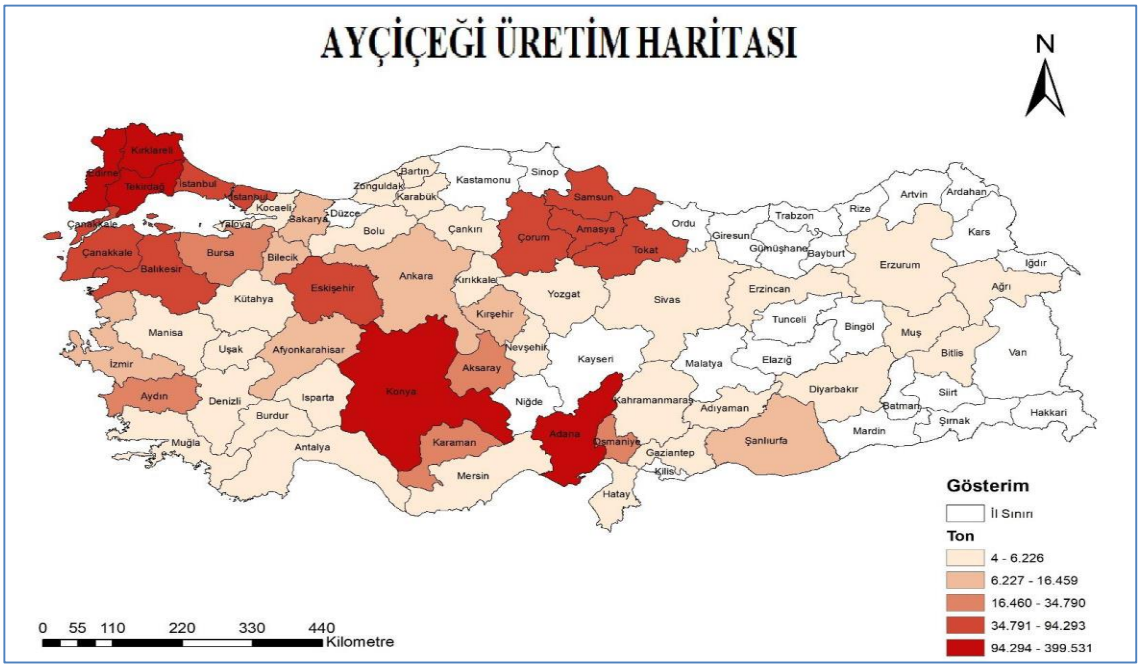
Dünyada başlıca bilinen ve ekimi yapılan 7 büyük bitki soya fasulyesi, pamuk tohumu, yer fıstığı, kolza tohumu, palmiye çekirdeği, kopra ve ayçiçeğidir. Kültürü yapılan ayçiçeğinin (*Helianthus annuus* L.); diğer bitkiler arasından öne çıkarak soya fasulyesi, kolza tohumu ve yer fıstığıyla birlikte yemeklik yağ kullanımı için yetiştirilen dünyanın en önemli dört yağ bitkisi arasında yerini almıştır (Şekil 1.1).

400 g/kg' dan fazla yağ içeren ayçiçeği bitkisi, yağ üreticilerinin en önemli hammaddeleri arasında yer almaktadır (Putt, 1997). Bu yüzden birçok ülkede yemeklik yağın ana kaynağı ayçiçeği yağı olarak görülmektedir. Yağ piyasalarında önemli bir değer görmesinin yanı sıra diğer pazarlarda da önemli miktarlarda ayçiçeği tüketilmekte ve ticareti yapılmaktadır. Ayçiçeğinin iri tohumları, kavrulmuş ve bütün halde çerezlik olarak tüketilmekte ve küçük tohumları ise, kabuğu çıkartılmış olarak pasta ve börek sektöründe kullanılmaktadır. Yine küçük tohumları kabukları çıkarılmadan evcil ve yabani kuşların beslenmesinde kuş yemi olarak kullanılmaktadır (Putt, 1997). Ayrıca yağı çıkarılan ayçiçeğinin geriye kalan küspesi, yüksek miktarda protein içerdiğinden, karma yem üretiminde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.



Şekil 1.1. 2021/2022 yılı verilerine göre dünya çapında yağlı tohum üretim miktarları (milyon ton) (Shahbandeh, 2022)

Ayçiçeği, dünyada ve ülkemizde yağ üretimi amacıyla yetiştirilen en önemli yağlık bitkiler arasında olup, ülkemizde en fazla ekim alanına sahip ve üretimi yapılan yağlı tohumdur. Türkiye'de yapılan üretimin neredeyse yarısı, Marmara Bölgesi'nde yapılırken, bunu sırasıyla İç Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz Bölgesi takip etmektedir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Ülkemizde ayçiçeği ekim alanlarının illere göre dağılımı (Ayçiçeği Ürün Raporu, 2022).

Ayçiçeği üretimine olan talep her geçen yıl artış göstermektedir. Tohumlarında barındırdığı yüksek orandaki doymuş ve doymamış yağ asitleri, birim alandan elde edilen yağ miktarının yüksek olmasını ve ayçiçek yağının kalitesinin de yüksek olmasını sağladığından, yüksek kaliteli ayçiçek yağı üretimi, ayçiçeği yetiştiriciliğinde büyük bir sebep oluşturmaktadır (Meral, 2019). Daha farklı bir etken olarak nüfus artışı ve uygun fiyatlı alternatif yağların bulunmaması, ayçiçeği yağı üretimini ve yüksek bir oranda tüketimini tetiklemektedir. Yağlık ayçiçeği ekimi; yağ elde etmek, hayvanlara yem olması için küspe oluşturmak ve biyodizel üretimi yapmak amacıyla yapılmaktadır. Üretilen ayçiçeği tohumlarının yaklaşık %90' lık kısmı ayçiçek yağı için işlenmekte ve geri kalan kısmı ise çerezlik olarak tüketilmektedir. Ülkemizde yağlık ayçiçeği üretimi, genelde Trakya- Marmara Bölgesi' nde yapılırken, çerezlik olarak üretimi ise, çoğunlukla İç ve Doğu Anadolu Bölgesinde yapılmaktadır. Dünya ayçiçeği üretimi son yıllarda 50 milyon ton civarında olup, 2022 yılında Türkiye üretimde ve ekim alanlarında dünya üretiminin %4'ünü gerçekleştirerek dünyada ilk altıncı sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1). Ama buna rağmen ülkemizde bitkisel yağ üretimi yeterli olmayıp, dünya ayçiçeği ithalatının yaklaşık %33' ünü gerçekleştiren Türkiye ayçiçeği tohumu ithalatında dünyada birinci sıradadır.

Çizelge 1.1. 2022 yılı ülkelere göre ayçiçeği üretimi (USDA, 2022).

Ülkeler	**Dünya Üretimi (%)**	**Üretim (1000 MT)**
Rusya	31	15.500
Avrupa Birliği	21	10.500
Ukrayna	19	9.500
Arjantin	8	4.200
Çin	6	2.800
Türkiye	4	1.850
ABD	2	1.254
Güney Afrika	2	1.030
Kazakistan	2	1.000
Sırbistan	1	700

İhracatta öne çıkan ülke isimleri ise Rusya, Ukrayna, Arjantin ve AB ülkeleridir. 24 Şubat 2022'de Rusya'nın Ukrayna'yı işgaliyle başlayan savaş iki büyük ayçiçeği üreticisi olan ülke arasında gerçekleştiği için tarım sektörünü sekteye uğratmıştır. Özellikle ayçiçek yağı, mısır ve buğdaya bağımlı olan ülkelerde gıda tedarik zincirini etkilemiştir. ABD, Avrupa Birliği ve müttefikleri aracılığıyla belirlenen mevcut yaptırımlar, Rusya tarım ürünlerinin ticaretini yasaklamasıyla, buğday ve yemeklik yağ alanında çok büyük açıklar meydana getirmiştir (Jagtap vd., 2022).

2020-2021 yılında ülkemizde ayçiçeği üretim ve kullanım miktarı Çizelge 1.2. de verilmiştir. 2022 yılında Türkiye'de ayçiçeği üretimi %5,6 oranında artarak, yaklaşık 2,6 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Konya, Adana, Edirne, Tekirdağ, Kırklareli illeri toplam üretimin %64' üne sahiptir (TÜİK, 2022).

Çizelge 1.2. 2020-2021 Bitkisel Ürün Denge Tabloları (TÜİK, 2022).

2020-2021 Ayçiçeği Kullanımı Verileri	**Ayçiçeği**
Üretim (Ton)	2 067 004
Ekilen alan (Hektar)	728 854
Üretim kayıpları (Ton)	16 536
Kullanılabilir üretim (Ton)	2 050 468
İthalat (Ton)	3 135 431
Yurt içi kullanım (Ton)	3 281 673
İnsan tüketimi (Ton)	3 205 107
Tohumluk kullanım (Ton)	10 933
Kayıplar (Ton)	65 633
İhracat (Ton)	2 024 944

1.4. Ayçiçeği Tarımını Sınırlayan Faktörler

Üretimdeki ilerlemeye rağmen, ayçiçeğinin normal gelişimini etkileyen faktörler vardır. Ayçiçeğinin dünya genelinde yetiştirildiği düşünüldüğünde, çözümü güç olan konulardan biri bitkinin, abiyotik veya biyotik faktörleri tehdit konusu olmadan iyi bir verim sağlamak için doğru şekilde gelişimini sağlamaktır. Yabancı otlar ve parazitler ayçiçeği için büyük sorunlardır. Ayçiçeğinin büyüme ve üretimini kısıtlayan en önemli tehdit, parazitin bulunduğu alanlarda ayçiçeği mahsullerinde çok fazla verim kayıplarına neden olabilen ayçiçeği orobanşı (*Orobanche cumana* Wallr.) adı verilen parazit bir

bitkidir (Fatih ve Demirbaş, 2019; González, 2021). Bunun yanında ayçiçeği pası, ayçiçeği mildiyösü gibi diğer hastalık etmenleri de ayçiçeği gelişimini ve verimini kısıtlayan faktörler arasında yer almaktadır.

1.5. Bitkilerde Biyotik Stres Faktörlerine Karşı Dayanıklılık

Mantar, viral ve bakteriyel patojenlerin neden olduğu böcek zararlıları ve hastalıkları, dünya çapında mahsul veriminde önemli kayıplardan sorumludur. Bu hastalık ve zararlıların oluşturduğu ürün kayıpları ve verimde meydana gelen düşüşler yüzyıllardır yetersiz beslenme ve açlık gibi sorunlara yol açmıştır. Bunların yanında parazitler, bitkilerde önemli biyotik stres faktörlerindendir (Arı vd., 2022). Bitkilerin fiziksel ve kimyasal bariyerleri olduğu gibi kendilerini mikrobiyal patojenlere ve böceklere karşı korumak için de, doğal savunma mekanizmaları vardır ve aralarındaki bu savaş durmaksızın devam etmektedir. Fiziksel ve kimyasal bariyerleri geçebilen bir patojen, bitki tarafından hastalık etmeni olarak saptandığında, bitkinin hücresel savunma mekanizması aktif hale gelerek hastalık etmeni olan patojenin konukçu bitki içindeki gelişimi engellenir (Çalış, 2011; Nürnberger vd., 2004). Konukçu hücrelerinde oluşan bu dayanıklılık bitkinin sahip olduğu bitki düzenleyicileri tarafından tüm bitkiye yayılarak sistemik kazanılmış dayanıklılık oluşturulur (Nürnberger vd., 2004). Bitki savunma mekanizmalarının oluşturduğu seleksiyon baskısını patojenler hızlı bir şekilde fark edip mekanizmayı saf dışı bırakarak dayanıklılık mekanizması oluşumunda süreklilik sağlanamamaktadır. Bitki hücreleri biyotik bir sinyali hücre yüzey reseptörleriyle tanıyarak nükleusa kadar iletmektedir. Bitkiler, patojen saldırısında üretilen proteinleri kompleks bir tanıma sistemi oluşturarak tanımlamaktadır. Patojene ait olan bu proteinlere efektör denilmektedir. Bitki dayanıklılık genleri (R=Resistance) efektörleri tanımlamaktadır. Bitki immün sistemi olarak da isimlendirebileceğimiz bu sistem içerisinde 600 civarı R geni belirlenmiştir. Bitkiler immün reseptörleri ile ya temel savunma ya da R genleri aracılığıyla oluşturdukları savunma mekanizmasını kullanarak efektörleri algılarlar. Bitkiler, patojen saldırısından sonra, dominant dayanıklılık genleri yani R genleri tarafından geliştirilen, patojeni direkt veya dolaylı yollarla tanımayı sağlayan dayanıklılık mekanizmasını harekete geçirirler. R-proteinlerinin uyarısı ile meydana gelen dayanıklılık genellikle ırka özgüdür ve yalnızca R-proteinleri tarafından tanınan spesifik proteinleri yani avr proteinleri salgılayan patojenlere karşı etki

göstermektedir. Patojenin, bitki hücre duvarını yıkmasıyla ortaya çıkan kitin, lipopolisakkarid, flagellin, glukan gibi bitkiye zarar veren moleküllere patojen ile ilgili moleküler yapılar (PAMPs-Pathogen Associated Molleculer Patterns) denilmektedir. Patojen olmayan organizmaların istilası sonucu oluşan yapılara ise mikropla ilgili moleküler yapılar (MAMPs-Microbe Associated Molleculer Patterns) denir. Bitkiler, hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla MAMP'ları ve PAMP'ları tanıyarak patojene karşı savunma sinyallerini aktive ederler (Akpınar vd., 2019). Bu sinyal iletimi neticesinde hastalık gelişimi ile alakalı dayanıklılık genlerinin birçoğunun harekete geçirilmesi, etilen miktarının ve reaktif oksijen türevlerinin arttırılması, antimikrobiyal maddelerin oluşturularak programlı hücre ölümlerinin gerçekleştirilmesi ve konukçu hücre duvarının güçlendirilmesi gibi dayanıklılık reaksiyonları hızlı ve etkin biçimde başlatılır. Bu savunma mekanizmaları, bitki büyüme düzenleyicileri sayesinde bitkinin patojen tarafından istila edilememiş organlarına iletilmekte ve bu organların da ikincil savunma mekanizmalarını aktive etmesiyle tüm bitkide oluşan bu sisteme sistemik kazanılmış dayanıklılık (systemic acquired resistance: SAR) adı verilmiştir (Durrant ve Dong, 2004). Bununla birlikte, modern tarımda üretimi yapılan çeşitler, genellikle belirli patojenlere karşı direnç göstermez. Geleneksel bitki yetiştirme programlarla bazı bitkilere artırılmış direnç kazandırılmış olsa da, çeşitli böcek zararlılarına ve patojenlere karşı etkili direnç hala eksiktir. R-genlerinin belirlenmesi ve bunlarla ilişkili moleküler markırların tespitiyle oluşturulacak dayanıklı çeşitler, en ehemmiyetli ihtiyaçlarımız arasında yer almaktadır. Tarımsal biyoteknoloji çalışmaları dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarıyla literatüre katkıda bulunmaktadırlar.

1.6. Ayçiçeğinde *Orobanche cumana* Wallr.

Ayçiçeği orobanşı (*Orobanche cumana* Wallr.) klorofil içermemesi nedeniyle fotosentez kabiliyeti olmayan, besin, su ve mineral gibi büyüme gereksinimi temini için konukçu bitki köküne tutunan parazit bir bitkidir (Cvejić vd., 2020; González, 2021) (Şekil 1.3). Diploid olduğu bilinen orobanş paraziti 2n=38 kromozomludur. Ayrıca dansitometre ölçümleriyle genom boyutunun 1,42 Gb olduğu belirlenmiştir (Weiss-Schneeweiss vd., 2006). Geçmişte yapılan çalışmalar *O. cumana'* yı *Orobanche cernua'* nın alt türü olduğunu belirtirken, son yapılan çalışmalarla bunların birbirinden farklı türler oldukları rapor edilmiştir (Pujadas-Salva ve Velasco, 2000).



Şekil 1.3. *Orobanche cumana*



Şekil 1.4. Orobanşın ayçiçeğine olan etkisi

Eski Dünya' da birçok alanı kapsayarak yayılım gösterdiği ve neredeyse %100'e kadar verim düşüşlerine neden olup ayçiçeği üretimini kısıtladığı için bu holoparazitik bitki çok önemli biyotik zararlı olarak kabul edilmektedir (Şekil 1.4). Orobanşın bu derece zararlı kabul edilmesinin nedeni; tohum boyutlarının oldukça küçük olması ve çiçeklerinden binlerce tohum üretibilmesi nedeniyle, rüzgâr, böcek, su vb faktörlerce çok uzak mesafelere hızlı ve kolayca yayılması ve tohumlarının yeniden çimlenerek, soyunun devamı için yıllarca toprakta uyku halinde kalabilmesidir (Barut, 2017). Bu nedenle ayçiçeği üretici ve araştırıcıları tarafından oldukça büyük bir tehdit unsuru olarak görülmekte; orobanşa dayanıklı ayçiçeği çeşitler geliştirilmesine rağmen, doğada meydana gelen iklim değişiklikleri nedeniyle, yeni fizyolojik ırklar oluşturarak bu dayanıklılığı kırmaktadırlar (Aksoy ve Pekcan, 2014). Orobanş ayçiçeğinde tane verimini azaltmasının yanında, yağ ve protein oranı, bin tohum ağırlığı, bitki başına verim, bitki boyu, kalite ve tabla büyüklüğü gibi birçok önemli karakteri olumsuz oranda olarak etkilemektedir. Ülkemizde ayçiçeği tarımı, Birinci Dünya Savaşı sonrasında Balkanlarda başlamış ve sonrasında da ekim alanları tüm ülke geneline yayılmıştır. Ülkemizde ayçiçeği üretiminde orobanş sorunu ilk olarak 1956 yılında görülmüş ve 1981 yılında ise, orobanşın yeni ırkları Trakya bölgesinde ortaya çıkmıştır. 1956- 1982 yılları arasında Türkiye'de ayçiçeği üretimi yapılan alanlardaki verim orobanş kaynaklı olarak yaklaşık %50 oranında düşmüştür (Bulbul vd., 1991). Son yıllarda ülkemizde ve Doğu Avrupa ülkelerinde, orobanş parazitinin yeni ırklar meydana getirerek tekrar sorun olmaya

başladığı bilinmektedir. Böylece, orobanş parazitinin yaklaşık her yirmi yıllık dönemde bir defa dayanıklı çeşitlere karşı, kendini yenileyip dayanıklılık mekanizmasını kırabildiği rapor edilmiştir (Kaya, 2003; Labrousse vd., 2004).

Orobanş popülasyonları, virülanslık derecelerine göre ırklara ayrılır. Şu ana kadar, A'dan H'ye harflerle gösterilen sekiz ırkla rapor edilmiştir (Kaya, 2014). Ülkemizde şu anda bulunan orobanş parazitinin F, G ve H ırkları olduğu tahmin edilebilmekle birlikte, ilk görülen ırkların D ve E ırkları olabileceği düşünülmektedir (Kaya vd., 2004; Kaya vd., 2012; Molinero-Ruiz ve Domínguez, 2014). Orobanşın farklı ırklarına karşı direnç oluşturmak için *Helianthus* türünün germplazmasının değerlendirilmesi sonucu, yabani ayçiçeklerinde orobanşın yeni virülans ırklarına direnç sağlayan ana direnç genlerinin kaynağı olduğunu göstermiştir. Bunun yanında kültüre edilen ayçiçeği germplazmalarında da çok değerli direnç kaynakları görülmüştür. Romanya' da (Vranceanu vd., 1981) tarafından yürütülen genetik çalışmalarda beş orobanş ırkının görüldüğü ortaya koyulmuş, bilinen bu ırklara karşı orobanş dayanıklılığını içeren dominant genler belirlenmiş ve orobanş ırklarının tespitini kolaylaştırmak üzere *Or 1, Or 2, Or 3, Or 4 ve Or 5* genleri için "ırk ayırıcı set" oluşturulmuştur.

Orobanşın eski ırklarına dayanıklılık geliştirildiğinde, İspanya' da çok virülans bir ırk olan ve *Or* direnç genlerinin kontrol edemediği F ırkı 1995 yılında ortaya çıkana kadar ayçiçeği tarımında önemli bir sorun olarak görülmemiş, F ırkının yayılımı, Avrupa'daki birçok ülkeye çok hızlıca gerçekleşmiştir (Alonso vd., 1996; Domínguez, 1999). F ırkını kontrol etmek için yapılan araştırmalarda, kültürü yapılan ayçiçeği ve yabani ayçiçeği popülasyonlarının germplazmında F ırkına direnç içeren genlerin varlığı tespit edilmiştir (Fernández-Martínez vd., 2000; Rodríguez-Ojeda vd., 2001; Sukno vd., 1999). Yirmi yıldan fazla süreyle *Or* genleri tarafında kontrol edilen F ırkına dayanıklı çeşitleri öldüren yeni bir ırk olan G ırkı ortaya çıkmıştır (Molinero-Ruiz vd., 2015). Son zamanlarda ise, Türkiye (Kaya vd., 2009a); Romanya (Pacureanu-Joita vd., 2009); Rusya (Antonova, 2014) da, daha agresif bir yeni ırk olan H ırkı ayçiçeği tarlalarında ortaya çıkmıştır. Ayrıca yapılan son çalışmalarda Trakya bölgesinde bulunan Şahinköyü bölgesinde görülen ırkın diğer ırklardan farklı bir enfestasyon modeli sergilediği görülmüş ve bu ırkın I ırkı olabileceği öne sürülmüştür (Yonet vd., 2018). Çizelge 1.3' te dünyanın farklı ülkelerinde görülen orobanş ırkları gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. Bazı ülkelerde tespit edilen Orobanş (*Orobanche cumana)* (González, 2021; Molinero-Ruiz vd., 2015).

Ülke	**Belirlenen *O. cumana* Irkları**		**Kaynaklar**
	Geçmiş	Günümüz	
Bulgaristan	A, B, C, D, E	E, F, G, H	(Georgiev vd., 2018; Shindrova, 2006; Ueno vd., 2014)
Çin	A	A, B, C, D, E, F, G	(Ma ve Jan, 2014; Shi vd., 2015)
Fransa	Mevcut değil	Bilinmiyor	(Jestin, 2012)
Macaristan	A, B, C, D	E, F	(Hargitay, 2014; Molinero-Ruiz ve Domínguez, 2014; Zoltán, 2001)
Kazakistan	Bilinmiyor	C, G	(Antonova, 2014)
Moğolistan	Mevcut değil	G	(Ma ve Jan, 2014; Shi vd., 2015)
Moldova	B, C	E, F	(Duca, 2014; Gisca vd., 2013)
Fas	Mevcut değil	G	(Nabloussi vd., 2018)
Portekiz	Mevcut değil	G	(González-Cantón vd., 2019)
Romanya	A, B, C, D, E	F, G, H?	(Pacureanu-Joita vd., 2009; Pacureanu, 2014; Rîşnoveanu vd., 2016; Vranceanu vd., 1981)
Rusya	A, B, C, D	D, E, F, G, H	(Antonova, 2014; Kaya vd., 2009a)
Sırbistan	B, E	E, F	(Dedić vd., 2018; Mihaljčević, 1996; Miladinovic vd., 2012; Škorić vd., 2012)
İspanya	B, C, D, E	E, F, G_{GV}	(Alonso vd., 1996; Malek vd., 2017; Martín-Sanz vd., 2016; Melero-Vara vd., 1989; Molinero-Ruiz ve Domínguez, 2014; Molinero-Ruiz vd., 2006)
Tunus	Mevcut değil	E, G	(Jebri vd., 2017)
Türkiye	D, E	F, G, H, I?	(Kaya, 2016; Kaya vd., 2004; Kaya vd., 2012; Molinero-Ruiz ve Domínguez, 2014; Yonet vd., 2018)
Ukrayna	A, B, C, D	E, F, G, H	(Maklik vd., 2018; Tolmachyov, 1990)

1.7. Değişen Irk Kompozisyonu ve Direnç Genleri

Yeni virülans ırkların ortaya çıkmasına neden olan *O. cumana* popülasyonlarının hızlı şekilde değişimi, orobanşa yeni dayanıklılık kaynaklarının geliştirilmesi için sürekli araştırmalar yapılmasını gerektirmektedir. Farklı ırklara karşı direnç için ayçiçeği germplazmasının değerlendirilmesinin sonuçları, yabani *Helianthus* türlerinin yeni virülans ırklara direnç sağlayan ana direnç genlerinin kaynağı olduğunu göstermiştir, ancak kültüre alınan germplazmalar da değerli direnç kaynaklar olarak değerlendirilmektedir. Orobanşa dayanıklılık kaynaklarının çoğu majör genlerce (dikey dayanıklılık) kontrol edildiği belirlenmekle birlikte, ancak kantitatif (yatay) lokuslarca da gerçekleştiği vurgulanmıştır (Cvejić vd., 2020). Orobanş ırklarına özgü baskın genler, dayanıklılık geninin sadece bir ebeveynde olması yeterli olduğundan, genelde tohum şirketlerince tek melezlemeler için ideal kaynaklar olarak kabul edilmektedir. Bunun yanında, aynı genotipteki dikey ve yatay gen kaynakları kombine edilerek, gen piramidiyle daha kalıcı dayanıklılığın elde edilmesi de başarılı ve uzun süreli bir dayanıklılık için son derece önemlidir.

Orobanş parazitinin A ırkına ilk dayanıklı ayçiçeği çeşidi, eski Sovyetler Birliği batı bölgelerinde, Plachek tarafından 1918 yılında geliştirilen çeşittir (Škorić ve Pacureanu, 2010). Orobanşın ırk kompozisyonu değişimleriyle, diğer ayçiçeği ekim alanlarında, şu anda bağımsız ülkeler olan Moldova ve Ukrayna ülkelerinde yeni B ırkının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Duca, 2014; Miladinovic vd., 2012). 1960lı yıllarda Moldova'da gözlemlenen yeni C ırkı (Alonso vd., 1998) ve 1970li yıllarda da Bulgaristan'da farklı C ırkı gözlemlenmiştir (Škorić ve Pacureanu, 2010). Romanya Fundulea'da bulunan Tarımsal Araştırma ve Geliştirme Enstitüsü'nden (Vranceanu vd., 1981); *Helianthus tuberosus* den, kültüre alınmış ayçiçeği integrasyonuyla oluşturulan gen havuzundan faydalanarak beş orobanş ırkının varlığını belirlemişlerdir, bu parazitin ilk kapsamlı ırk sınıflandırmasını yaparak, A ırkından E ırkına *O. cumana* ırklarını ve bunlara karşı dayanıklılığı sağlayan dominant genleri belirlemişler ve kataloglamışlardır. Sırasıyla *Or1, Or2, Or3, Or4 ve Or5* adlı beş baskın direnç genini taşıyan ayçiçeği diferansiyel hatları seti A ırkı, A + B ırkları, A + B + C ırkları ve A + B + C + D ırklarına dayanıklılık için baskın genleri kullanarak A' dan E' ye olmak üzere beş orobanş ırkı tanımlanmıştır. 1990lı yılların ortasına kadar D ve E ırkları baskın olup, Or_5 dayanılılık

genince kontrol edilen E ırkına daynıklı hibritler başarıyla geliştirilmiş ve ayçiçeği üretimi dünya çapında artmıştır (Vranceanu vd., 1981). 1990'ların ortalarında ise İspanya'nın bazı bölgelerinde gözlemlenen ve *Or* direnç genlerinin tümünü kıran F ırkı yabani ayçiçeği germplazmında ve kültürü yapılan türlerde direnç genlerinin bulunmasıyla dayanıklılık geliştirilmiştir (Alonso vd., 1996; Domínguez, 1999; Fernández-Martínez vd., 2000; Louarn vd., 2016; Rodríguez-Ojeda vd., 2001; Sukno vd., 1999). Son yıllarda artan virülans ile Or_5 direncini aşan ırklar Romanya, Türkiye, Bulgaristan, Kazakistan, Ukrayna ve Rusya'da da gözlenmiştir (Antonova, 2014; Fernández-Martínez vd., 2015; Martín-Sanz vd., 2016; Molinero-Ruiz vd., 2006). Başlangıçta hepsi F ırkı olarak adlandırılmasına rağmen diğer bölgelerde görülen parazitin aynı ırk olmadığı anlaşılmıştır. F ırkına dayanıklı çeşitleri yok eden yeni G ırkı ilk olarak Romanya'da 2005 yılında ortaya çıkmış (Pacureanu-Joita vd., 2009); Molinero-Ruiz vd., 2015 ve sonraki araştırmalarda daha öldürücü ırklarından (H ırkı) olduğu belirlenmiştir (Rîşnoveanu vd., 2016). Moldova'daki sonuçlara göre, orta kesimlerde E ırkına kadar daha az agresif ırkların hakim olduğu, ırkların eşit olmayan mekansal dağılımını gösterdiği vurgulanmış, ülkenin güney ve kuzey kesimindeki orobanş örneklerinin %60' ından fazlası ile daha öldürücü ırklar, G ve H ırklarının olduğu gözlemlenmiştir (Duca, 2014; Gisca vd., 2013). Yine Rusya (Antonova, 2014), Ukrayna'nın kuzeydoğusu (Maklik vd., 2018) ve Türkiye' de (Kaya vd., 2009b) yeni H ırkı gözlemlenmiştir. Ayrıca ülkemizde yapılan son çalışmalarda, Trakya bölgesinde bulunan Şahinköyü bölgesinde görülen ırkın diğer ırklardan farklı bir enfestasyon modeli sergilediği görülmüş ve bu ırka I ırkı denilmiştir (Yonet vd., 2018). Son 30 yılda, muhtemelen ayçiçeği ekim alanlarının çok yaygınlaşması, konak seçici baskısı ve etkileşimin karmaşıklığındaki hızlı bir evrimin bir sonucu olarak, daha öldürücü orobanş ırkları ortaya çıkmıştır (Kaya, 2014).

Değişen ırk kompozisyonuyla birlikte direnç genleri de değişmiştir. İlk olarak (Vranceanu vd., 1981); Kruglik-A-41, Jdanov 8281, Record, S-1358 ve P-1380 ayçiçeği bitkileri ile yaptıkları çalışmalarla Or_1 ve Or_5 genlerinin dominant olarak A-E arası orobanş ırklarına direnç içerdiklerini belirtmişlerdir. (Sukno vd., 1999) ve (Pérez-Vich vd., 2004) dominant Or_5 geninin E ırkına direnç içerdiğini söylemişlerdir. İki dominant gen olan Or_6 ve Or_7 genleri ile E ırkına direnç sağlandığı Rodríguez-Ojeda ve ark. (2001) ve Akhtouch ve ark. (2002) tarafından belirtilmiştir. F ırkına direncin ise (Pérez-Vich vd.,

2002) ve (Pacureanu vd., 2004) tarafından *Or*$_6$ geninin baskın alleli ile kontrol edildiği belirtilmiştir. Farklı direnç kaynağı olan türlerle yapılan çalışmalarda Çizelge 1.4' den de görüleceği üzere; F ırkına dayanıklılığın, (Velasco vd., 2007) tarafından *Or*$_6$-*Or*$_7$ genlerince kontrol edildiği ve bu iki genin, kısmı dominant özellikte olduğunu vurgulanırken, (Rodríguez-Ojeda vd., 2001) ise; bu genlerin sadece dominant özellikler gösterdiğini belirtmiştir. Orobanş ırklarına direnç genlerinin belirlenmesi için ayçiçeği germplazmasının değerlendirilmesi, yabani ayçiçeği türlerinin, orobaşın yeni oluşan virülans ırklarına direnç içermesi bakımından önemli bir kaynak oluşturduğu sonucunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 1.4. Ayçiçeğinde görülen orobanş ırkları ve bunları kontrol eden dayanıklılık genleri (Fernández-Martínez vd., 2008).

Direnç Kaynakları	Irklar	Genler		Kaynaklar
Kruglik-A-41	A-E	*Or1*	Dominant	(Vranceanu vd., 1981)
Jdanov 8281	A-E	*Or2*	Dominant	(Vranceanu vd., 1981)
Record	A-E	*Or3*	Dominant	(Vranceanu vd., 1981)
S-1358	A-E	*Or4*	Dominant	(Vranceanu vd., 1981)
P-1380	A-E	*Or5*	Dominant	(Vranceanu vd., 1981)
SW501	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Dominant	(Ish-Shalom-Gordon ve Dubinsky, 1993)
NR-5	E	*Or5*	Dominant	(Sukno vd., 1999)
R-41	E	Bilinmiyor	2 Dominant Gen	(Domínguez, 1996)
P-96	F	*Or6, Or7*	2 Dominant Gen	(Akhtouch vd., 2002)
P-96	E	*Or5*	Dominant	(Pérez-Vich vd., 2004)
Kl-534	E	*Or6, Or7*	2 Dominant Gen	(Rodríguez-Ojeda vd., 2001)
Kl-534	F	*Or6, Or7*	2 Dominant Gen	(Rodríguez-Ojeda vd., 2001)
J1 (BR-4)	F	*Or6*	Dominant	(Pérez-Vich vd., 2002)
LC-1093	F	*Or6*	Dominant	(Pacureanu vd., 2004)
J1 (BR-4)	F	*Or6, Or7*	2 Kısmi Dominant Gen	(Velasco vd., 2007)
Ab-Vl-8	G	$Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ (ORS683 e 1,5cm uzaklık)	Dominant	(Imerovski vd., 2016)

1.8. Yabani Ayçiçeği Gen Kaynakları ve Orobanş

Yabani ayçiçekleri; Kanada, Batı ABD ve Meksika'nın kuzey bölgelerinde yabani olarak görülen çok yıllık ve tek yıllık türleri olan bitkilerdir. Bunların yayılımı doğadaki olaylar veya hayvanlar sayesinde gerçekleşmektedir. Büyüme ve gelişimleri için gerekli olan su, güneş ışığı ve topraktaki besin maddeleri için kendiliğinde yetişen diğer kır çiçeklerine karşı oldukça rekabetçidirler. Yabani ayçiçeklerinin genel olarak; sarı taç yaprakları ve kırmızı-kahverengi merkez diski ile değişik genişliklerde olan çiçek kafası vardır. Yaprakları sapları boyunca değişiklik gösterebilir ve türüne göre kaba, yeşil, yumurta şeklinde veya kalp şeklinde, kaşındıran bir dokuya sahip olabilirler. Bu bitkilerin yaprakları veya saplarında tüylülük görülebilmektedir. Yabani ayçiçeği gövdeleri hafif eğiktir ve çiçek başları gün boyunca güneşi takip etmektedir. Çiçeklerinin 2 ila 3 inç genişliğinde küçük tohumlardan oluştuğu bilinmektedir. Yabani ayçiçekleri en az MÖ 1000' den beri yetişmektedir. ABD' nin batı kesiminde yerli Amerikalılar, ayçiçeklerini bir gıda kaynağı olarak kullanmanın yanı sıra, yağı ve kabuklarını boya kaynağı, bitkisel ilaçlar için yapraklarını ve dini törenleri için polenlerini kabaca ekstrakte ederek doğrudan gıda olarak kullanmışlardır (Putt, 1997). Avrupalılar o bölgeye yerleşmek için geldiğinde, yabani ayçiçeklerini yağı ve görünüşü için ekmeye başlayarak; ayçiçeği yağının popülerliğini arttırmışlar ve bu amaçla da ekimi yapılmaya başlanmıştır. Nüfus artışıyla birlikte yeterli gıda ihtiyacının karşılanamaması nedeniyle ıslah çalışmaları artış kazanmış ve daha iyi tohum, daha iyi bitki için çalışılmıştır. Zamanla artış gösteren hastalık ve zararlılar için ise çeşitli bilimsel yöntemlerin yanı sıra yabani gen kaynaklarının da kullanılması gerektiği düşünülmüştür. Tohumları toplayıp birleştirmek genetik kaynakları korumak için büyük bir başlangıçtır. Bunun için yabani ayçiçeği gen bankası koleksiyonu 1976'da Bushland, Teksas' ta kurulmuştur ve 1976 yılından 2004'e kadar olan dönemi içeren yabani türlerin keşifleri yapılarak koleksiyona dahil edilmiştir (Seiler ve Gulya, 2004). 1985 yılında NCRPIS (Kuzey Merkez Bölge Bitki Tanıtım İstasyonu), Ames, Iowa' ya taşınmış ve şu anda da orada bulunmaktadır. Yabani tür koleksiyonu, 37 çok yıllık ve 14 tek yıllık tür olmak üzere toplam 51 türün ve alt türün tamamını içermektedir (Schilling 2006; Stebbins vd., 2013). Şu anda, tek yıllık türlerin aksesyonlarından %95' i dağıtım için kullanılabilirken, çok yıllık tür aksesyonlarının %70' i dağıtılabilemktedir. Çizelge 1.5' de tek yıllık ve Çizelge 1.6'da çok yıllık türlerin sınıflandırılması ve her tür için USDA-ARS; NPGS ayçiçeği gen bankası

koleksiyonundaki aksesyon sayısı verilmiştir. Kültüre edilen türler ve tek yıllık yabani türler diploid olup (2n=2x=34), çok yıllık türler ise, çoğunlukla tetraploid (2n = 4x = 68) ve hekzaploiddir (2n = 6x = 102) (Tahara, 1915). Bazı türler ise iki ploidi seviyesi içerebilmektedir. Örneğin; H. *ciliaris* L. hem tetraploid hem de hekzaploid formlar içerirken, *H. decapetalus* L. diploid ve tetraploid formlarda bulunur (Miklic vd., 2004).

Çizelge 1.5. Tek yıllık *Helianthus* türleri (Schilling 2006; Schilling ve Heiser, 1981)

Kromozom Sayısı	**Türler**	**Yaygın İsmi**	**Aksesyon Sayısı**
Helianthus			
(2n=34)	*H. annuus L.*	Annual, Prairie	929
(2n=34)	*H. anomalus Blake*	Anomalous	6
(2n=34)	*H. argophyllus T.&G.*	Silver-leaf	51
(2n=34)	*H. bolanderi A. Gray*	Bolander's, Serpentine	14
(2n=34)	*H. debilis ssp. debilis Nutt.*	Beach	12
(2n=34)	*H. debilis ssp. cucumerifolius (T. & G.) Heiser*	Cucumber-leaf	11
(2n=34)	*H. debilis ssp. sylvestris Heiser*	Forest	22
(2n=34)	*H. debilis ssp. tardiflorus Heiser*	Slow-flowering	9
(2n=34)	*H. debilis ssp. vestitus (Watson) Heiser*	Clothed	3
(2n=34)	*H. deserticola Heiser*	Desert	21
(2n=34)	*H. exilis A. Gray*	Serpentine	30
(2n=34)	*H. neglectus Heiser*	Neglected	22
(2n=34)	*H. niveus ssp. niveus (Benth.)*	Snowy	1
(2n=34)	*H. niveus ssp. tephrodes (Gray) Heiser*	Ash-Colored, Dune	11
(2n=34)	*H. paradoxus Heiser*	Pecos, Puzzle, Paradox	12
(2n=34)	*H. petiolaris ssp. canescens (A. Gray) E.E. Schilling*	Gray	20
(2n=34)	*H. petiolaris ssp. fallax Heiser*	Deceptive	31
(2n=34)	*H. petiolaris ssp. petiolaris Nutt.*	Prairie	103
(2n=34)	*H. praecox ssp. hirtus Heiser*	Texas	7
(2n=34)	*H. praecox ssp. praecox Engelm. & A. Gray*	Texas	8
(2n=34)	*H. praecox ssp. runyonii Heiser*	Runyon's	26
Agrestis			
(2n=34)	*H. agrestis Pollard*	Rural, Southeastern	10
Porteri			
(2n=34)	*H. porteri (A. Gray) J. F. Pruski*	Confederate Daisy, Porter's	9

Çizelge 1.6. Çok yıllık *Helianthus* türleri (Schilling 2006; Schilling ve Heiser, 1981; Stebbins vd., 2013).

Kromozom Sayısı	**Gruplar**	**Türler**	**Yaygın İsmi**	**Aksesyon Sayısı**
Ciliares	***Ciliares***			
(2n= 34)		*H. arizonensis R. Jackson*	Arizona	2
(2n= 68, 102)		*H. ciliaris DC.*	Texas blueweed	32
(2n= 34)		*H. laciniatus A. Gray*	Alkali	7
Ciliares	***Pumili***			
(2n= 34)		*H. cusickii A. Gray*	Cusick's	23
(2n= 34)		*H. gracilentus A Gray*	Slender	14
(2n= 34)		*H. pumilus Nutt.*	Dwarfish	59
Atrorubens	***Coronasolis***			
(2n= 102)		*H. californicus DC.*	California	22
(2n=34,68)		*H. decapetalus L.*	Ten-petal	30
(2n= 34)		*H. divaricatus L.*	Divergent	28
(2n=102)		*H. eggertii Small*	Eggert's	13
(2n=34)		*H. giganteus L.*	Giant	26
(2n=34)		*H. grosseserratus* Martens	Sawtooth	48
(2n=68)		*H. hirsutus Raf.*	Hairy	12
(2n=34)		*H. maximiliani Schrader*	Maximilian	68
(2n=34)		*H. mollis Lam.*	Soft, Ashy	28
(2n=34)		*H. nuttallii ssp. nuttallii T.&G.*	Nuttall's	25
(2n=34)		*H. nuttallii ssp. rydbergii (Britt.) Long*	Rydberg's	12
(2n=102)		*H. resinosus Small*	Resinous	23
(2n=34)		*H. salicifolius Dietr.*	Willow leaf	19
(2n=102)		*H. schweinitzii T.&G.*	Schweinitz's	1
(2n=68, 102)		*H. strumosus L.*	Swollen, Woodland	33
(2n=102)		*H. tuberosus L.*	Jerusalem artichoke	92

Atrorubens	***Microcephaly***			
(2n=34)		*H. glaucophyllus Smith*	White leaf	12
(2n=34)		*H. microcephalus T.&G.*	Small-headed	14
(2n=34, 68)		*H. smithii Heiser*	Smith's	7
Atrorubens	***Atrorubentes***			
(2n=34)		*H. atrorubens L*	Purple-disk	14
(2n=34)		*H. occidentalis ssp. occidentalis Riddell*	Few leaf, Western	5
(2n=34)		*H. occidentalis ssp. plantagineus (T. &G.) Heiser*	Branching, Western	12
(2n=102)		*H. laetiflorus Pers.*	Mountain	11
(2n=102)		*H. pauciflorus Nutt. ssp. pauciflorus*	Stiff	21
(2n=102)		*H. pauciflorus ssp. subrhomboides (Rydb.) O. Spring*	Stiff	17
(2n=34)		*H. silphioides Nutt.*	Odorous	15
Atrorubens	***Angustifolii***			
(2n=34)		*H. angustifolius L.*	Narrow leaf, Swamp	28
(2n=34)		*H. carnosus Small*	Fleshy	5
(2n=34)		*H. floridanus A. Gray ex Chapman*	Florida	9
(2n=34)		*H. heterophyllus Nutt.*	Variable leaf	17
(2n=34)		*H. longifolius Pursh*	Longleaf	3
(2n=34)		*H. radula (Pursh) T.&G.*	Scraper, Rayless	40
(2n=34)		*H. simulans E. E. Wats*	Muck, Imitative	7
(2n=34)		*H. verticillatus Small*	Whorled	5
(2n=34)		*H. winteri Stebbins*	Winter's	5

Orobanş direncini içeren ilk raporda, çok yıllık yabani *H. tuberosus* türünden türetilen germplazm ile "Group Immunity" yetiştirme yaklaşımı kullanılarak geliştirilen "Progress" ve "Novinka" çeşitlerinden elde edildiği bildirmiştir (Pustovoit ve Gubin,

1974). Birçok araştırmacı (Fernández-Martínez vd., 2010; Fernández-Martínez vd., 2000; Škorić ve Pacureanu, 2010; Terzić vd., 2010), orobanş ırklarına dayanılılık için ayçiçeği germplazma değerlendirmelerinde, yabani *Helianthus* türlerinin yeni virülans ırklarına direnç sağlayan önemli bir gen rezervuarı oluşturduğunu göstermiştir. Ayçiçeğinde ilk tanımlanan orobanş dayanıklı gen Or_1 geninin kaynağı ve yine diğer zengin dayanıklılık genleri içeren *H. tuberosus* yabani türünden elde edilmiştir (Parker ve Riches, 1993; Vranceanu vd., 1981). Buna ilaveten, E, F, G ırklarına karşı dayanıklılık da yabani ayçiçeği türlerinden elde edilmiştir. (Sukno vd., 1998), özellikle de çok yıllık *H. resinous, H. laevigatus, H. giganteus* ve *H. pauciflorus* türlerinin İspanya'daki yeni ırklara dayanıklılık sağladığını vurgulamıştır. (Hladni vd., 2009), Sırbistan'daki tek yıllık yabani ayçiçeği türü olan *H. deserticola'* dan türetilen restorer hattın orobanşın E ve F ırklarına karşı dayanılılık gösterdiğini belirtmiştir. Yabani ayçiçeği türleri olan *H. maximiliani, H. grosseserratus* ve *H. divaricatus* ile kültürü yapılan ayçiçeği ve gelişmiş popülasyonlarla çaprazlamalar ve türler arası melezlemelerle ayçiçeği çeşitlerinin ıslahına önemli katkılar sağlamıştır. *H. tuberosus* türünde ise, dayanıklı Or_5 ve Or_6 genleri tespit edilmiştir (Škorić ve Pacureanu, 2010). (Pérez-Vich vd., 2002), iki çok yıllık tür olan *H. grosseserratus* ve *H. divaricatus* ve kültüre edilen *H. annuus* türü kullanılarak F ırkına karşı dominant gen tarafından oluşturulan direncin aktarımını incelemiş ve (Petcu ve Joița-Păcureanu, 2012), *H. argophyllus* ile elde edilen melezlerin Romanya'da bulunan E ve F ırklarına direnç içerdiğini vurgulamıştır. (Christov, 2013), 17 yabani çok yıllık *Helianthus* türünün, *H. pauciflorus, H. tuberosus, H. eggertii, H. decapetalus, H. hirsutus, H. giganteus, H. divaricatus, H. smithii, H maximiliani, H. salicifolius, H. laetiflorus, H. nuttallii ssp. rydbergii* ve tek yıllık *H. praecox, H. annuus (yabani), H. petiolaris, H. debilis* ve *H. argophyllus'*un Bulgaristan'daki A'dan G'ye kadar olan orobanş ırklarına dirençli olduğunu belirtmiştir. Çok yıllık diploid türler olan *H. giganteus, H. divaricatus, H. glaucophyllus, H. mollis, H. grosseserratus, H. smithii* ve *H. nuttallii* ve türler arası melezlerinin orobaşa dirençli olduğu bildirilmiştir. (Nikolova vd., 1998), türlerarası melezlemelerle orobanşa dayaıklılıkta olağanüstü sonuçlar elde etmişlerdir. Yine F ırkına dirençli çeşitlerin üstesinden gelerek daha öldürücü bir ırk olarak görülen G ırkına dayanıklılık yabani türlerde tanımlanmıştır (Molinero-Ruiz ve Melero-Vara, 2004; Škorić ve Pacureanu, 2010). Son zamanlarda *H. debilis ssp.* türünde ve *H. divaricatus* ile yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen hatlarda, G ırkına ve bilinmeyen diğer

ırklara karşı direncin olduğu gözlemlenmiştir (Cvejic vd., 2012; Velasco vd., 2012). Çizelge 1.7 de ise, orobanş ırklarına dayanıklılık gösteren yabani tek yıllık türler verilmektedir (Seiler, 2015).

Çizelge 1.7. Tek yıllık yabani türler ve orobanş ırklarına dayanıklılık durumları

Türler	**Dayanıklı olduğu Irklar**
H. petiolaris	A-G
H. praecox	A-G
H. exilis	E-F
H. anomalus	E-F
H. deserticola	E-F
H. argophyllus	F
H. debilis ssp. tardiflorus	G

(Labrousse vd., 2001), ise yabani ayçiçeği kökleri ve orobanş arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmasında, *Helianthus debilis ssp. debilis* türünde ayçiçeği bitkisi köklerine giren paraziti tıkayan geçilmez bir kapsülleme katmanı ürettiğini ve daha sonra öldüğünü gözlemlemişlerdir. Yine aynı türden bir başka türler arası melez, parazit gelişiminin erken bir aşamasında orobanş tohumu çimlenmesinin ve hızlı nekrozun azaltılmış stimülasyonunu gösterdiği belirlenmiştir. Direnç ayrıca, orobanş çiçeklenmeden önce nekroz meydana geldiğinden, esas olarak parazit gelişiminin dördüncü aşamasında meydana gelen *H. argophyllus* türünden türetilmiş bir türler arası melezde meydana gelmiştir. (Encheva vd., 2013), yabani *H. salicifolius* kaynaklı bazı inbred hatların, türler arası melezleşmenin geliştirdiği tarlada ve laboratuvar şartlarında orobanş parazitinin yapay enfeksiyonuna karşı %100 direnç gösterdiğini vurgulamıştır. Orobanş direncinin dayanıklılığını artırmak amacıyla, gen piramidi yoluyla veya farklı kaynaklardan daha fazla genler kullanılarak, dikey ve yatay dayanıklılık mekanizmalarını birleştirmek gibi farklı yetiştirme stratejileri uygulanması gerektiği düşünülmektedir. Bu mekanizma, orobanş tohumunun çimlenmesinin başarısızlığı ve erken gelişim aşamasında parazit yapılarının nekrozunu sağlayan iki farklı dayanıklılık mekanizmasını taşıyan çeşitlerin kombinasyonundan dirençli bir melez ile elde edilebilmektedir (Fernández-Martínez vd., 2012; Škorić vd., 2012). Çeşitli kültüre alınmış ayçiçeği

popülasyonlarında A, B, C, D ve E orobanşa dayanıklılık genleri mevcuttur. Orobanş son derece değişken bir parazitik yapıda olmasından dolayı, direcin kırılması sürekli görülen bir olaydır. Dayanıklılığın kırılmasıyla birlikte ortaya çıkan yeni ırkları kontrol etmek için, çoklu direnç kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. F, G, H ırklarına direnç kazandıran genler ve diğer yabani ayçiçeği türlerinde ırk ismi kimliklendirilip, belirlenmemiş genler türler arası hibridizasyon yoluyla hibrit ayçiçeğinde birleştirilip kazandırılmaktadır. Orobanş ırklarına direnç için ayçiçeği germplazma değerlendirmeleri, ayçiçeği türlerinde yeni öldürücü orobanş ırklarının görüşülen direnç genleri için önemli rezervuar oluşturduğunu kanıtlamıştır. Ayrıca bildirilen yedi tek yıllık tür ve otuz iki çok yıllık türler de dahil olmak üzere orobanşa direnç, orobanş parazitinin mevcut ve yeni ortaya çıkan ırklarına karşı direnç arayışı içinde olan yetiştiricilere geniş bir genetik temel sağlamaktadır. En son Romanya' da tarla ve sera koşullarında yapılan araştırmalar; Romanya, Türkiye ve İspanya'da bulunan en yeni orobanş nüfusuna direnç kaynaklarının LC-009 ve AO-548 hatlarında mevcut olduğunu göstermiştir (Rodríguez-Ojeda vd., 2013). Yabani ayçiçeği türlerinin orobanş direnci de dahil olmak üzere kültüre alınmış ayçiçeği için çok sayıda değerli gen barındırdıkları belirtilmiştir, ancak özellikle çok yıllık türler, kültür yapılan ayçiçeği çeşitleri ile melezleme zorlukları nedeniyle ihmal edilmiş ve yeterli düzeyde kullanılamamıştır. Ana problemler çaprazlama uyumsuzluğu, F1 sterilitesi ve yabani türlerin genetik materyallerindeki kaybın kaygısı ve çok yıllık poliploid türlerin ekstra kromozom eliminasyonu yüzünden zaman alıcı bir geri melezleme programı içeriyor olmasıdır. Ancak 1980li yıllarda embriyo kurtarma teknikleri gelişmiş ve hızlı ve doğru bir şekilde etkili bir seçim olanağı, gelişmiş serada gerçekleştirilen türler arası melezlemeyle daha rutin bir süreç haline gelmiştir.

Bu tez çalışmasında orobanş parazitine dayanıklılık testleri yapılmış ve istenilen dayanıklılık genlerinin varlığı moleküler markırlar ile tespit edilmeye çalışılmıştır. Bunun için orobanş dayanıklılık genleri ile ilişkili olduğu bilinen ORS665, ORS1036, ORS1114, ORS683, RGC172, RGC181 markırları kullanılmıştır.

1.9. Moleküler Markırlar ve Dayanıklılık Islahında kullanımı

Çevresel faktörlerin etkisi, toprakta yetersiz miktarda orobanş tohumu bulunması, orobanş tohumunu toplamanın zorluğu, tohum çimlenme sorunları, vb. nedeniyle, orobanş testleri her zaman güvenilir sonuçlar üretmemektedir. Orobanş ırklarının

bileşimindeki sürekli değişiklikler, ayçiçeği yetiştiricilerini yeni orobanş ırkları için sürekli olarak direnç genleri aramaya zorlamıştır. Yetiştirme hedeflerine ulaşmak ve orobanş direncinin kaynaklarını belirlemek ve bu gen kaynaklarının dominant olup olmadıklarını belirlemek için ayçiçeği yetiştiricilerinin, bir yetiştirme stratejisi geliştirmesi, orobanş ırkı tanımlanması için gerekli germplazmı ve diferansiyel hatları sağlaması ve uygun aşılama yöntemini ve moleküler markör tekniğini seçmesi gerekmektedir (Škorić ve Pacureanu, 2010). Yeni direnç kaynakları bulmak ve *Or* genlerini tespit etmek için moleküler markörler geliştirmek, ayçiçeği ıslahında en önemli zorluklardan biridir. Özellikle MAS' taki son çalışmalar, yeni moleküler tekniklerin, dirençli gen tanımlaması, orobanş direnç ıslahını hızlandırmak ve kolaylaştırmak için ayçiçeği ıslah programlarında çok değerli olabileceğini kanıtlamıştır (Kaya, 2014). Çok sayıda moleküler markörün kullanımı ve farklı yoğunluklarda fazla sayıda bağlantı haritasının oluşturulmasıyla kültüre alınan ayçiçeğinin *(Helianthus annuus* L.*)* geliştirilmesi mümkün olmaktadır (Knapp vd., 2001). Orobanş direnci için ıslah malzemelerinin taranmasında en güvenilir ve en kolay uygulanabilir yöntem moleküler belirteçlerin kullanılmasıdır (Bilgen vd., 2018). Mikrosatellitler, kullanımının kolay olması, polimorfizm oranının yüksek olması ve genomda yaygın olarak bulunmaları nedeniyle birçok moleküler biyoloji çalışmasında kolaylıkla kullanımı tercih edilmektedir. Genellikle genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılırlar. Son yıllarda geliştirilen yeni moleküler biyoloji yöntemleri tek nükleotid polimorfizmleri analizinin daha ekonomik ve hızlı olarak yapılabilmesine ve mikrosatellitlerle birlikte kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Özşensoy ve Kurar, 2012).

1.10. Ülkemizdeki Islah Programlarında Moleküler Markırlara Duyulan İhtiyaç

Ülkemizin birçok bölgesinin geçim kaynağı ve üretim alanı olan tarımda, beslenme ve tohumluk ihtiyacında dışa olan bağımlılığı ve ithal etme zorunluluğunu azaltmak amacıyla ıslah programları uygulanmaktadır. Klasik ıslah yöntemleri tek başına yeterli olmadığından markır destekli seleksiyonla yapılan ıslah edilecek bitki seçimi, iki yönlü bir kontrol ve sonuç mekanizması içerdiğinden bilimsel araştırmalar ve literatüre katkı açısından çok büyük önem arz etmektedir. Orobanş ırklarının ırk kompozisyonundaki hızlı değişikliklerin, tüm yabani ayçiçeği türlerinin doğal ve yapay koşullarının araştırılması için morfolojik gözlemler yeterli ve yüksek güvenilirlikte veri

ve gözlem sonucunu tek başına sağlayamadığından moleküler markırlar ve markır destekli seleksiyona ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Ülkemizdeki araştırmacılar ve ıslahçıların, ithal edilerek elde edilen ticari çeşitlerle yarışacak bir ıslah programı oluşturabilmesi için iş gücü ve zaman açısından verimli olarak tasarruf edecek moleküler markır destekli seleksiyon kullanımı konusunda proje ve eğitimlerin arttırılması gerekmektedir.

1.11. Literatürde Yer Alan *Or* Genleri ile Bağlantılı Moleküler Markırlar

Markır destekli seleksiyon kullanımıyla birlikte araştırmacılar hala kullanılmaya devam eden birçok markır çeşidi geliştirmişlerdir. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RFLP (Restriction fragment length polymorphism), TRAP (Target Region Amplification Polymorphism), QTL (Quantitative trait locus) ve SSR (Simple Sequence Repeats) markörleri bu amaçla şimdiye kadar kullanılmıştır (Imerovski vd., 2013; Pérez-Vich vd., 2013). Daha önce ırk karakterizasyonu ve haritalama amaçlı moleküler araştırmalar mikrosatellitlerle yapılmıştır (Bilgen vd., 2019). Örneğin, (Pacureanu-Joita vd., 2009), F ırkına karşı direncin, kendi içinde melezlenmiş hatların kökenine bağlı olarak, inbred hatlarda iki resesif gen veya bir dominant gen ile kontrol edilebileceğini bulmuşlardır. Bu sonuçlar (Imerovski vd., 2011)' a göre ve markörün geliştirildiği materyale özgü olduğunu göstermektedir. (Berry vd., 1995; Leon vd., 1996) ve (Gentzbittel vd., 1999; Gentzbittel vd., 1995) tarafından ayçiçeğinde ilk defa RFLP haritaları oluşturulmuştur. Orobanş ırklarının karakterizasyonu için RFLP markörlerinden yararlanan *Or5* genini içeren bir bağlantı grubu, GIE Cartisol RFLP haritası ile entegre edilmiştir. *Or5* için belirteçlerin geliştirilmesi üzerinde çalışmanın yanı sıra yapılan mevcut araştırma, F ırkından daha yüksek orobanş ırklarına direnç sağlayan yeni bir genin haritalanmasını amaçlamaktadır (Cvejic vd., 2012). E ve F ırklarına direnç kazandıran genleri haritalamayı amaçlayan moleküler çalışmalar yapılmıştır. E ırkına direnç kazandıran *Or5* geni, ayçiçeği genetik haritasında telomerik bir bağlantı grubu olan (LG) 3'e eşlenmiştir (Lu vd., 2000; Tang vd., 2003). LG3' ten markörler ve üç farklı orobanş direnci genleri arasında gözlenen bağlantı, *Or* genlerinin yakından ilişkili ve aynı LG' de (gen ailesi) olma olasılığının olduğunu gösterir. Dirençli ve hassas genotipin moleküler profili karşılaştırılarak SSR haritasının LG3' ünde bir polimorfizm gözlenmiştir. Buna göre, yeni direnç genlerinin bu bağlantı grubu üzerinde

olduğu varsayılmaktadır (Imerovski vd., 2013). Haritalama popülasyonu üzerinde daha fazla test yapılması, genin kesin pozisyonunu belirleyecek ve yeni ayçiçeği hatlarına, ticari ayçiçeği hatlarına karşı direncin gelişimini hızlandıracak spesifik moleküler markerin geliştirilmesini sağlayacaktır. (Tang vd., 2002) ayçiçeğinde SSR markörlerini kullanarak ilk bağlantı haritasını oluşturmuşlar ve bunu takiben (Yu vd., 2003) yeni bir rekombinant inbred hat populasyonu kullanarak SSR markörleriyle oluşturulan haritanın yoğunluğunu arttırmışlardır. (Eizenberg vd., 2004) ayçiçeği orobanşının incelenmesi için moleküler belirteçlerin önemini doğrulamıştır. Imerovski vd. (2013), SSR belirteçleri ile farklı orobanş ırklarına (A-F) dirençli yirmi NS ayçiçeği genotipini taramış ve istatistiki analizlerle *Or*$_6$ geninin ORS1036_240 ve ORS1114_265 alleleri arasındaki ilişki anlamlı bulmuştur. (Rodríguez-Ojeda vd., 2014), İspanya'da 15 mikrosatellit markeri kullanarak 50 orobanş popülasyonunun genetik çeşitliliğini incelemiş ve biri Cuenca eyaletinde diğeri Guadalquivir Vadisi'nde olmak üzere iki uzak gen havuzunun varlığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca hem genler arası hem de popülasyonlar arası değişkenliğin her bir gen havuzu içinde son derece düşük olduğunu ve uzak gen havuzları arasındaki genetik rekombinasyonun, yeni bir varyasyon oluşturmak ve aynı zamanda ırk gelişimi üzerinde etkili olması için önemli bir mekanizma olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada (Rodríguez-Ojeda vd., 2014) orobanşı tanımlamak ve karakterize etmek için 4200 basit dizi tekrar (SSR) markörü kullanmış ve doğrulama için 217 SSR primer çifti kullanılmıştır. Onlardan 87 SSR primeri, farklı konumlardan 18 orobanş popülasyonu arasında polimorfik olan beklenen büyüklükte tekrarlanabilir, yüksek kaliteli amplikonlar üretmiştir. Toprak kaynaklı orobanş tohumlarından ekstrakte edilen DNA'nın RAPD modellerinin, tohumların bozulmaması şartıyla vejetatif bitki materyalindeki DNA ile aynı olduğunu bulmuşlardır (Pacureanu, 2014). (Rieseberg vd., 1995), markörlerinin kullanımıyla kromozomal yapısal değişikliklerin etkileri incelemişler; (Burke vd., 2004) SSR /RAPD genetik bağlantı haritası oluşturmuşlar, bazı araştırmacılar da (Langar vd., 2003) AFLP markörlerinin kullanımıyla diğer genetik haritaları oluşturmuşlardır.

BÖLÜM 2

MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Bitki Materyali

Bu tez çalışmasında kullanılan bitki materyalleri; ABD Tarım Bakanlığı' ndan temin edilen yabani türlere ait genotipler (Çizelge 2.1) ve TÜBİTAK 119O218 ve TUBAP 2020/62 projesi için Bulgaristan tarafından elde edilen F1 hatlarından (Çizelge 2.2) oluşmaktadır. Çalışmada standart olarak kullanılan bitki materyalleri Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'den temin edilmiştir (Çizelge 2.3). Farklı aksesyonlardan toplanan yabani ayçiçeği türlerine ait genotipler ve melez hatlar bu çalışmada orobanş testi yapılarak kullanılmıştır (Şekil 2.1).

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan ayçiçeği türlerinin aksesyon numaraları ve orijinleri

Aksesyon	**Taksonomisi**	**Orijini**
673209	*Helianthus agretis*	US Florida
597890	*Helianthus annuus*	US South Dakota
468651	*Helianthus argophyllus*	US Florida
490291	*Helianthus argophyllus*	Mozambique
649863	*Helianthus argophyllus*	US Texas
649865	*Helianthus argophyllus*	Soviet Union, Former
664803	*Helianthus argophyllus*	Australia, Queensland
468659	*Helianthus atrorubens*	US North Carolina
673141	*Helianthus bolanderi*	US Arizona
673280	*Helianthus bolanderi*	US Oregon
649958	*Helianthus cusickii*	US Oregon
597908	*Helianthus debilis* subsp. *cucumerifolius*	US South Carolina
613753	*Helianthus debilis* subsp. *cucumerifolius*	US Florida
649870	*Helianthus debilis* subsp. *cucumerifolius*	US Georgia

547169	*Helianthus decapetalus*	US Ohio
649971	*Helianthus decapetalus*	US Ontario
673143	*Helianthus divaricatus*	US Virginia
664641	*Helianthus eggertii*	US Tennessee
664733	*Helianthus floridanus*	US Georgia
547184	*Helianthus giganteus*	US Illinois
649984	*Helianthus giganteus*	Canada Ontario
547193	*Helianthus grosseserratus*	US Indiana
649994	*Helianthus grosseserratus*	US Iowa
649996	*Helianthus grosseserratus*	US Pennsylvania
649998	*Helianthus grosseserratus*	US North Dakota
673183	*Helianthus heterophyllus*	US Alabama
547203	*Helianthus hirsutus*	US Ohio
547204	*Helianthus hirsutus*	US Illinois
653545	*Helianthus laciniatus*	US Texas
468746	*Helianthus maximiliani*	US Kentucky
468747	*Helianthus maximiliani*	US Illinois
586892	*Helianthus maximiliani*	US North Dakota
586894	*Helianthus maximiliani*	US Montana
613794	*Helianthus maximiliani*	US Iowa
586896	*Helianthus maximiliani*	US Nebraska
650013	*Helianthus mollis*	US Pennsylvania
673147	*Helianthus mollis*	US Ohio
592349	*Helianthus nuttallii*	Canada Saskatchewan
650024	*Helianthus nuttallii*	Canada Alberta
531044	*Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii*	US Idaho
531052	*Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii*	US Montana
586905	*Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii*	US Wyoming
597918	*Helianthus nuttallii* subsp. *rydbergii*	US North Dakota
664789	*Helianthus occidentalis* subsp. *plantagineus*	US Arkansas
673239	*Helianthus paradoxus*	US New Mexico
673253	*Helianthus paradoxus*	US Texas
503233	*Helianthus pauciflorus*	US New Jersey
547211	*Helianthus pauciflorus*	US Illinois
650026	*Helianthus pauciflorus*	Canada Saskatchewan
597922	*Helianthus petiolaris*	US South Dakota
673214	*Helianthus porteri*	US Georgia
664695	*Helianthus resinosus*	US Georgia
435880	*Helianthus simulans*	US Florida
664698	*Helianthus smithii*	US Georgia
547223	*Helianthus strumosus*	US Indiana
357299	*Helianthus tuberosus*	Soviet Union, Former

503279	*Helianthus tuberosus*	US New York
547227	*Helianthus tuberosus*	US Wisconsin
547237	*Helianthus tuberosus*	US Ohio
650093	*Helianthus tuberosus*	US South Dakota
650099	*Helianthus tuberosus*	US Iowa
650105	*Helianthus tuberosus*	US Nebraska
664619	*Helianthus tuberosus*	US Idaho
664624	*Helianthus tuberosus*	US Manitoba
673290	*Helianthus winteri*	US California

Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan melez ayçiçeği çeşitleri

Çeşit ismi
Solso 30 x H. deb_581
SLT_009 x H. arg_1093
SLT 009 x H.deb-581
SLT_Ay_146 x H. deb_581
Solso 30 x H. arg_1093
SLT_Ay2_146 x H. deb_581
Wild species 2019 France (H. deb) silvestris
Wild species 2019 France (H. arg)
Wild species 2019 Turkey (H. arg)
Wild species 2019 Turkey (H. arg)
SLT_009 x H. deb-581
SLT_Ay_146 x H.arg14
SLT_Ay_146 x H.arg15
SLT_Ay_146 x H.arg17
SLT_Ay_146 x H.arg19
SLT_Ay_146 x H.bol28
SLT_Ay_146 x H.bol673141
Solso x H.arg14
Solso x H.arg15
SLT_Ay-146 x H.winteri237
Solso x H.winteri237
SLT009 x H.arg19
SLT009 x H.bol.28
SLT009 x H.annuus9

Çizelge 2.3. Çalışmada standart olarak kullanılan bitki materyali listesi

Dayanıklılık Kaynağı Gen	Dayanıklı Ebeveyn	Orobanş Irkı
Or$_2$	1128A	B C
Or$_4$	LC 1002 A	D
Or$_5$	LC 1003 A	E
Or$_6$	LC 1093 A 16Ax25 P130	F G H
-	9661	hassas



Şekil 2.2. Hastalık testleri yapılmış örneklerin toplanması

2.2. Orobanş Materyali

Hastalık testinde kullanmak üzere patojen materyali Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (TTAE) tarafından temin edilmiştir. Materyal, Trakya Bölgesi'ndeki farklı ekiliş alanlarından toplanmış son ırkları içeren tohumlardan oluşmaktadır (Şekil 2.2).

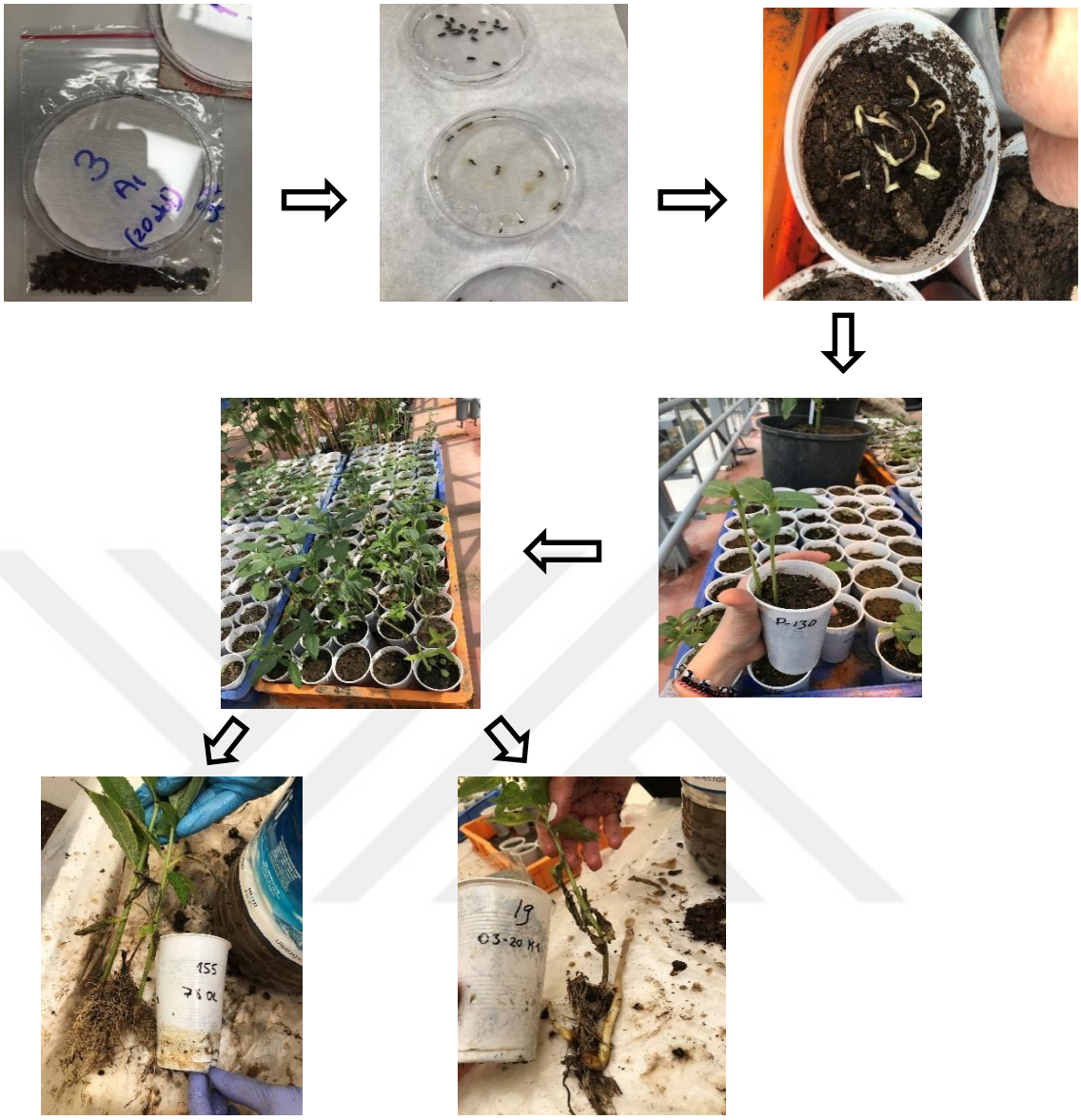


Şekil 2.2. Çalışmada parazit olarak kullanılan materyal

2.3. Hastalık Testleri

Test edilecek ayçiçeği materyaline ait tohumların yüzeyi %8'lik NaOCl' de (sodyum hipoklorit) 15 dakika bekletilerek steril edilmiş ve distile su ile durulanmıştır. Bu işlemler beşerli gruplar halinde petri kaplarında gerçekleştirilmiştir. Distile su ile yıkanan tohumlar, daha önceden içerisine filtre kağıdı konulan ve üzerine örneğin ismi, adeti yazılan petri kaplarına alınmıştır. Petri kaplarına 25 ppm olacak şekilde etafon (yapay bitki büyüme düzenleyicisi) eklenmiştir. 26 ºC' de 1-2 gün bekletilen tohumlar distile su ile durulanarak ozonlu su içerisine alınmıştır. Petri kaplarındaki tohumlar çimlendikçe plastik bardaklara alınmıştır. Hastalık testleri TTAE enstitü bünyesinde yapılmıştır. TTAE seralarında bitki yetiştirmek üzere plastik bardaklar içerisinde, toprak ve orobanş tohumu karışımı vardır. Plastik bardaklar yarılarına kadar toprak ve orobanş karışımından eklenerek doldurulmuş ve üstlerine çimlenen tohumlar konularak tekrardan toprak ilavesi yapılmıştır. Bitkilere, büyümelerini sağlamak için 2 gün sıklıkla su verilmiştir. Petri kaplarında çimlenmesi gerçekleşen her bitki örneği çimlendikçe plastik bardaklara alınmıştır. Böylelikle bitki örneklerinin hepsinin ekimi aynı anda

gerçekleşmemiştir. Çimlenmeyen ve büyümeyen tohumların ekimi tekrardan yapılsa da bazı çeşitler ortam sıcaklığına uyum sağlayamadığı ve yabani türlerin hassas şartlarda çimlenmelerini gerçekleştirdikleri için büyümemişlerdir. 40-50 gün sonunda boyu 10-25 cm uzunluğunda olan bitkiler hastalık testi yapılmak üzere ayrılmıştır. Plastik bardaklardan çıkarılan bitkilerin kökleri incelenerek orobanş nodül sayıları ya da orobanş varlığı, yokluğu belirlenmiştir. Sırayla büyümesi gerçekleşen her bitki örneği bu aşamalardan geçerek (Şekil 2.3) orobanş hassasiyeti hakkında bilgi edinilmiştir. Bazı bireylerde kökte herhangi bir orobanş nodülüne rastlanmamış olup bu bireyler dayanıklı birey olarak kaydedilmiştir. Bazı bireylerde ise bitki kökünde bir veya birden fazla, hatta bazı çeşitlerde toprağın üstünde dahi nodül oluşumu gözlemlenmiş olup bu bireyler hassas bireyler olarak belirlenerek moleküler çalışma sonuçları ile karşılaştırma yapmak üzere kaydedilmiştir.



Şekil 2.3. Bitki örneklerinin çimlendirilmesi ve morfolojik gözlemi

Çimlenmesini gerçekleştiren çeşitlerin orobanş testi sonucunda morfolojik gözlemi yapılarak; orobanşa dayanıklı ve hassas çeşitler belirlenmiştir. Daha sonra literatürde *Or* dayanıklılık genleri (*Or*$_2$-*Or*$_6$) ile bağlantılı olduğu rapor edilen moleküler markırlar kullanılarak MAS amaçlı kullanılabilirliği test edilmiştir. Tür ve alttürlerin oluşturduğu 241 yabani ayçiçeği ve 38 çeşit melez ayçiçeği hastalık testi yapılmak üzere çimlendirmeye alınmıştır. Ancak bunlardan 65 tür ve alttürden oluşan yabani tür ile 26 çeşit melez ayçiçeği çimlenmesini gerçekleştirip gözlem alındıkları için bitki materyali olarak dikkate alınmış ve bu materyal moleküler markır çalışmalarında kullanılmıştır. Orobanşa dayanıklılık ve hassasiyet için kullanılan bitki materyali; Trakya Tarımsal

Araştırma Enstitüsü (TTAE) tarafından ayçiçeği ıslah programlarında kullanılan materyaller içerisinden belirlenmiştir. Dayanıklı gen bölgesini ve orobanşın hangi ırklarına direnç içerdiğini belirlemek amacıyla hangi dayanıklılık geni içerdiğini ve hangi ırka kadar dirençli olduğunu bilinen çeşitler, yine TTAE tarafından ayçiçeği ıslah programlarında kullanılan materyaller arasından seçilerek temin edilmiştir.

2.4. Moleküler Analizler

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

2.4.1. DNA İzolasyonu

Hastalık testleri yapılan materyallerin yaprakları, örnek başına 150-200mg bitki dokusu olacak şekilde 2ml'lik tüplerin içerisine alınmıştır. Örnekler toplandıktan sonra -196°C'lik sıvı azot içerisine atılarak dondurulmuş ve -20°C'de DNA izolasyonu safhasına kadar muhafaza edilmiştir.

Bitki materyaline ait yapraklardan alınan örneklerin DNA'ları aşağıda detayları verilen Norgen Plant/Fungie DNA Isolation Kit (Product#26200) protokolü uygulanmıştır.

1) -20 ºC' de muhafaza edilen 150-200mg yaprak örnekleri 2ml'lik tüpler içerisine alınarak sıvı azot içerisinde dondurulmuş ve her bir örneğe 10mg PVP ve ikişer adet 3mm metal bilye ilave edilmiştir.
2) Metal bilye ilave edilmiş örnekler doku parçalayıcısı olan cihazda (RETSCH MM400) saniyede 30 devir hızında olmak üzere 90 saniye süreyle parçalanmak suretiyle dokuların homojen toz şekline gelmesi sağlanmıştır.
3) Örneklere 500µl Lizis ve 1µl RNase A eklenmiştir.
4) 10 dakika 65 ºC su banyosunda arada örnekler ters yüz edilerek bekletilmiştir.

5) Su banyosundan alınan örneklere 100µl Binding Buffer eklenilerek, örnekler 5 dakika buzda bekletilmiştir.
6) Örnekler 14000rpm de 2 dakika santrifüj edilerek süpernantları alınmıştır.
7) Alınan süpernatant miktarı kadar %70 lik etanol ilave edilerek vortekslenmiştir.
8) Örneklerden 650µl alınarak gri kolonlu tüplere aktarılarak 10000rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
9) Kolonun alt kısmında kalan sıvı atılarak 650µl aldıktan sonra tüpte kalan DNA örnekleri aynı gri kolonlu tüplere eklenir. 10000rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
10) Santrifüj sonrası tüpün altında kalan kısım atılarak üzerine 500µl Solution WN eklenilerek 14000rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
11) Yine tüpün altında biriken sıvı kısım atılarak üzerine 500µl Wash Solution A eklenilerek yine 14000rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu aşama bir kez daha tekrar edilmiştir.
12) Tüpün altında biriken sıvı atılarak hiçbir solüsyon eklemeden boş olarak 14000rpm de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
13) Elution tüplere örnek isimleri yazılmış ve gri kolonlar bu tüplerin içerisine alınmıştır.
14) 70µl Elution Buffer B eklenilmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
15) 10000rpm de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
16) Örnekler buza alınarak konsantrasyon ölçümleri yapılmıştır.

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.

2.4.2. DNA Konsantrasyon ve Kalite Tayini

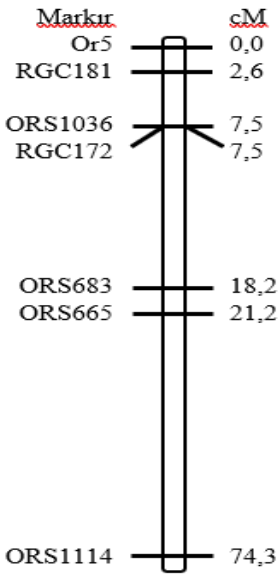
DNA miktar tayini için OPTİZEN NanoQ Spektrofotometresi kullanılmıştır. Örnekler için DNA miktarı ng/µl cinsinden OD260/OD280 (nükleik asit saflığı için) oranına dikkat edilerek kaydedilmiştir.

DNA miktarları dikkate alınarak DNA kırıkları olup olmadığını görebilmek ve DNA kalitesini tespit etmek için her örnekten yaklaşık olarak 800ng olacak şekilde %0,8

konsantrasyonlu, EtBr (30 µl/L) (Etidyum bromür) içeren jele yüklemeler yapılmış ve 120V 80mA akımda 1 saat yürütülmüştür. Elektroforez işleminin ardından jel görüntüleme cihazında UV ışık altında örneklerin DNA kalitesine bakılmıştır.

2.4.3. Or_2, Or_4, Or_5, Or_6, $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ Geni İçin Markır Çalışmaları

Tez çalışması için bölgedeki orobanş ırklarına (A'dan E'ye kadar) dayanıklılık sağlayan *Or5* geni, B-C ırklarına direnç içeren Or_2 geni, D ırkına kadar dayanıklılık gösteren Or_4 geni ve H ırkına kadar direnç içerdiği düşünülen Or_6 geni hedef alınmış, markırın gen bölgesine yakınlığına dikkat edilmiştir. Gen ile bağlantılı markırlar literatür taraması sonucunda belirlenmiştir. Bunlar RGA181, RGA172 (Radwan vd., 2009), ORS1114, ORS665, ORS1036 (Imerovski vd., 2013), ORS683 (Imerovski vd., 2016) markırlarıdır. Rekombinasyon oranı markırın gen bölgesine göre değiştiği için bu mesafeye yakın markırların denenmesi etkili bir sonuç oluşturacaktır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Ayçiçeği Or_5 Gen Bölgesi Genetik Haritalamasında Markırlar ve Uzaklıkları (Tang vd., 2003)

Ayçiçeği orobanşının E ve G ırkına kadar direnç içeren genleri tespit etmek amacıyla kullanılan ilişkili markır boyutları (Çizelge 2.4) ve Forward ve Reverse primerler (Çizelge 2.5) verilmiştir.

Çizelge 2.4. Çalışmada kullanılan moleküler markırlar ve bağlantılı olduğu *Or* genleri

Orobanş ırkı	**Dayanıklılık Geni**	**Markır Tipi**	**Lokusa uzaklık**	**İlişkili Markır Boyutu**	**Referans**
E	*Or2*	ORS1114	-	260bp	(Imerovski vd., 2013)
E	*Or4*	ORS665	-	281bp	(Imerovski vd., 2013)
E	*Or4*	ORS1114	-	264bp	(Imerovski vd., 2013)
E	*Or5*	RGC181	2.6 cM	-	(Radwan vd., 2009)
E	*Or5*	RGC172	7.5 cM	-	(Radwan vd., 2009)
E	*Or6*	ORS1036	-	240bp	(Imerovski vd., 2013)
E	Or6	ORS1114	-	265bp	(Imerovski vd., 2013)
G	$Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$	ORS 683	1,5 cM	-	(Imerovski vd., 2016)

Çizelge 2.5. Orobanşın son ırklarına dayanıklılık genlerinin tespitinde kullanılan markırlar

Primer Adı	**Baz Dizisi 5'- 3'**
ORS665	F: GCACATGAGGTATGGATCTCCT R: TGCAAATACAACTCGGGAAA
ORS1114	F: AGATGGTGGCAGGAGAGTTAAAG R: GCAGAAACAGATCAGGAGGGTAT
ORS1036	F: CCCTTTCACTTCCTATTTTCTATTCA R: CTAAGAGGGGTCGGTATGATTTC
ORS683	F: ATAGAAACCACCACCCATCG R: GGTCCCTAATGTTTGGACACTT
RGC181	F: TGGCATTAGATATGAGGTTTGGA R: TTGGACAAGAAGTCAAGTCAAGG
RGC172	F: TACCATGTGTCTCCCTCTGATGT R: GATGTCCTTGATGTTCCCAATAA

Moleküler çalışmalar için uygun PCR reaksiyon koşullarının belirlenmesi çok önemli olduğundan en uygun sıcaklık ve döngü koşullarını bulmak amacıyla optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. PCR denemeleri için primer PCR içerikleri (Çizelge 2.6) ve primer PCR koşulları (Çizelge 2.7, Çizelge 2.8, Çizelge 2.9) verilmiştir.

Çizelge 2.6. Kullanılan primerlerin PCR içerikleri

PCR İçeriği (15 µl)	**Final Konsantrasyonu**
Forward Primer (10 µM)	0,5 µl
Reverse Primer (10 µM)	0,5 µl
gDNA Örneği (20 ng/µl)	2 µl
H_2O	4,5µl
Master Mix	7,5 µl

Çizelge 2.7. SSR'lar için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları (Touchdown)

Primer Adı	**Adım**	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
ORS1114	G. Denatürasyon	95	5 dk.	1
ORS1036 ORS665	Denatürasyon	95	1 dk.	40 (10 döngü sonrası her döngüde 1°C azalıyor)
	Bağlanma	62 ➡ 52	1 dk.	
	Sentez	72	2 dk.	
	Final Sentez	72	10 dk.	1

Çizelge 2.8. RGA' lar için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları (Touchdown)

Primer Adı	**Adım**	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
RGA172 RGA181	G. 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 2.9. ORS683 için uygulanan primer bağlanma sıcaklıkları

Primer Adı	**Adım**	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü Sayısı**
ORS683	G. Denatürasyon	94	2 dk.	1
	Denatürasyon	94	30 sn.	30
	Bağlanma	60	40 sn.	
	Sentez	70	1 dk.	
	Final Sentez	72	2 dk.	1

Elde edilen PCR ürünleri PCR çalışmasının başarılı olup olmadığını görmek ve kaç baz çifti büyüklüğündeki bölgede bant oluşturduğunu görmek için jel elektroforezde yürütülerek görüntülenmiştir. Çalışmada Generuler #SM0371(372) kodlu 50-1000bp bant büyüklüklerini ayırt edebilecek bir DNA standartı kullanılmıştır. PCR ürünlerinin fragment boyutları göz önünde bulundurularak morfolojik gözlem sonuçlarına göre karşılaştırmalar yapılmıştır. Yabani ve melez popülasyonlarının orobanş ırklarına dayanıklılığı hakkında bilgi edinilmiştir. Ayrıca markırların seleksiyonda kullanılabilirlikleri hakkında fikir edinilmiştir.

BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1. Hastalık Testi Sonuçları

Patojen tohumuyla birlikte aynı bardağa ekimi yapılan bitki çeşitleri serada çimlendikten ve belli bir uzunluğa eriştikten sonra bitki kökleri incelenerek nodül sayıları ve orobanş varlığı ya da yokluğu kayıt altına alınmıştır (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1). Bitki köklerinde nodüle rastlanan çeşitler hassas birey; herhangi bir nodül oluşumu gözlenmeyen çeşitler ise dayanıklı birey olarak kaydedilmiştir. Tüm koleksiyon çimlendirilip ekilmesine rağmen, gerek yabani ayçiçeği genotiplerinin çimlendirme ve topraktan çıkışlarının çok güç ve uzun sürmesi nedeniyle orobanşın köklere tutunmasının zor olması, gerekse bu sürede gelişmelerinin son derece yavaş olması, tohumlarının çimlenme sırasında veya sonrasında bazı aksesyonların ölmesi nedeniyle koleksiyondaki tüm genotiplerde sonuç alınamamıştır. Hastalık testi izlenebilen 98 farklı bitki materyalinin 29 tanesinde nodül oluşumu görülürken 69 tanesi ise orobanşa dayanıklı olarak görülmüştür. Yabani ayçiçeği türlerinden *H. mollis, H. pauciflorus, H. winteri, H. argophyllus, H. debilis* subsp. *cucumerifolius, H. petiolaris, H. tuberosus, H. maximiliani, H. agretis, H. paradoxus*' un bazı aksesyonları orobanşa hassas bitki olarak karşımıza çıkmaktadır. Melez ayçiçeği olarak *SLT_Ay_146 x H. arg14, SLT_Ay2_146 x H. deb_581, Solso x H. arg14, Solso x H. arg15, Wild species 2019 France (H. arg), Wild species 2019 Turkey (H. arg), SLT 009 x H. deb-581, SLT_Ay_146 x H. deb_581, Solso 30 x H. arg_1093, SLT009 x H. arg19, Solso 30 x H. arg_1093, SLT009 x H. annuus9, SLT_Ay_146 x H. arg19, SLT_Ay_146 x H. bol28, SLT_Ay-146 x H. winteri237, Solso 30*

x H. deb_581 çeşitleri hassas birey olarak kaydedilmiştir. Geriye kalan aksesyonlar orobanşa dayanıklı birey olarak görülmüştür. Yine orobanşın son ırklarına dayanıklı olduğu bilinen TTAE enstitüsünden tedarik edilen ve moleküler çalışmalarda genetik materyal olarak kullanılan *P130* çeşidi [Şekil 3.2 (a)] ve orobanşa hassasiyet içeren *9661* çeşidine [Şekil 3.2 (b)] orobanş testi yapılarak sonuçları elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Aksesyonların orobanş testleri sonucu orobanş dayanım durumları

PI no	Aksesyon no	Aksesyon veya melez adı	Orobanş dayanımı ve kökteki nodül sayısı
673209	1	*H. agretis*	8
597890	2	*H. annuus*	dayanıklı
468651	3	*H. argophyllus*	5
490291	4	*H. argophyllus*	dayanıklı
649863	5	*H. argophyllus*	dayanıklı
649865	6	*H. argophyllus*	dayanıklı
664803	7	*H. argophyllus*	7
468659	8	*H. atrorubens*	dayanıklı
673141	9	*H. bolanderi*	dayanıklı
673280	10	*H. bolanderi*	dayanıklı
649958	11	*H. cusickii*	dayanıklı
597908	12	*H. debilis* subsp. *cucumerifolius*	dayanıklı
613753	13	*H. debilis* subsp. *cucumerifolius*	2
649870	14	*H. debilis* subsp. *cucumerifolius*	dayanıklı
547169	15	*H. decapetalus*	dayanıklı
649971	16	*H. decapetalus*	dayanıklı
673143	17	*H. divaricatus*	dayanıklı
664641	18	*H. eggertii*	dayanıklı
664733	19	*H. floridanus*	dayanıklı
547184	20	*H. giganteus*	dayanıklı
649984	21	*H. giganteus*	dayanıklı
547193	22	*H. grosseserratus*	dayanıklı
649994	23	*H. grosseserratus*	dayanıklı
649996	24	*H. grosseserratus*	dayanıklı
649998	25	*H. grosseserratus*	dayanıklı

673183	26	*H. heterophyllus*	dayanıklı
547203	27	*H. hirsutus*	dayanıklı
547204	28	*H. hirsutus*	dayanıklı
653545	29	*H. laciniatus*	dayanıklı
586896	64	*H. maximiliani*	dayanıklı
613794	65	*H. maximiliani*	dayanıklı
468746	30	*H. maximiliani*	dayanıklı
468747	31	*H. maximiliani*	dayanıklı
586892	32	*H. maximiliani*	6
586894	33	*H. maximiliani*	dayanıklı
613794	34	*H. maximiliani*	dayanıklı
650013	35	*H. mollis*	1
673147	36	*H. mollis*	dayanıklı
592349	37	*H. nuttallii*	dayanıklı
650024	38	*H. nuttallii*	dayanıklı
531044	39	*H. nuttallii* subsp. *nuttallii*	dayanıklı
531052	40	*H. nuttallii* subsp. *nuttallii*	dayanıklı
586905	41	*H. nuttallii* subsp. *nuttallii*	dayanıklı
597918	42	*H. nuttallii* subsp. *rydbergii*	dayanıklı
664789	43	*H. occidentalis* subsp. *plantagineus*	dayanıklı
673239	44	*H. paradoxus*	12
673253	45	*H. paradoxus*	8
503233	46	*H. pauciflorus*	dayanıklı
547211	47	*H. pauciflorus*	dayanıklı
650026	48	*H. pauciflorus*	1
673214	49	*H. porteri*	dayanıklı
664695	50	*H. resinosus*	dayanıklı
435880	51	*H. simulans*	dayanıklı
664698	52	*H. smithii*	dayanıklı
547223	53	*H. strumosus*	dayanıklı
357299	54	*H. tuberosus*	dayanıklı
503279	55	*H. tuberosus*	dayanıklı
547227	56	*H. tuberosus*	dayanıklı
547237	57	*H. tuberosus*	dayanıklı

650093	58	*H. tuberosus*	dayanıklı
650099	59	*H. tuberosus*	dayanıklı
650105	60	*H. tuberosus*	dayanıklı
664619	61	*H. tuberosus*	dayanıklı
664624	62	*H. tuberosus*	4
673290	63	*H. winteri*	1
	68	*SLT 009 x H.deb-581*	2
	67	*SLT_009 x H. arg_1093*	dayanıklı
	69	*SLT_009 x H. deb-581*	7
	78	*SLT_009 x H. deb-581*	4
	70	*SLT_Ay_146 x H. deb_581*	2
	79	*SLT_Ay_146 x H.arg14*	1
	80	*SLT_Ay_146 x H.arg15*	dayanıklı
	81	*SLT_Ay_146 x H.arg17*	dayanıklı
	82	*SLT_Ay_146 x H.arg19*	5
	83	*SLT_Ay_146 x H. bol28*	5
	84	*SLT_Ay_146 x H. bol673141*	dayanıklı
	87	*SLT_Ay-146 x H. winteri237*	5
	73	*SLT_Ay2_146 x H. deb_581*	1
	91	*SLT009 x H. annuus9*	4
	89	*SLT009 x H. arg19*	3
	90	*SLT009 x H.bol.28*	dayanıklı
	71	*Solso 30 x H. arg_1093*	3
	72	*Solso 30 x H. arg_1093*	2
	66	*Solso 30 x H. deb_581*	20
	85	*Solso x H. arg14*	1
	86	*Solsox H. arg15*	1
	88	*Solso x H. winteri237*	dayanıklı
	75	*Wild species 2019 France (H. arg)*	1
	74	*Wild species 2019 France (H. deb) silvestris*	dayanıklı
	76	*Wild species 2019 Turkey (H. arg)*	dayanıklı
	77	*Wild species 2019 Turkey (H. arg)*	1



Şekil 3.1. Yabani ayçiçeği ve melez ayçiçeği genotiplerinin orobanşa dayanıklılığının kontrolü



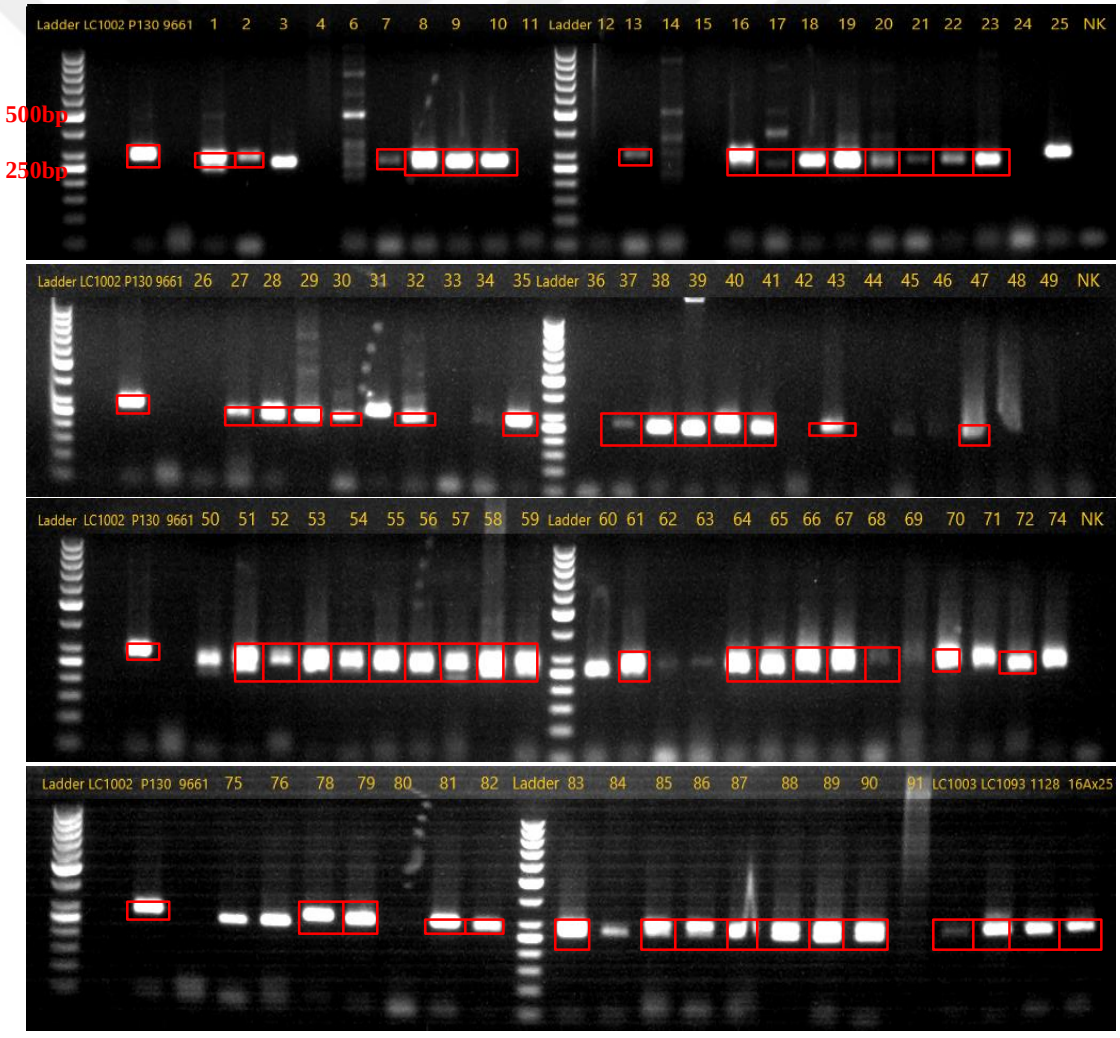
a b

Şekil 3.2. (a): Orobanşa dayanıklı P130 bitkisi; (b): Orobanşa hassas 9661 bitkisi

3.2. *Or4* İçin Kullanılan Markırların Sonuçları

3.2.1. ORS665 Markırı

ORS665 markırının *Or5* gen bölgesinin 21,2 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 281 bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir. ORS665 markırı ile yapılan çalışma sonucunda dayanıklı materyal (P130, LC1002A) ve hassas materyal (9661) ile yabani ayçiçeği genotipleri ve melez ayçiçeği çeşitlerinde 281bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 3.3) morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 67 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 44 tanesinde (Çizelge 3.2) 281bp büyüklüğünde fragment görüldüğünden; bu 44 bireyin Or_4 dayanıklılık genini içerdiği öngörülmüştür.

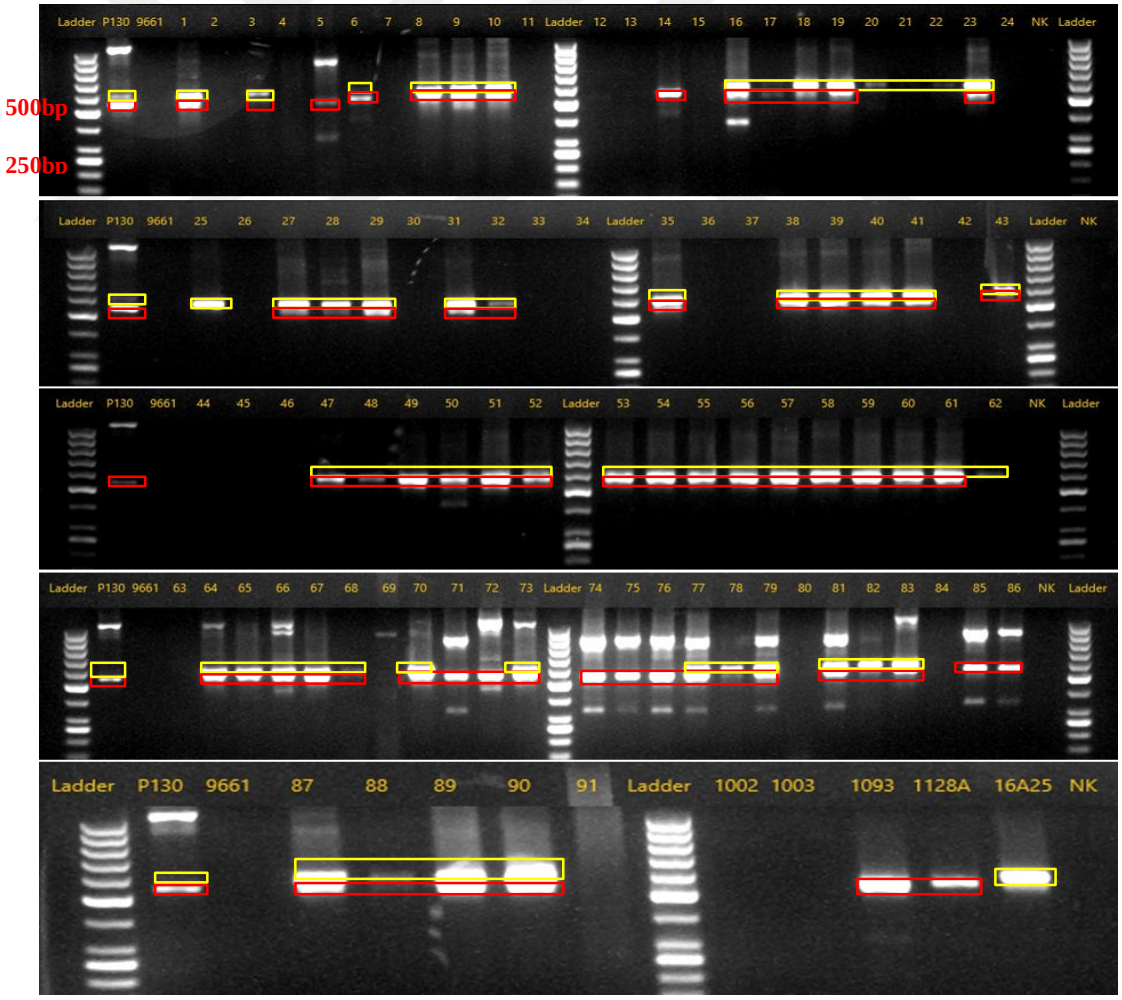


Şekil 3.3. ORS665 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)

3.3. Or_5 İçin Kullanılan Markırların Sonuçları

3.3.1. RGC172 Markırı

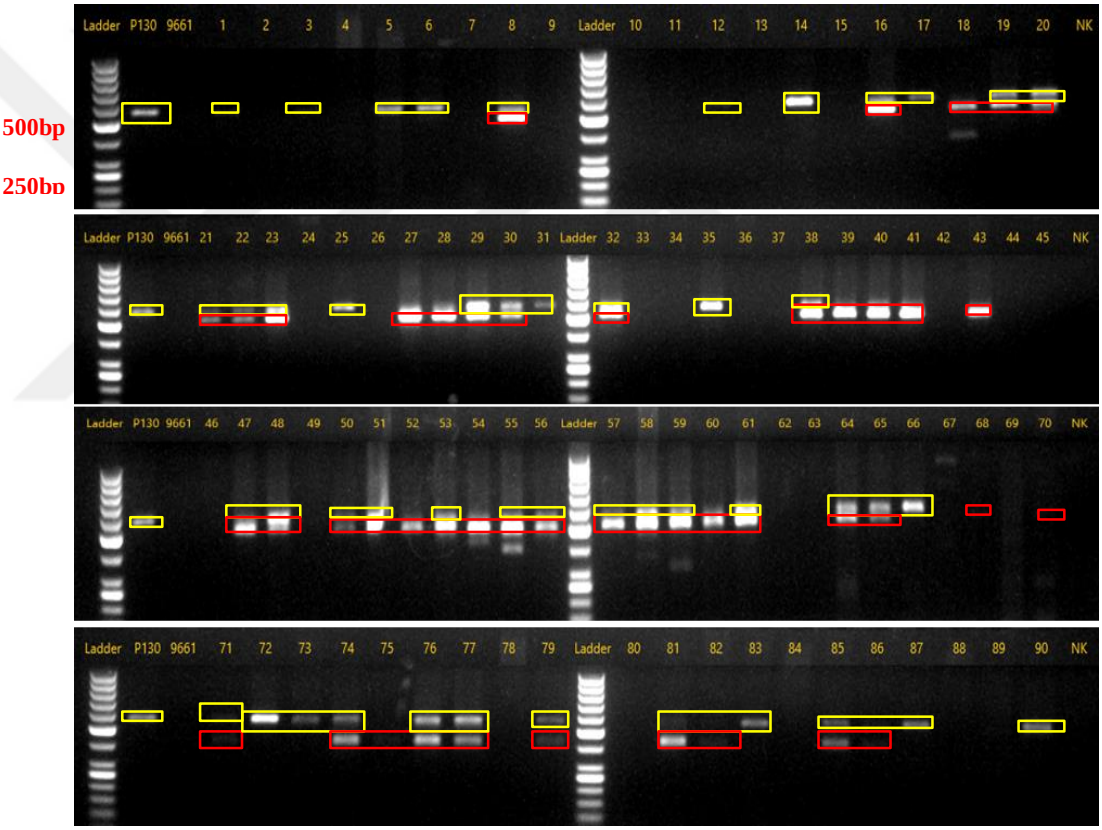
RGC172 markırının *Or*$_5$ gen bölgesinin 7,5 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 550bp ve 620bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir. RGC172 markırıyla yapılan çalışma sonucunda, dayanıklı materyal (P130) ve hassas materyal (9661) ile yabani ayçiçeği genotipleri ve melez ayçiçeği çeşitlerinde 550bp ve 620bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 3.4) morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 45 tanesi (Çizelge 3.2) RGC172 markırının 550bp büyüklüğündeki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 45 bireyin *Or*$_5$ dayanıklılık geninin RGC172- 550bp allellerinin ilişkili olduğu düşünülmektedir. RGC172 markırının 620bp büyüklüğündeki DNA fragmenti ise 44 bireyde gözlemlenmiş olup, bu 44 bireyin *Or*$_5$ dayanıklılık geni içerdiği düşünülmektedir.



Şekil 3.4. RGC172 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü

3.3.2. RGC181 Markırı

RGC181 markırının *Or*$_5$ gen bölgesinin 2,6 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 550bp ve 600bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir. RGC181 markırıyla yapılan çalışma sonucunda, dayanıklı materyal (P130) ve hassas materyal (9661) ile yabani ayçiçeği genotipleri ve melez ayçiçeği çeşitlerinde 550bp ve 600bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 3.5) morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında morfolojik olarak 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 38 tanesi (Çizelge 3.2) RGC181 markırının her iki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 38 bireyin *Or*$_5$ dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir.

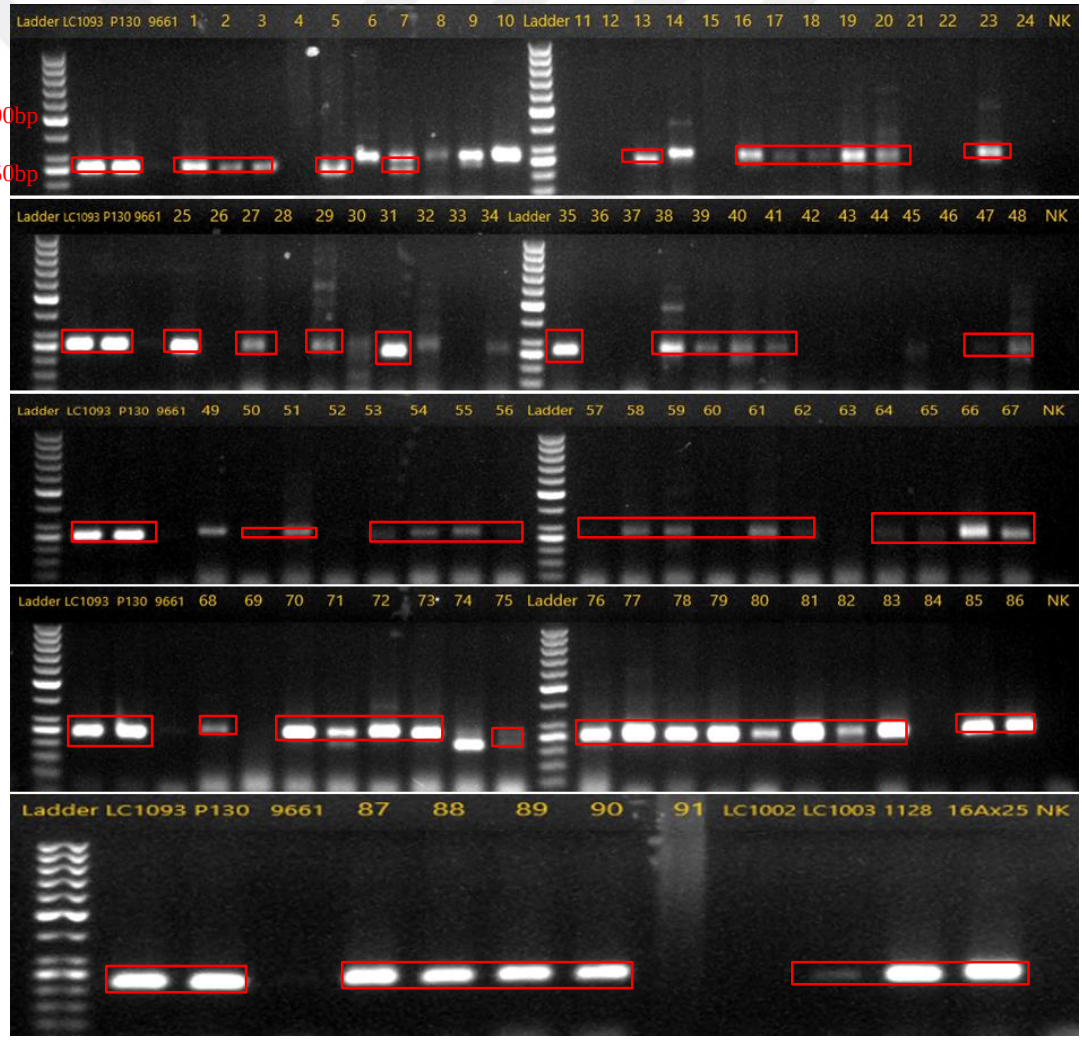


Şekil 3.5. RGC181 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)

3.4. Or_6 İçin Kullanılan Markırların Sonuçları

3.4.1. ORS1036 Markırı

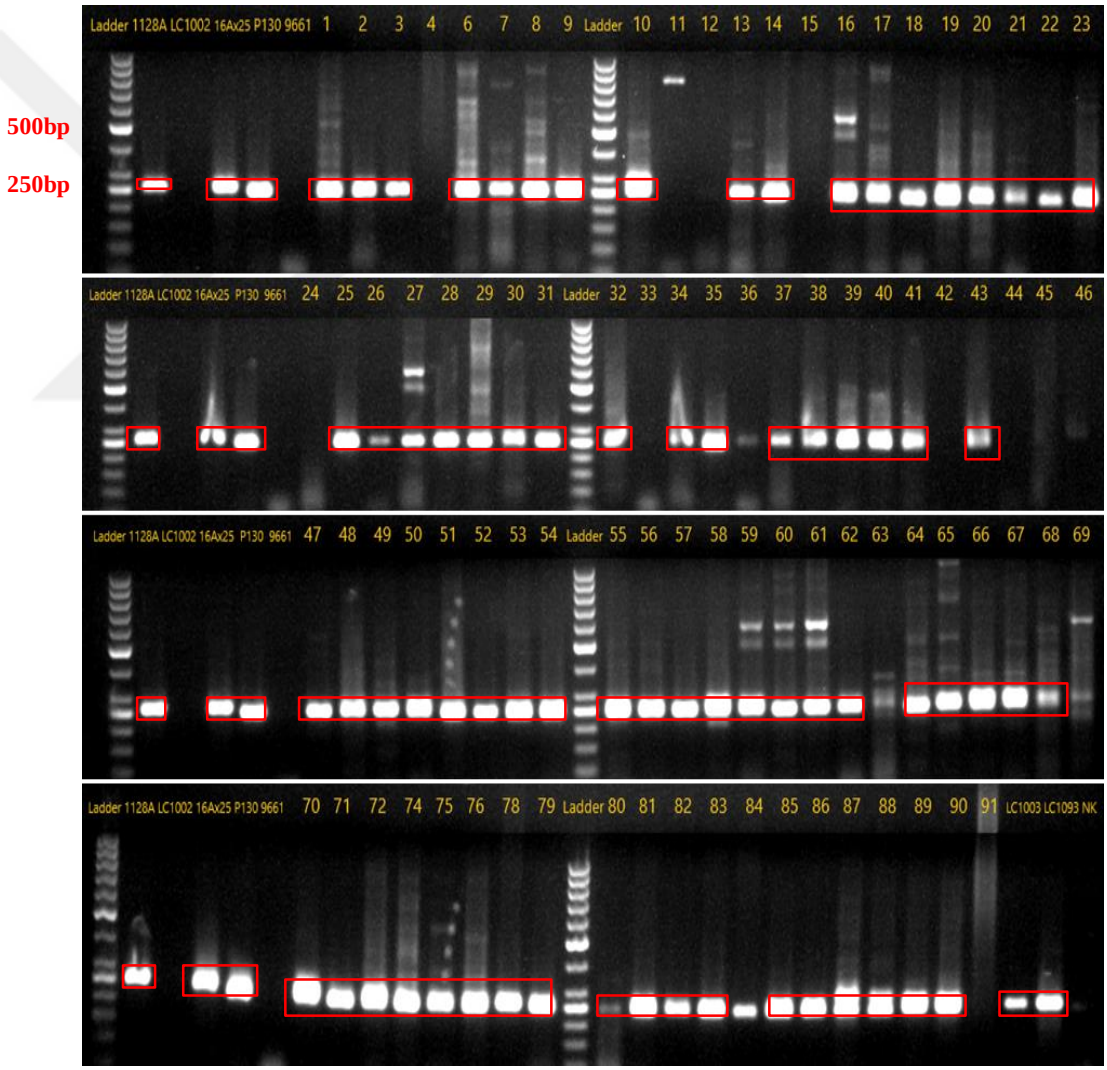
ORS1036 markırının Or_5 gen bölgesinin 7,5 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 240bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir. ORS1036 markırıyla yapılan çalışma sonucunda, dayanıklı materyal (P130, LC1093A) ve hassas materyal (9661) ile yabani ayçiçeği genotipleri ve melez ayçiçeği çeşitlerinde 240bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 3.6) morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 68 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 41 tanesi (Çizelge 3.2) 240bp büyüklüğündeki allel açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 41 bireyin *Or6* dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir.



Şekil 3.6. ORS1036 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130, LC1093A= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= negatif kontrol)

3.4.2. ORS1114 Markırı

ORS1114 markırının Or_5 gen bölgesinin 74,3 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 265bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir. ORS1114 markırıyla yapılan çalışma sonucunda, dayanıklı materyal (P130,1128A, LC1002A, 16Ax25) ve hassas materyal (9661) ile yabani ayçiçeği genotipleri ve melez ayçiçeği çeşitlerinde 265bp bantları çoğaltılmış olup (Şekil 3.7) morfolojik gözlem sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Hastalık testi kapsamında 67 bireyin dayanıklı olduğu gözlemlenmiş ve bunlardan 52 tanesi (Çizelge 3.2) 265bp büyüklüğündeki allel açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 67 bireyin *Or6* dayanıklılık genini içerdiği öngörülmüştür.



Şekil 3.7. ORS1114 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü (P130= dayanıklı kontrol çeşidi, 9661= hassas kontrol çeşidi, NK= Negatif Kontrol)

Çizelge 3.2: Aksesyonların orobanş dayanım durumları ve moleküler markır testleri

			RGC172		**RGC181**		**ORS 1036**	**ORS 1114**	**ORS 665**
Taksonomi	**Aksesyon no**	**Orobanş Dayanımı**	550 bp	620 bp	550 bp	600 bp	240 bp	264 bp	281 bp
H. agretis	1	8	+	+	-	+	+	+	+
H. annuus	2	R	-	-	-	-	+	+	+
H. argophyllus	3	5	+	+	-	+	+	+	-
H. argophyllus	4	R	-	-	-	-	-	-	-
H. argophyllus	5	R	+	-	-	+	+	yok	yok
H. argophyllus	6	R	+	+	-	+	-	-	-
H. argophyllus	7	7	-	-	-	-	+	+	+
H. atrorubens	8	R	+	+	+	+	-	+	+
H. bolanderi	9	R	+	+	-	-	-	+	+
H. bolanderi	10	R	+	+	-	-	-	+	+
H. cusickii	11	R	-	-	-	-	-	-	-
H. debilis subsp. *cucumerifolius*	12	R	-	-	-	+	-	-	-
H. debilis subsp. *cucumerifolius*	13	2	-	-	-	-	+	+	+
H. debilis subsp. *cucumerifolius*	14	R	+	-	-	+	-	+	-
H. decapetalus	15	R	-	-	-	-	-	-	-
H. decapetalus	16	R	+	+	+	+	+	+	+
H. divaricatus	17	R	+	+	-	+	+	+	+
H. eggertii	18	R	+	+	+	-	+	+	+
H. floridanus	19	R	+	+	+	+	+	+	+
H. giganteus	20	R	-	+	+	+	+	+	+
H. giganteus	21	R	-	+	+	+	-	+	+
H. grosseserratus	22	R	-	+	+	+	-	+	+
H. grosseserratus	23	R	+	+	+	+	+	+	+
H. grosseserratus	24	R	-	-	-	-	-	-	-
H. grosseserratus	25	R	-	+	-	+	+	+	-
H. heterophyllus	26	R	-	-	-	-	-	+	-
H. hirsutus	27	R	+	+	+	-	+	+	+
H. hirsutus	28	R	+	+	+	-	-	+	+
H. laciniatus	29	R	+	+	+	+	+	+	+
H. maximiliani	30	R	-	-	+	+	-	+	+
H. maximiliani	31	R	+	+	-	+	+	+	-
H. maximiliani	32	6	+	+	+	+	-	+	+
H. maximiliani	33	R	-	-	-	-	-	-	-
H. maximiliani	34	R	-	-	-	-	-	+	-
H. mollis	35	1	+	+	-	+	+	+	+
H. mollis	36	R	-	-	-	-	-	-	-

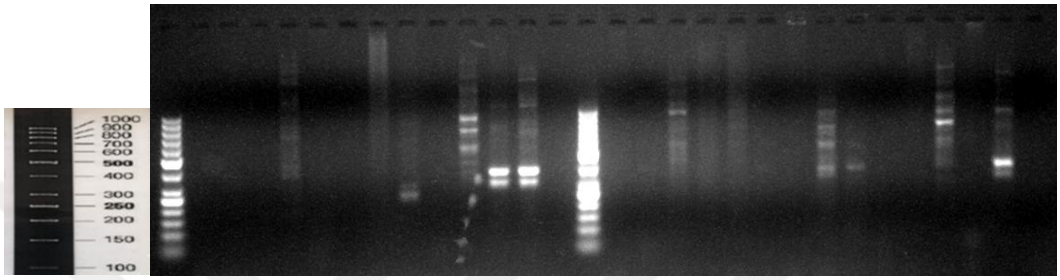
H. nuttallii	37	R	-	-	-	-	-	+	+
H. nuttallii	38	R	+	+	+	+	+	+	+
H. nuttallii subsp. *Nuttallii*	39	R	+	+	+	-	+	+	+
H. nuttallii subsp. *Nuttallii*	40	R	+	+	+	-	+	+	+
H. nuttallii subsp. *Nuttallii*	41	R	+	+	+	-	+	+	+
H. nuttallii subsp. *Rydbergii*	42	R	-	-	-	-	-	-	-
H. occidentalis subsp. *plantagineus*	43	R	+	+	+	-	-	+	+
H. paradoxus	44	12	-	-	-	-	-	-	-
H. paradoxus	45	8	-	-	-	-	-	-	-
H. pauciflorus	46	R	-	-	-	-	-	-	-
H. pauciflorus	47	R	+	+	+	+	+	+	+
H. pauciflorus	48	1	+	+	+	+	+	+	-
H. porteri	49	R	+	+	-	-	-	+	-
H. resinosus	50	R	+	+	+	+	+	+	-
H. simulans	51	R	+	+	+	+	+	+	+
H. smithii	52	R	+	+	+	-	-	+	+
H. strumosus	53	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	54	R	+	+	+	-	+	+	+
H. tuberosus	55	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	56	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	57	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	58	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	59	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	60	R	+	+	+	-	+	+	-
H. tuberosus	61	R	+	+	+	+	+	+	+
H. tuberosus	62	4	-	+	-	-	+	+	-
H. winteri	63	1	-	-	-	-	-	-	-
H. maximiliani	64	R	+	+	+	+	+	+	+
H. maximiliani	65	R	+	+	+	+	+	+	+
Solso 30 x H. Deb_581	66	20	+	+	-	+	+	+	+
SLT_009 x H. Arg_1093	67	R	+	+	-	-	+	+	+
SLT_009 x H.deb-581(Fransa)	68	2	+	+	+	-	+	+	+
SLT_009 x H. deb-581(Türkiye)	69	7	-	-	-	-	-	-	-
SLT_Ay_146 x H. Deb581	70	2	+	+	+	-	+	+	+
Solso 30 x H. Arg_1093	71	3	+	-	+	+	+	+	-
Solso 30 x H. Arg_1093	72	2	+	-	-	+	+	+	+
SLT_Ay2_146 x H. Deb_581	73	1	+	+	-	+	+	yok	yok
Wild species 2019	74	R	+	-	+	+	-	-	-

France (H. deb) silvestris									
Wild species 2019 France (H. Arg)	75	1	+	-	+	-	+	-	-
Wild species 2019 Turkey (H. Arg)	76	R	+	-	+	+	+	-	-
Wild species 2019 Turkey (H. Arg)	77	1	+	+	+	+	+	yok	yok
SLT_009 x H. deb-581	78	4	+	+	-	-	+	+	+
SLT_Ay_146 x H.arg14	79	1	+	+	+	+	+	+	+
SLT_Ay_146 x H.arg15	80	R	-	-	-	-	+	-	-
SLT_Ay_146 x H.arg17	81	R	+	+	+	+	+	+	+
SLT_Ay_146 x H.arg19	82	5	+	+	+	+	+	+	+
SLT_Ay_146 x H.bol28	83	5	+	+	-	+	+	+	+
SLT_Ay_146 x H.bol673141	84	R	-	-	-	-	-	-	-
Solso x H.arg14	85	1	+	-	+	+	+	+	+
Solso x H.arg15	86	1	+	-	+	+	+	+	+
SLT_Ay-146 x H.winteri237	87	5	+	+	-	+	+	+	+
Solso x H.winteri237	88	R	+	+	-	-	+	+	+
SLT009 x H.arg19	89	3	+	+	-	-	+	+	+
SLT009 x H.bol.28	90	R	+	+	-	+	+	+	+
SLT009 x H.annuus9	91	4	-	-	-	-	-	-	-
LC 1002		R	-	-	-	-	-	-	-
LC 1003		R	-	-	+	+	+	+	+
LC 1093		R	+	-	+	+	+	+	+
1128A		R	+	-	-	+	+	+	+
16AX25		R	-	+	+	+	+	+	+
P130		R	+	+	-	+	+	+	+
9661		S	-	-	-	-	-	-	-

3.5. $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ İçin Kullanılan Markırın Sonuçları

3.5.1. ORS683 Markırı

ORS683 markırının, $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ gen bölgesinin 1,5cM uzağında olduğu bilinmektedir. Bu markır ile yapılan çalışma sonucu, yabani ayçiçeği genotiplerinde, melez çeşitlerde ve orobanşa dayanıklı ve hassas olduğu bilinen bireylerde herhangi bir ayırt edicilik gözlenmemiştir.



Şekil 3.8. ORS683 markırı kullanılarak yapılan PCR sonucu jel elektroforez görüntüsü

BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Ülkemizde yağlı tohum bitkisi denilince ilk akla gelen bitki, çoğunluğu Trakya bölgesinde yetiştirilen ayçiçeğidir. Ancak üretimde karşılaşılan verim kayıpları ve çevresel nedenler dolayısıyla tüketim toplumunun ihtiyacını karşılamadığından ithal olarak bu üretim açığı giderilmeye çalışılmaktadır. Ayçiçeğinin kalitesini etkileyen ve %100'lere ulaşan verim kaybına neden olan en önemli biyotik faktör orobanş paraziti olarak görülmektedir. Bu parazitik bitki ülkemizde, Balkanlarda ve Avrupa'da yeni ırklar meydana getirerek kendisine karşı oluşturulan direnç mekanizmasını kırmaktadır. Orobanş tohumları çok sayıda ve küçük olmaları dolayısıyla hızlı bir şekilde yayılım göstermektedir. Ayçiçeği ıslah programlarının en önemli hedeflerinden biri; sürdürülebilir ve etkili orobanş dayanıklılığının sağlanmasıdır (Fernandez-Martinez ve ark., 2010; Kaya ve ark., 2012b). 20. yüzyılın başlarında klasik ıslah yöntemleri kullanılarak türlerarası melezler oluşturulup birtakım amaçlar için kullanılmaya başlanılmıştır (Satziperov, 1916). Daha sonra yapılan çalışmalar, yabani ayçiçeği türlerinin kültür ayçiçeğiyle melezlenmesi sonucunda oluşan yeni ayçiçeği formlarının, orobanşa ve farklı hastalıklara karşı dirençli olduğunu göstermiştir (Pustovoit, 1960; Škorić, 1985). Yabani ayçiçekleri bu noktada çok büyük önem içermektedir. Yabani ayçiçeği türlerinin orobanşın yeni ırklarına dirençli gen kaynağına sahip olduğu bilinmektedir. Orobanşa direnç içeren yabani türlerin tespitinin fenotipik olarak uzun zaman alması, yoğun emek istemesi ve çevresel koşullara bağlı nedenlerden dolayı güvenilir olmadığı bilinmektedir. Bunların yanında hastalık kaynağını ve etmenlerini

bulmak her zaman mümkün olmamaktadır. Halbuki günümüzde var olan genotiplerin bu hastalıklara ve orobanşa dayanıklılık genlerini içerip içermediğini belirlemenin; bunun yanında dominant olup olmadıklarını anlayabilmenin yolu moleküler markörler vb. biyoteknolojik yöntemleri etkin bir şekilde kullanabilmekten geçmektedir. Son dönemde, özellikle özel sektör kuruluşlarınca orobanş parazitine ve herbisite dayanıklı ayçiçeği çeşitlerinin geliştirilmesi için büyük çabalar sarf edilmektedir. Bunun için farklı genetik kaynaklara sahip kendilenmiş ebeveyn hatlara ihtiyaç vardır. Tek veya çok yıllık yabani ayçiçeği türlerinde mevcut olan bu farklı genlerin ve bu yeni gen kaynaklarının kültüre alınan tek yıllık *Helianthus annus* L. türüne aktarılması gerekmektedir. Ancak bu aktarım türler arası melezlemelerle mümkün olup, klasik metodlar kullanılarak elde edilmesi son derece zordur. Halbuki klasik ıslah çalışmalarının başarısını arttıran, bu çalışmalarda yardımcı ve tamamlayıcı bir rol oynayan MAS ile bu gen aktarımını etkin ve ekonomik biçimde daha kısa sürede gerçekleştirmek mümkündür.

Bu çalışmada yabani ayçiçeği türleri ve TTAE' den elde edilen genetik bitki materyalleri ile yine TTAE'nin Trakya'nın farklı bölgelerinden toplamış olduğu orobanşın son ırklarını içerdiği bilinen parazit tohumları kullanılarak hastalık testleri yapılmıştır. Hastalık testi, çalışma sonunda moleküler düzeyde ayrım yapabildiği tespit edilen markırların test edilerek doğruluğunun onaylanması amacıyla yapılmıştır. Hastalık testi sonrasında hassas ve dayanıklı genotipler belirlenerek *Or* genleri içeren ya da içermeyen melez çeşitler ile yabani ayçiçeği türleri LG3 bölgesinde olduğu bilinen markırlar ile taranmıştır. Orobanş parazitine karşı direnci moleküler düzeyde tespit ederek markır- gen ilişkisini anlayabilmek ve MAS çalışmalarına katkıda bulunmak çalışmanın amaçları arasındadır. Orobanş parazitiyle ilgili moleküler markır çalışmalarına bakıldığında yapılan çalışmaların daha çok direnç geni olan Or_5 geni ile alakalı olduğu görülmektedir (Kaya vd., 2012).

Orobanşa dayanıklı ayçiçeği genotiplerinin belirlenmesi için kullanılması planlanan markırların A'dan E'ye kadar olan ırklarda dayanım sağlayan Or_5 geni ile bağlantılı markırlar olduğu bilinmektedir (Radwan vd., 2009). Or_5, LG3'ün üst ucunda bulunan birkaç allelden veya sıkıca bağlı orobanş direnç lokuslarından (Or_1-Or_5) biridir. H. tuberosus' tan tanımlanan RGA172, RGA192, RGA181 markırları ve yabani *H. annuus*' tan tanımlanan RGA206 markırının tamamen Or_5 ile ayrılmadığı görülmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız markır olan RGA181 *Or*$_5$ lokusuna 2,6 cM uzaklıktadır, RGA172 markırı ise *Or*$_5$ lokusuna 7,5 cM uzaklıkta bulunmaktadır. RGA206 ve RGA192 markırları ise lokusa uzak oldukları için (33 cM) çalışmaya dahil edilmemiştir. RGA markırlarının aminoasit dizi analizi, R genlerinin TIR-NBS-LRR alt ailesinin üyeleri olduğunu ortaya koymaktadır. Radwan vd., (2009) makalesinde; LG3 üzerinde bulunan, bilinen dayanıklılık genlerinin NBS-LRR genlerini ayırt edebildiğini belirtmiştir. Bu NBS-LRR genlerinin konak savunma yanıtlarının tetiklenmesinde ve orobanş ırklarına özgü direnç kazandıran R proteinlerini kodlayarak orobanşın tanınmasında rol oynadığını bildirmiştir.

Bağlantı grubu 3 (LG3) dayanıklılık genleri açısından zengin bir bölge olduğundan (Imerovski vd., 2013) çalışmasında bu bağlantı grubundan SSR markırlarını test ederek bu markırların farklı *Or* genlerinin tanımlanmasında kullanılıp kullanılmayacağını araştırmıştır. Daha önce ORS1114 markırının MAS için yararlı olabileceği bulunmuş (Iuoras vd., 2004). Iuoras vd., (2004) çalışmasında, orobanşa dayanıklı ya da hassas olan melez çeşitleri yine dirençli kaynak olarak kullanılan LC1093 hattı *Or*$_5$ lokusunda dirençli allel içerir. *Or*$_5$ lokusunun 74,3 cM proksimalinde eşleşen ORS 1114 markırı, dirençli olarak kabul edilen genotiplerin %56'sında 280 bp.'lık bandı tanımlamıştır. *Or*$_5$ lokusunun 7,5 cM proksimalinde eşlendiği rapor edilen ORS 1036 markırı, dirençli olarak karakterize edilen genotiplerin %81'inde 245-246 bp. bandı tanımlamıştır.

Imerovski vd., (2013) çalışmasında ORS1114 markırının *Or*$_5$ ile korelasyon göstermediğini rapor etmiştir. Çalışmada *Or*$_2$ geninin ORS1114-260bp alleleri arasında, *Or*$_4$ geninin ORS1114-264bp, ORS665-281bp alleleri arasında arasında ilişki bulunmuş, *Or*$_6$ geninin ise ORS1114-265bp, ORS1036-240bp alleleri arasında yüksek oranda ilişki tespit edilmiştir. Yine ORS1036 markırı LG3'ün telomerik bölgesinde *Or*$_5$'e uzaklığı 7,5 cM olarak belirlenmiş en yakın SSR markırıdır (Tang ve Knapp, 2003).

Bu çalışmada, Imerovski vd. (2013) çalışmasından yararlanılarak kullanılan ORS665 markırının *Or*$_4$ gen bölgesinin 281bp'lik bölgesinde selektif bant ürettiği bilinmektedir. Yapılan agaroz jel elektroforez görüntülerinde PCR ürünlerinin çalıştığı ve istenilen bant oluşumu gözlemlendiği görülmektedir. Hastalık testi yapılan bireylerden 67 tanesi dayanıklı olarak görülmüş ve bunlardan 44 bireyde 281bp büyüklüğünde bant

oluşumu gözlemlenmiştir. Morfolojik olarak dayanıklı görülen bu 44 bireyin Or_4 dayanıklılık genini içerdiği öngörülmüştür.

Çok yıllık bazı yabani türler ile tek yıllık yabani türlerden olan *H. argophyllus, H. agrestis, H. anomalus*' un orobanşa dayanıklılık gösterdiği bildirilmiştir (Fernández-Martínez vd., 2000). *H. exilis, H. cusickii, H. eggertii, H. strumosus, H. decapetalus, H. glaucophyllus, H. resinosus, H. hirsutus, H. laevigatus, H. laetiflorus, H. tuberosus, H. smithii, H. divaricatus, H. simulans, H. pumilus* ve *H.* californicus türlerinin orobanşa dayanıklılık gösterdiği bilinmektedir. Yine *H. grosseserratus, H. giganteus, H. mollis, H. maximiliani, H. multiflorus* ve *H. salicifolius* türleri orobanştan eser miktarda etkilenmektedir (Fernández-Martínez vd., 2008; Fernández-Martínez vd., 2000; Ruso vd., 1996).

ORS665 markırı ile yapılan çalışmada jel görüntülerinden yola çıkarak yapılan değerlendirmeye *göre H. agrestis, H. eggertii, H. strumosus, H. hirsutus, H. tuberosus, H. smithii, H. divaricatus, H. simulans, H. grosseserratus, H. giganteus* türlerinde 281bp büyüklüğünde selektif bant oluşumu görülmüştür. *H. mollis* yabani türünde ise orobanş testlerinde bir adet orobanş nodülü oluşumu görülmüş ancak jel görüntülerinde ise 281 bp'lik selektif bant oluşumu da görülmüştür. Bu durum yukarıda açıklandığı üzere *H. mollis*'in orobanştan az miktarda etkilendiğini göstermektedir. ABD Kentucky eyaletinde olan *H. maximiliani* test sonuçlarında dayanıklı olarak gözükmesine rağmen jel görüntülerinde 281bp büyüklüğünde selektif bant oluşumu göstermemiştir. Ancak ABD, North Dakota eyaletinde var olan türler haricinde (ABD Illinois, ABD Montana, ABD Iowa'da yer alan türler) test sonucu dayanıklı olduğu görülenlerin jel görüntülerinde de selektif bant oluşumu görülmüştür. Jel görüntülerinden yola çıkılarak *H. cusickii,* ABD Ohio orijinli *H. decapetalus ve H. mollis,* ABD Pensilvanya orijinli *H. grosseserratus,* ABD Montana orijinli *H. maximiliani,* ABD Kuzey Dakota orijinli *H. nuttalli* subsp. *rydbergii,* ABD New Mexico orijinli *H. paradoxus,* ABD New Jersey orijinli *H. pauciflorus,* ABD Kaliforniya orijinli *H. winteri* yabani türlerinin ve *SLT_009 x H.deb-581, SLT_Ay_146 x H.bol-673141, SLT_009 x H. annuus-9, LC1002* melezlerinin genomik DNA'larına ulaşılamadığı söylenilebilir.

ORS1036 ve ORS1114 markırlarının ise Or_6 gen bölgesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. ORS1036-240bp ve ORS1114-265bp'lik bölgesinde selektif bant

oluşturmaktadır (Imerovski vd., 2013). Yapılan agaroz jel elektroforez görüntülerinde PCR ürünlerinin çalıştığı ve istenilen bant oluşumu gözlemlendiği görülmektedir. Hastalık testi yapılan bireylerden 68 tanesi dayanıklı olarak görülmüştür. ORS1036 markırı ile yapılan çalışma sonucu bunlardan 41 tanesi bu sonucu destekler nitelikte sonuç verdiğinden bu 41 bireyin Or_6 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir. ORS1114 markırında ise bunlardan 52 tanesi 265bp büyüklüğündeki allel açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 52 bireyin Or_6 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir.

ORS1036 markırı ile yapılan çalışmada jel görüntülerinden yola çıkarak yapılan değerlendirmeye göre yabani *H. annuus, H. decapetalus, H. divaricatus, H. eggertii, H. floridanus, H. laciniatus, H. nuttallii* subsp. *nuttallii, H. resinosus, H. simulans, H. strumosus, H. tuberosus, H. maximiliani* türlerinde 240bp büyüklüğünde selektif bant oluşumu gözlenmiştir. Bu türlerin orobanşın son ırklarına dayanıklılık gösteren Or_6 geni ile ilişkisi olduğu söylenilebilir.

ORS1114 markırı ile yapılan çalışmada jel görüntülerinden yola çıkarak yapılan değerlendirmeye göre yabani *H. annuus, H. atrorubens, H. bolanderi, H. divaricatus, H. eggertii, H. floridanus, H. giganteus, H. heterophyllus, H. hirsutus, H. laciniatus, H. nuttallii, H. nuttallii* subsp. *nuttallii, H. occidentalis* subsp. *plantagineus, H. porteri, H. resinosus, H. simulans, H. smithii, H. strumosus, H. tuberosus, H. maximiliani* türlerinin 265bp büyüklüğünde selektif bant oluşumu görülmüştür ve Or_6 dayanıklılık geni ile ilişkili olduğu söylenilebilmektedir. Hastalık testlerinde hiçbir orobanş nodülü oluşumu gözlenmeyen *H. heterophyllus* sadece ORS1114 markırı ile yapılan jel elektroforezinde bant oluşumu göstermiştir.

RGC172 markırının Or_5 gen bölgesinin 7,5 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 550bp ve 620bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir (Radwan vd., 2009). Yapılan agaroz jel elektroforez görüntülerinde PCR ürünlerinin çalıştığı ve istenilen bant oluşumu gözlemlendiği görülmektedir. Hastalık testi yapılan bireylerden 68 tanesi dayanıklı olarak görülmüştür. Bunlardan 45 tanesi RGC172 markırının 550bp büyüklüğündeki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 45 bireyin Or_5 dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir. RGC172 markırının 620bp büyüklüğündeki DNA fragmenti

ise 44 bireyde gözlemlenmiştir ve bu 44 bireyin *Or*$_5$ dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir.

RGC172 markırı ile yapılan çalışmada jel görüntülerinden yola çıkarak yapılan değerlendirmeye göre hastalık testi çalışmalarında dayanıklı olarak kaydedilen *H. atrorubens, H. bolanderi, H. divaricatus, H. eggertii, H. floridanus, H. hirsutus, H. laciniatus, H. nuttallii* subsp. *nuttallii, H. occidentalis* subsp. *plantagineus, H. porteri, H. resinosus, H. simulans, H. smithii, H. strumosus, H. maximiliani* türlerinde ve *SLT_009 x H. arg_1093, SLT_Ay_146 x H. arg17, Solso x H. winteri237, SLT009 x H. bol.28* melez çeşitlerinde her iki allelde de selektif bant oluşumu gözlenmiştir.

RGC181 markırının *Or*$_5$ gen bölgesinin 2,6 cM uzaklıkta bir bölgesinde olduğu ve 550bp ve 600bp' lik selektif bant ürettiği bilinmektedir (Radwan vd., 2009). Yapılan agaroz jel elektroforez görüntülerinde PCR ürünlerinin çalıştığı ve istenilen bant oluşumu gözlemlendiği görülmektedir. Hastalık testi yapılan bireylerden 68 tanesi dayanıklı olarak görülmüştür. Bunlardan 38 tanesi RGC181 markırının her iki alleli açısından doğrular nitelikte sonuçlar verdiğinden bu 38 bireyin *Or*$_5$ dayanıklılık genini içerdiği düşünülmektedir.

RGC181 markırı ile yapılan çalışmada jel görüntülerinden yola çıkarak yapılan değerlendirmeye göre hastalık testi çalışmalarında dayanıklı olarak kaydedilen *H. atrorubens, H. floridanus, H. giganteus, H. laciniatus, H. resinosus, H. simulans, H. strumosus, H. maximiliani* türlerinde her iki allelde de selektif bant oluşumu gözlenmiştir.

ORS683 markırının ise $Or_{ab\text{-}vl\text{-}8}$ gen bölgesinin 1,5cM uzağında olduğu rapor edilmiştir (Imerovski vd., 2016). Bu markır ile yapılan çalışma sonucu, agaroz jel elektroforez görüntülerinde PCR ürünlerinin efektif çalışmadığı ve istenilen bant oluşumunun gözlemlenmediği görülmüştür. Yabani ayçiçeği genotiplerinde, melez çeşitlerde ve orobanşa dayanıklı ve hassas olduğu bilinen bireylerde herhangi bir ayırt edicilik gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında Türkiye' de en önemli yağ bitkisi olan ayçiçeğinin yabani türlerde ve melez çeşitlerde orobanş direncine karşı dayanıklılık genleri ile bağlantılı markırlar hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Hastalık testi yapılan genotiplerde moleküler taramalar yapılarak yabani tür ve melez çeşitlerin

orobanşa dayanıklılığı hakkında bilgi sahibi olunması ve moleküler markırların orobanşa dayanıklılık genlerini ayırma potansiyeline bakılmıştır. Yapılacak moleküler taramalarla bu gen kaynaklarının orobanşa dayanıklı gen içerip içermedikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Ancak hastalık testlerinde kullanılan orobanş parazitinin saf bir ırk olmaması net sonuçların tespit edilmemesine neden olmuştur. Fenotipik analizlerde kullanılan orobanş tohumlarının bölgedeki son ırkları içerdiği göz önünde bulundurularak sonuçlar tespit edilmiştir.

Dayanıklılık ıslahında, orobanşa direnç içeren dayanıklı çeşitleri fenotipik olarak tespit etmek uzun zaman aldığı ve güvenilir olmadığı için moleküler markırlar güvenilir, hızlı ve doğru bir adres olmaktadırlar. Bu doğrultuda ıslah programlarını yürüten kurum ve kuruluşların moleküler çalışmalar için yeterli bilgi ve donanımı edinerek bu konuda yatırımlar yapması ya da destek alması gerekmektedir. Ayçiçeğinde orobanşa dayanıklılık testlerinin daha efektif yapılabilmesi için ülkemizdeki orobanş ırklarının ayırt edilmesi gerekmekte ve o ırka özgü moleküler markırlar kullanılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

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.

Akpınar, E., Hasançebi, S., & Kaya, Y. (2019). Ayçiçeğinde Mildiyö [Plasmopara halstedii (Farl.) Berl. and de Toni] Hastalığına Dayanıklı Genotiplerin Moleküler Markörler Kullanılarak Belirlenmesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 29*(2), 140-153.

Aksoy, E., & Pekcan, V. (2014). Canavar otları (*Orobanche spp., Phelipanche spp*.) ve Mücadelesi. *Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı Yayınları, Ankara, 80s*.

Alonso , L., Lopez, G., MI, R. O., & Sallago, F. (1996). *New highly virulent sunflower broomrape (Orobanche cernua* Loefl.*) pathotypes in Spain.* Paper presented at the Congresos y Jornadas-Junta de Andalucia (Espana). no. 36/96.

Alonso, L. C., Rodriguez-Ojeda, M., Fernandez-Escobar, J., & Lopez-Calero, G. (1998). Chemical control of broomrape. *Helia, 21*(29), 45-54.

Antonova, T. S. (2014). The history of interconnected evolution of *Orobanche cumana* Wallr. and sunflower in the Russian Federation and Kazakhstan. *Helia, 37*(61), 215-225.

Ayçiçeği Ürün Raporu. (2022). 25.12.2022 tarihinde https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/B%C3%BCltenler/MAYIS%202022/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20May%C4%B1s%20%20B%C3%BClteni.pdf dan alınmıştır.

Barut, A. K. (2017). Trakya bölgesine ait *Orobanche cumana* Wallr. populasyonlarının genetik çeşitliliğinin moleküler belirteçler yardımı ile belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi.

Berry, S., Leon, A., Hanfrey, C., Challis, P., Burkholz, A., Barnes, S., . . . Caligari, P. (1995). 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., Barut, A. K., & Demirbaş, S. (2019). Genetic characterization of Orobanche cumana populations from the Thrace region of Turkey using microsatellite markers. *Turkish Journal of Botany, 43*(1), 38-47.

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.

Bulbul, A., Salihoglu, M., & Aydin, A. (1991). Determination of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) races of sunflower in the Thrace region of Turkey. *Helia, 4*(15), 21-26.

Burke, J. M., Lai, Z., Salmaso, M., Nakazato, T., Tang, S., Heesacker, A., . . . Rieseberg, L. H. (2004). Comparative mapping and rapid karyotypic evolution in the genus Helianthus. *Genetics, 167*(1), 449-457.

Christov, M. (2013). Contribution of interspecific and intergeneric hybridization to sunflower breeding. *Helia, 36*(58), 1-18.

Cvejic, S., Dedic, B., Jocic, S., Miladinovic, D., & Miklic, V. (2012). Broomrape resistance in newly developed sunflower inbred lines. Proc. 18th Int. Sunflower Conf., Mar del Plata & Balcarce, Argentina. Int. Sunflower Assoc., Paris, France.

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), 152.

Çalış, Ö. (2011). Bitki dayanıklılık genleri ve proteinleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* (2), 1-9.

Dedić, B., Miladinović, D., Jocić, S., Cvejić, S., Jocković, M., & Miklič, V. (2018). Increase in virulence of sunflower broomrape in Serbia. Proc. of 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2-4 July.

Domínguez, J. (1996). R-41, a sunflower restorer inbred line, carrying two genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua*. *Plant Breeding, 115*(3), 203-204.

Domínguez, J. (1999). Inheritance of the resistance to *Orobanche cumana* Wallr.: Resistance to broomrape: The state of the art. Congresos y jornadas 5.1. 1999, Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca, 139-141

Duca, M. (2014). Current situation of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. Third International Symposium on Broomrape (*Orobanche spp.*) in sunflower. Córdoba, Spain, June 13-14,

Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology, 42*(1), 185-209.

Eizenberg, H., Plakhine, D., Landa, T., Achdari, G., Joel, D., & Hershenhorn, J. (2004). First report of a new race of sunflower broomrape (*Orobanche cumana*) in Israel. *Plant Disease, 88*(11), 1284-1284.

Encheva, J., Valkova, D., & Shindrova, P. (2013). Sunflower mutations, produced by ultrasonic treatment of immature embryos of cultivated genotype 147 R. *Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19*(3), 578-583.

Fatih, Ü., & Demirbaş, S. (2019). Trakya bölgesi canavar otlarının (*Orobanche cumana* Wallr.) ayçiçeğinin gelişimi üzerine bazı etkilerinin belirlenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences, 32*(2), 211-217.

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

Fernández-Martínez, J., Domínguez, J., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2010). Update on breeding for resistance to sunflower broomrape. *Helia, 33*(52), 1-12.

Fernández-Martínez, J., 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., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2015). Sunflower broomrape (Orobanche cumana Wallr.). In *Sunflower* (pp. 129-155): Elsevier.

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.

Fick, G. N., & Miller, J. F. (1997). Sunflower breeding. *Sunflower Technology and Production, 35*, 395-439. ASA. Madison, US

Gentzbittel, L., Mestries, E., Mouzeyar, S., Mazeyrat, F., Badaoui, S., Vear, F., . . . Nicolas, P. (1999). A composite map of expressed sequences and phenotypic traits of the sunflower (*Helianthus annuus* L.) genome. *Theoretical and Applied Genetics, 99*(1), 218-234.

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

Georgiev, G., Encheva, V., Encheva, Y., Nenova, N., Valkova, D., Peevska, P., & Georgiev, G. (2018). Breeding of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) at Dobrudzha Agricultural Institute–General Toshevo. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences, JAFES, 72*(2), 15-22.

Gisca, I., Acciu, A., Glijin, A., & Duca, M. (2013). Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. *Current Opinion in Biotechnology.* (24), S132.

González-Cantón, E., Velasco, A., Velasco, L., Pérez-Vich, B., & Martín-Sanz, A. (2019). First report of sunflower broomrape (*Orobanche cumana*) in Portugal. *Plant Disease, 103*(8), 2143-2143.

González, Á. C. (2021). Breeding strategies for resistance to sunflower broomrape: New sources of resistance and markers for resistance and avirulence genes. Ph D Thesis. University of Cordoba. Spain. 227 pages.

Hargitay, L. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Hungary. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape. Córdoba, Spain, June 3-14,

Heiser, C. B. (1951). The sunflower among the North American Indians. *Proceedings of the American Philosophical Society, 95*(4), 432-448.

Hladni, N., Jocic, S., Miklic, V., Saftic-Pankovic, D., & Skoric, D. (2009). Using new Rf inbred lines originating from an interspecific population with *Helianthus deserticola* for development of sunflower hybrids resistant to broomrape. *Helia.* 51. 81-90

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.

Imerovski, I., Dimitrijevic, A., Miladinovic, D., Dedic, D., Jocic, S., & Miklic, V. (2011). Molecular profiles of sunflower lines resistant to broomrape *(Orobanche cumana* Wallr.). Proc. 2nd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche spp.*) in Sunflower. Chisinau, Republic of Moldova. August 25-27.

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.

Ish-Shalom-Gordon, R. Jacobsohn, Y. Cohen. (1993). Inheritance of resistance to *Orobanche cumana* in sunflower. *Phytopathology*, 83 (11). 1250-1252

Iuoras, M., Stanciu, D., Ciucã, M., Nãstase, D., & Geronzi, F. (2004). Preliminary studies related to the use of marker assisted selection for resistance to *Orobanche cumana* Wallr in sunflower. *Rom Agric Res, 21*, 33-37.

Jagtap, S., Trollman, H., Trollman, F., Garcia-Garcia, G., Parra-López, C., Duong, L., . . . Hdaifeh, A. (2022). The Russia-Ukraine conflict: Its implications for the global food supply chains. *Foods, 11*(14), 2098.

Jebri, M., Ben Khalifa, M., Fakhfakh, H., Perez-Vich, B., & Velasco, L. (2017). Genetic diversity and race composition of sunflower broomrape populations from Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*, 421-430.

Jestin, J, C., Lecomte, V., Duroueix, F. (2014). Current situation of sunflower broomrape in France. In: Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche spp*.) in Sunflower, Córdoba, Spain. Int. Sunflower Assoc., Paris, France. p. 28-31.

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

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., Evci, G., Pekcan, V., Gucer, T., & Yilmaz, M. (2009). Evaluation of broomrape resistance in sunflower hybrids. *Helia, 32*(51), 161-170.

Kaya, Y., Evci, G., Pekcan, V., & Yilmaz, M. (2012). *T*he resistance breeding to broomrape parasite and other stress conditions in sunflower. Proc. 41st Annual Meeting of ESNA. Stará Lesná, High Tatras, Slovak Republic.78.

Kaya, Y. (2014). Current situation of sunflower broomrape around the world. 3rd International Symposium on Broomrape (*Orobanche spp*.) in Sunflower. Córdoba, Spain. June 13-14, 9-18.

Kaya, Y. (2016). Ülkemizde yağlık ayçiçeğinin mevcut durumu ve gelecekteki yönü. T*arla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi,* 25(Özel sayı-2):322-327

Knapp, S. J., Berry, S. T., & Rieseberg, L. H. (2001). Genetic mapping in sunflowers. In *DNA-Based Markers in Plants* (pp. 379-403): Springer.

Labrousse , P., Arnaud, M., Griveau, Y., Fer, A., & Thalouarn, P. (2004). Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop Protection, 23*(5), 407-413.

Labrousse, P., Arnaud, M., Serieys, H., Bervillé, A., & Thalouarn, P. (2001). Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. *Annals of Botany, 88*(5), 859-868.

Langar, K., Lorieux, M., Desmarais, E., Griveau, Y., Gentzbittel, L., & Bervillé, A. (2003). Combined mapping of DALP and AFLP markers in cultivated sunflower using F9 recombinant inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics, 106*(6), 1068-1074.

Leon, A., Lee, M., Rufener, G., Berry, S., & Mowers, R. (1996). Genetic mapping of a locus (hyp) affecting seed hypodermis color in sunflower. *Crop Science, 36*(6), 1666-1668.

Louarn, J., Boniface, M.-C., Pouilly, N., Velasco, L., Pérez-Vich, B., Vincourt, P., & Muños, S. (2016). Sunflower resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) is controlled by specific QTLs for different parasitism stages. *Frontiers in Plant Science, 7*, 590.

Lu, Y., Melero-Vara, J., García-Tejada, J., & Blanchard, P. (2000). Development of SCAR markers linked to the gene Or5 conferring resistance to broomrape

(*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics, 100*(3), 625-632.

Ma, D. T., & Jan, C.-C. (2014). Distribution and race composition of sunflower broomrape *(Orobanche cumana Wallr.) i*n Northern China. 3rd International Symposium on Broomrape (*Orobanche spp*.) in Sunflower. Córdoba, Spain. June 13-14,

Maklik, E., Kyrychenko, V., & Pacureanu, M. (2018). Race composition and phenology of sunflower broomrape *(Orobanche cumana* Wallr.) in Ukraine. P Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania.

Malek, J., Del Moral, L., Fernandez-Escobar, J., Perez-Vich, B., & Velasco, L. (2017). Racial characterization and genetic diversity of sunflower broomrape populations from Northern Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, 70-76.

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*, 589.

Melero-Vara, J., Domínguez, J., & Fernandez-Martinez, J. (1989). Evaluation of differential lines and a collection of sunflower parental lines for resistance to broomrape (Orobanche cernua) in Spain. *Plant Breeding, 102*(4), 322-326.

Meral, Ü. B. (2019). Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.,) Bitkisinin Önemi ve Üretimine Genel Bir Bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2*(2), 58-71.

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

Miklic, V., Sakac, Z., Dusanic, Z., Atlagic, J., Joksimovic, J., & Vasic, D. (2004). Effects of genotype, growing conditions and several parameters of sunflower attractiveness for bee visitation. Proc. of the 16th International Sunflower Conference. Cordoba, Spain

Miladinovic, D., Dedic, B., Quiróz, F., Alvarez, D., Poverene, M., & Cantamutto, M. (2012). *Orobanche cumana* Wallr. Resistance of commercial sunflower cultivars grown in Argentina. *J. Basic Appl. Genet, 23*, 37-41.

Molinero-Ruiz, L., 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). DOI:10.5424/sjar/2015134-8080

Molinero-Ruiz, L., & Melero-Vara, J. M. (2004). Virulence and aggressiveness of sunflower broomrape populations (*Orobanche cumana*) overcoming the Or5 gene. Proc. 16th Int. Sunflower Conference, Fargo, ND, August 29-September 2, 2004 pp. 165-169

Molinero-Ruiz , M., & Domínguez, J. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Spain. Proceedings of the 3rd International Symposium on Broomrape (*Orobanche spp*.) in Sunflower. Córdoba, Spain. June 13-14,

Molinero-Ruiz, M., Melero-Vara, J. M., García-Ruiz, R., & Domínguez, J. (2006). Pathogenic diversity within field populations of Orobanche cumana and different reactions on sunflower genotypes. *Weed research, 46*(6), 462-469.

Nabloussi, A., Velasco, L., & Assissel, N. (2018). First report of sunflower broomrape, Orobanche cumana Wallr., in Morocco. *Plant disease*, *102*(2), 457-457.

Nikolova, L., Christov, M., & Shindrova, P. (1998). New sunflower forms, resistant to *Orobanche cumana* Wallr., originating from interspecific hybridization. Proc of 4th International Orobanche Workshop. September.

Nürnberger, T., Brunner, F., Kemmerling, B., & Piater, L. (2004). Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunological Reviews*, *198*(1), 249-266.

Özşensoy, Y., & Kurar, E. (2012). Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell & Molecular Biology*, *10*(2).

Pacureanu-Joita, M., Fernandez-Martinez, J. M., Sava, E., & Raranciuc, S. (2009). Broomrape (Orobanche cumana Wallr.), the most important parasite in sunflower. *Analele Inst. Național de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea, 77*, 49-56.

Pacureanu, M. (2014). Current situation of sunflower broomrape *(Orobanche cumana* Wallr.) in Romania. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape in Sunflower, Córdoba, Spain. June 13-14.

Pacureanu, M., Procopovici, E., & Raranciuc, S. (2002). Sunflower Breeding for Resistance to the New Races. Plant Protect. Sci. 38(11):604-607

Parker, C., & Riches, C. R. (1993). Parasitic weeds of the world: biology and control: CAB international.

Pérez-Vich, B., Akhtouch, B., Knapp, S., Leon, A., Velasco, L., Fernández-Martínez, J., & Berry, S. (2004). Quantitative trait loci for broomrape (Orobanche cumana Wallr.) resistance in sunflower. *Theoretical and applied genetics*, *109*(1), 92-102.

Pérez-Vich, B., Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Fernández-Martínez, J., & 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.

Pérez-Vich, B., Velasco, L., Rich, P. J., & Ejeta, G. (2013). Marker-assisted and physiology-based breeding for resistance to root parasitic *Orobanchaceae*. e. In: Joel DM, Gressel J, Musselman LJ, eds., Parasitic *Orobanchaceae*. New York: Springer, pp. 369– 391.

Petcu, E., & Joița-Păcureanu, M. (2012). The uses of wild species Helianthus argophyllus for obtaining sunflower germplasms with improved resistance to drought and broomrape infestation. *Scientific Papers-Series A, Agronomy*, *55*, 220-224.

Pujadas-Salva, A. J., & Velasco, L. (2000). Comparative studies on Orobanche cernua L. and O. cumana Wallr.(Orobanchaceae) in the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *134*(4), 513-527.

Pustovoit , G., & Gubin, I. (1974). Results and prospects in sunflower breeding for group immunity by using the interspecific hybridization method. 6th International Sunflower Conference, Bucharest, Romania.

Pustovoit, V. (1960). Methods for breeding Sunflower vars. immune from common diseases and pests. *Journal of Agricultural Science*, *5*(10).

Putt, E. D. (1997). Early History of Sunflower. *Sunflower Technology and Production*, *35*.

Radwan, O. E., 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. A. J. Biotechnology 12:211-224

Rauf, S. (2019). Breeding strategies for sunflower (*Helianthus annuus* L.) genetic improvement. In *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and food crops* (pp. 637-673): Springer.

Rieseberg, L., Van Fossen, C., & Desrochers, A. M. (1995). Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature, 375*(6529), 313-316.

Rîşnoveanu, 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.

Rodríguez-Ojeda, M., Fernández-Escobar, J., & Alonso, L. (2001). Sunflower inbred line (KI-374) carrying two recessive genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* Loefl. *O. cumana*, 208-211.

Rodríguez-Ojeda, M., Pineda-Martos, R., Alonso, L. C., Fernández-Martínez, J. M., Velasco, L., Fernández-Escobar, J., & Pérez-Vich, B. (2014). Genetic studies in sunflower broomrape. *Helia, 37*(61), 151-159.

Rodríguez-Ojeda, M., Pineda-Martos, R., Alonso, L., Fernández-Escobar, J., Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2013). A dominant avirulence gene in *Orobanche cumana* triggers O r5 resistance in sunflower. *Weed research, 53*(5), 322-327.

Ruso, J., Sukno, S., Dominguez-Gimenez, J., Melero-Vara, J., & Fernandez-Martinez, J. (1996). Screening of wild *Helianthus* species and derived lines for resistance to several populations of *Orobanche cernua*. *Plant Disease, 80*(10), 1165-1169.

Satziperov, F. (1916). Opit skretshivanija dvuh form podsolnetcnika *Helianthus annuus* x *Helianthus argophyllus*. *Tr. prikl. bot., gen. i selek, 9*, 207-244.

Schilling , E. (2006). Helianthus. *Flora of North America Committee, 21*, 141-169.

Schilling, E. E., & Heiser, C. B. (1981). Infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae). *Taxon, 30*(2), 393-403.

Seiler, G. J. (2015). Wild Sunflower Species as a Genetic Resource for Resistance to Sunflower Broomrape https://www.sunflowernsa.com/uploads/21/broomrape_seiler_2015.

Semelczi, K. A. (1975). Acclimatization and dissemination of the sunflower in Europe. *Acta Ethnogr. Acad. Sci. Hung., 24*, 47-88.

Shahbandeh, M. (2022). Worldwide oilseed production in 2021/2022, by type. 19.12.22 tarihinde https://www.statista.com/statistics/267271/worldwide-oilseed-production-since-2008/ dan alınmıştır.

Shi, B., Chen, G., Zhang, Z., Hao, J., Jing, L., Zhou, H., & Zhao, J. (2015). First report of race composition and distribution of sunflower broomrape, Orobanche cumana, in China. *Plant disease, 99*(2), 291-291.

Shindrova, P. (2006). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria - Distribution and Race Composition. *Helia, 29*(44), 111-120.

Škorić, D. (1985). Sunflower breeding for resistance to Diaporthe/Phomopsis helianthi Munt.-Cvet. et al. *Helia, 8*, 21-24.

Škorić, D., Maširević, S., & Medić-Pap, S. (2012). Is there appearance of new broomrape race in Serbia? Proceedings of 18th International Sunflower Conference, Mar del Plata & Balcarce, Argentina, 27 April-1 March 2012.

Škorić, D., & Pacureanu, M. (2010). Sunflower breeding for resistance to broomrape *(Orobanche cumana* Wallr.). Proceedings of the International Symposium "Sunflower Breeding on Resistance to Diseases". Krasnodar, Russia.

Stebbins, J. C., Winchell, C. J., & Constable, J. V. (2013). *Helianthus winteri* (*Asteraceae*), a new perennial species from the southern Sierra Nevada foothills, California. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany, 31*(1), 19-24.

Sukno, S., Jan, C., Melero-Vara, J., & Fernandez-Martinez, J. (1998). Reproductive behaviour and broomrape resistance in interspecific hybrids of sunflower. *Plant Breeding, 117*(3), 279-285.

Sukno, S., Melero-Vara, J., & Fernández-Martínez, J. (1999). Inheritance of resistance to *Orobanche cernua* Loefl. in six sunflower lines. *Crop Science, 39*(3), 674-678.

Tahara, M. (1915). Cytological investigation on the root-tips of *Helianthus annuus*, with special reference to the behavior of the nucleolus. *Bot. Mag. Tokyo, 29*, 1-5.

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.

Tang, S., & Knapp, S. J. (2003). Microsatellites uncover extraordinary diversity in native American land races and wild populations of cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics, 106*(6), 990-1003.

Tang, S., Yu, J.-K., Slabaugh, M., Shintani, D. K., & Knapp, S. J. (2002). Simple sequence repeat map of the sunflower genome. *Theoretical and Applied Genetics, 105*(8), 1124-1136.

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.

Tolmachyov, V. (1990). Genetic control of sunflower resistance to broomrape-*Orobanche cumana Wallr*. PhD-thesis, Leningrad. 23 p.[In Russian],

TÜİK. (2022). Bitkisel Ürün Denge Tabloları, 2020-2021. 19.12.2022 tarihinde https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Urun-Denge-Tablolari-2020-2021-45505 dan alınmıştır.

Ueno, K., Furumoto, T., Umeda, S., Mizutani, M., Takikawa, H., Batchvarova, R., & Sugimoto, Y. (2014). Heliolactone, a non-sesquiterpene lactone germination stimulant for root parasitic weeds from sunflower. *Phytochemistry, 108*, 122-128.

Uludağ, A., Üremiş, İ., Kaya, Y. 2021. Ayçiçeğinde Yabancıotlar ve Mücadelesi. Editör Y. Kaya. Ayçiçeği Tarımı. *Tarım Gündem Dergisi, Nobel Yayıncılık*. 101-125

USDA. (2022). Sunflowerseed Explorer. 19.12.2022 tarihinde https://ipad.fas.usda.gov/countrysummary/default.aspx?id=TU dan alınmıştır.

Velasco, L., Pérez-Vich, B., Jan, C.-C., & Fernández-Martínez, J. (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.

Velasco, L., Pérez-Vich, B., Yassein, A. A., 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 H*elianthus debilis subsp. tardiflorus*. *Plant Breeding, 131*(1), 220-221.

Vranceanu, A., Tudor, V., Stoenescu, F., & Pirvu, N. (1981). Virulence groups of *Orobanche cumana Wallr.*[root parasite], differential hosts and resistance sources and genes in sunflower. 9th International Conference of Sunflower, Torremolinos, Malaga, Spain, 8-13 Jun .

Weiss-Schneeweiss, H., Greilhuber, J., & Schneeweiss, G. M. (2006). Genome size evolution in holoparasitic *Orobanche (Orobanchaceae)* and related genera. *American Journal of Botany, 93*(1), 148-156.

Yonet, N., Aydin, Y., Evci, G., & Uncuoglu, A. A. (2018). Genomic Evaluation of Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana*) Germplasm by KASP Assay. *Helia, 41*(68), 57-72.

Yu, J. K., Tang, S., Slabaugh, M. B., Heesacker, A., Cole, G., Herring, M., . . . Webb, D. M. (2003). Towards a saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower. *Crop Science, 43*(1), 367-387.

Zoltán, P. (2001). Napraforgószádor-(*Orobanche cumana* Loefl.) populációk patogenitásának vizsgálata. *Növényvédelem, 37*, 173-182.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Havva AKAR

Medeni Durumu: Bekar

EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı / 09.2019 – 01.2023

Yüksek Lisans Tezi: " Ayçiçeğinde (*Helianthus spp*) Yabani Tür ve Melezlerinin Orobanşa Dayanıklılık Açısından Genetik Karakterizasyonu " Danışman: Prof. Dr. Yalçın KAYA

Lisans: Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü / 09.2015 – 06.2019

Lise: Bigadiç Anadolu Öğretmen Lisesi / 2015 mezunu

İŞ TECRÜBESİ

Koçak Farma İlaç şirketinde Steril Üretim Uzmanı olarak çalışmaktayım (2022-Devam ediyor).

NIH projeleri kapsamında biyolojik numunelerin işlenmesi ve biyoörnek koleksiyonları oluşturma konusunda yüksek lisans öğretimim sürecinde Fidelis Research Trakya bölge temsilciliği yaptım (2021-2022).

Trakya Üniversitesi, Uluslararası AGBIOL ve AGRIBALKAN kongrelerinde organizasyon komitesinde yer alarak gelen yerli ve yabancı katılımcıların sunumlarını yönettim (2021-2022).

Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi TUBAP 2022/19 "Çerezlik Ayçiçeğinde Kalite Özelliklerinin Araştırılması" projesinde **BURSİYER** olarak görev yaptım (2021-2022).

Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi TUBAP 2020/62 "Yabani Ayçiçeği (*Helianthus spp*) Türlerinin Moleküler ve Klasik Metotlarla Filogenetik Analizi" projesinde **BURSİYER** olarak görev yaptım (2020-2021).

TÜBİTAK 4005 Yenilikçi Eğitim uygulamaları Destekleme Programı kapsamında Türkiye' nin farklı illerinden gelen biyoloji öğretmenlerine rehberlik yaparak laboratuvar uygulamalarını yürüttüm (2021).

TÜ Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Moleküler Patoloji Laboratuvarı' nda stajyer olarak çalıştım (2018).

Yeditepe Üniversitesi Nanobiyoteknoloji Laboratuvarı' nda stajyer olarak çalıştım (2017).

Uluslararası 19. Ayçiçeği Kongresi'nde organizasyon komitesinde yer alarak katılımcılarla ilgilendim (2016).

SEMİNERLER VE SERTİFİKALAR

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **AGRİBALKAN 2022 Kongresi** / 31 Ağustos-2 Eylül 2022 (Organizasyon Komitesi).

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **AGBIOL 2022 Kongresi** / 28 Ağustos-31 Ağustos 2022 (Organizasyon Komitesi).

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).

TÜBİTAK 4005 Yenilikçi Eğitim uygulamaları Destekleme Programı' nda rehberlik (2 Ağustos 2021- 8 Ağustos 2021).

Facadium **Uygulamalı 3 Boyutlu Yazıcı Eğitimi /** 2018.

Facadium **Solidworks Eğitimi** / 2018.

Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyoteknoloji Topluluğu tarafından gerçekleştirilen **II. Genetik ve Biyoteknoloji Bilim Şenliği** / 7 Nisan 2018.

Trakya Üniversitesi **"İçindeki Girşimciyi Harekete Geçir" /** 11 Aralık 2017.

Trakya Üniversitesi ve Türk **İmmünoloji** Derneği XII. Bölgesel Sempozyumu / 26-27 Ekim 2017.

Trakya Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı Yaşam Bilimi Topluluğu tarafından gerçekleştirilen "**Biyoloji Günleri**" / 8 Mayıs 2017.

Trakya Teknoloji Transfer Ofisi **Proje Döngüsü Yönetimi** / 26 Aralık 2016- 27 Aralık 2016.

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **19. Uluslararası Ayçiçeği Kongresi** / 29 Mayıs – 3 Haziran 2016.

TÜBİTAK 114K495 numaralı 1000 projesi kapsamında Trakya Üniversitesi' nde gerçekleştirilen "**TÜBİTAK- ARDEB Uluslararası Proje Yazma Eğitimi**" / 13 Nisan 2016.

T.C. Kalkınma Bakanlığı Birleşmiş Milletler Kalkınma Programı, Habitat Derneği ve Visa Europe ortaklığında uygulanan **"Paramı Yönetebiliyorum Projesi- Finansal Okuryazarlık Eğitimi"** / 28 Kasım 2015.

BİLİMSEL YAYINLAR

Akar, H., & Kaya, Y. (2021). The Genetic Characterization of Wild Sunflower Species (*Helianthus spp.*) and Interspecific Hybrids Based on Broomrape Resistance. III. International Agricultural, Biological & Life Science Conference, September 1-3, Edirne, Turkey, 1008-1024.