

**T.C.**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKIŞ SİTOMETRİ YÖNTEMİYLE YABANI AYÇİÇEĞİ TÜRLERİNDE  
ÇEKİRDEK DNA İLE PLOİDİ ANALİZİ VE OROBAŖSA DAYANIM İÇİN  
SEÇİCİ MOLEKÜLER MARKIRLARIN ARAŖTIRILMASI**

**MÜGE KOÇ**

**DOKTORA TEZİ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı: PROF. DR. YALÇIN KAYA**

**EDİRNE- [2022]**

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

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ

Prof. Dr. Metin TUNA

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA

Tez Savunma Tarihi: 12 /01 /2022

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylıyorum.

İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA  
Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

### **BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK DOKTORA PROGRAMI**

#### **DOĞRULUK BEYANI**

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

12/01/2022

MÜGE KOÇ

Doktora Tezi

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

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

## ÖZET

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

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

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

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

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 207

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

PhD Thesis

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

Trakya University, Institute of Natural and Applied Sciences  
Biotechnology and Genetics

## ABSTRACT

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

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

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

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

Year : 2022

Number of Pages : 207

Keywords: Sunflower, Wild Species, Orobanche, Molecular Markers, Flow Cytometry

## TEŞEKKÜR

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

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

Müge KOÇ 2022



# İÇİNDEKİLER

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

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

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

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

## SİMGELER DİZİNİ

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

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AFLP:</b>	Amplified Fragment Length Polymorphism (Arttırılmış Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)
<b>bç:</b>	Baz çifti
<b>CTAB:</b>	Cetyl trimethylammonium bromide
<b>DNA:</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EtBr:</b>	Etidyum Bromür
<b>gDNA:</b>	Genomik DNA
<b>da:</b>	Dekar
<b>dNTP:</b>	Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
<b>EDTA:</b>	Etilendiamin tetraasetik asit
<b>HCl:</b>	Hidroklorik Asit
<b>ha:</b>	Hektar
<b><i>Helianthus annuus:</i></b>	Ayçiçeği
<b>Indel:</b>	İnsertion/Deletion
<b>kg:</b>	Kilogram
<b>LG:</b>	Linkage Group
<b>MAS:</b>	Markır Destekli Seleksiyon
<b>mg:</b>	Miligram
<b>MgCl<sub>2</sub>:</b>	Magnezyum Klorür
<b>NaCl:</b>	Sodyum Klorür
<b>NaOCl:</b>	Sodyum Hipoklorit
<b>Or:</b>	Orobaş Dayanıklılık Genleri
<b>PCR:</b>	Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

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

## ŞEKİLLER DİZİNİ

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



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

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

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

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

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

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

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

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1</b>	Dünya’da en fazla ekilen beş yağlı tohumlu bitkinin 2019 yılı istatistikleri.....	7
<b>Çizelge 2.2</b>	Yıllara göre dünya ayçiçeği üretimi ve ekim alanları ve başlıca ülkeler (Oil World ve USDA) .....	8
<b>Çizelge 2.3</b>	Yıllara göre dünya ayçiçeği ticareti.....	9
<b>Çizelge 2.4</b>	Ülkemizde son beş yılda ayçiçeği ekim alanı, üretim ve verim değerleri.....	10
<b>Çizelge 2.5</b>	Ülkemizde ayçiçeğinin bölgelere göre 2020 yılı ekim alanı, üretim ve verimleri.....	10
<b>Çizelge 2.6</b>	Ayçiçeğinin yabancı türleri.....	13
<b>Çizelge 2.7</b>	Dünyadaki farklı ülkelerde bulunan <i>Orobanche cumana</i> ırkları.....	22
<b>Çizelge 2.8</b>	Ayçiçeğinde orobanş dayanıklılık genleri ve etkili olduğu ırklar .....	24
<b>Çizelge 4.1</b>	Ayçiçeği <i>Or</i> gen bölgesi için kullanılan gen, ırk ve markırlar.....	52
<b>Çizelge 4.2</b>	Çalışmada SSR analizi için kullanılan primerler.....	53
<b>Çizelge 4.3</b>	Markır analizleri için yapılan PCR’ların içerikleri.....	55
<b>Çizelge 4.4</b>	RGA markırları için kullanılan PCR koşulları .....	55
<b>Çizelge 4.5</b>	RGA markırları için kullanılan PCR koşulları (Touchdown).....	55
<b>Çizelge 4.6</b>	SSR’lar için kullanılan PCR koşulları (Touchdown).....	55
<b>Çizelge 4.7</b>	Akış sitometrisinde kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri.....	56
<b>Çizelge 5.1</b>	Yabancı ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri .....	148



# BÖLÜM 1

## GİRİŞ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1. Ayçiçeğinin (*Helianthus annuus*) Genel Özellikleri

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

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

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

## 2.2.Yağlık Ayçiçeğinin Dünyadaki Durumu

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

**Çizelge 2.1** Dünya'da en fazla ekilen beş yağlı tohumun 2019 yılı istatistikleri ([www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org), 2019)

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

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

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

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

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

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



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

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

### **2.3.Ülkemizde Yağlık Ayçiçeğinin Mevcut Durumu**

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

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

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

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

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

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

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

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

#### 2.4.Yabani Ayçiçeğinin Genel Özellikleri

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

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

## 2.5. Yabani Ayçiçeğinde Tür Tayini

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

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

**Çizelge 2.6** Ayçiçeğinin yabancı türleri (Schilling vd., 1981)

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

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

Atrorubentes	<i>H. laevigatus</i>		Çok yıllık	68
	<i>H. angustifolius</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. simulans</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. floridanus</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. silphoides</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. atrorubens</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. heterophyllus</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. radula</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. carnosus</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. porteri</i>		Tek yıllık	34
	<i>H. pauciflorus</i>		Çok yıllık	34
	<i>H. pauciflorus</i>	<i>pauciflorus</i>	Çok yıllık	34
	<i>H. pauciflorus</i>	<i>subrhomboideus</i>	Çok yıllık	34

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

## 2.6. Yabani Ayçiçeğini Koruma Girişimleri

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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



**Şekil 2.1** Orobanş'ın ayçiçeklerine etkisi (İNTFA Blog)

Bu seksiyonlar;

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

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

sect. *gymnocaulis* Nutt.,

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



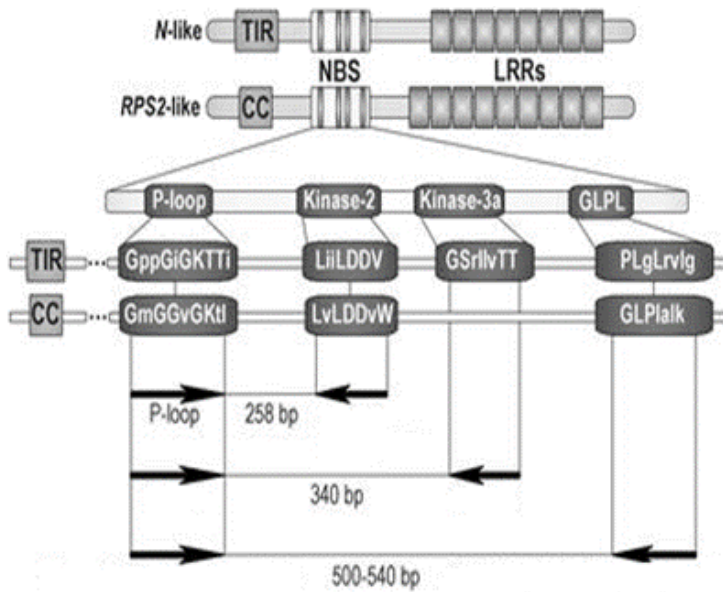
<b>DEB-2</b>	G	<i>Or<sub>Deb-2</sub></i>	Tek Resesif Gen, QTL	Velasco vd., 2012; Gao vd., 2019
<i>H. praecox</i>	G	<i>Or<sub>pral</sub></i>	Tek dominant Gen	Sayago vd., 2018
<b>VIR-665, VIR-221 VIR-222 No. 667 No. 769 No. 3046</b>	G	Bilinmiyor	Tek Gen, Yarım Dominant	Guchetl vd., 2018
<b>PHSC1102</b>	FGV, GTK, GRO, GRU	<i>Or<sub>SH</sub></i>	Kısmen Dominant	Hassan vd., 2008; Martin-Sanz vd., 2019
<b>PHSC0933</b>	FGV, GTK, GRO, GRU	<i>Or7</i>	Dominant	Martin-Sanz vd., 2019
<b>13-TR-002</b>	H	Bilinmiyor	Bilinmiyor	TTAE, 2021

## 2.9. Moleküler Markırlar

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

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

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



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

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

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

## **2.10. Akış Sitometrisi (Flow Sitometri)**

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

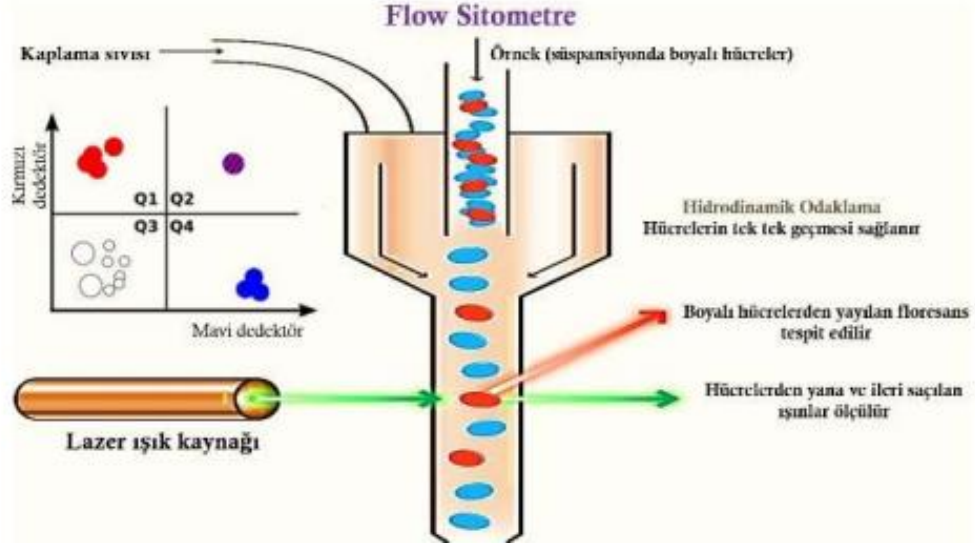
hücrenin çapı, lazer ışınına 90 derece açı ile yayılan ışınlar ise hücrenin içyapısı hakkında bilgi verir. İkinci olay eğer analiz edilen örnek florokromlarla boyanmış ise oluşur. Florokromlar laser ışınından enerji emer ve az enerjiyle daha uzun dalga boyunda tekrar dışarı verirler. Saçılan ışık miktarı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

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

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

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

gösterdiğini kanıtlamıştır.



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

## BÖLÜM 3

### KAYNAK ARAŞTIRMASI

#### 3.1. Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*) Markır Çalışmaları

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### **3.2. Ayçiçeğinde Orobanş Irkı ile İlgili Çalışmalar**

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

Orobanş popölasyonları, virölanslarına göre genellikle ırklara ayrılır. şimdiye kadar, A'dan H'ye harflerle gösterilen sekiz ırkla rapor edilmiştir (Kaya, 2014).

Genetik çalışmalarla Romanya'da Fundulea'daki Tarımsal Araştırma ve Geliştirme Enstitüsü'nün kültive edilmiş ayçiçeği gen havuzunu kullanarak beş orobanş ırkının var olduğunu belirlemişlerdir. Bu ırklara göre dirençleri kontrol eden dominant genleri ve ırklarının belirlenmesini kolaylaştırmak üzere *Or 1*, *Or 2*, *Or 3*, *Or 4* ve *Or 5* genleri için "ırk ayırıcı set" belirlemişlerdir. A, A + B, A + B + C, A + B + C + D yarışlarına direnç için baskın genleri kullanarak beş Orobanş ırkını (A'dan E'ye)



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3.3. Yabani Ayçiçeğinde Markır Çalışmaları

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Son zamanlarda orobanşın F ırkına direnç sağlayan büyük bir direnç geni olan *HaOr7* geni, kromozom 7 üzerinde haritalanmıştır. Irk F'ye direnç sağlayan *HaOr7* geninin işlevini haritalamak ve tanımlamak için genomik ve harita tabanlı klonlama stratejisini birleştirilmiştir. *HaOr7* geninin LRR reseptörü benzeri bir zar proteini olduğunu ve ırk F'ye direnç sağladığını bu genin orobanşın bitki kökünün vasküler sistemine bağlanmasını sınırladığı bildirilmiştir. (Duriez vd., 2019), Hassan vd., (2008) ve Martin-Sanz, (2020) çalışmalarında *Or<sub>s11</sub>*'leri kromozom 4'ün üst yarısına yerleştirdi.

G ırkına direnç kazandıran *Or<sub>deb2</sub>* geninin, tescilli SNP markırları DHAI000240 ve DHAI007796 arasındaki patent başvurusunda kromozom 4 üzerinde eşleştiği gösterilmiştir (Gao vd., 2018).

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### **3.4. Yabani Ayciçeğinde Akış Sitometrisi Çalışmaları**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Akış sitometrisi ile 13 ayçiçeği türüne ait 70 ayçiçeği aksesyonunun çekirdek DNA içeriği ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi üzerine çalışılmış, yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda çalışmada kullanılan bitkilerin 2C çekirdek DNA içerikleri 24,232 pg/2C (PI 468415) ile 5,820 pg/2C (PI 435763) arasında değiştiği saptanmıştır. Bununla birlikte çalışmada kullanılan ayçiçeği türlerinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriğinin

23,833 pg/2C (PI 468415) ile 5,93 pg/2C (PI 673249) arasında değiştiği sonucuna varılmıştır. Bu da bazı türlere ait aksesyolların oldukęa benzer ęekirdek DNA iğeriğine sahip iken, diğer bazı türlerin aksesyolları arasında nispeten daha büyük farklılıklar gözlenmiştir. Bu nedenle bazı türler ęekirdek DNA iğeriği bakımında düşük diğerlerinin ise yüksek bir varyabiliteye sahip oldukları vurgulanmıştır (şahin, 2019).

## BÖLÜM 4

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 4.1. Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi

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

#### 4.2. Moleküler Markır Analizleri

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



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

#### **4.2.1. Homojenizasyon**

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

#### **4.2.2. Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu**

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

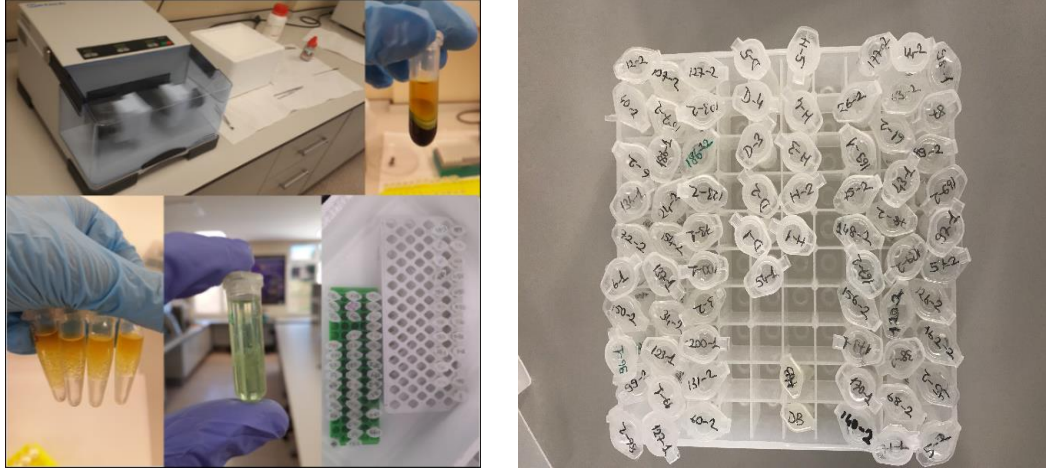
- 1) Örnekler  $65^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmıştır ve kullanmadan hemen önce %0,2  $\beta$ -mercaptoethanol ilave edilmiştir, %2 CTAB Extraction Buffer'dan 750 $\mu\text{l}$  eklenmiştir (%2 CTAB, 20mM EDTA, 100mM Tris, 1,4M NaCl, pH:8,1).
- 2) Dakikada 500 devir ısıtıcılı çalkalayıcıda  $65^{\circ}\text{C}$ 'de 25 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

- 3) Oda sıcaklığına soğutulan örneklere 750µl fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) ilave edilerek 20-25 defa ters-düz edilmiştir.
- 4) Örnekler 13000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- 5) Santrifüj sonrası oluşan üst faz (süpernatant) dikkatlice 1,5ml'lik tüplere alınmıştır ve oda ısısında 750µl kloroform eklenmiştir.
- 6) Örnekler 13000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj yapılmıştır.
- 7) Santrifüj sonrası oluşan üst faz tekrar 1,5ml'lik tüplere alınarak, alınan hacmin 0,5 katı oda sıcaklığında 5M NaCl ve 2 katı -20°C'de soğutup %99,8 etanol ilave edilerek 5-10 defa ters-düz edilmiştir.
- 8) Örnekler +4°C'de 20 dakika beklenmiştir.
- 9) Örnekler soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek DNA pelletlerinin dibe çökmesi sağlanmıştır.
- 10) Santrifüj sonrası DNA pelletlerinin düşmediğinden emin olunarak üst sıvı atılmış ve 1ml %75 etanol ilave edilerek pelletlerin serbest hale geçmeleri sağlanmıştır (Şekli 4.2).
- 11) 13000 rpm de 5 dk santrifüj yapılmış ve üst sıvı tekrar atılarak DNA pelletleri kurutulmuştur.
- 12) Kurutulan pelletlere 200µl TE Buffer (10mM Tris, 1mM EDTA, pH:8) eklenmiş ve pelletlerin çözünmeleri sağlanmıştır.
- 13) Örnekler 2'şer µl RNase A (10mg/ml) ilave edildi 37°C'de 30 dakika enzim aktivasyonu için inkübasyon sağlanıp ve ardından 65°C'de 10 dakika enzim inaktivasyonu için bekletilmiştir.
- 14) Örnekler 300µl TE Buffer ilave edilerek hacim 500µl'ye tamamlanmıştır.
- 15) Örnekler 500µl fenol: kloroform: izoamilalkol ilave edilerek 10-15 defa ters-düz edilmiştir.
- 16) 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.



- 17) Üst faz yeni 1,5ml'lik tüplere alınmış ve alınan örnek hacminin 0,1 katı kadar +4°C'de 3M Na-asetat (pH:4,8) ve 2 katı kadar -20°C'de %99,8 Etanol ilave edilerek 5-10 defa ters-yüz edilmiştir.
- 18) Örnekler -20°C'de 1 saat beklemeye bırakılmıştır.
- 19) +4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- 20) Üst sıvı atılmış ve 1ml -20°C'de soğutuldu %70 Etanol ilave edilerek pelletlerin serbet hale geçmesi sağlanmıştır.
- 21) Örnekler +4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- 22) Üst sıvı atılarak pelletlerin kurutulması sağlanmıştır.
- 23) Kurutulan pelletlere 200µl TE ilave edilerek çözündürülmüştür.

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



**Şekil 4.2** Ayçiçeği örneklerinden DNA izolasyonu

#### 4.2.3. DNA Miktar ve Kalite Tayini

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

#### 4.2.4. Agaroz Jel Elektroforez Sistemi ve Jel Görüntüleme

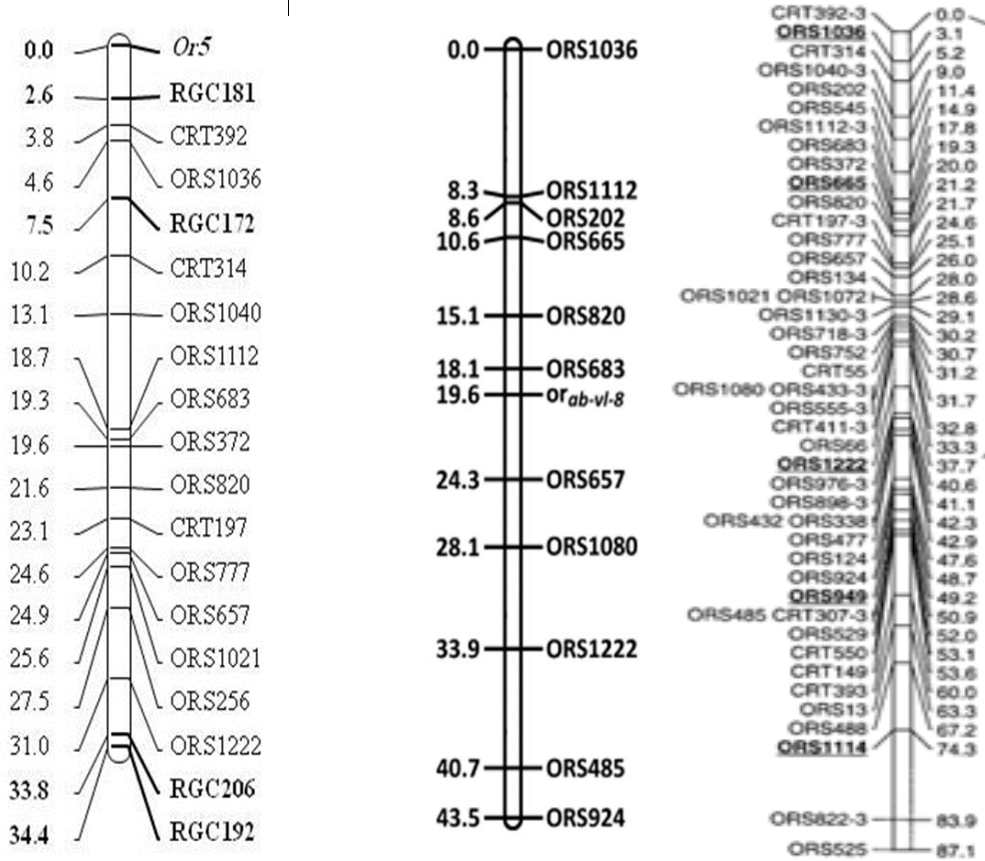
Elektroforez sistemi için öncelikle floresan işaretleyeci boya olarak etidyum bromür'ün (30 mg/L) (EtBr) kullandığı %2 lik agaroz jel hazırlanmıştır. PCR ürünleri, hazırlanan bu jelde uygun taraklar ile oluşturulan kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez tankına yerleştirilen jel %2 lik TAE (Tris 1.6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

#### 4.2.5. *Or5* Geni İçin Markır Çalışmaları

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

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

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



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

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

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

<b>Gen</b>	<b>İrk</b>	<b>Markır</b>	<b>Kaynaklar</b>
<i>Or2</i>	E	ORS1114	Imerovski vd., 2013
<i>Or4</i>	E	ORS665 ORS1114	Imerovski vd., 2013
<i>Or5</i>	E	ORS1112 ORS1114 ORS1036 RGC172 RGC192 RGC181 RGC206	Iuoras vd., 2004; Tang vd., 2003; Radwan vd., 2008
<i>Or6</i>	E	ORS1036 ORS1114	Imerovski vd., 2013
<i>Or7</i>	G	ORS683 ORS1112 ORS202 ORS1040	Guchetl vd., 2020
<i>Or<sub>ab-vl-8</sub></i>	G	ORS683 ORS657 ORS 202 ORS1112 ORS820 ORS1080 ORS1222 ORS924	Imerovski vd., 2016

**Çizelge 4.2** Çalışmada SSR analizi için kullanılan primerler

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

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

PCR reaksiyonu için gerekli olan bileşenler ve miktarları aşağıdaki gibidir;

**Çizelge 4.3** Markır analizleri için yapılan PCR'ların içerikleri

PCR İçeriği (20 µl)	Final Konsantrasyonu
Forward Primer (10 µM)	1 µl
Reverse Primer (10 µM)	1 µl
gDNA Örneği (10 ng/µl)	2 µl
H <sub>2</sub> O	6 µl
Master Mix	10 µl

**Çizelge 4.4** RGA markırları için kullanılan PCR koşulları

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

**Çizelge 4.5** RGA markırları için kullanılan PCR koşulları (Touchdown)

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

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

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

#### 4.2.6. PCR Ürünlerinin Kapiller Elektrofrezde Analizi

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

#### 4.2.7. Akış Sitometrisi ile Çekirdek DNA Analizi

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

##### 4.2.7.1. Materyal

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

**Çizelge 4.7** Araştırmada kullanılan ayçiçeği aksesyonlarının aksesyon numaraları ve orijinleri

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

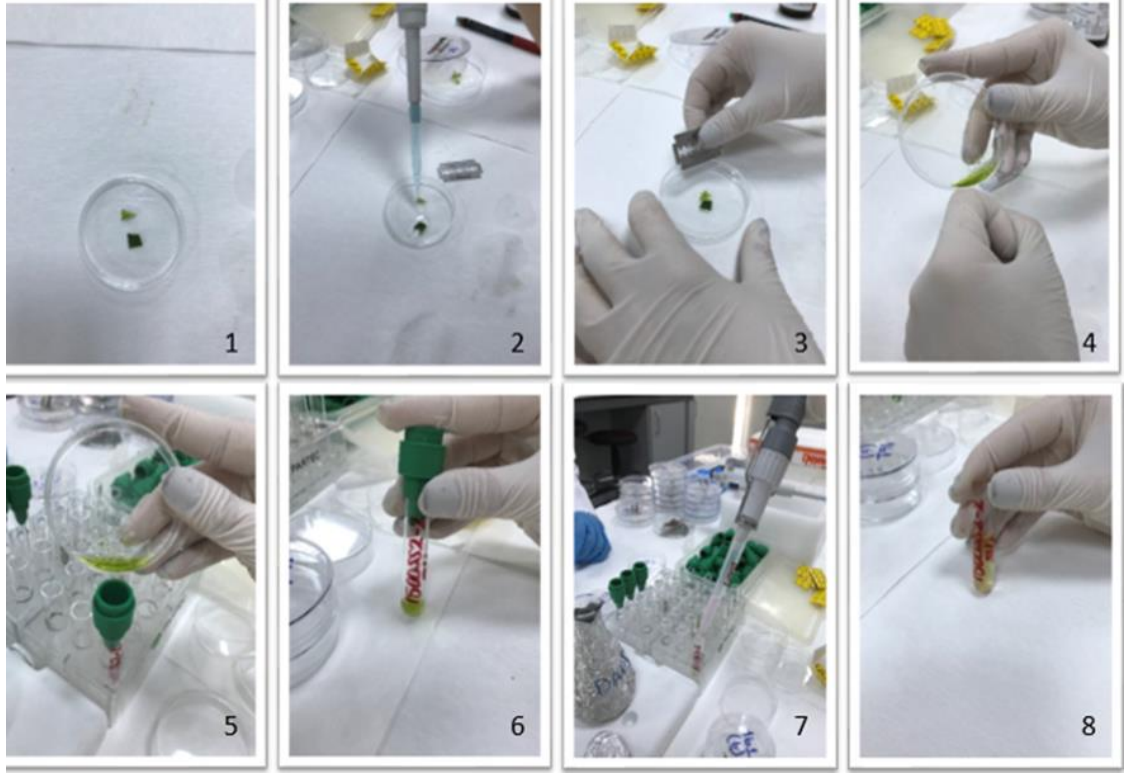


PI 649981	<i>Helianthus eggertii</i>	US South Carolina
PI 649891	<i>Helianthus exilis</i>	US California
PI 468716	<i>Helianthus floridanus</i>	US Georgia
PI 468720	<i>Helianthus giganteus</i>	US North Carolina
PI 664715	<i>Helianthus glaucophyllus</i>	US Tennessee
PI 664644	<i>Helianthus gracilentus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

#### 4.2.7.2. Nukleus İzolasyonu

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

1. Ayçiçeği ve *Vicia sativa* (standart)'ya ait genç ve sağlıklı bitkilerden yaklaşık 20 mg taze yaprak dokusu alınarak petri kabı içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 4.4. /1).
2. Petri kabı içerisine 500 µl izolasyon buffer ilave edilmiştir (Şekil 4.4. /2).
3. Solüsyon içerisindeki yaprak dokuları keskin jilet (bistürü) yardımıyla çok küçük parçalara ayrılana kadar (30-60 saniye) parçalanmıştır (Şekil 4.4. /3).
4. Hazırlanan örnek petri kabı içerisinde 15-20 saniye çalkalanmıştır (Şekil 4.4. /4).
5. Parçalama işlemi tamamlandıktan sonra petri kabı içerisindeki solüsyon, 30-33 µm lik açıklıklara sahip filtreden geçirerek mikro-santrifüj tüpüne aktarılarak çekirdeklerin bitki doku kalıntılarından ayrılması sağlanmıştır (Şekil 4.4. /5).
6. Tüpün içerisine daha önceden hazırlanmış olan 2 µl staining solüsyonu eklenmiştir (Şekil 4.4. /7).
7. Örnekler karanlık ortamda 37°C de yaklaşık 1 saat inkübe edilmiştir.
8. İnkübasyon süresi tamamlanmasından sonra örnekler flow sitometri cihazına yüklenerek analiz edilmiştir.



**Şekil 4.4** Akış sitometrisi için örnek hazırlama aşamaları

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

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

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

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

Bir bitkinin çekirdek DNA içeriğini doğru bir şekilde tanımlayabilmek için bu bitkinin çekirdek DNA içeriği, daha önce çekirdek DNA içeriği bilinen bir standart ile karşılaştırılması gerekmektedir. Standart olarak çekirdek DNA içeriği bilinen bir bitki kullanılırken; onun dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla beraber hazırlanmıştır. Bir örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği, araştırılan örnek ve seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak, aşağıda verilen formül aracılığıyla pikogram (1pg = 10<sup>-12</sup> g) olarak hesaplanmıştır.

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

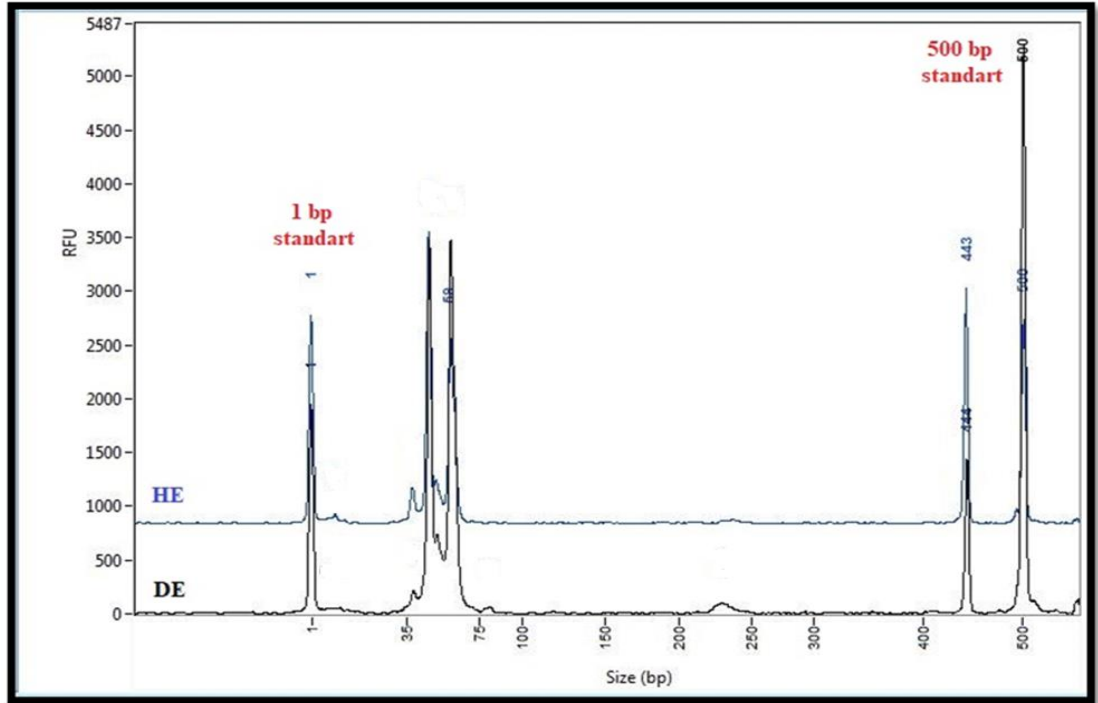
## BÖLÜM 5

### BULGULAR

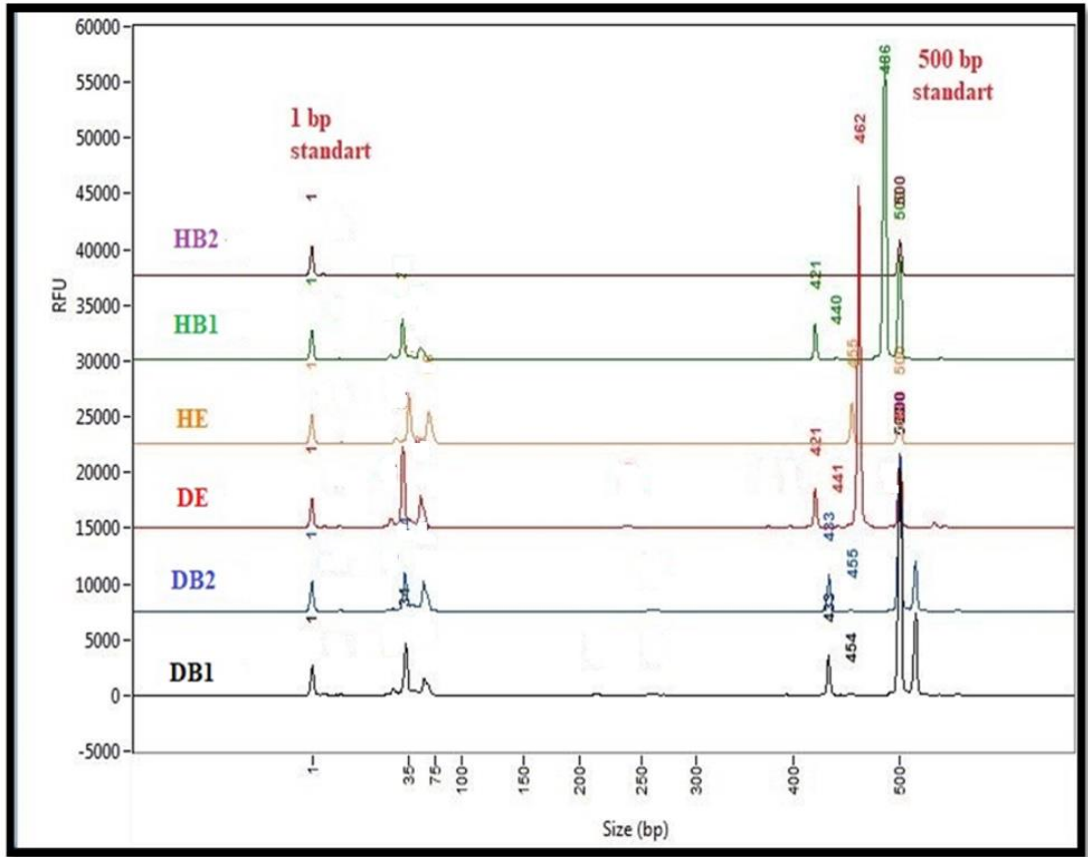
#### 5.1. Or5 Geni için Kullanılan Markırların Sonuçları

##### 5.1.1. RGA172 Markırı

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



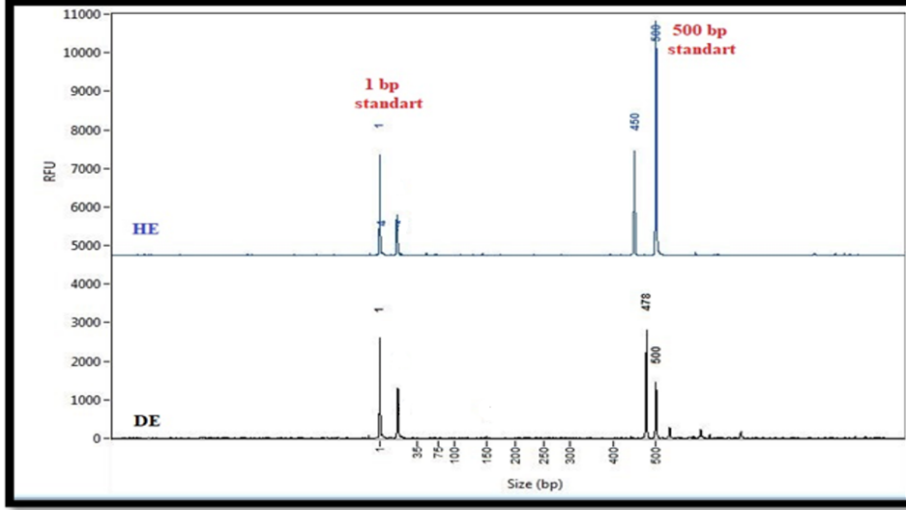
Şekil 5.1 RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



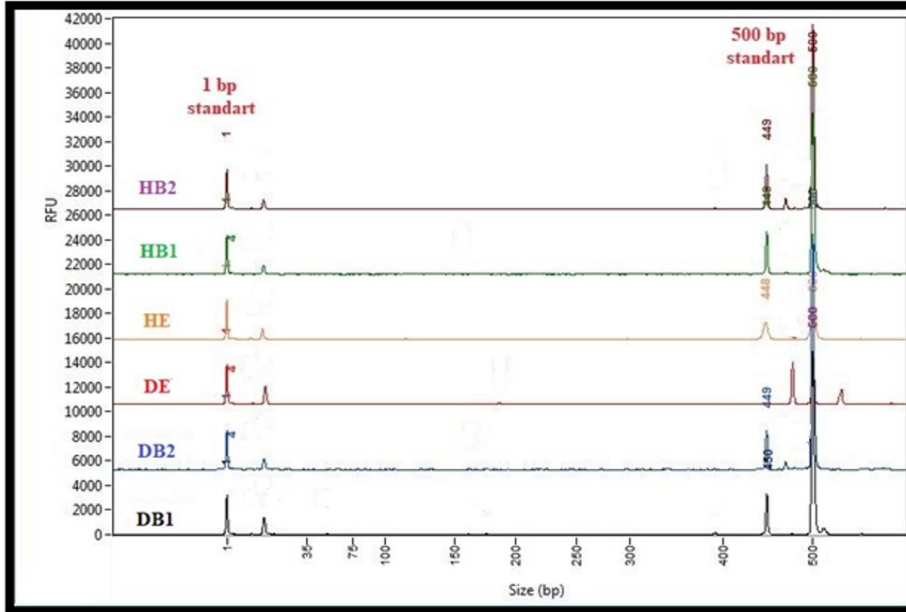
**Şekil 5.2** RGA172 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.2. RGA181 Markırı

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



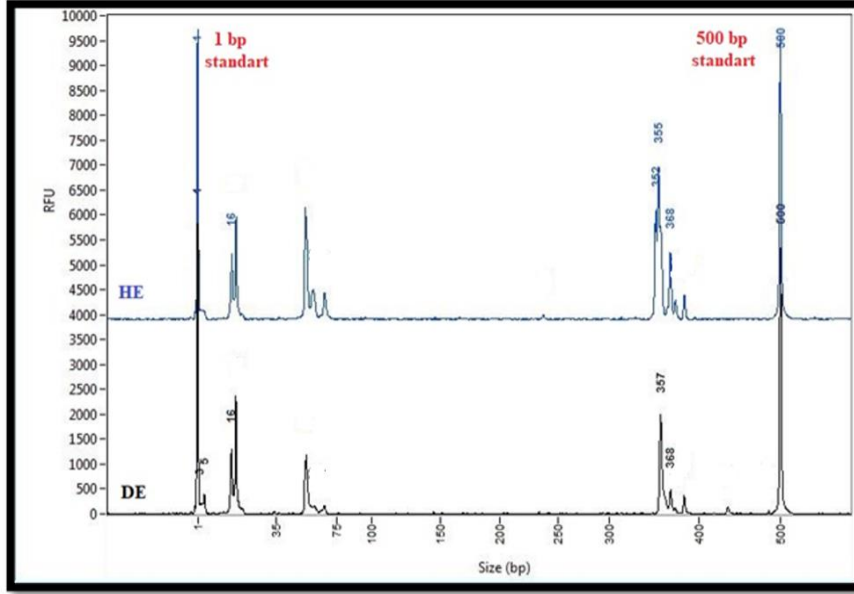
Şekil 5.3 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



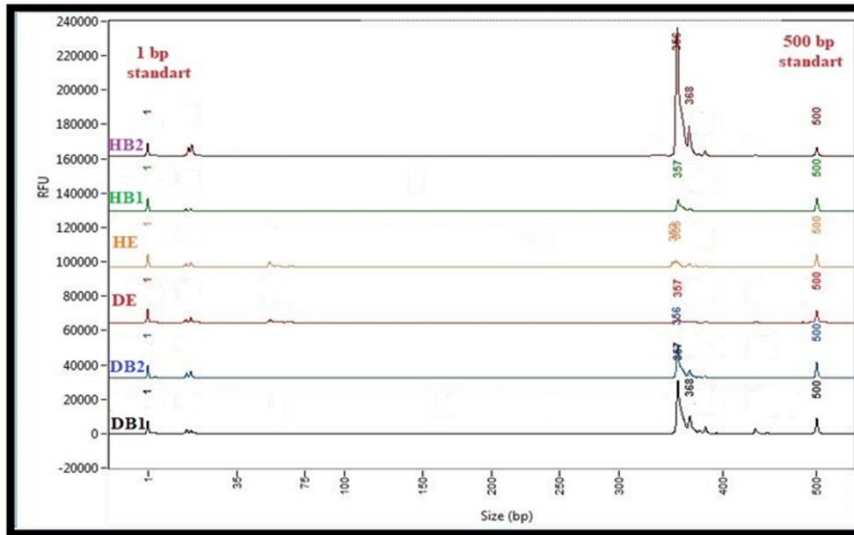
Şekil 5.4 RGA181 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.3. RGA192 Markırı

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



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

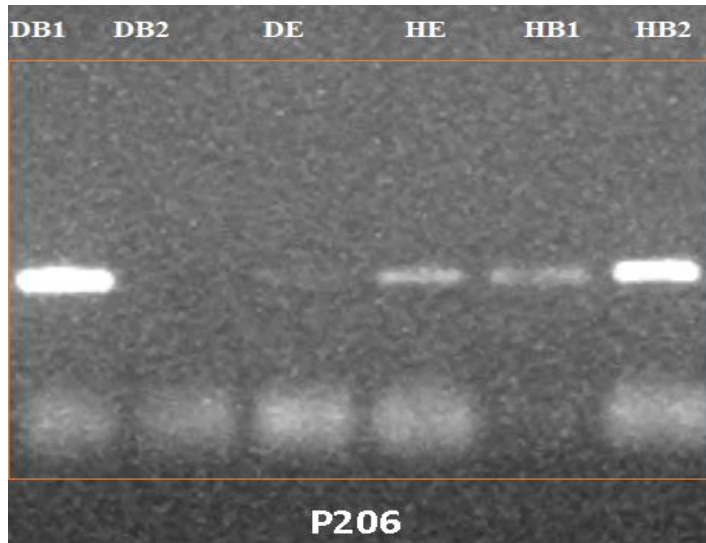
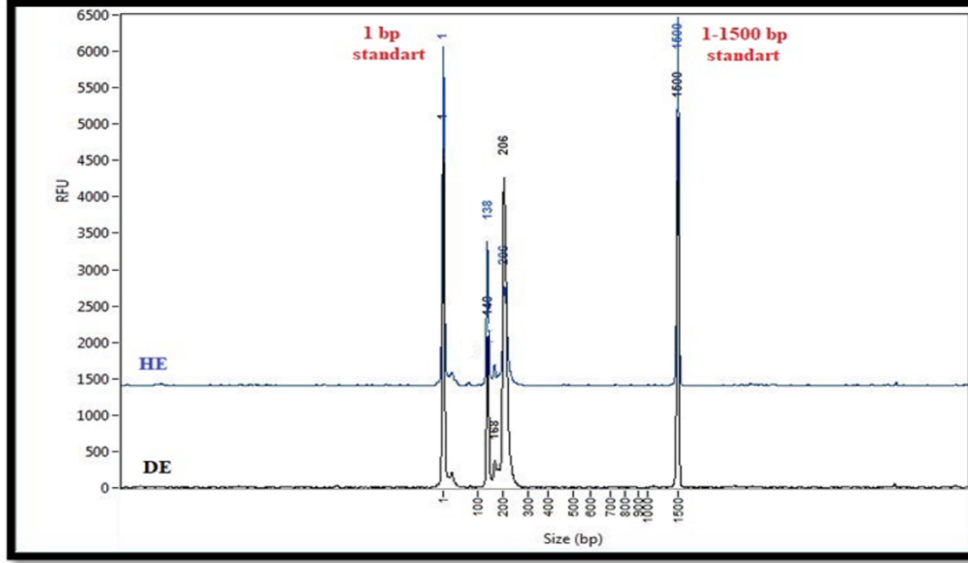


Şekil 5.6 RGA192 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)



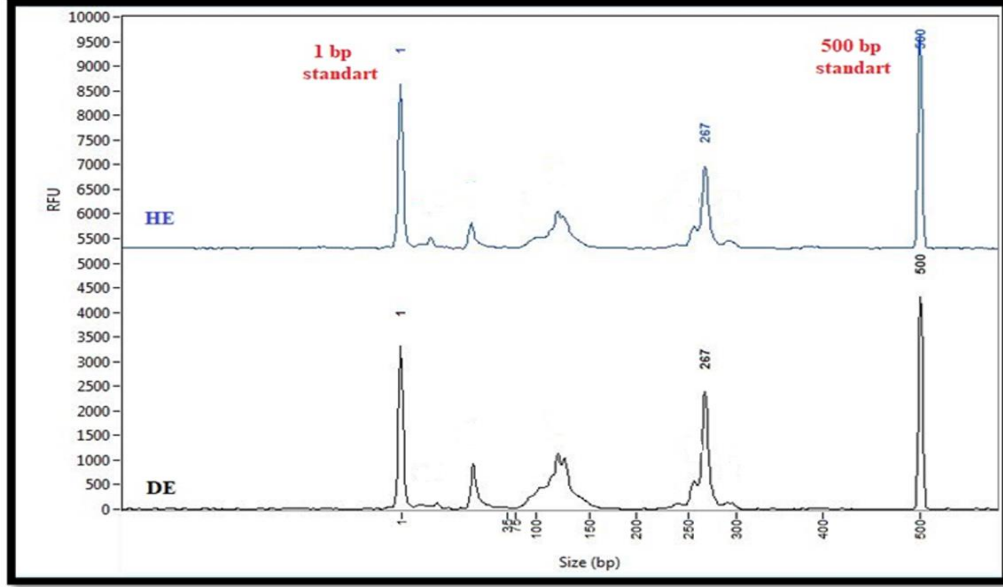
#### 5.1.4. RGA206 Markırı

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

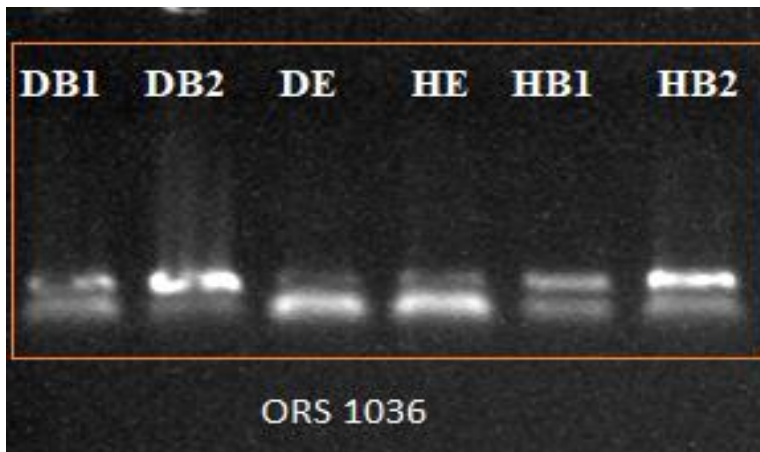


### 5.1.5. ORS1036 Markırı

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



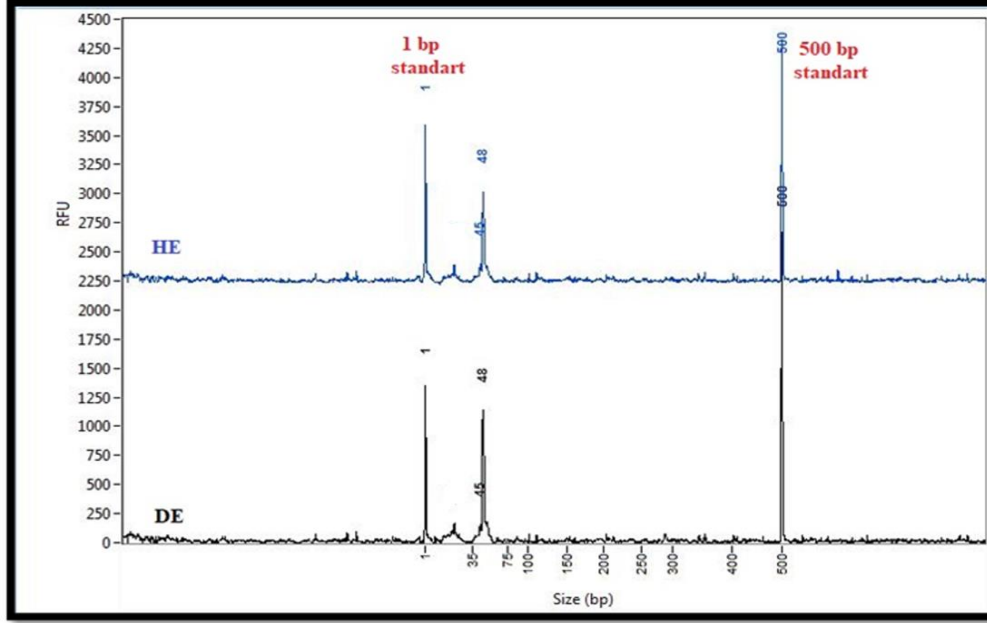
Şekil 5.97 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



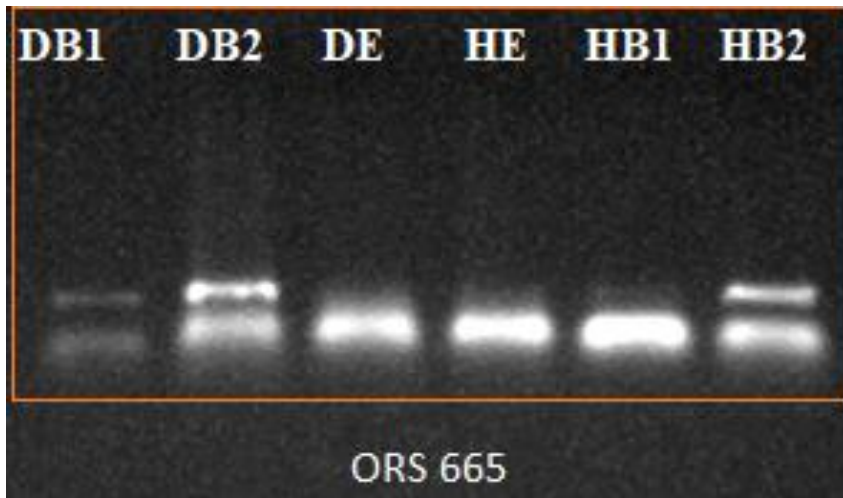
Şekil 5.10 ORS1036 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.6. ORS665 Markırı

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



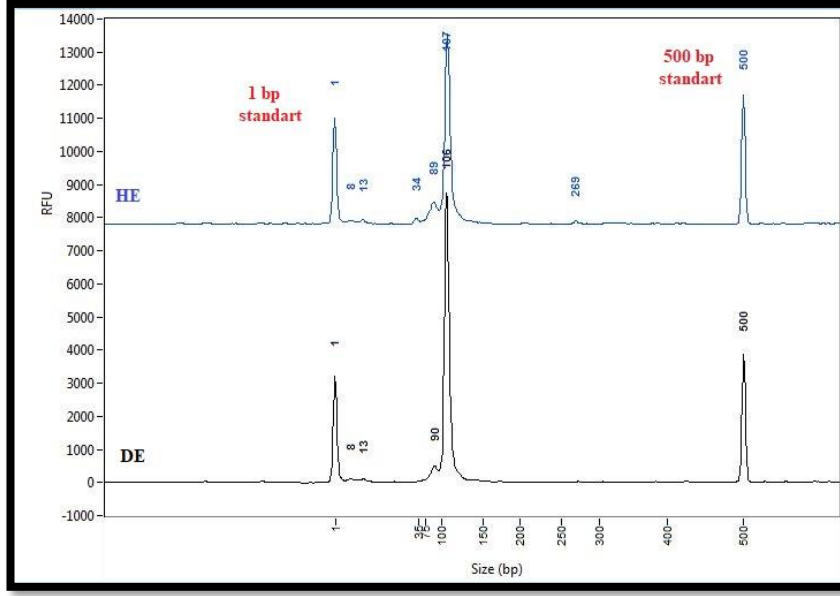
Şekil 5.11 ORS665 markırı ile elde edilen pcr sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



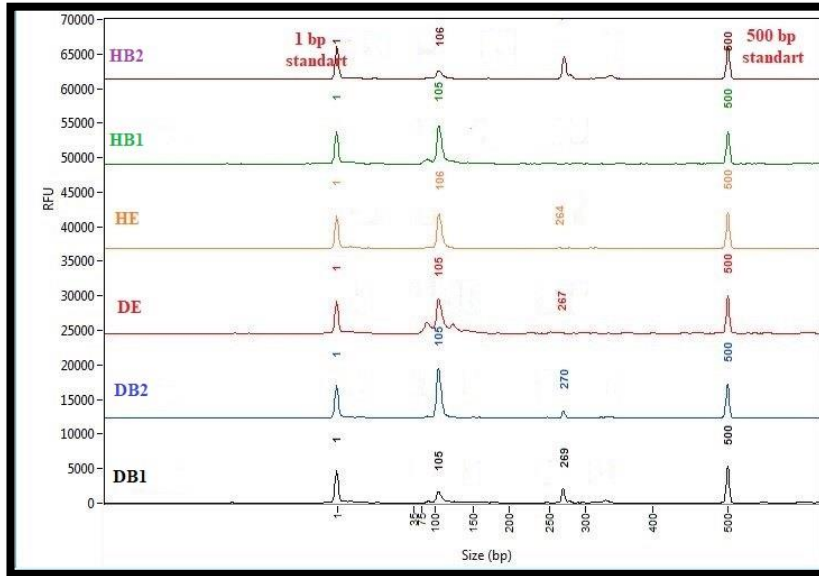
Şekil 5.12 ORS665 markırı ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.7. ORS1021 Markırı

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



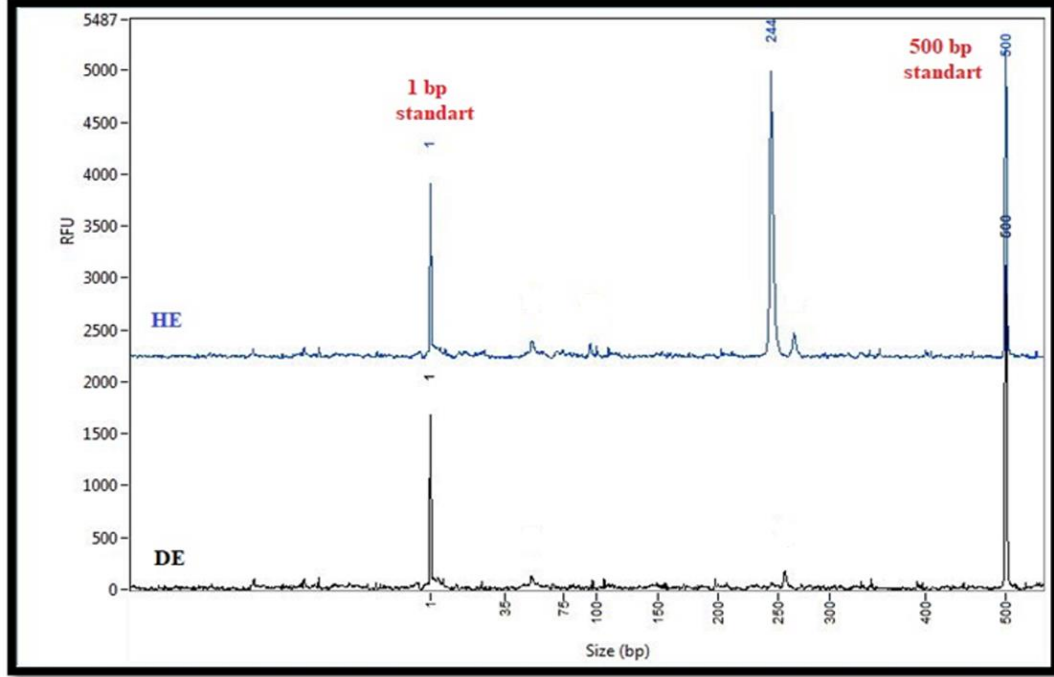
Şekil 5.13 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



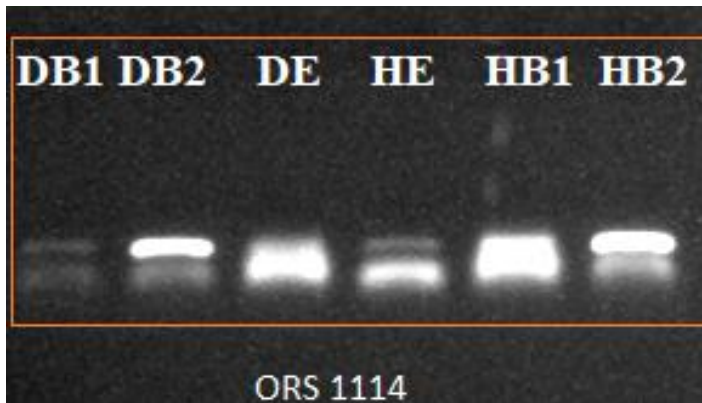
Şekil 5.148 ORS1021 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulku, HB: Hassas Bulku)

### 5.1.8. ORS1114 Markırı

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



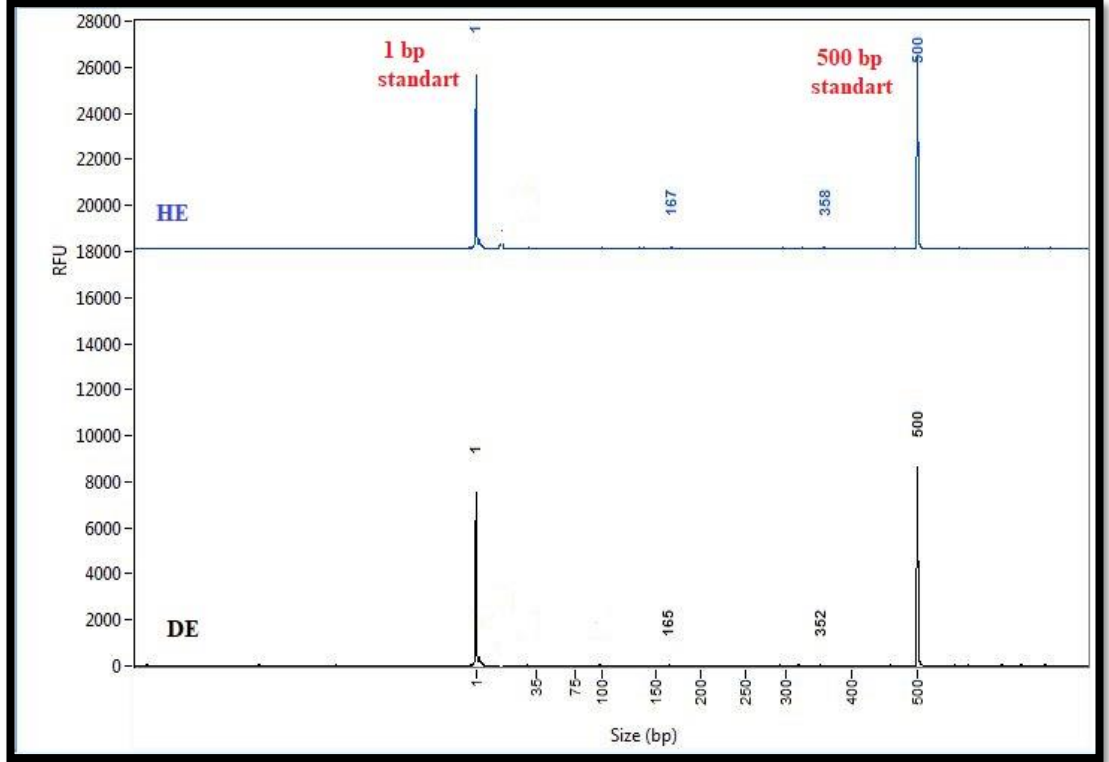
Şekil 5.159 ORS1114 markırı ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



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

### 5.1.9. RGA P1-P15 Primer Kombinasyonu

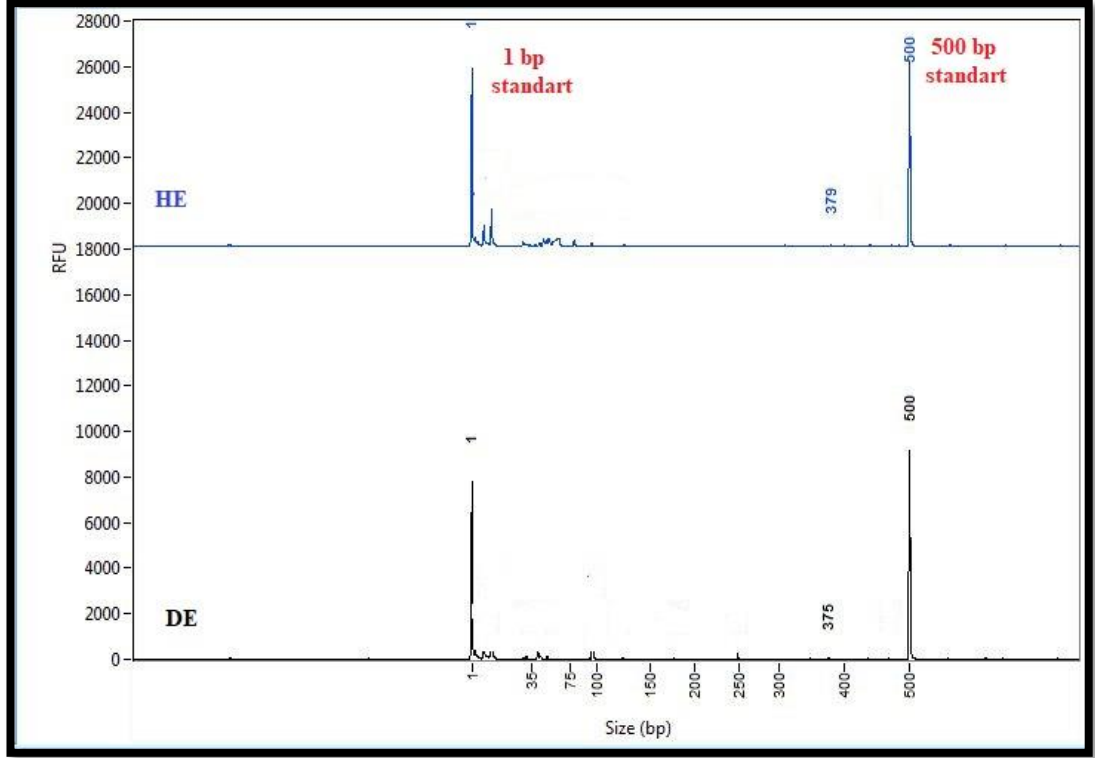
Yapılan çalışma sonucu RGA P1-P15 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.17).



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

### 5.1.10. RGA P8-P10 Primer Kombinasyonu

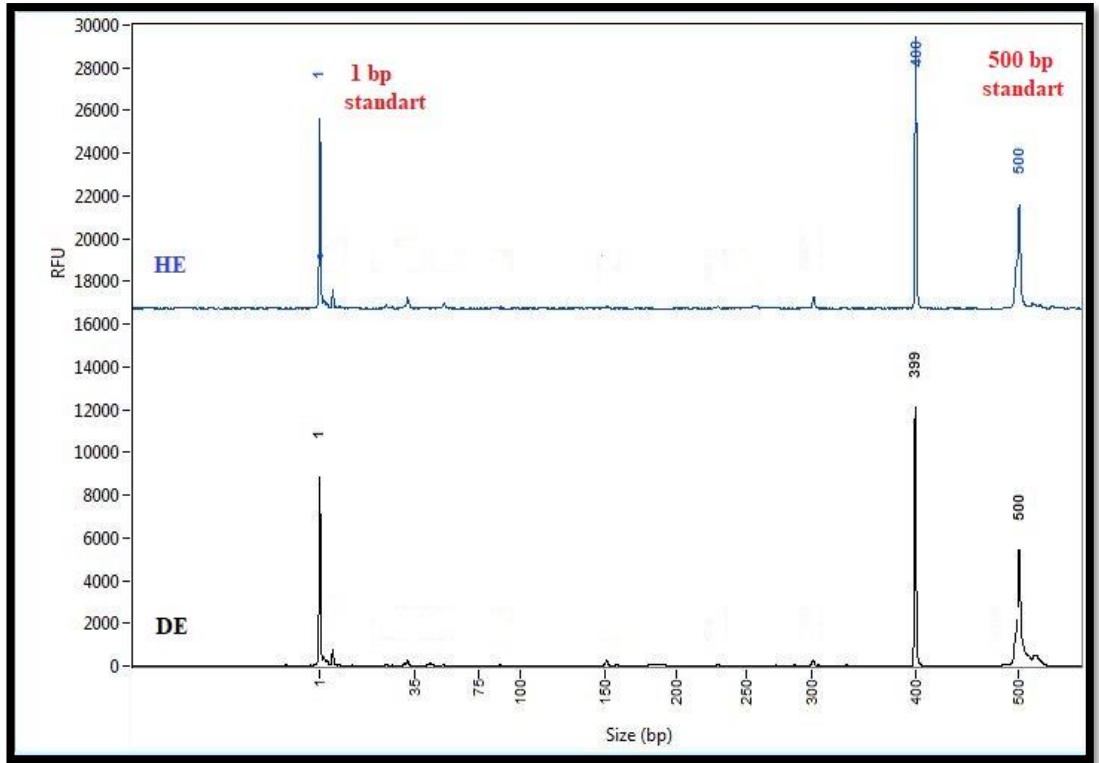
Yapılan çalışma sonucu RGA P8-P10 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünleri spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerinde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.18).



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

### 5.1.11. RGA P17-P3N Primer Kombinasyonu

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

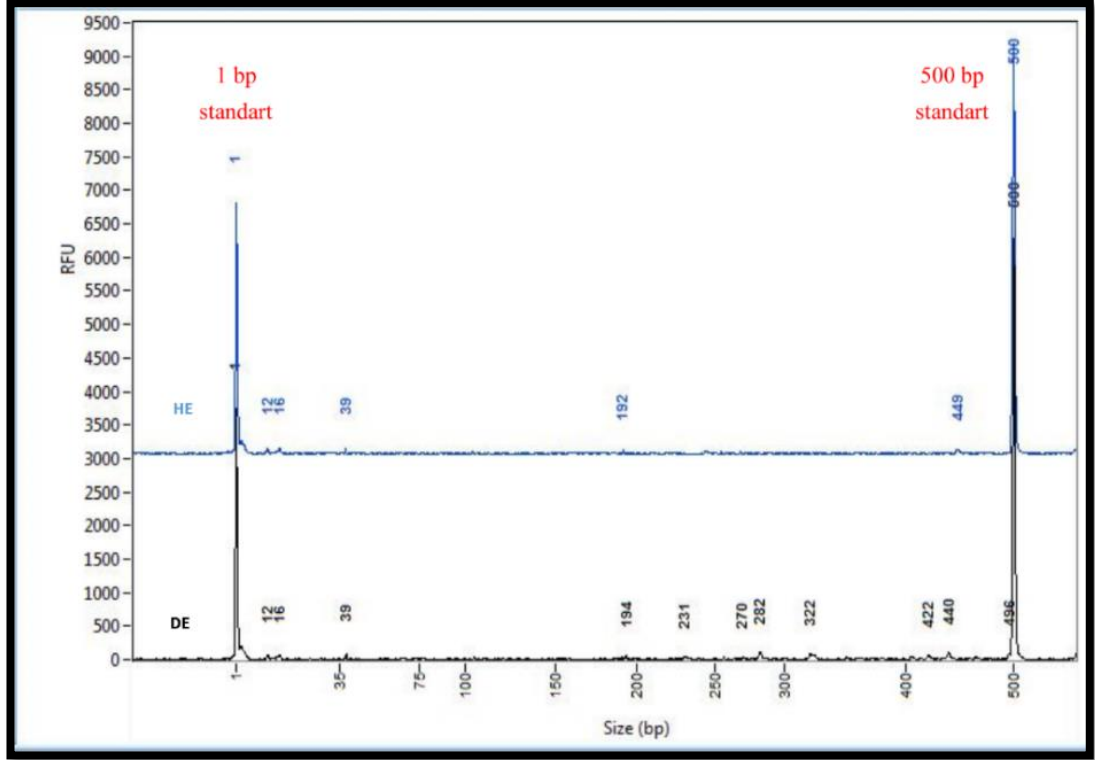


Şekil 5.19 RGA P17-P3N primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroferez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



### 5.1.12. RGA S2.INV-AS3 Primer Kombinasyonu

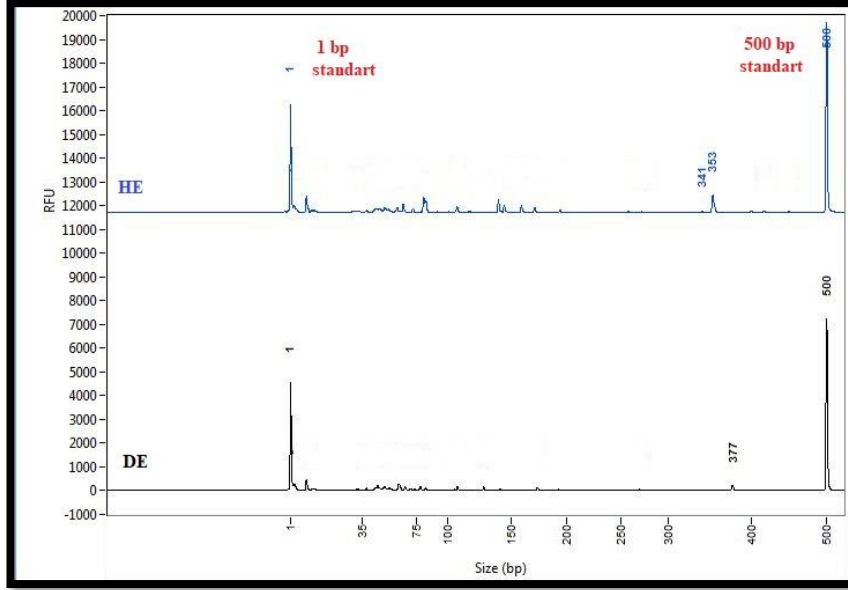
Yapılan çalışma sonucu RGA S2.INV-AS3 primerleri ile, popülasyona ait dayanıklı ebeveyn, hassas ebeveyn ve F2 bulklarında PCR ürünlerimiz spesifik çalışmadığı için, dayanıklı/hassas genotiplerde herhangi bir ayırt edici DNA fragmenti gözlenmemiştir (Şekil 5.20).



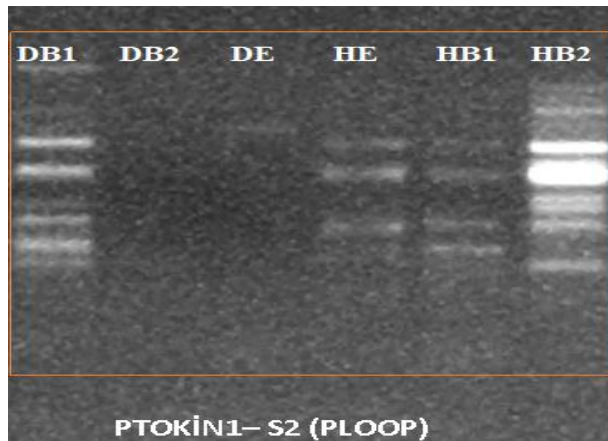
Şekil 5.2010 RGA S2.INV-AS3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)

### 5.1.13. RGA Ptokin1-S2(Ploop) Primer Kombinasyonu

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



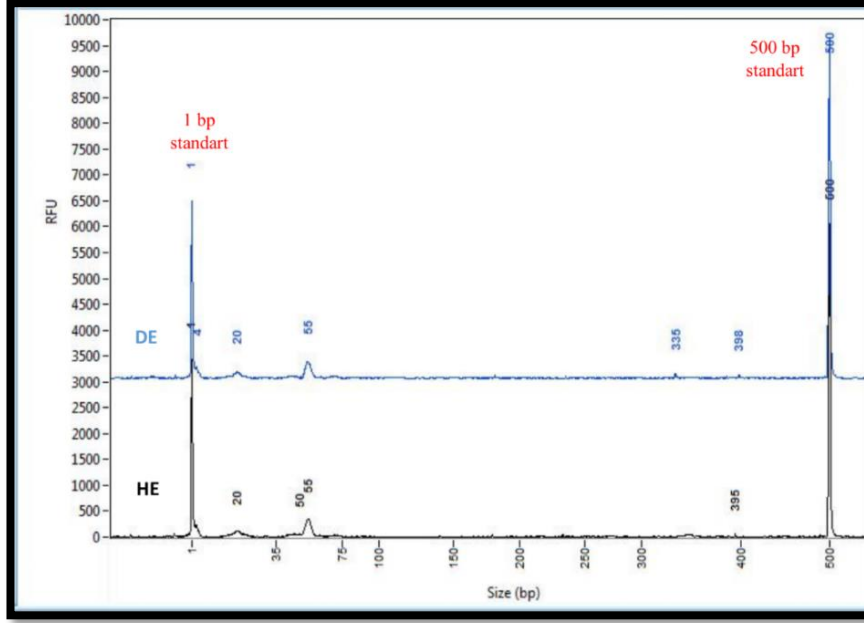
Şekil 5.21 RGA Ptokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



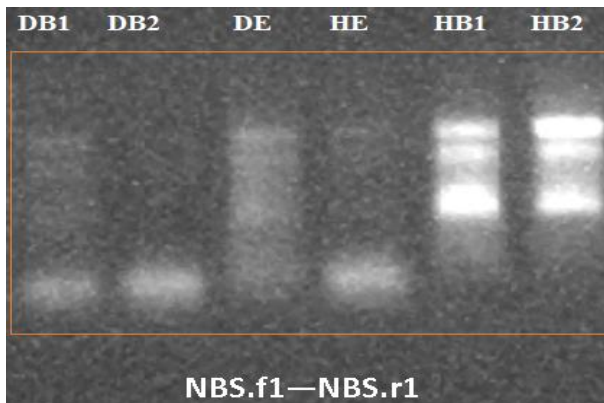
Şekil 5.22 RGA Ptokin 1- S2(Ploop) primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü, (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

#### 5.1.14. RGA NBS f1-NBS r1 Primer Kombinasyonu

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



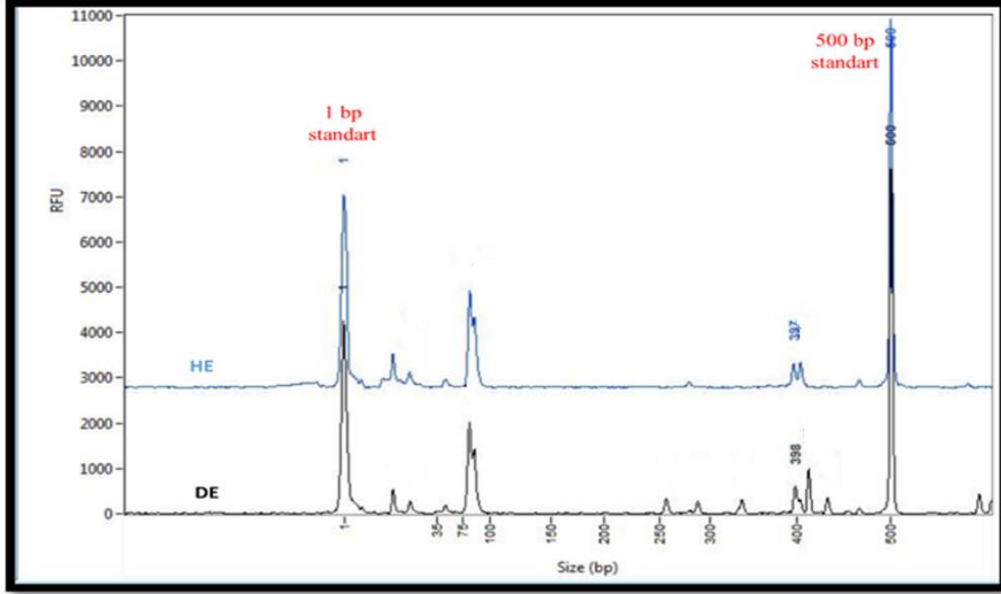
Şekil 5.23 RGA NBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



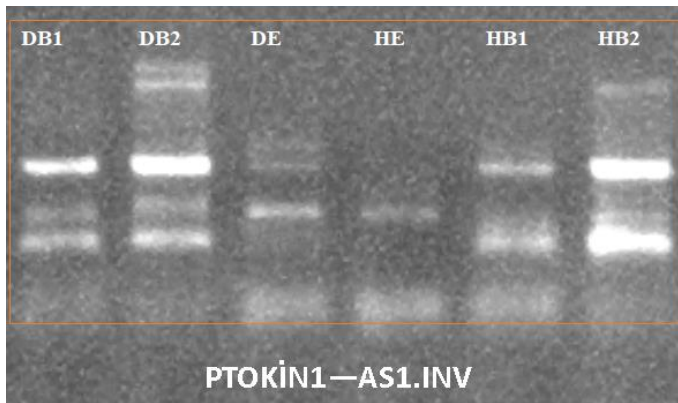
Şekil 5.24 RGA NBS f1-NBS r1 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.15. RGA Ptokin 1 – AS1.INV Primer Kombinasyonu

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



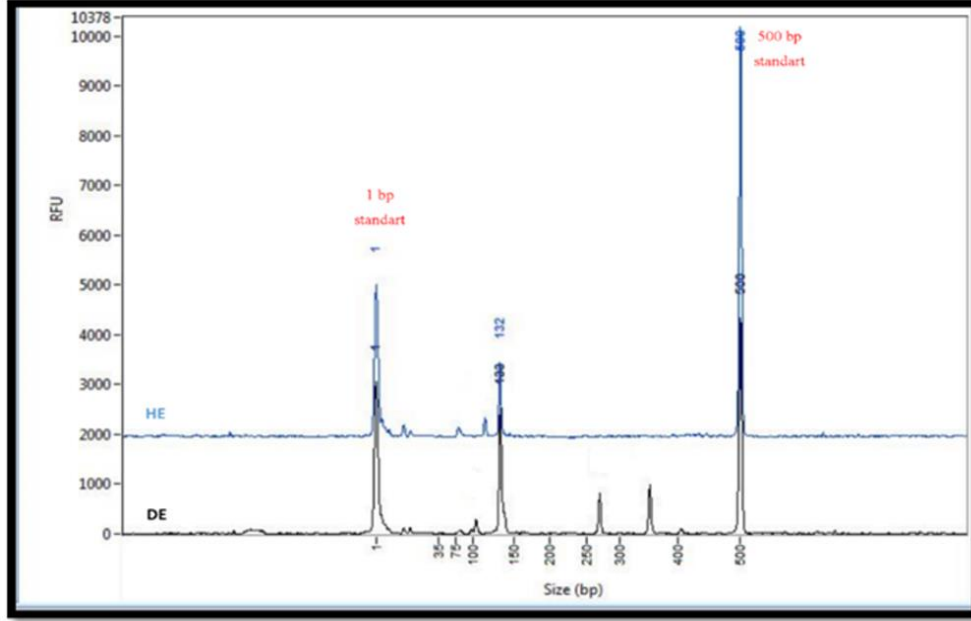
Şekil 5.25 RGA Ptokin 1 – AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



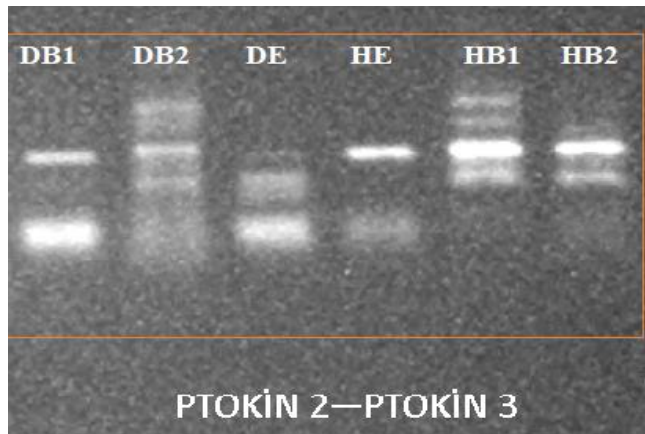
Şekil 5.26 RGA Ptokin 1 – AS1.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü, (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.16. RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 Primer Kombinasyonu

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



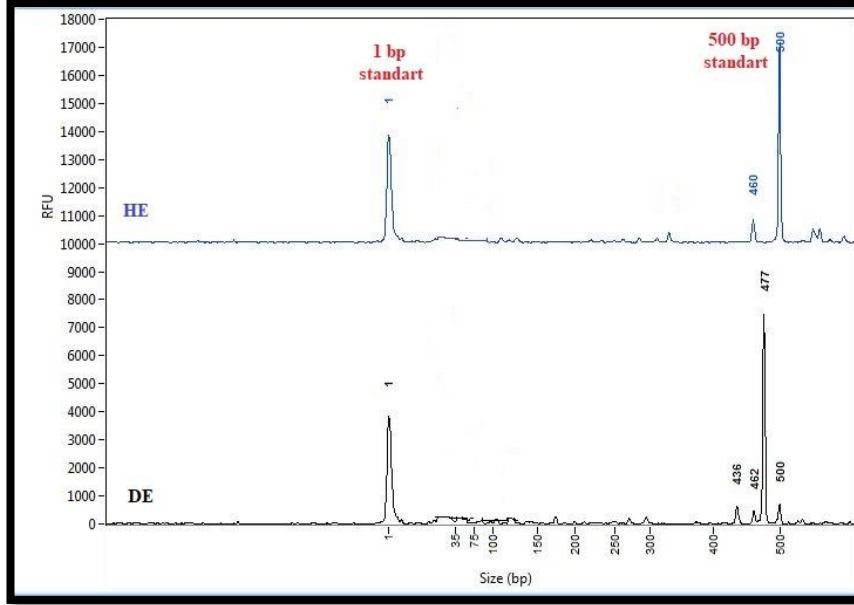
Şekil 12 RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



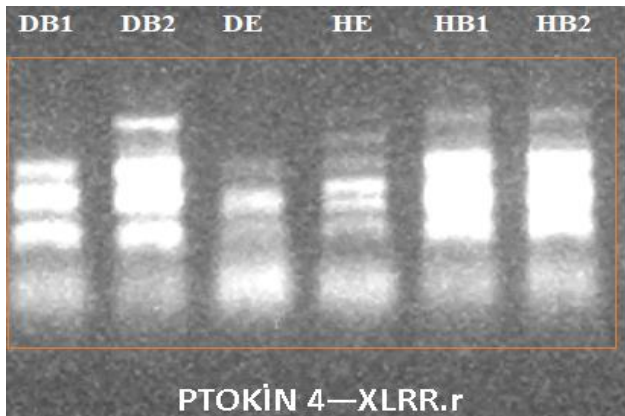
Şekil 13 RGA Ptokin 2 – Ptokin 3 primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.17. RGA Ptokin 4 – XLRR. R Primer Kombinasyonu

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



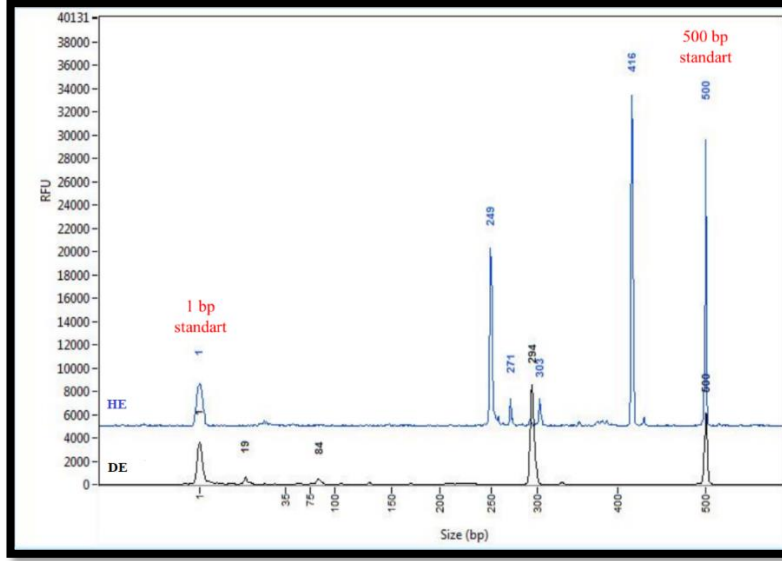
Şekil 5.29 RGA Ptokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



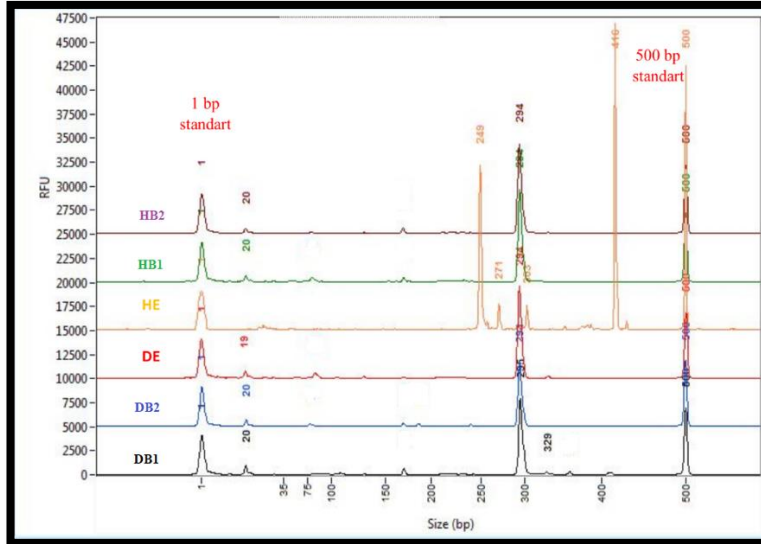
Şekil 5.30 RGA Ptokin 4 – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.18. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS Primer Kombinasyonu

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



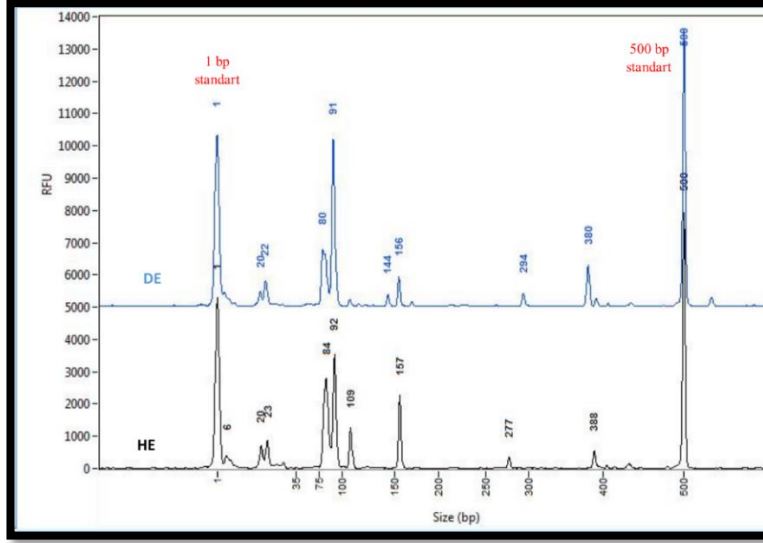
Şekil 14. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



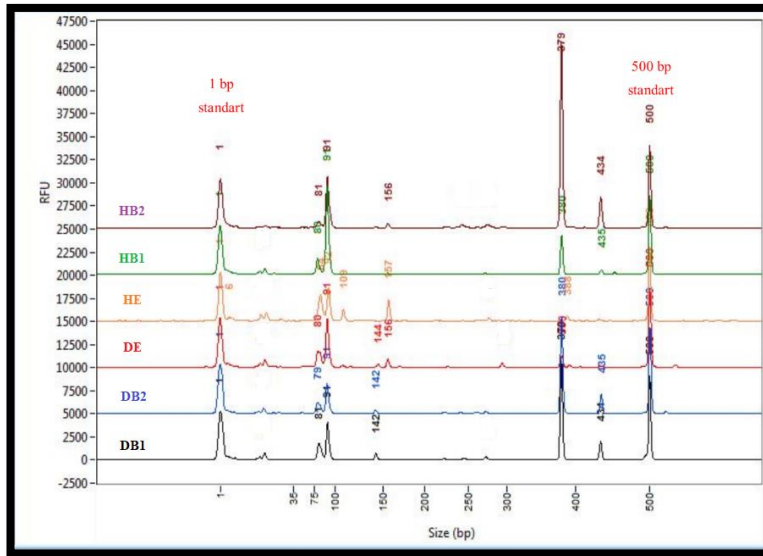
Şekil 5.32. RGA Ptokin 1 – PtoFen. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.19. RGA Ptokin 1 – PtoFen. S Primer Kombinasyonu

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



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

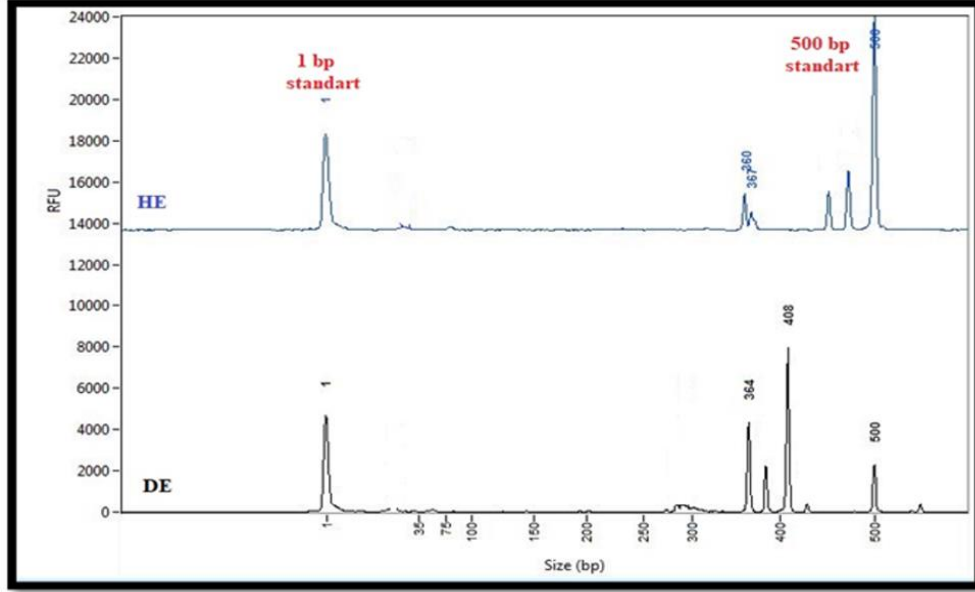


Şekil 5.3416 RGA Ptokin 1 – PtoFen.S primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

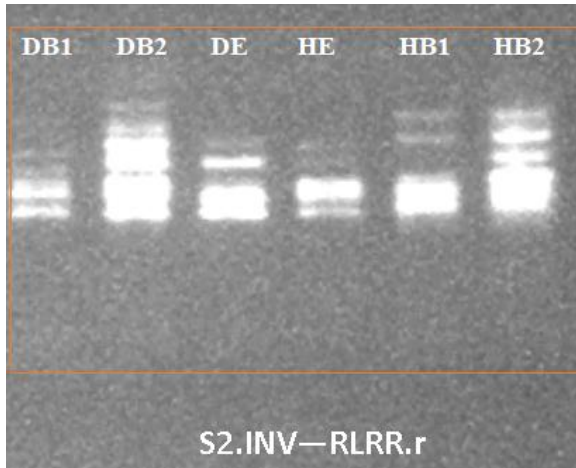


### 5.1.20. RGA S2.INV – RLRR. R Primer Kombinasyonu

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



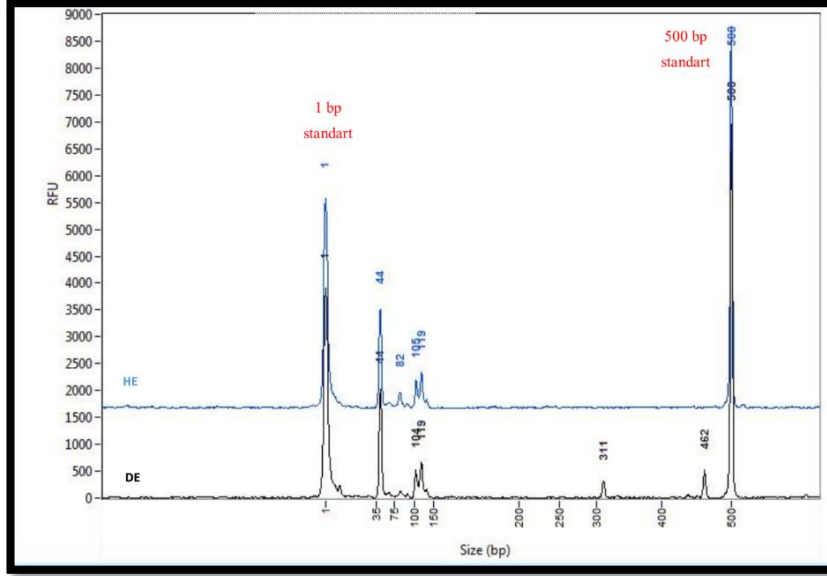
Şekil 5.35 RGA S2.INV – RLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



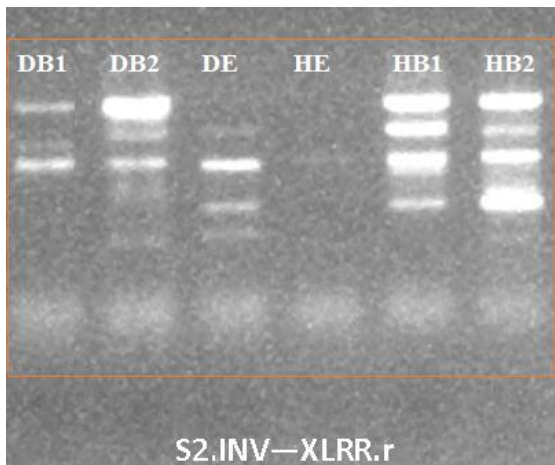
Şekil 5.36 RGA S2.INV – RLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



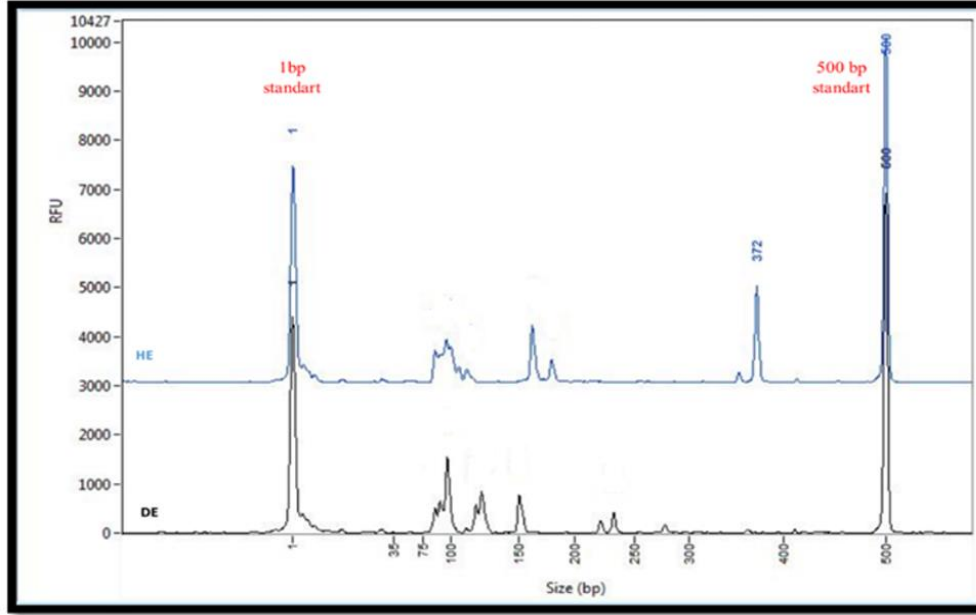
Şekil 5.37 RGA S2.INV – XLRR. R primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



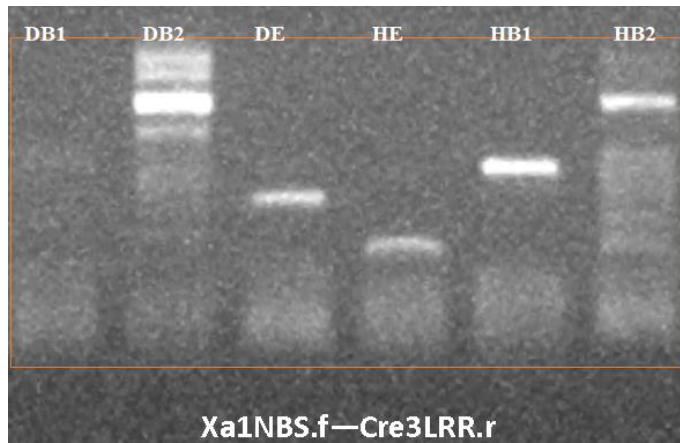
Şekil 5.38 RGA S2.INV – XLRR.R primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



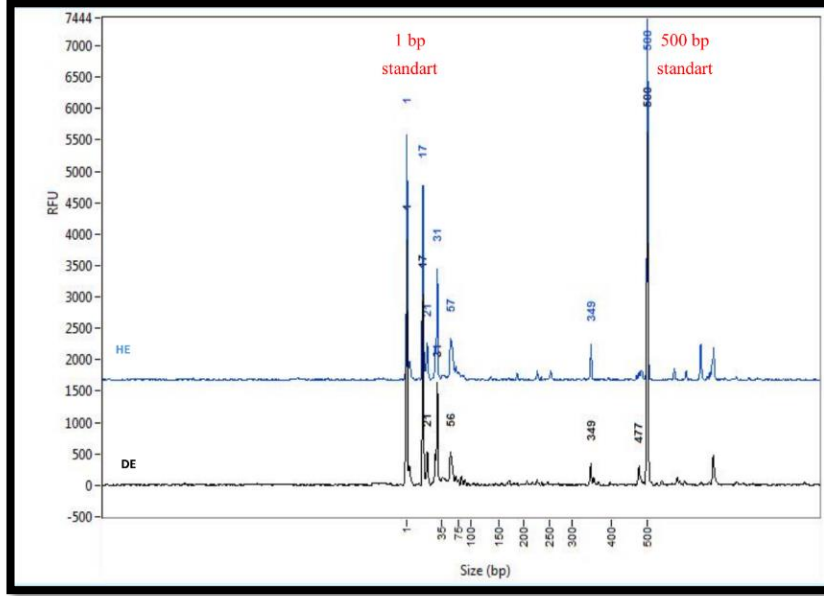
Şekil 5.39 RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



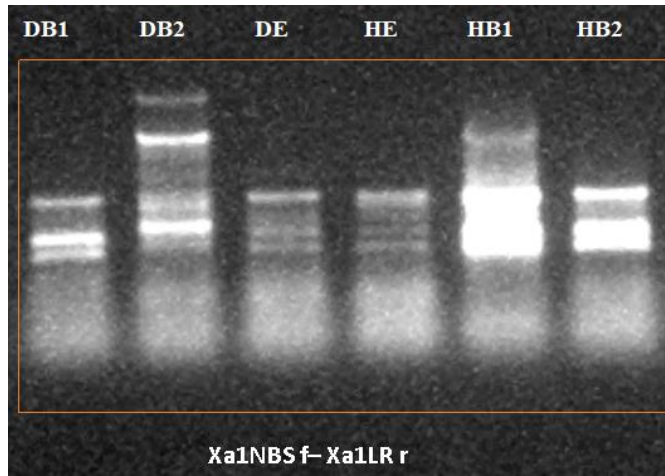
Şekil 5.40 RGA Xa1NBS.f – Cre3LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



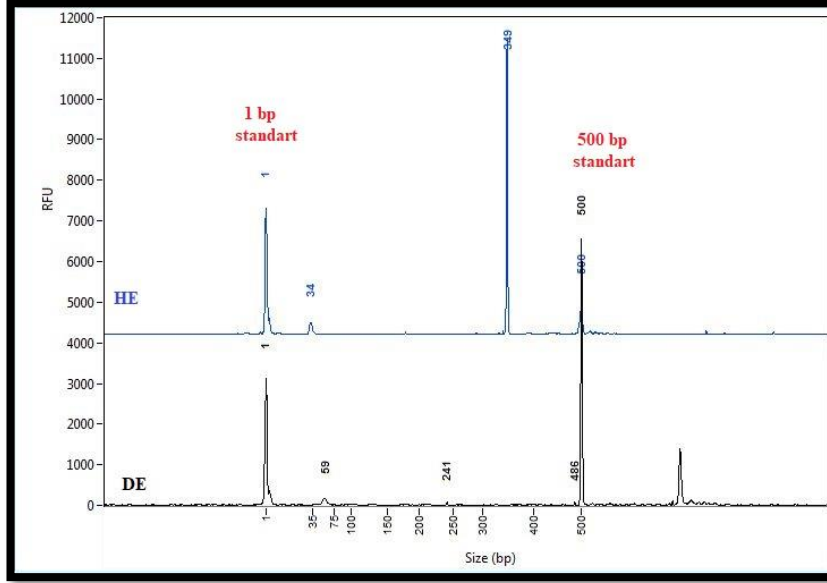
Şekil 5.41 RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



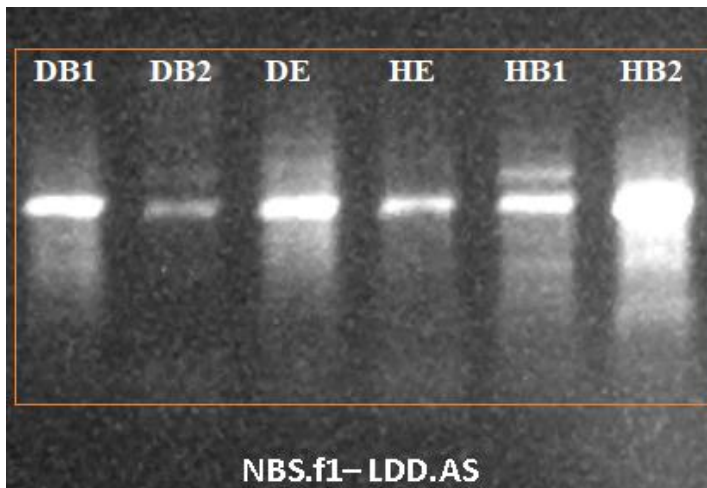
Şekil 5.42 RGA Xa1NBS.f – Xa1LRR.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



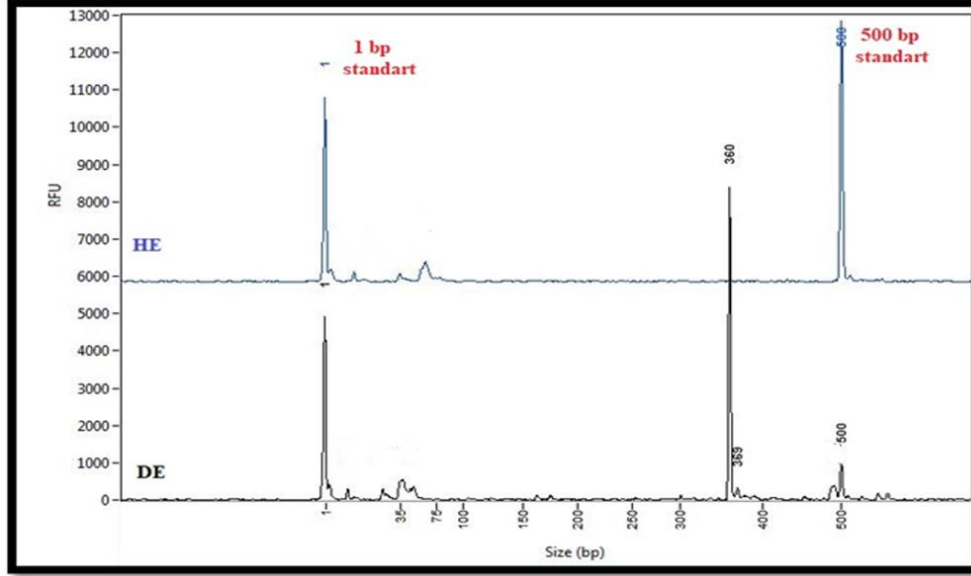
Şekil 5.43 RGA NBS. f1 – LDD. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



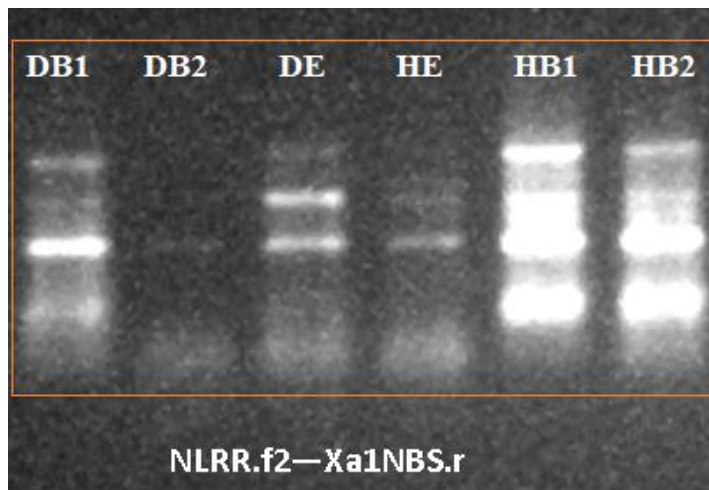
Şekil 5.44 RGA NBS. f1 – LDD. AS primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



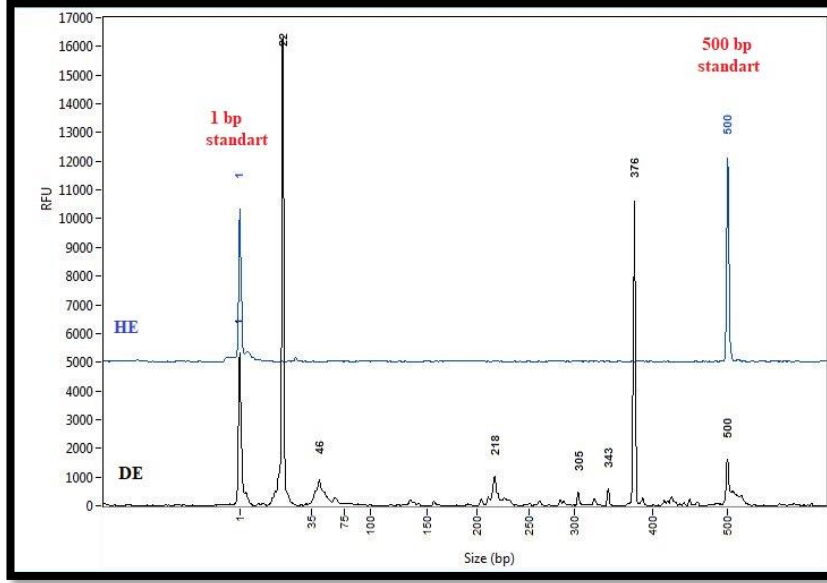
Şekil 5.45 RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



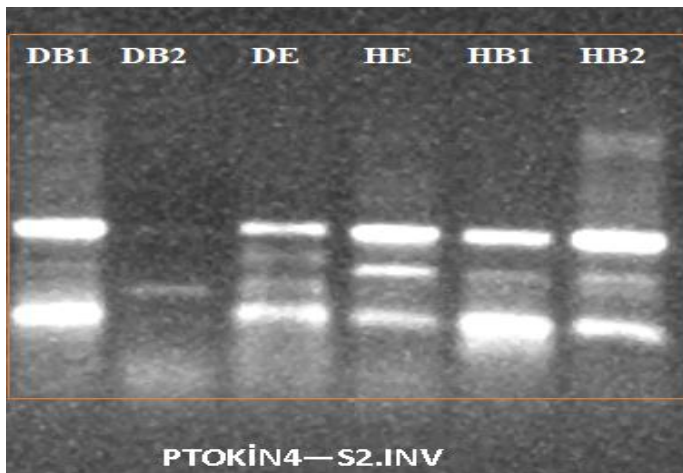
Şekil 5.46 RGA NLRR.f2 – Xa1NBS.r primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.26. RGA Ptokin 4 – S2.INV Primer Kombinasyonu

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



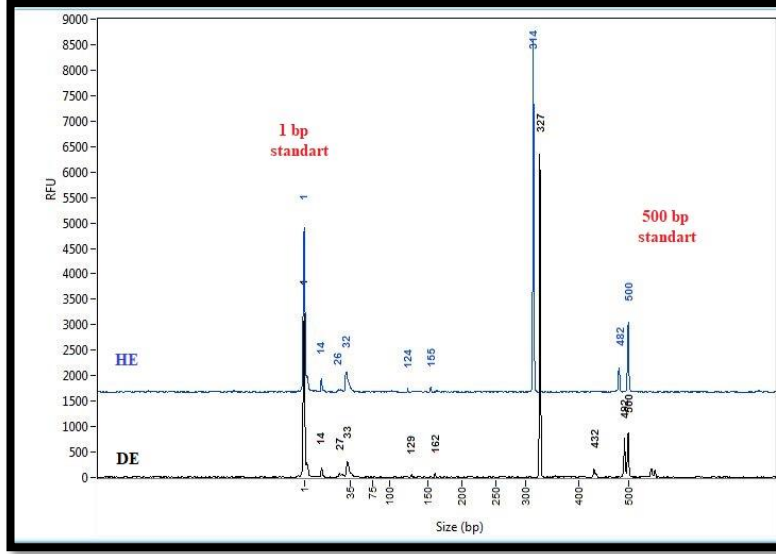
Şekil 5.47 RGA Ptokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



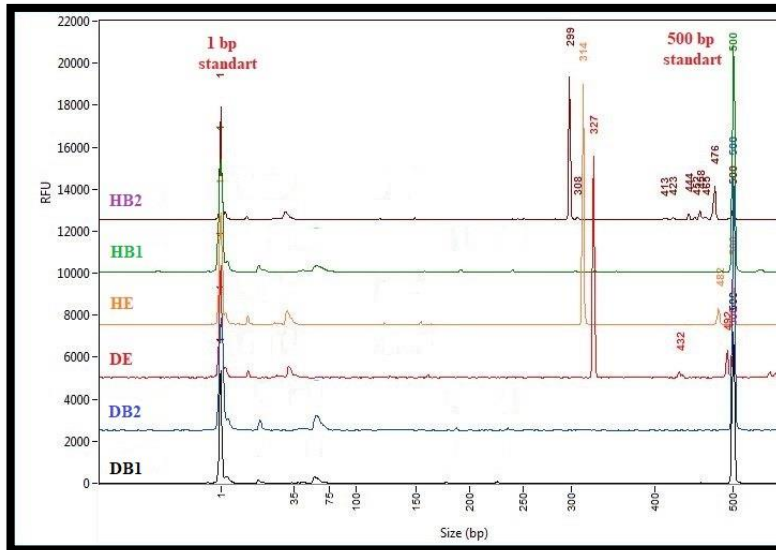
Şekil 5.48 RGA Ptokin 4 – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



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

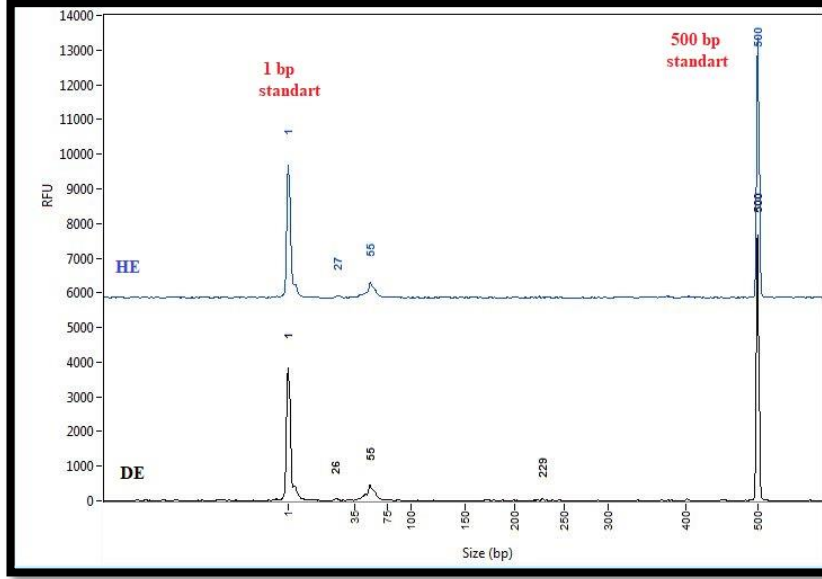


Şekil 5.50 RGA PtoFen.S – S2.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

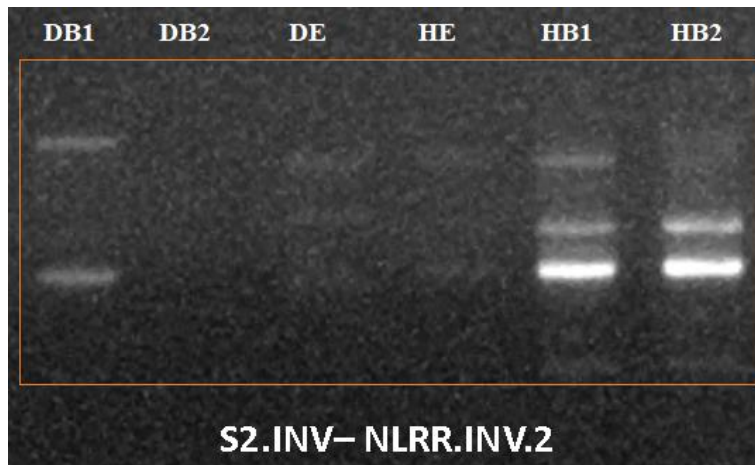


### 5.1.28. RGA S2.INV – NLRR.INV Primer Kombinasyonu

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



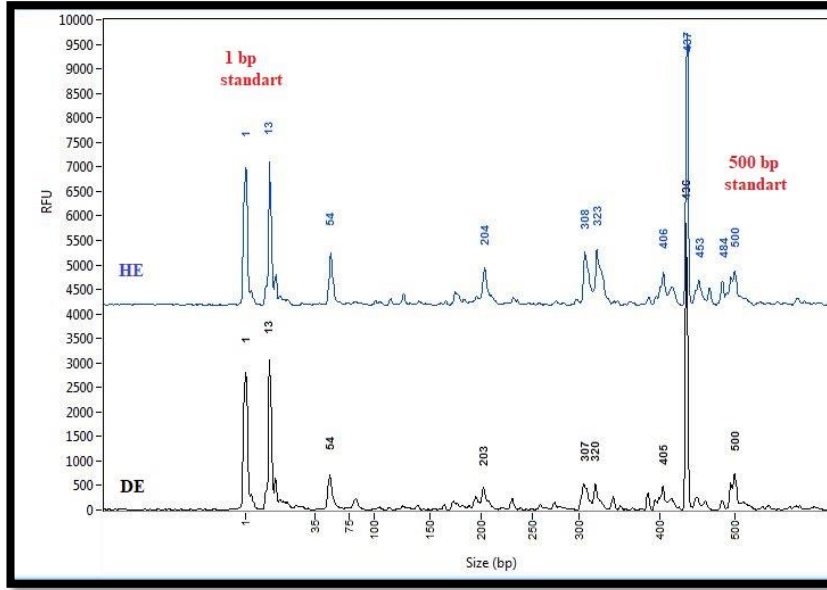
Şekil 5.51 RGA S2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



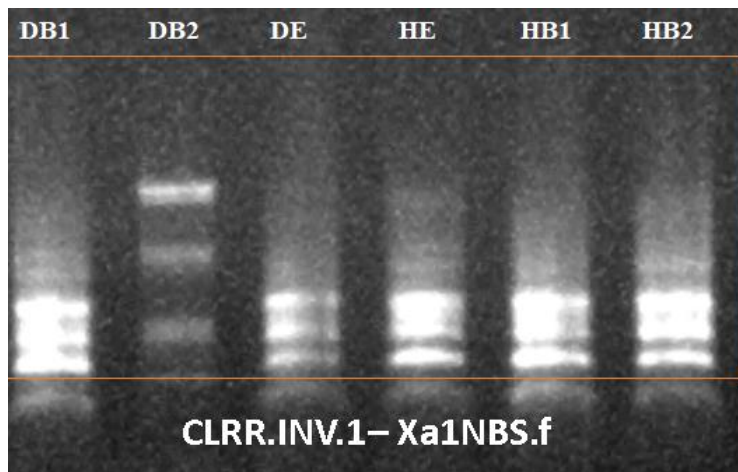
Şekil 5.52 RGA S2.INV – NLRR.INV primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

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

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



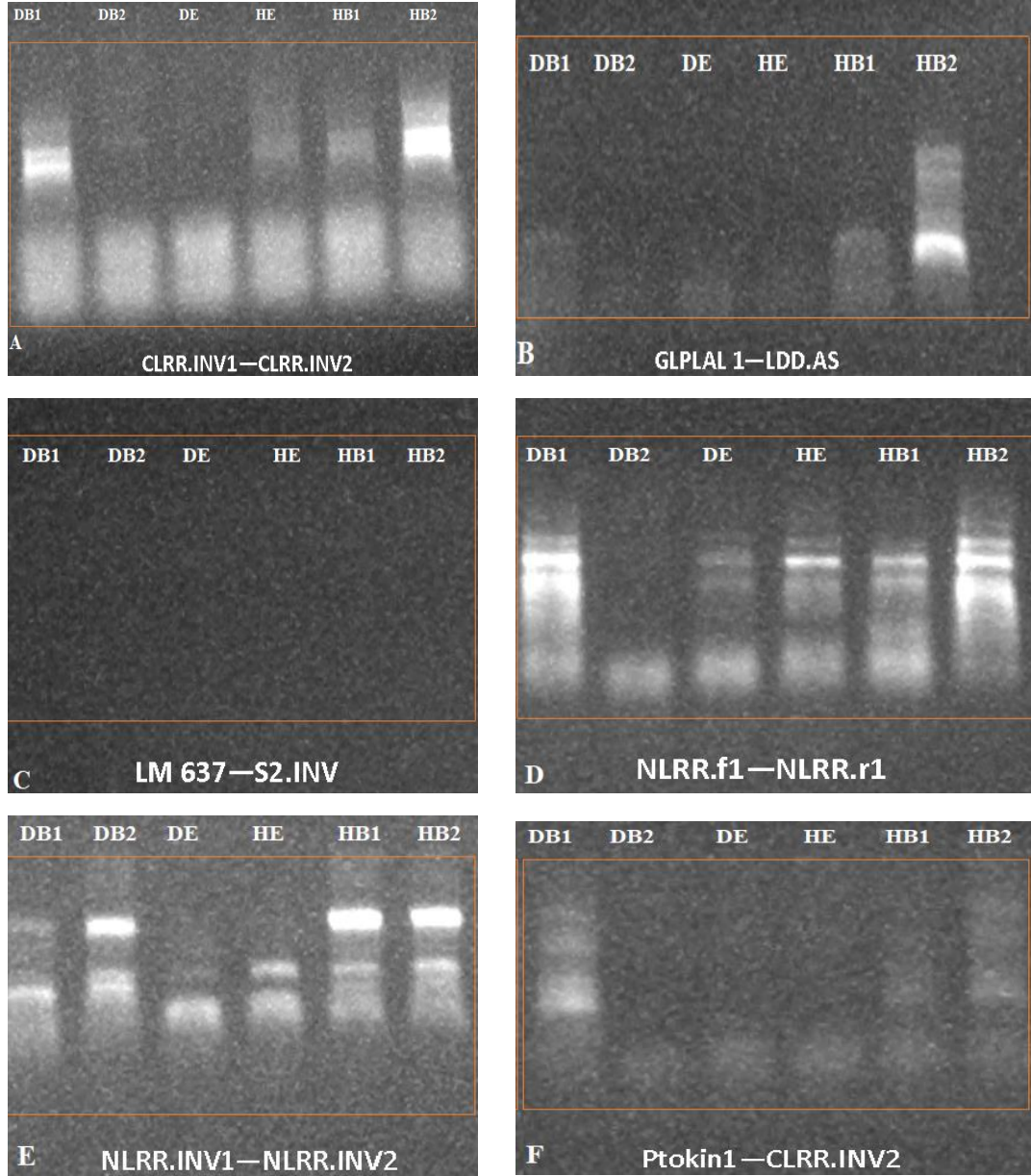
Şekil 5.53 RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu kapiller elektroforez görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn)



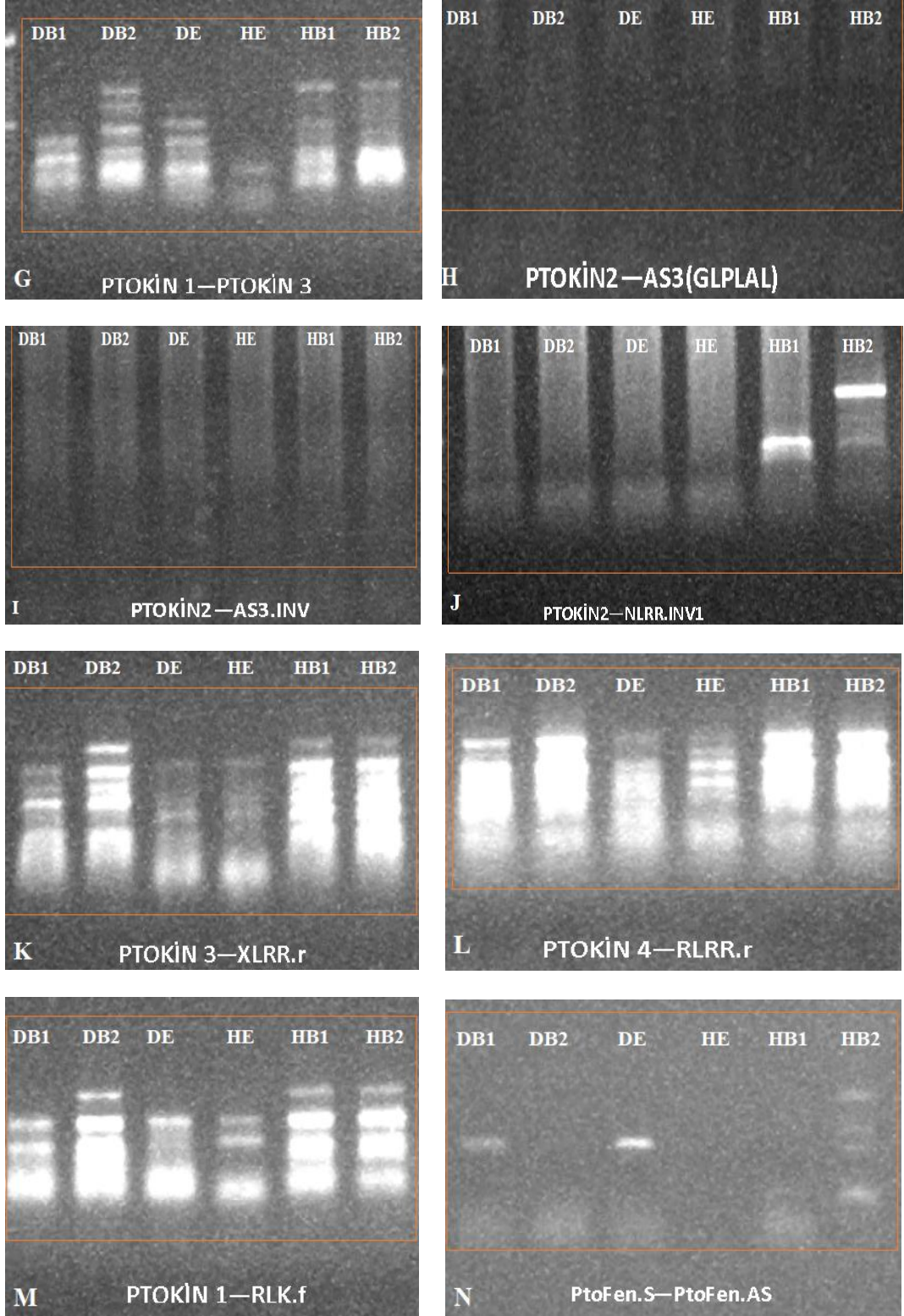
Şekil 5.54 RGA CLRR.INV – Xa1NBS.f primerleri ile elde edilen PCR sonucu agarozdaki jel görüntüsü (DE: Dayanıklı Ebeveyn, HE: Hassas Ebeveyn, DB: Dayanıklı Bulk, HB: Hassas Bulk)

### 5.1.30. Diğer Markırlar

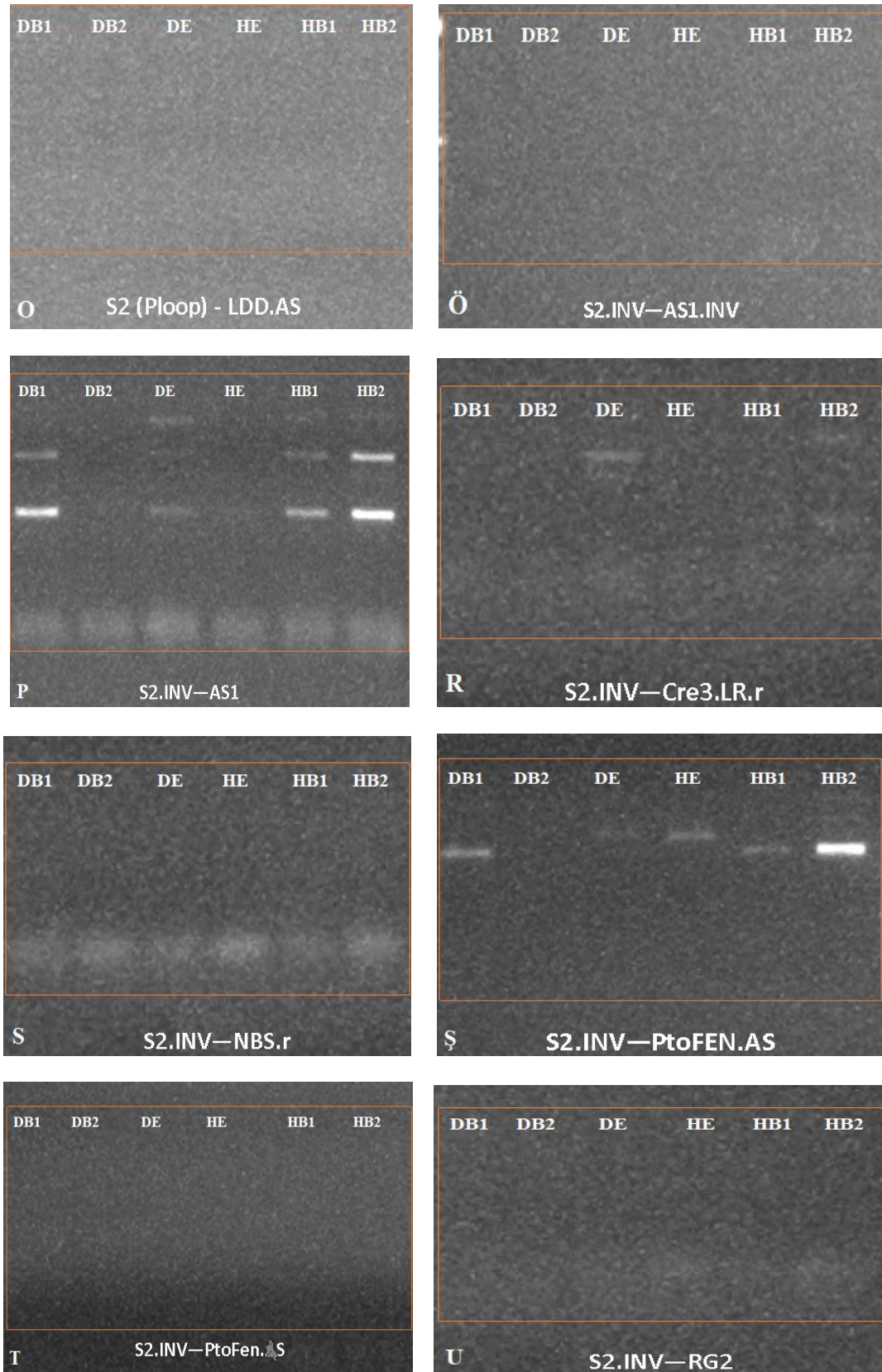
Yapılan çalışmada aşağıdaki markır çiftlerinde, PCR çalışmadığı için ya da dayanıklı, hassas ve F2 bulklarına ait olan bantlar spesifik çalışmadığı için kapiller elektroforez yapılması uygun görülmemiştir.



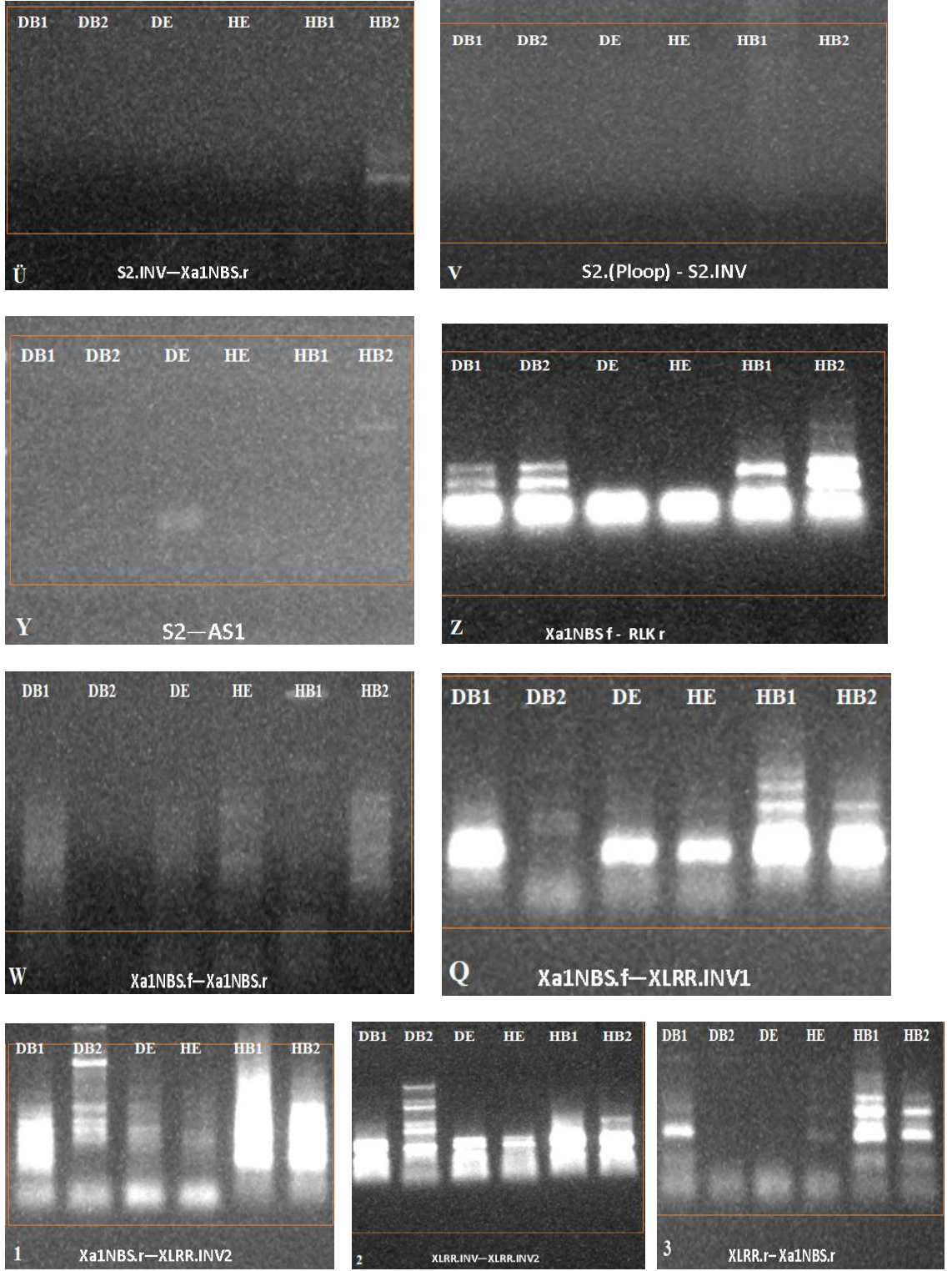
Şekil 5.55 A-F arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



**Şekil 5.56** G-N arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



Şekil 5.57 O-U arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri



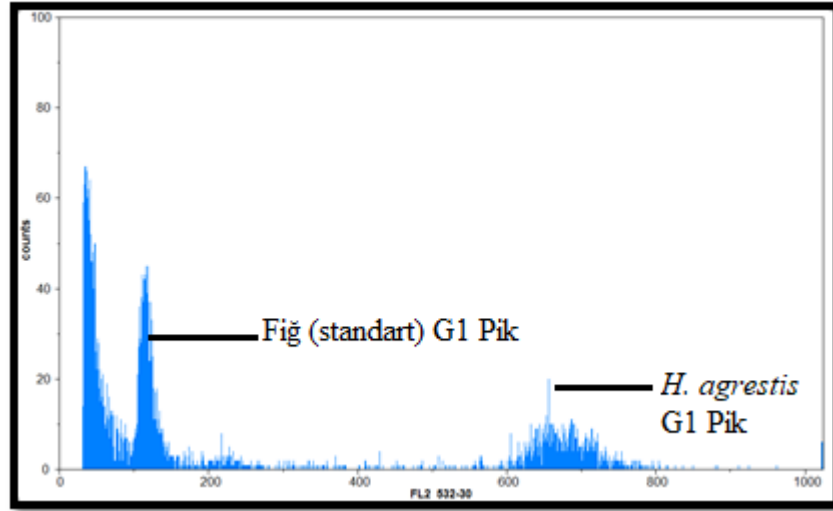
Şekil 5.58 Ü-Q ve 1-3 arası markır çiftlerinin agarozdaki jel görüntüleri

## 5.2.Yabani Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek DNA Analiz Sonuçları

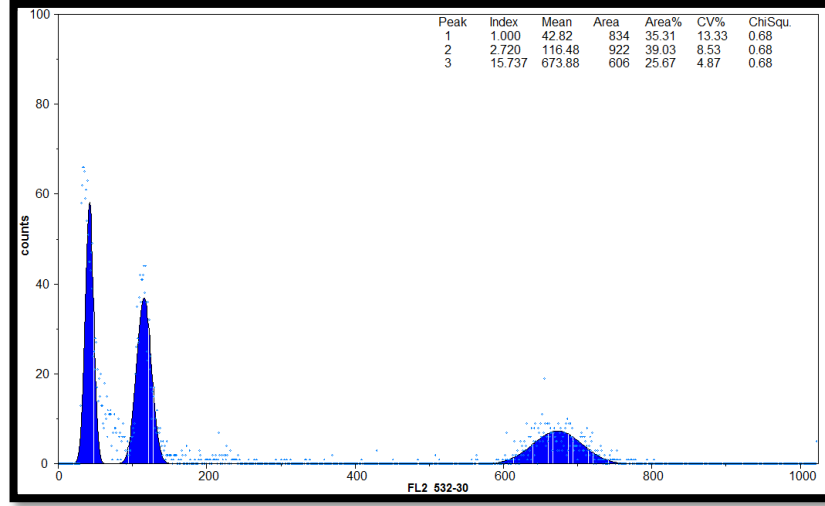
Yabani ayçiçeği aksesyonlarına ait bitkilerin yaprak dokuları kullanılarak materyal ve metod kısmında açıklandığı şekilde hazırlanmış olan örneğin akış sitometrisi cihazında analiz edilmesi sonucu elde edilen orijinal histogram ilk resimde sunulmuştur. Histogramda dikey eksen analiz edilen çekirdek sayısını,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

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

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



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

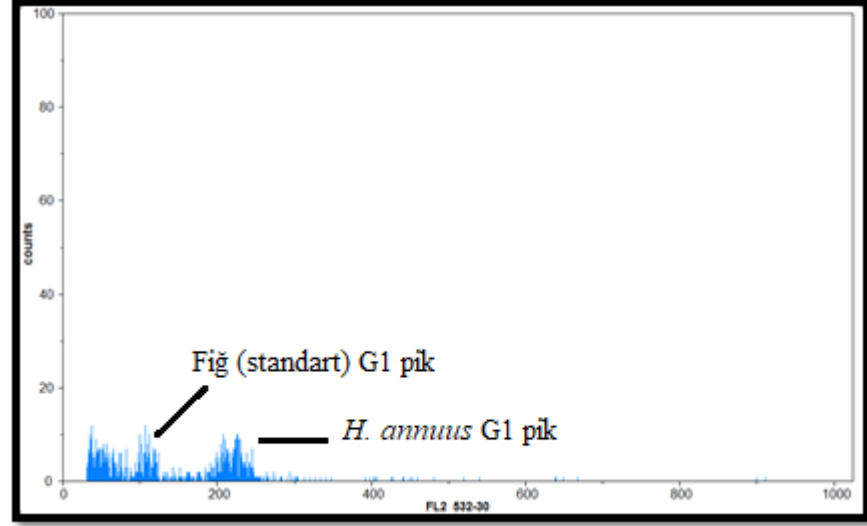


**Şekil 5.60** Şekil 5.59’da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

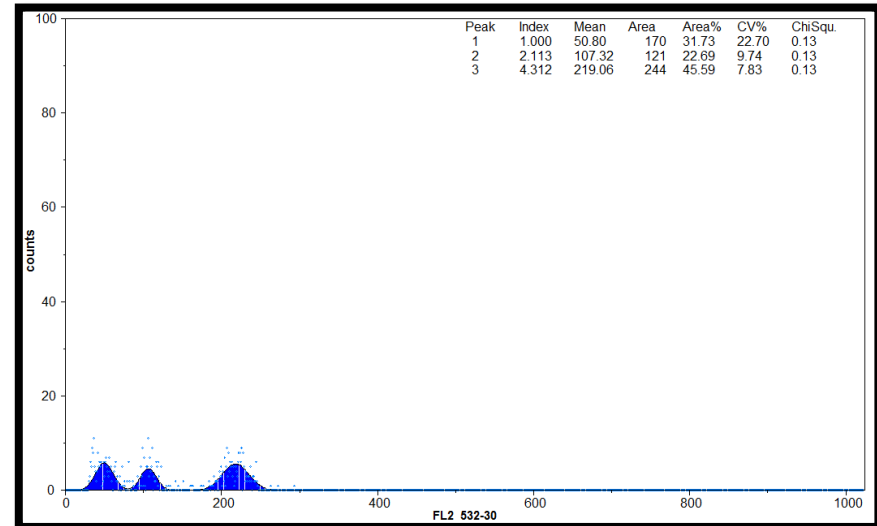


### 5.2.2. *H. annuus*'un Çekirdek DNA Miktarı

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



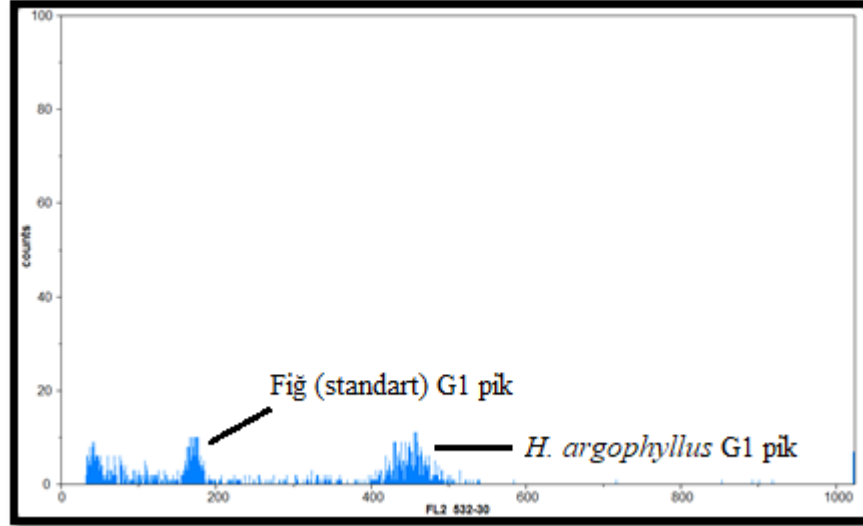
Şekil 5.61 PI 597890 *Helianthus annuus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



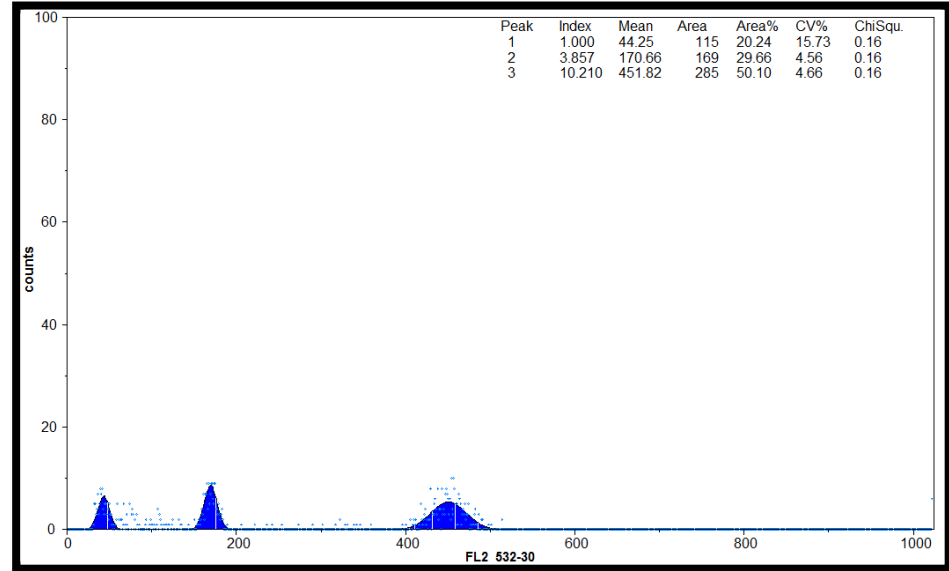
Şekil 5.62 Şekil 5.61'de sunulan orijinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



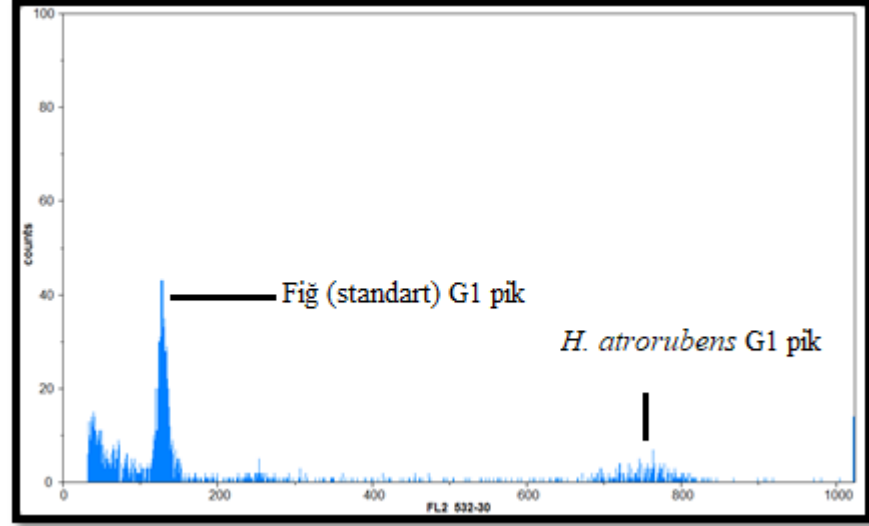
Şekil 5.63 PI 468651 *Helianthus argophyllus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



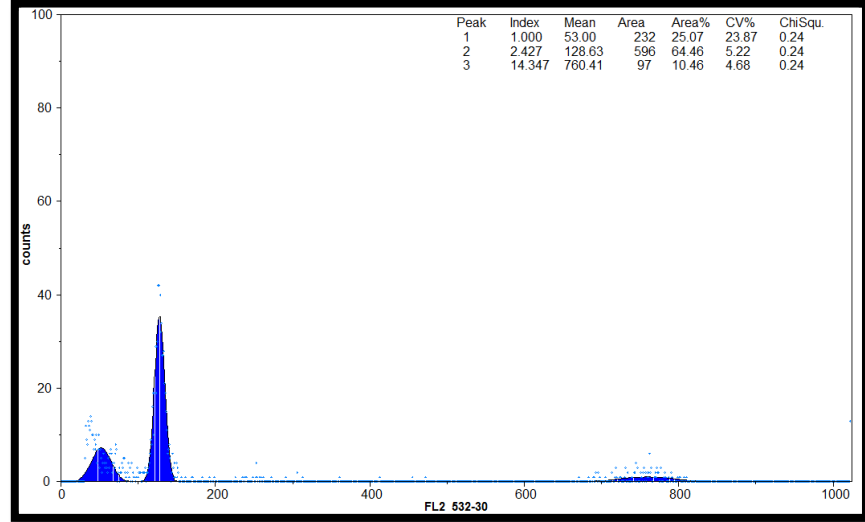
Şekil 5.64 Şekil 5.63'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



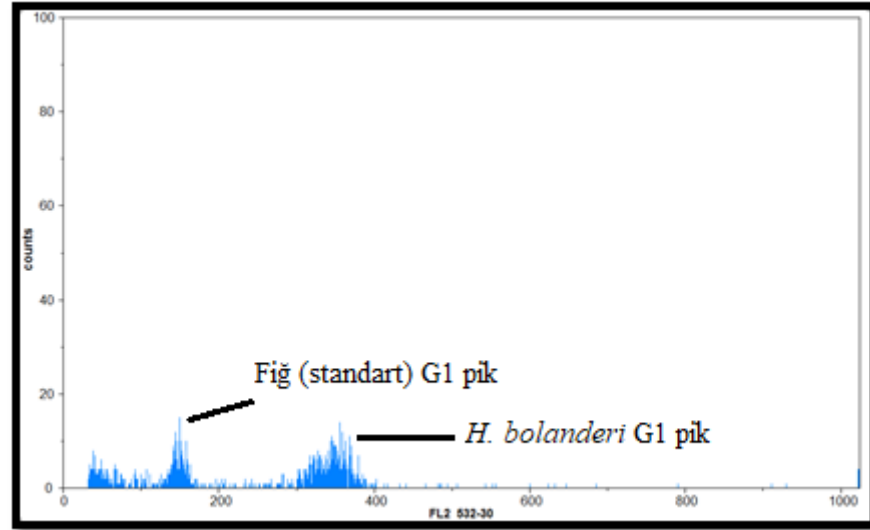
Şekil 5.65 PI 468659 *Helianthus atrorubens* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



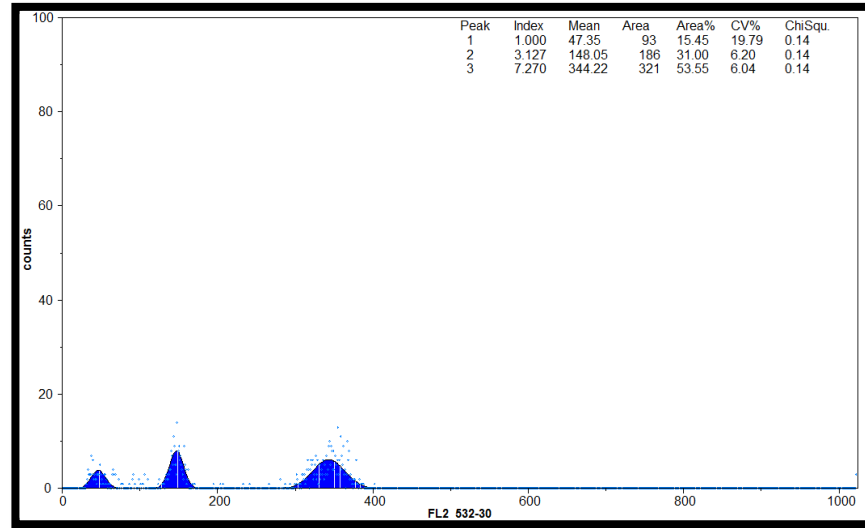
Şekil 5.66 Şekil 5.65'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



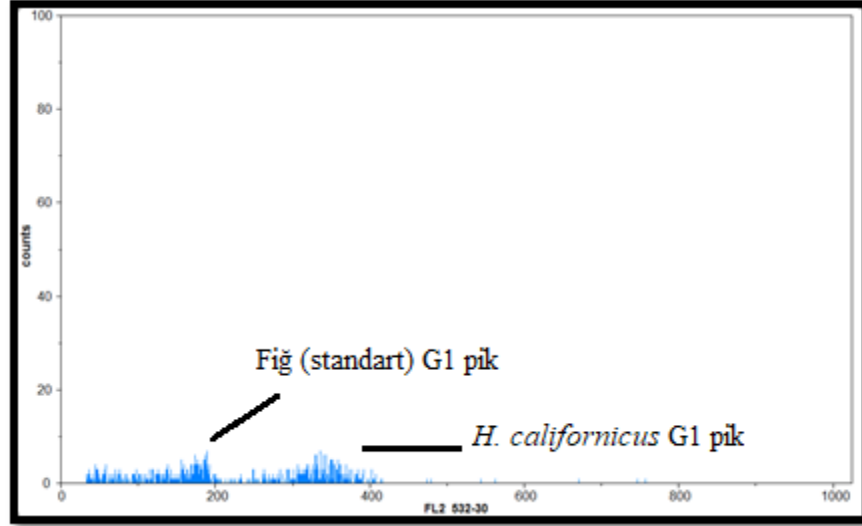
Şekil 5.67 PI 435641 *Helianthus bolanderi* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



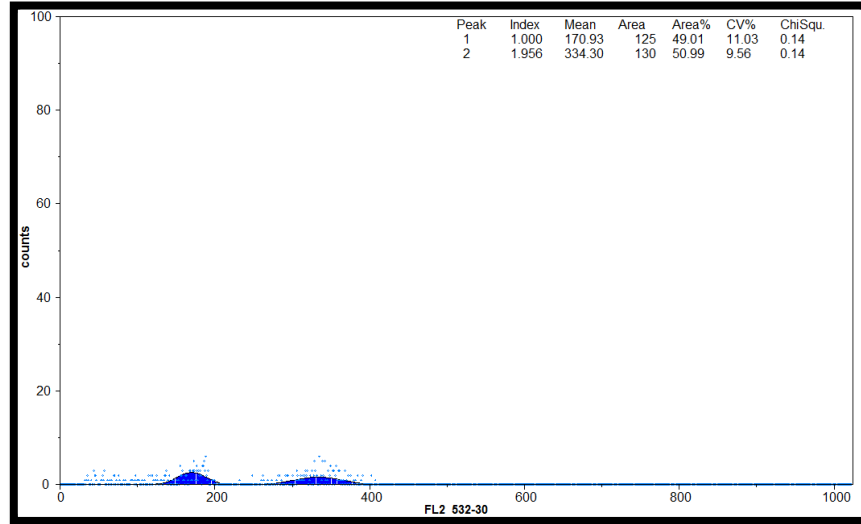
Şekil 5.68 Şekil 5.67'de sunulan orijinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



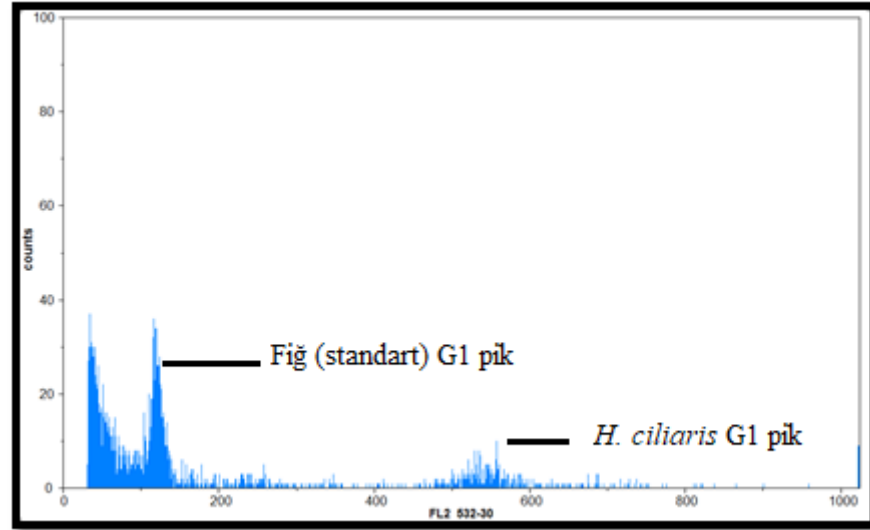
Şekil 5.69 PI 649953 *Helianthus californicus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



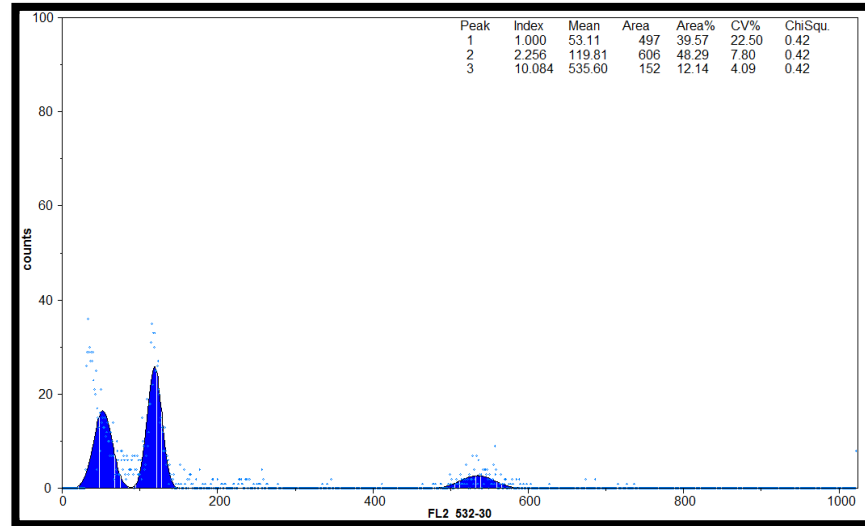
Şekil 5.7019 Şekil 5.69'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



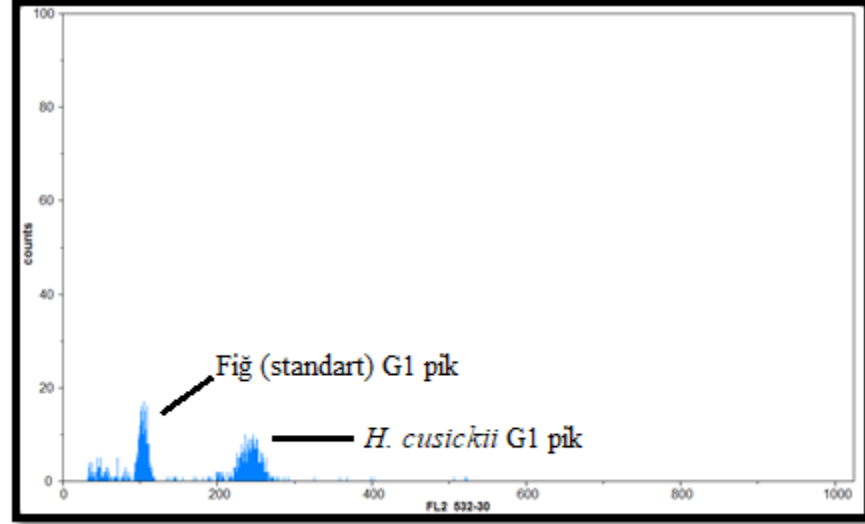
Şekil 5.71 PI 653552 *Helianthus ciliaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



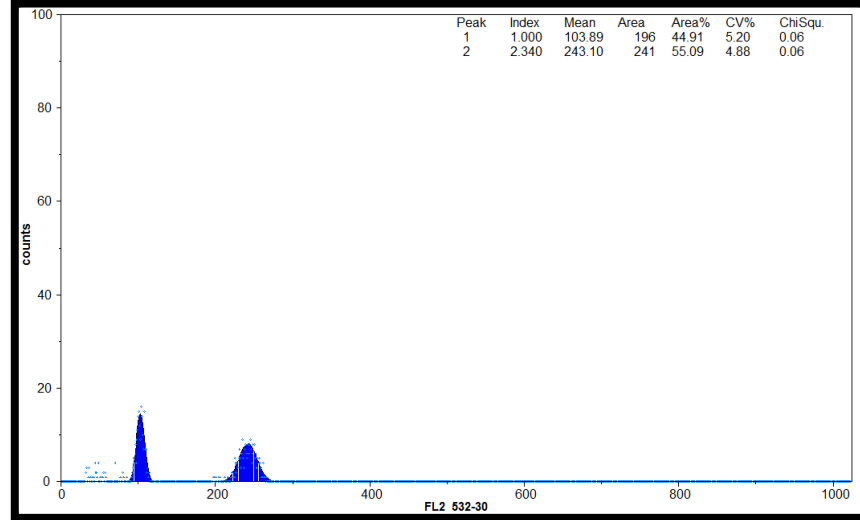
Şekil 5.72 Şekil 5.71'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



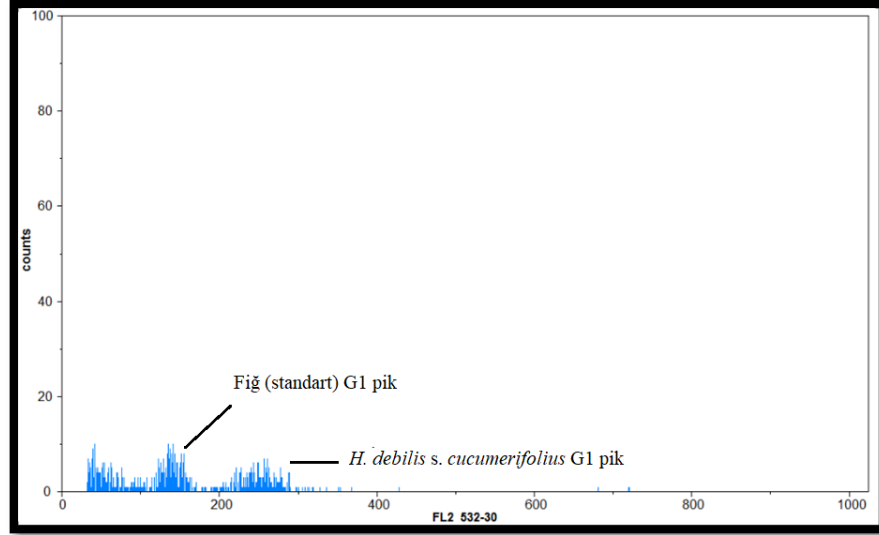
Şekil 5.73 PI 531040 *Helianthus cusickii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



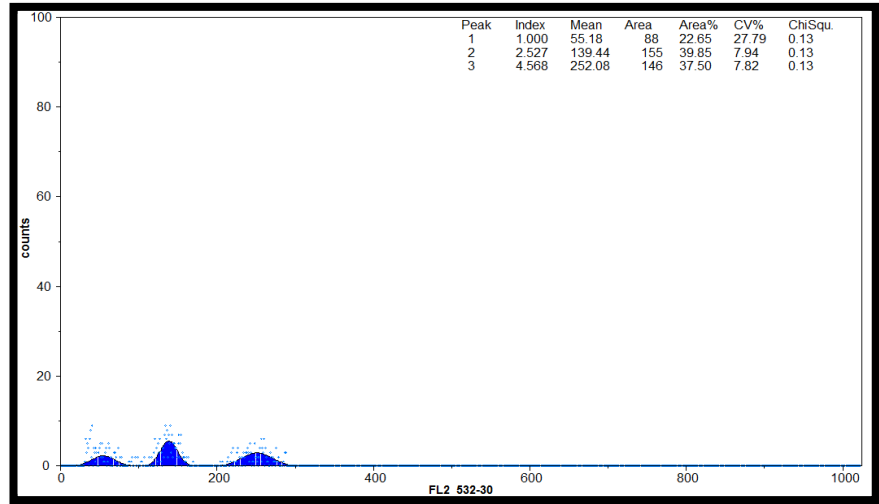
Şekil 5.74 Şekil 5.73'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



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

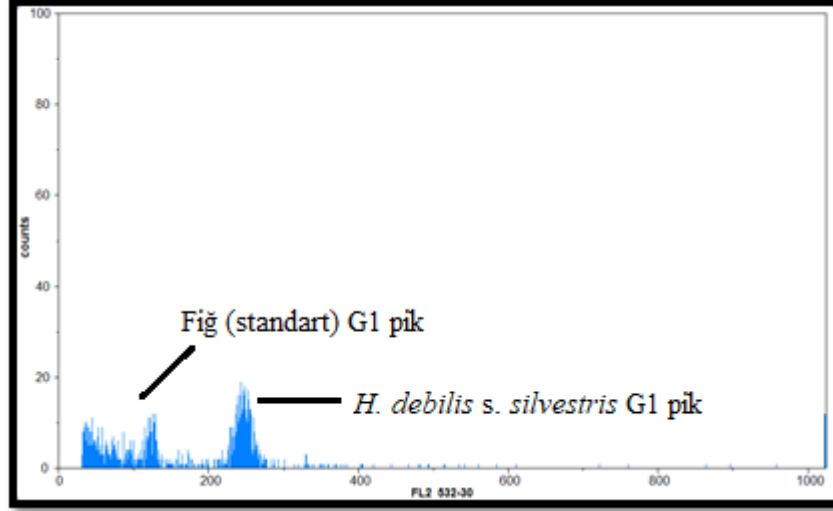


Şekil 5.76 Şekil 5.75'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

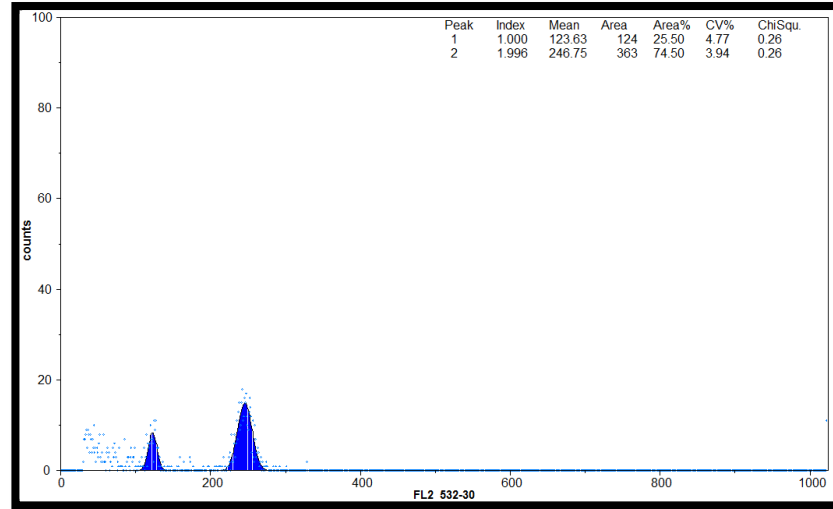


### 5.2.10. *H. debilis* subsp. *silvestris* Çekirdek DNA Miktarı

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



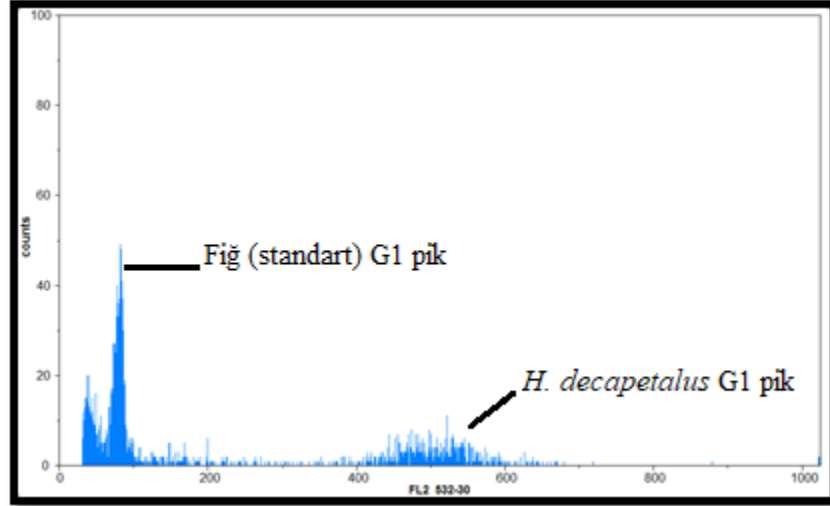
Şekil 5.77 PI 613753 *Helianthus debilis* subsp. *silvestris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



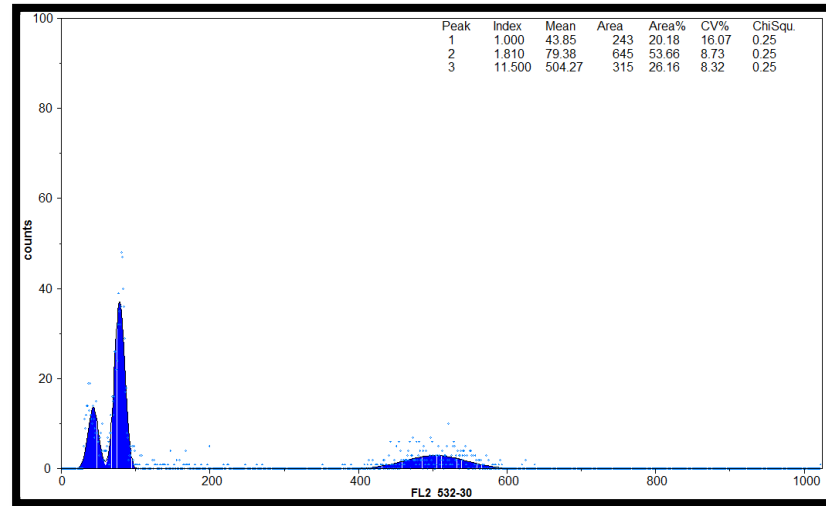
Şekil 5.78 Şekil 5.77’de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



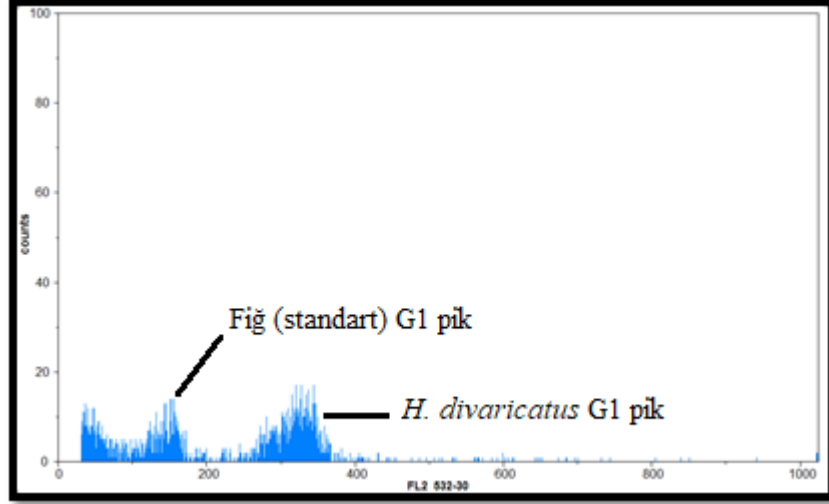
Şekil 5.79 PI 649971 *Helianthus decapetalus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



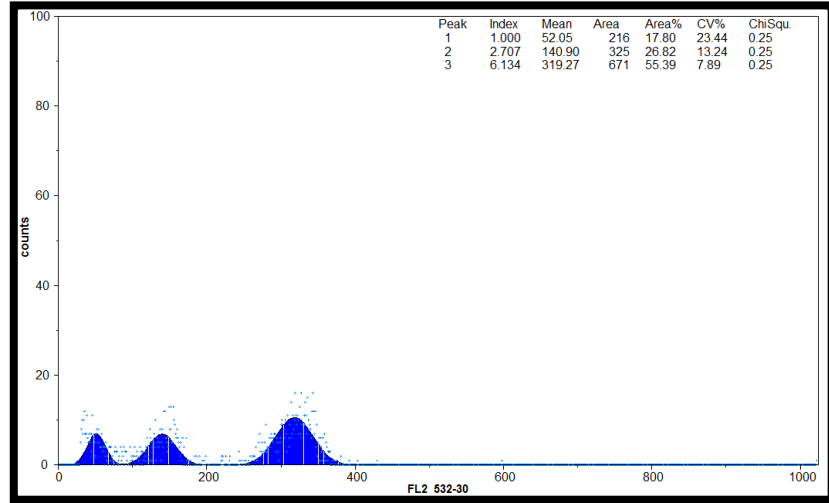
Şekil 5.80 Şekil 5.79'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

### 5.2.12 *H. divaricatus*'un Çekirdek DNA Miktarı

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



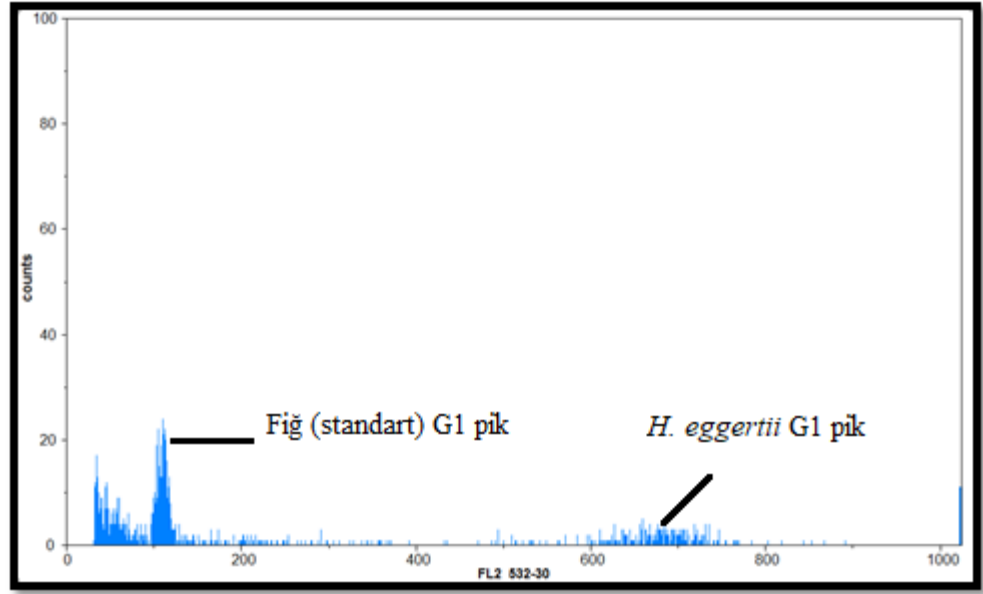
Şekil 5.81 PI 435675 *Helianthus divaricatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

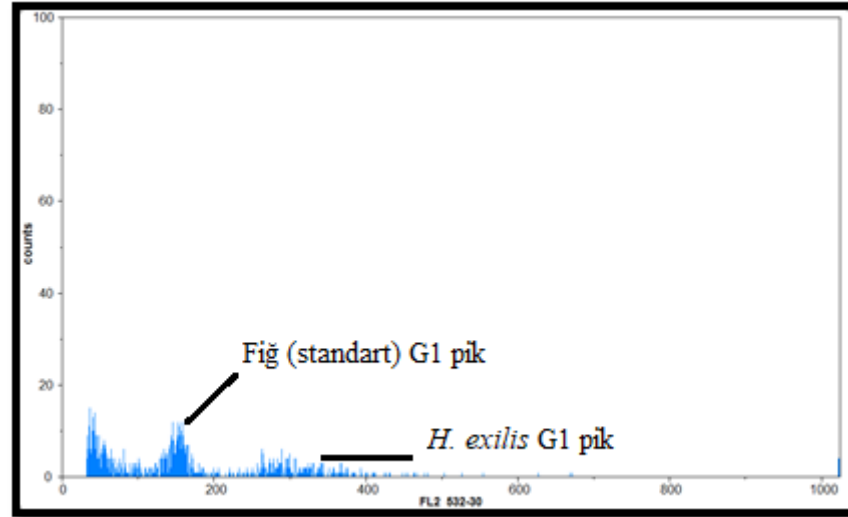
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 679,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 109,17 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



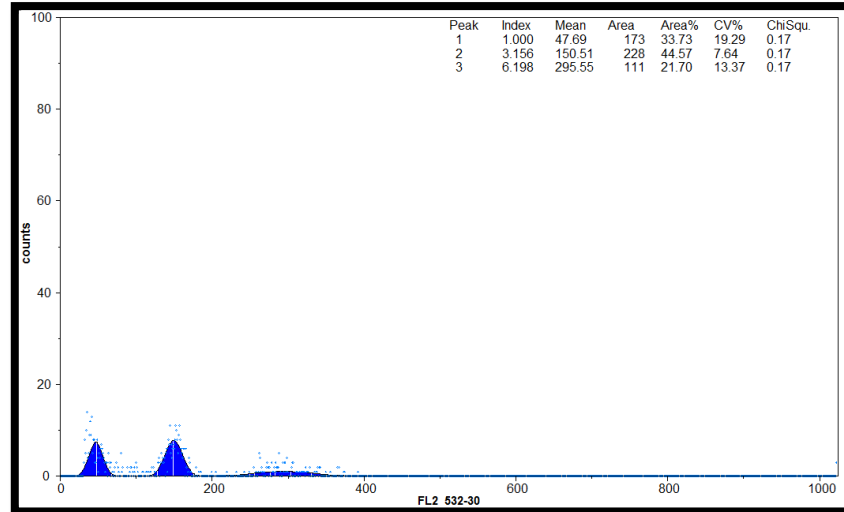
Şekil 5.83 PI 649981 *Helianthus eggertii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



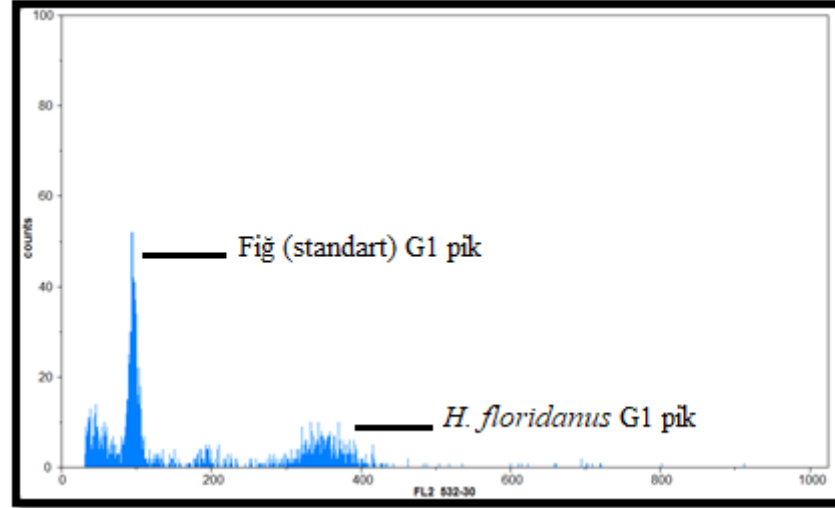
Şekil 5.8 PI 649891 *Helianthus exilis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



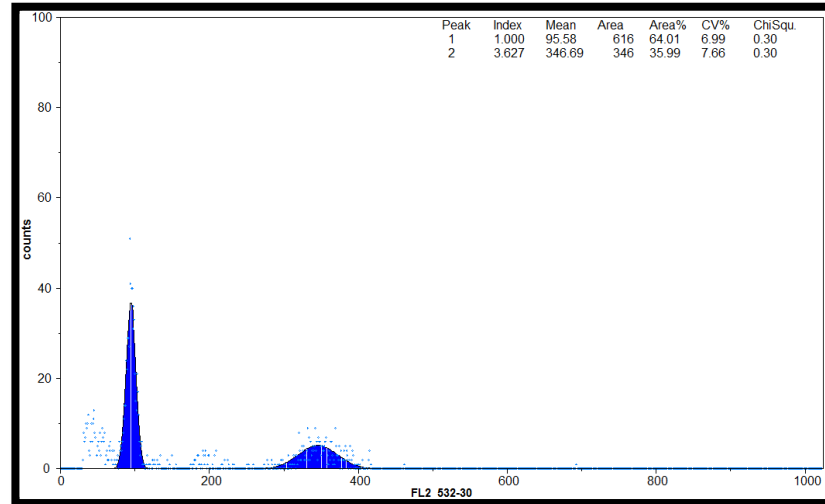
Şekil 5.85 Şekil 5.84'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



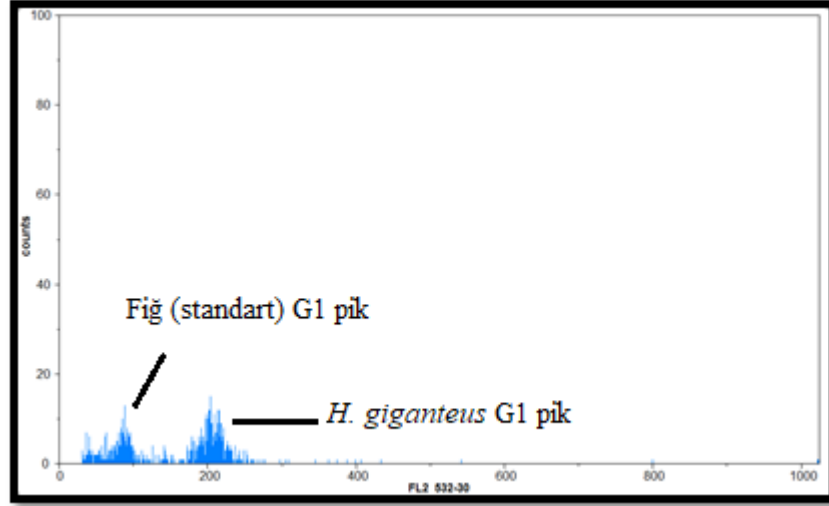
Şekil 5.86 PI 468716 *Helianthus floridanus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



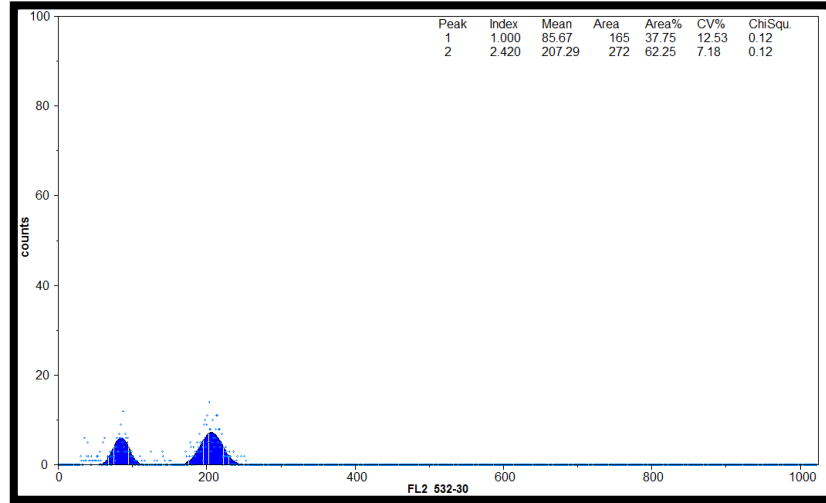
Şekil 5.87 Şekil 5.86'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



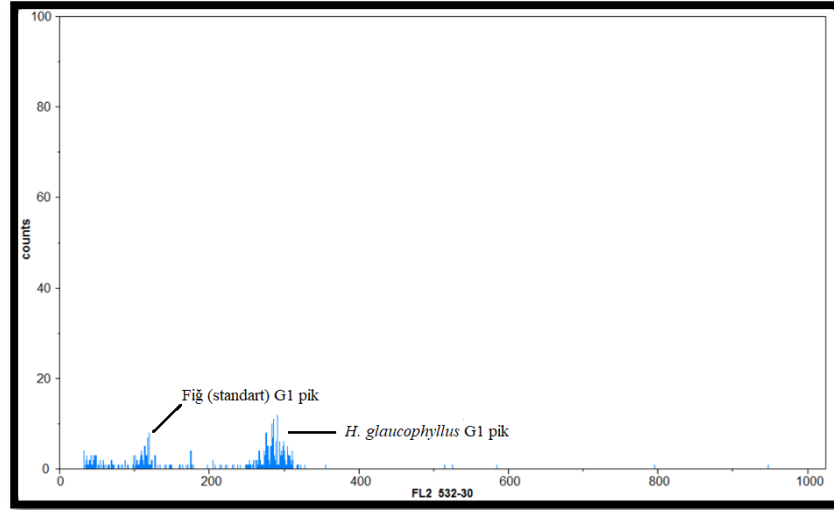
Şekil 5.88 PI 468720 *Helianthus giganteus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



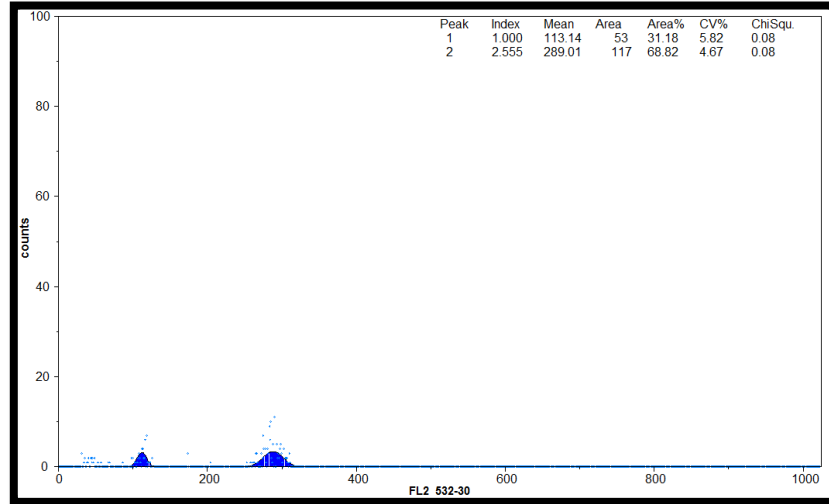
Şekil 5.89 Şekil 5.88'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



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

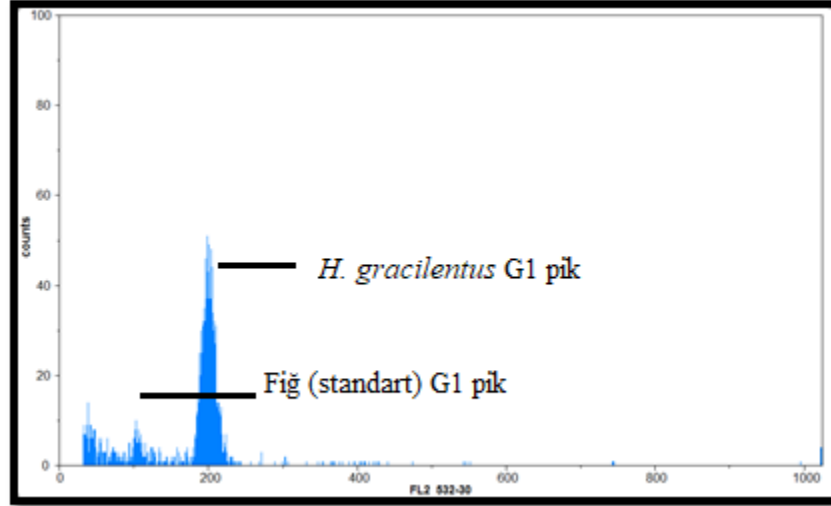


Şekil 5.91 Şekil 5.90'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

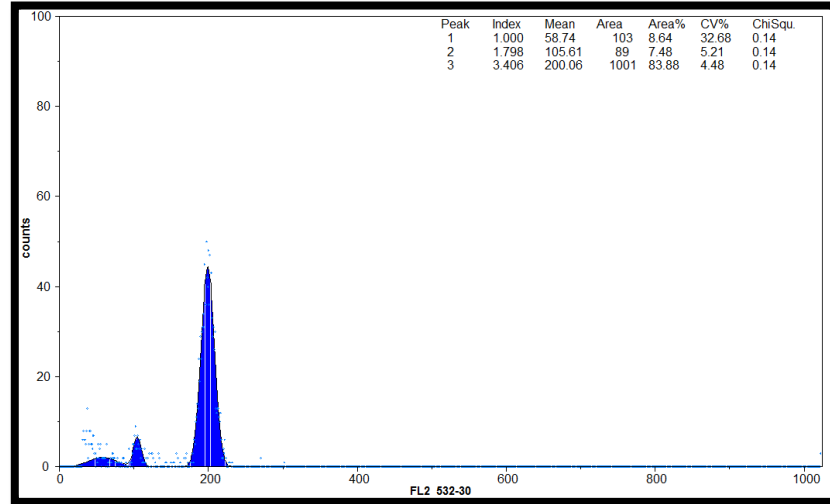


### 5.2.18. *H. gracilentus*'un Çekirdek DNA Miktarı

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



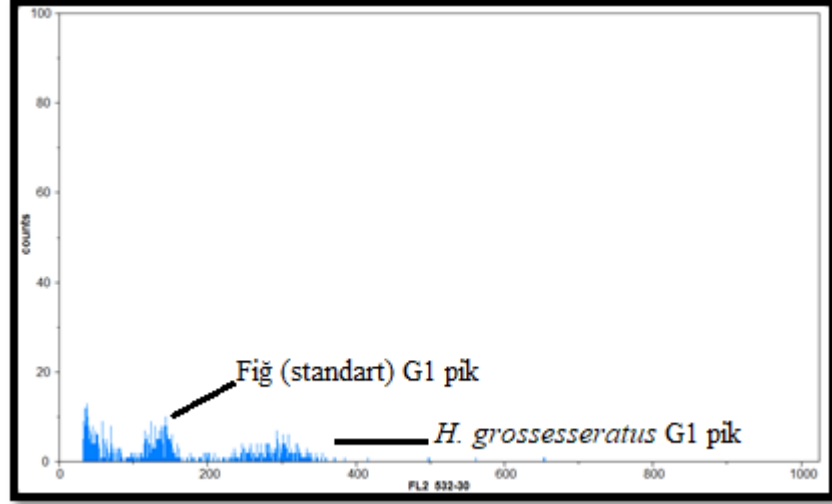
Şekil 5.92 PI 664644 *Helianthus gracilentus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



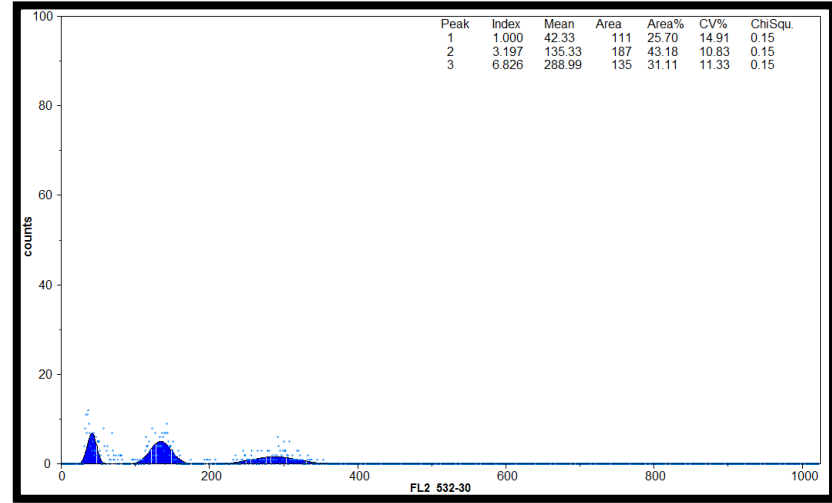
Şekil 5.93 Şekil 5.92'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



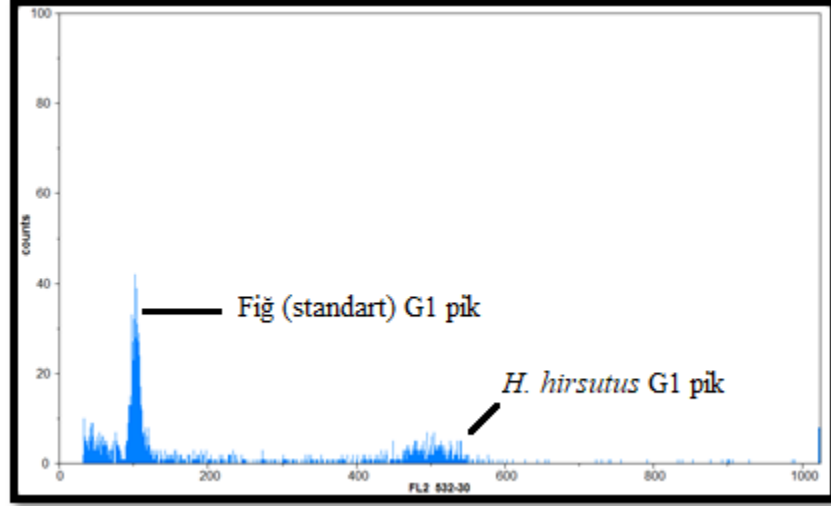
Şekil 5.94 PI 468725 *Helianthus grosseserratus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



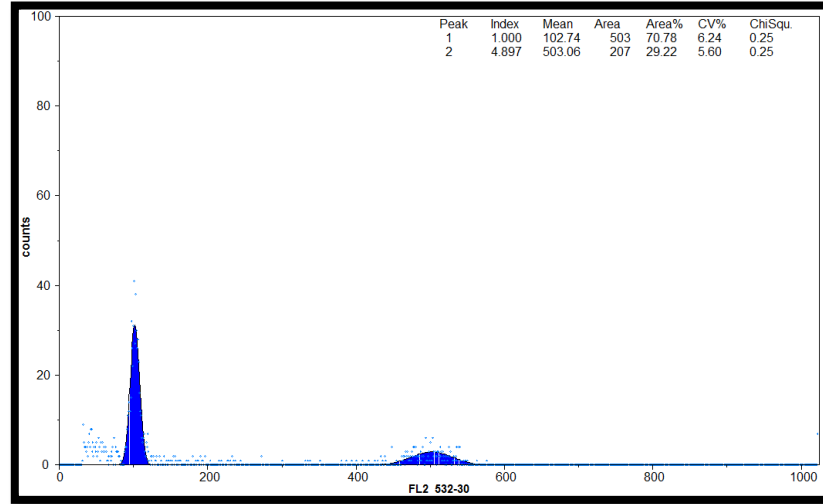
Şekil 5.95 Şekil 5.94'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



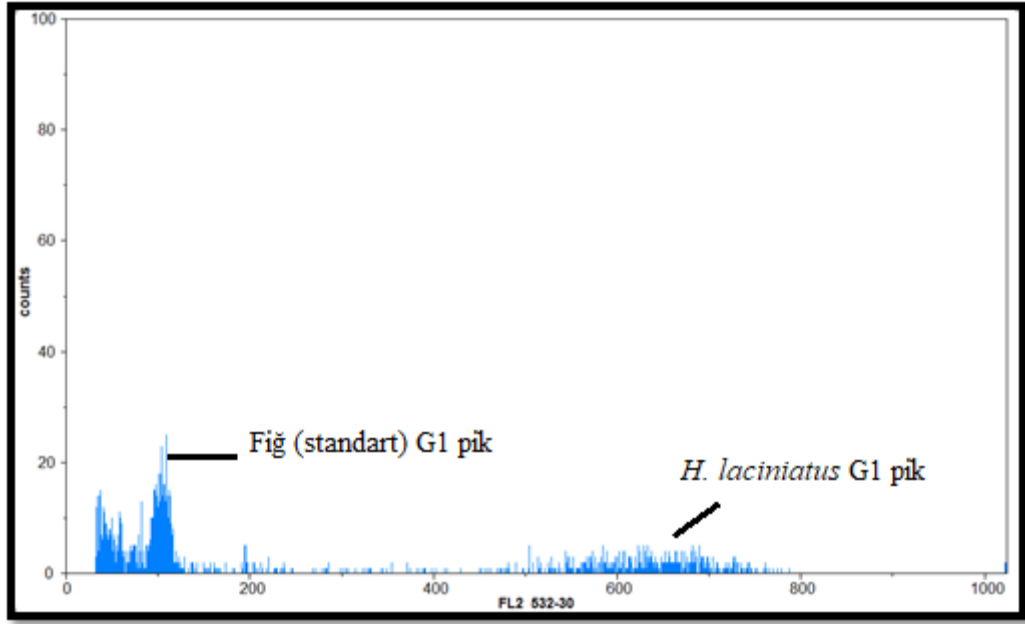
Şekil 5.96 PI 435703 *Helianthus hirsutus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

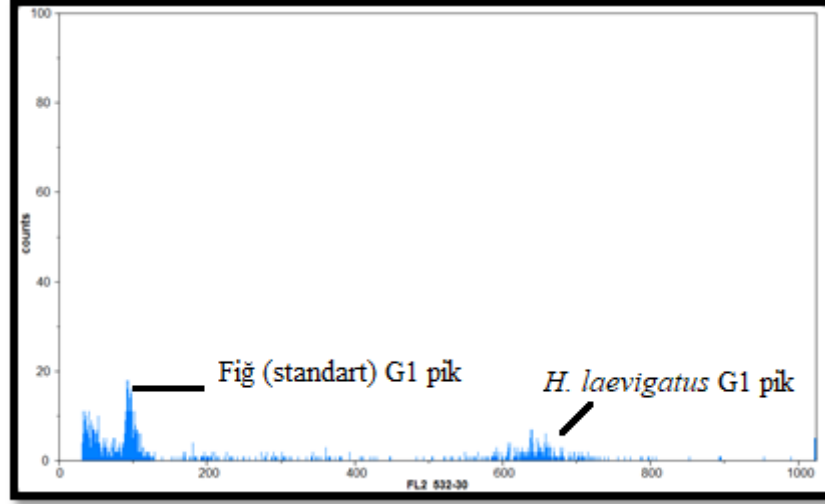
Örnekte pikler çok az ya da da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 290,3 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 138,81 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



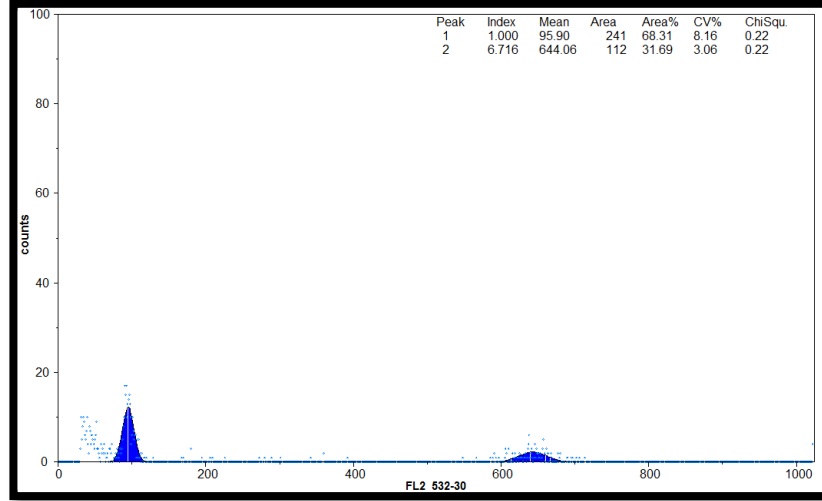
Şekil 5.98 PI 653562 *Helianthus laciniatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



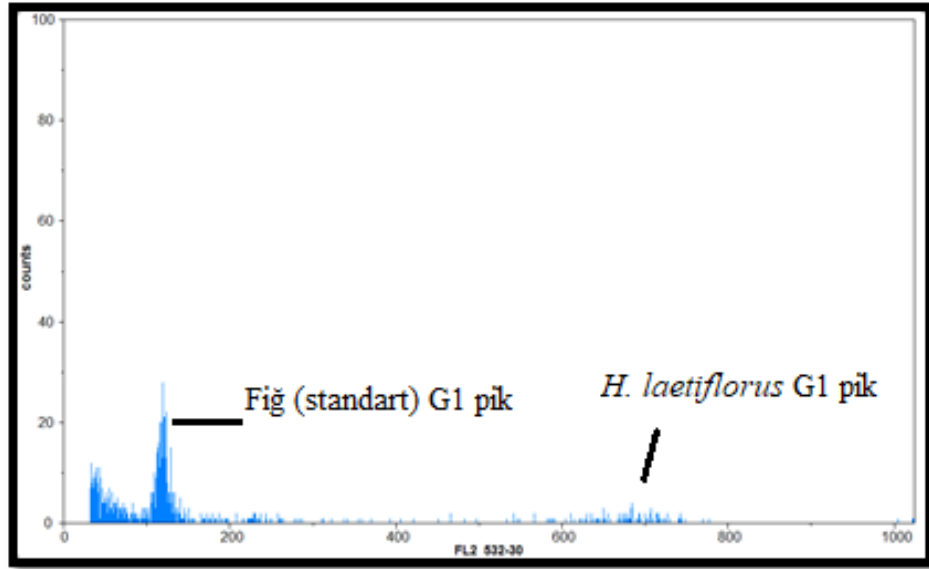
Şekil 5.99 PI 503228 *Helianthus laevigatus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

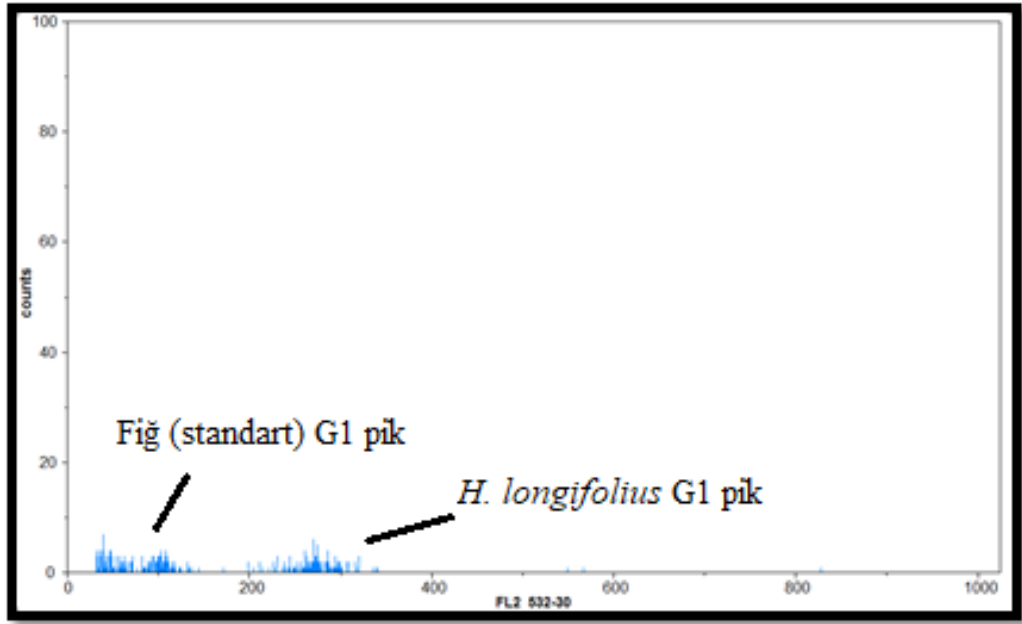
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 677,69 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 117,86 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



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

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

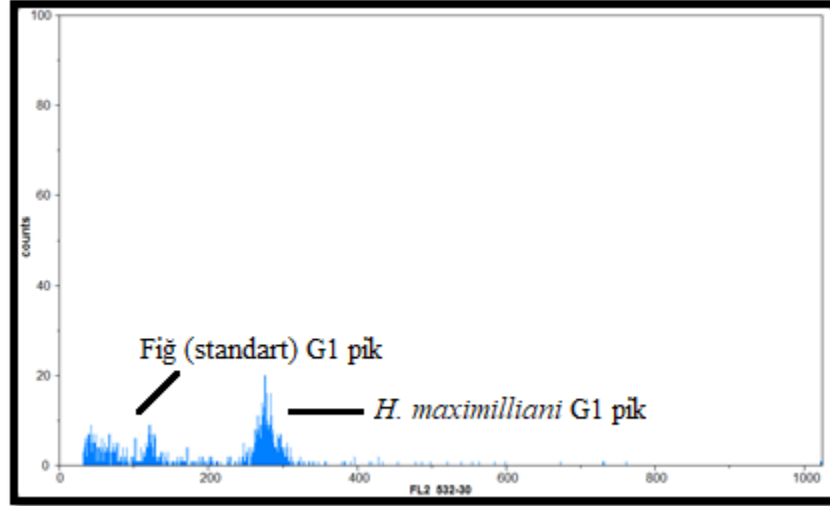
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 277 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 101,24 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin mutlak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



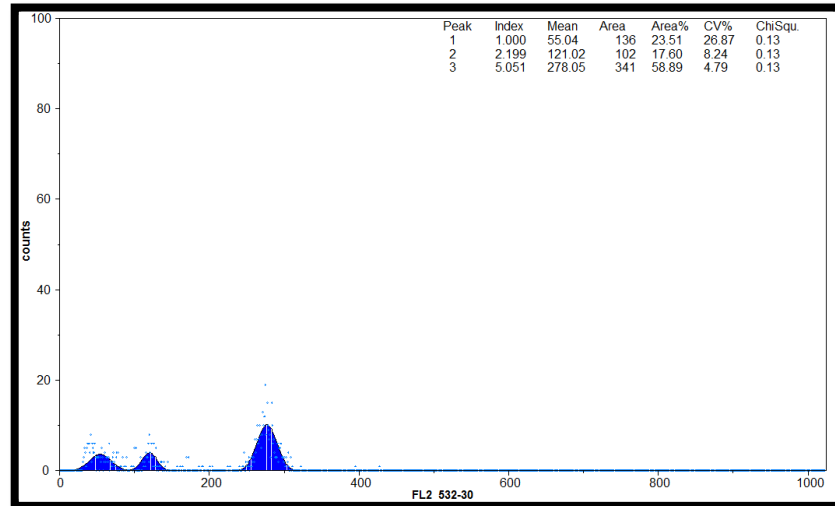
Şekil 5.102 PI 650001 *Helianthus longifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



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

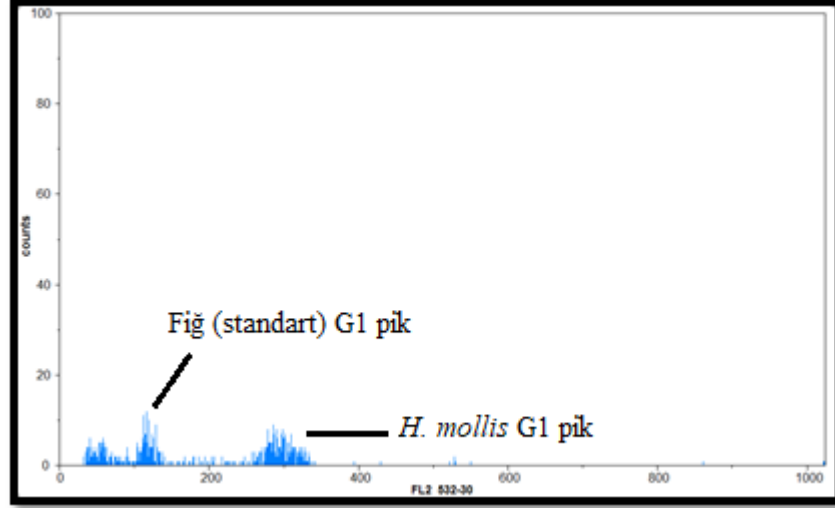


Şekil 5.104 Şekil 5.103'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

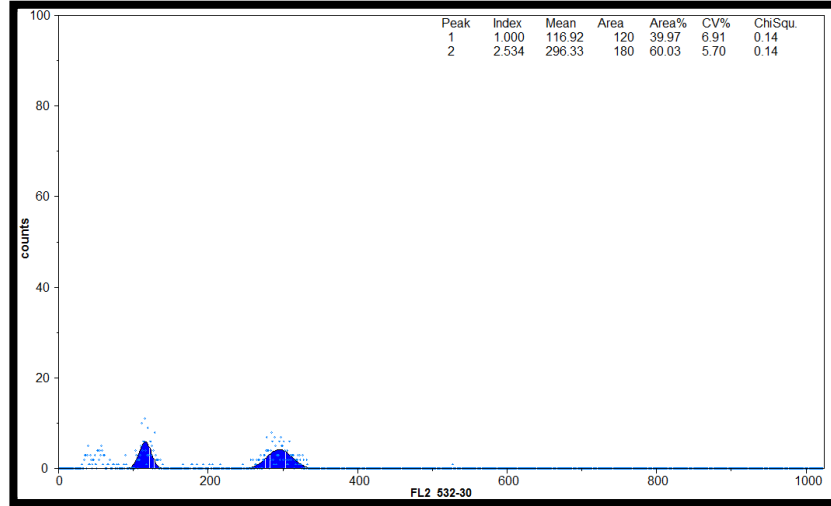


### 5.2.26. *H. mollis*'in Çekirdek DNA Miktarı

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



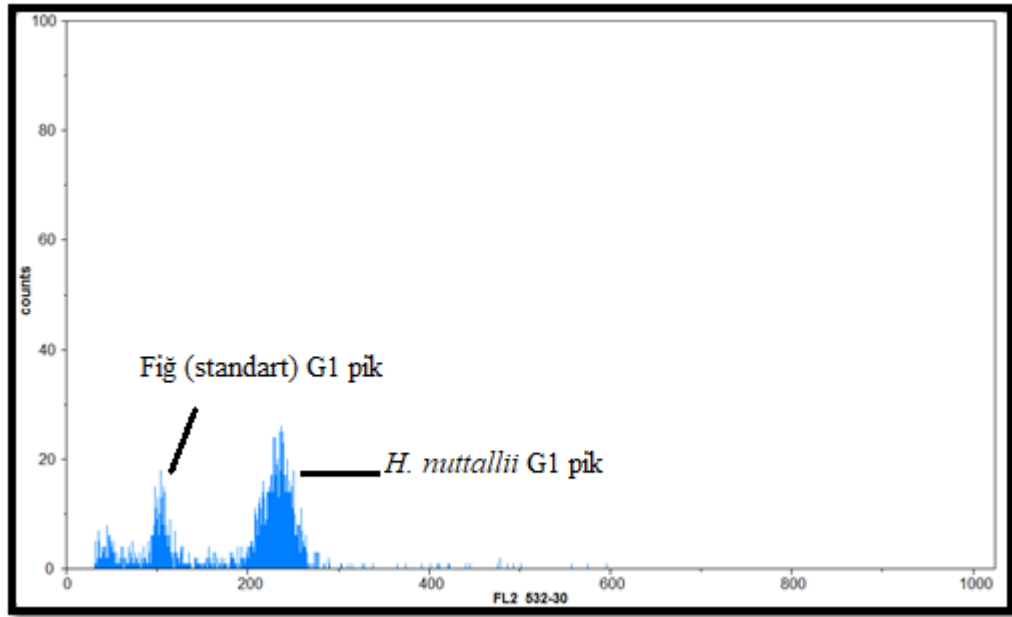
Şekil 5.105 PI 435759 *Helianthus mollis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

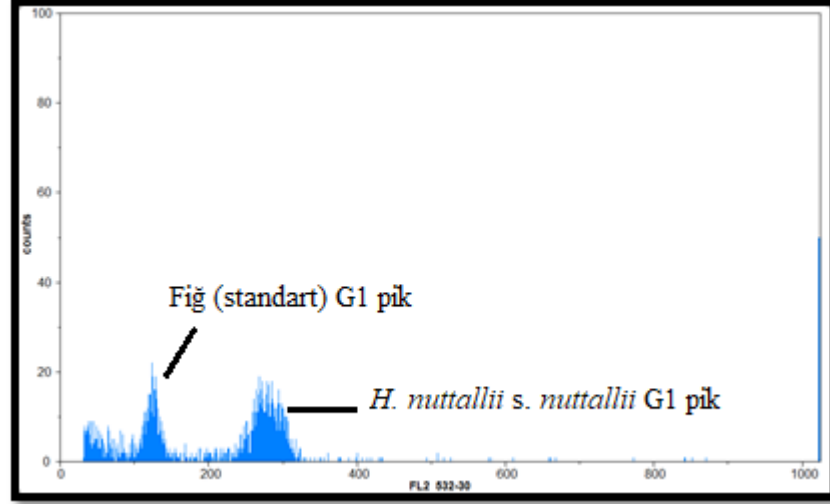
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 232,36 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 103,19 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



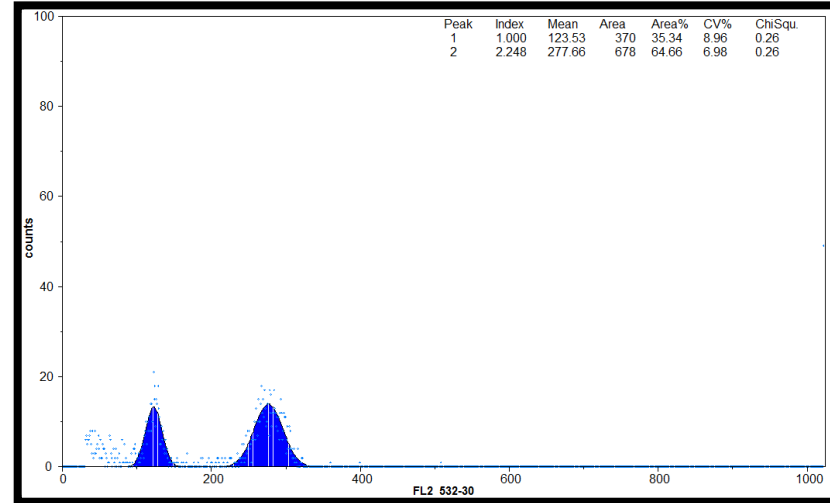
Şekil 5.107 PI 592341 *Helianthus nuttalli* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



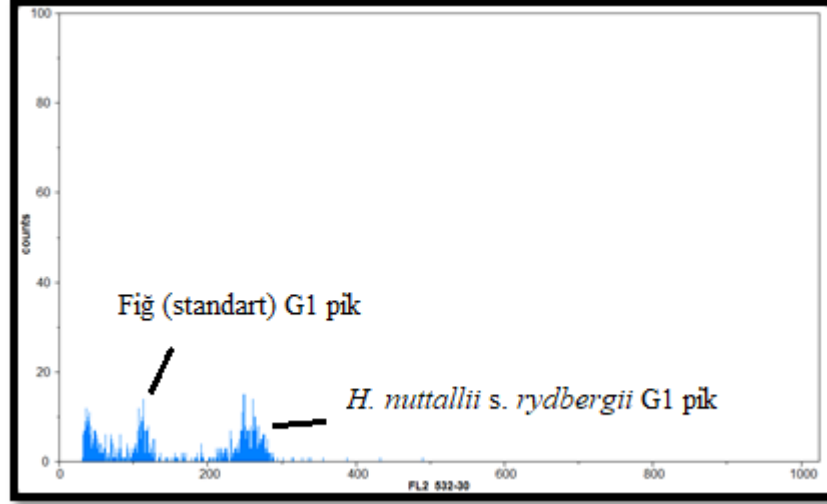
Şekil 5.108 PI 531044 *Helianthus nuttallii* subsp. *nuttallii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



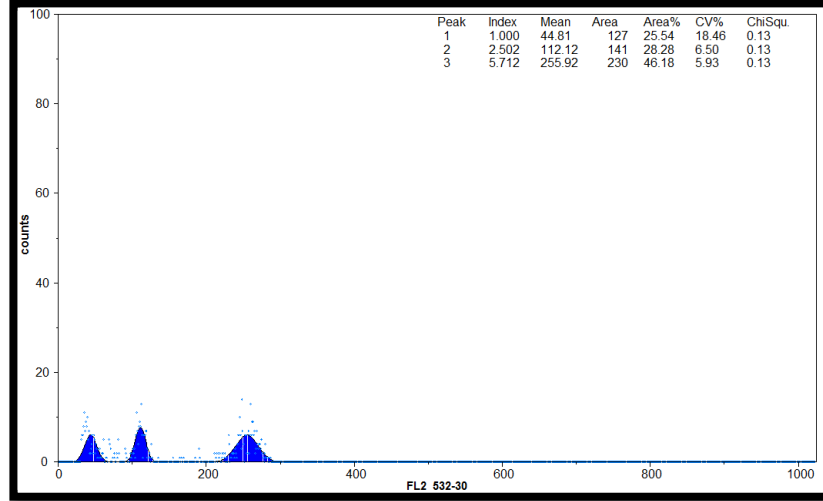
Şekil 5.109 Şekil 5.108'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

### 5.2.29. *H. nuttallii* subsp. *rydbergii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

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



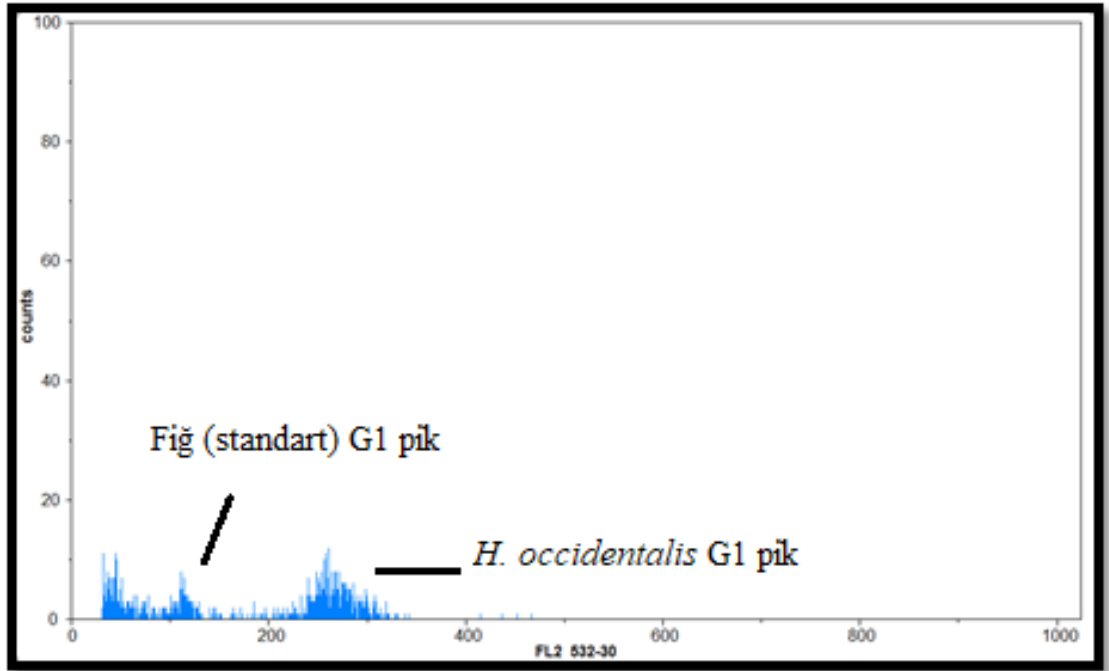
Şekil 5.110 PI 597918 *Helianthus nuttallii* subsp. *rydbergii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

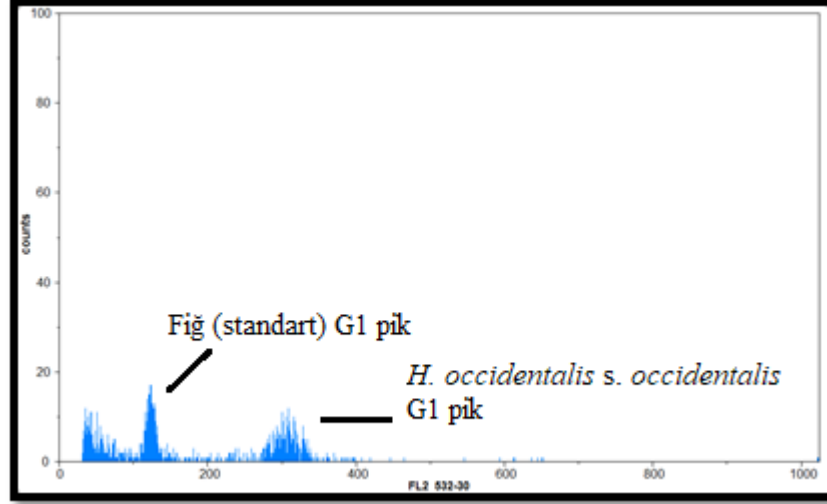
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 267,23 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 115,67 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



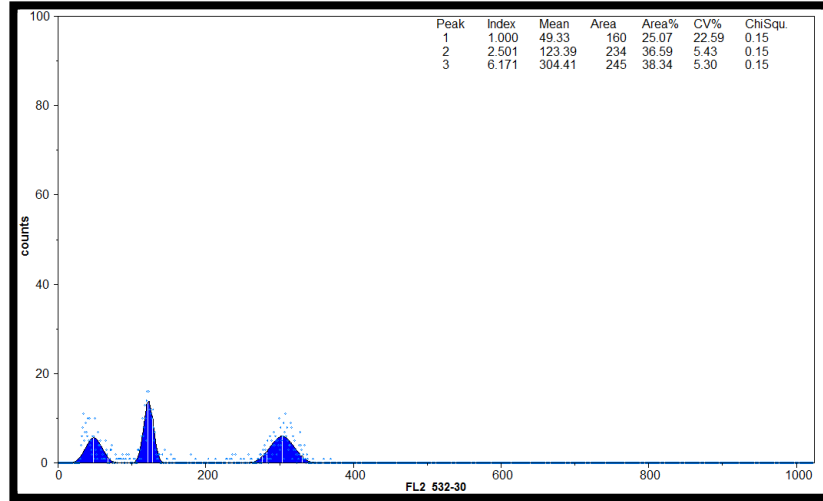
Şekil 5.112 PI 673322 *Helianthus occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



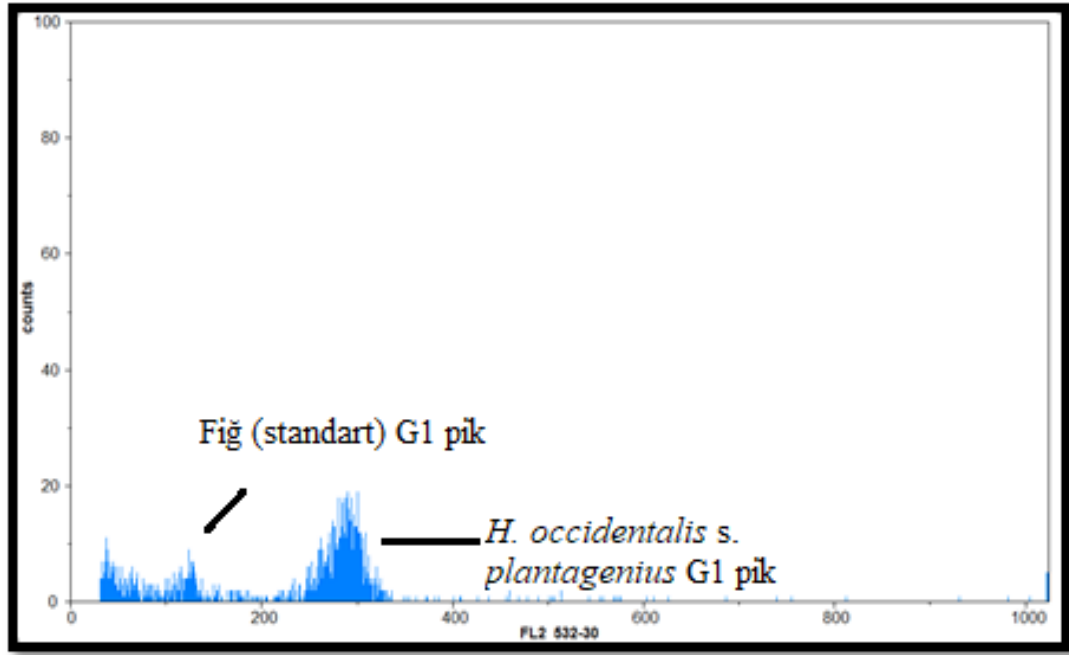
Şekil 5.113 PI 435788 *Helianthus occidentalis* subsp. *occidentalis* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

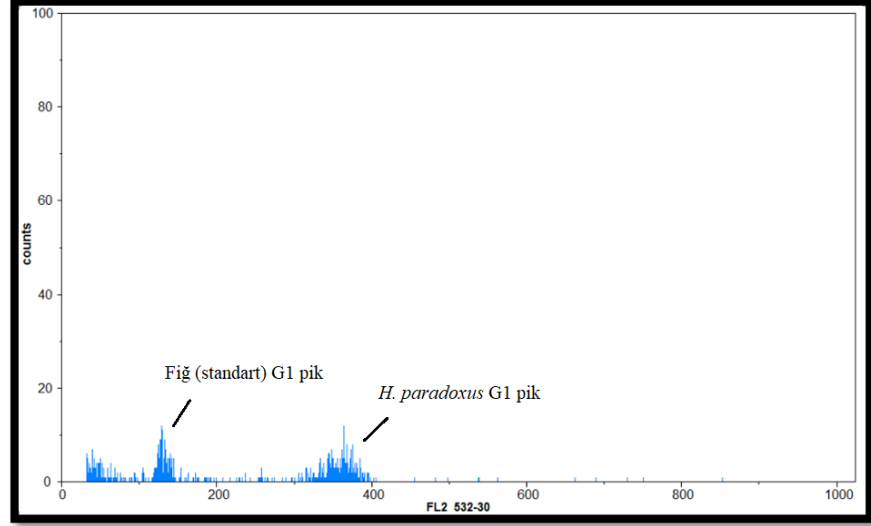
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 287,14 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 125,47 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



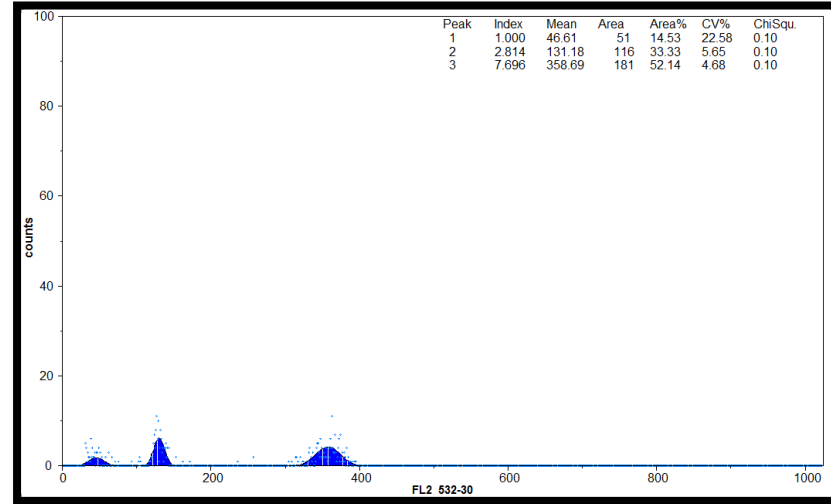
Şekil 5.115 PI 494592 *Helianthus occidentalis* subsp. *plantagineus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



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

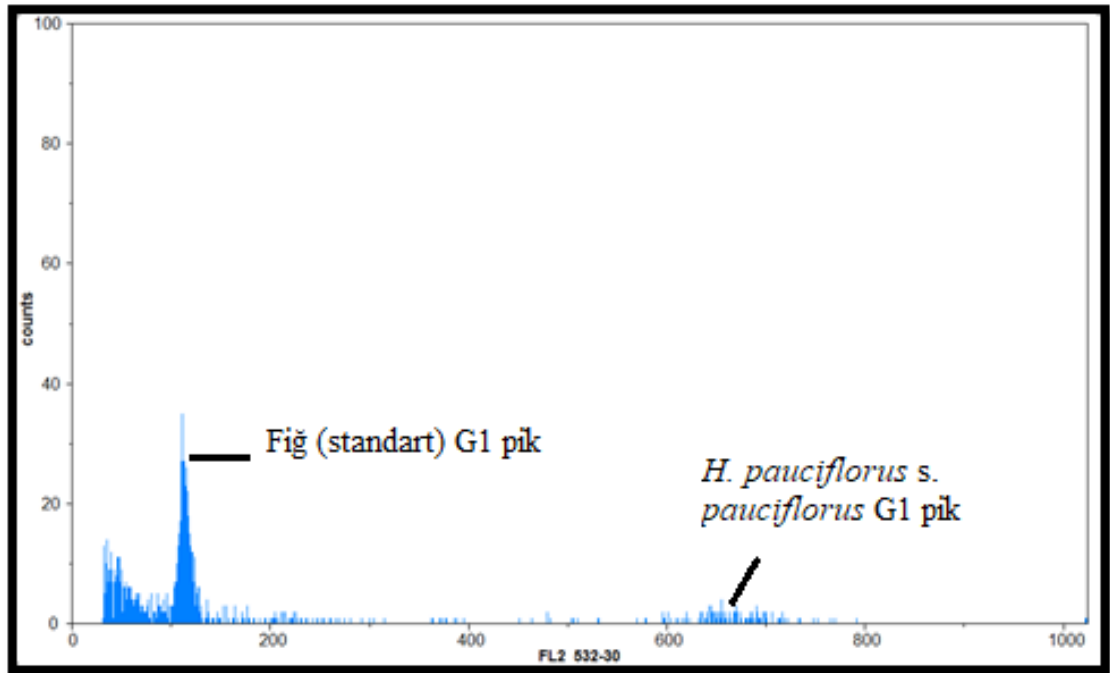


Şekil 5.117 Şekil 5.116'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü



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

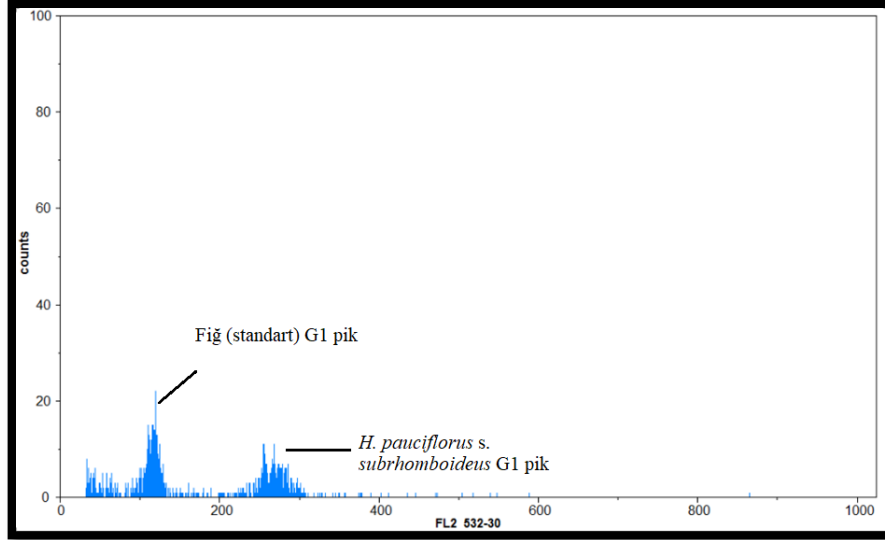
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasın yoğunluğu 667,78 iken standartın (fiğ) florasın yoğunluğu 113,96 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



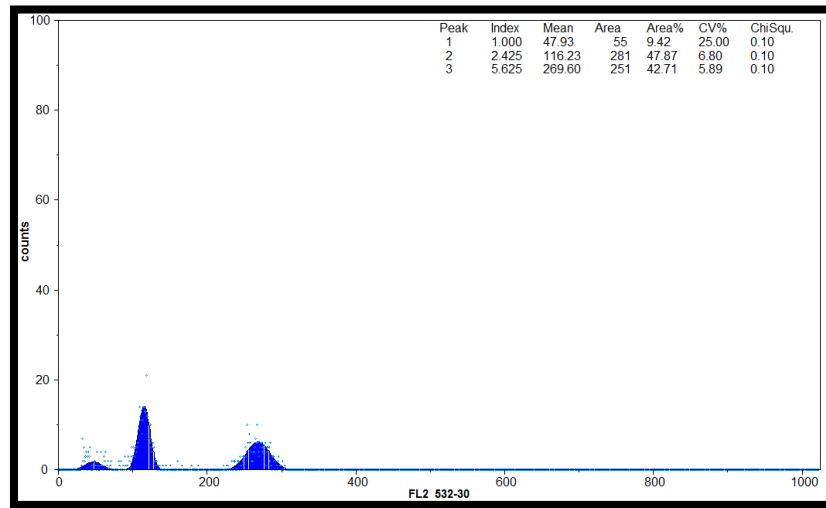
Şekil 5.118 PI 664751 *Helianthus pauciflorus* subsp. *pauciflorus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



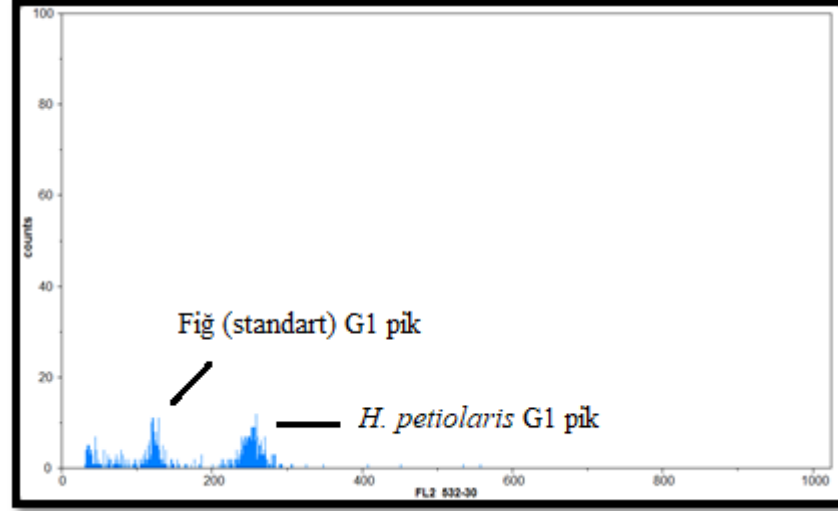
Şekil 5.119 PI 650031 *Helianthus pauciflorus* subsp. *subrhomboideus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



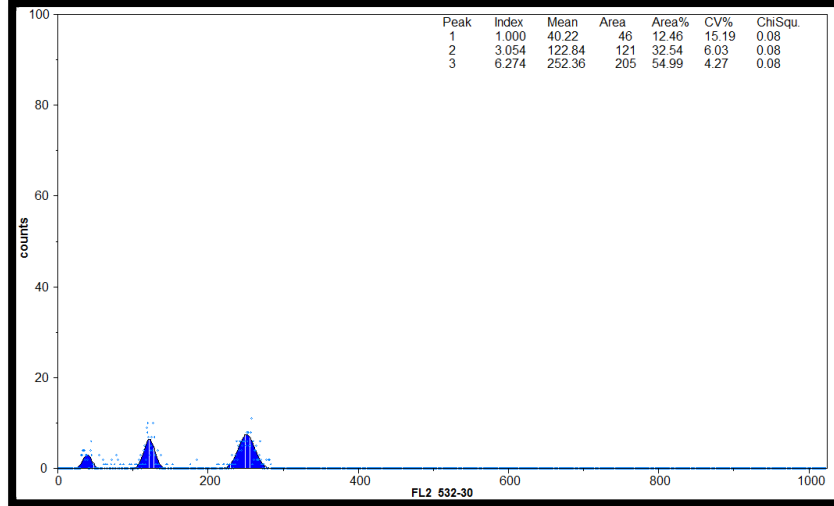
Şekil 5.120 Şekil 5.119’da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



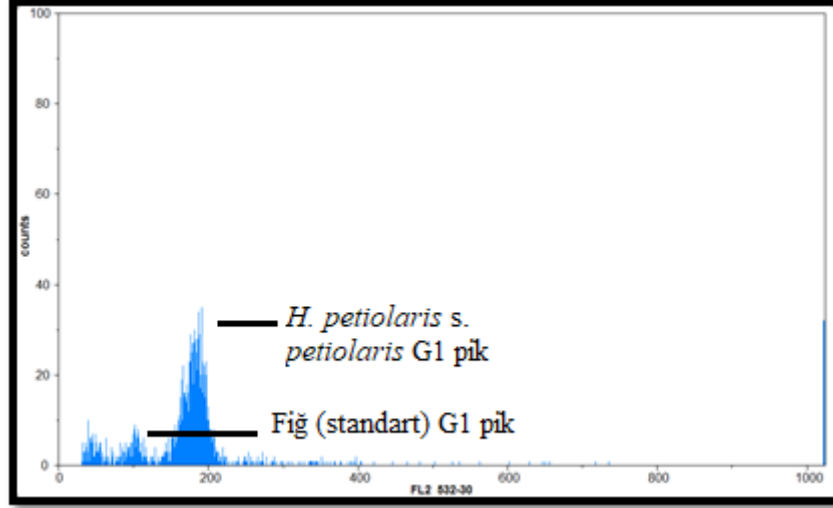
Şekil 5.121 PI 597923 *Helianthus petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



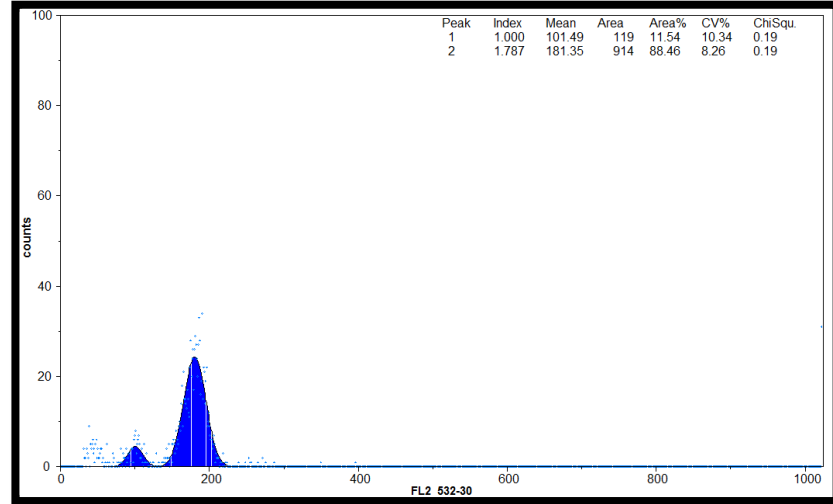
Şekil 5.122 Şekil 5.121'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



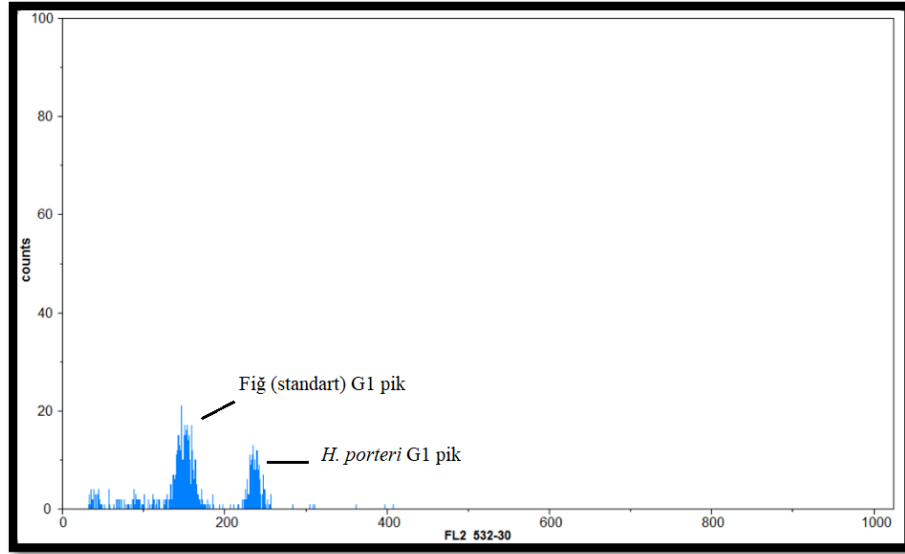
Şekil 5.123 PI 468842 *Helianthus petiolaris* subsp. *petiolaris* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



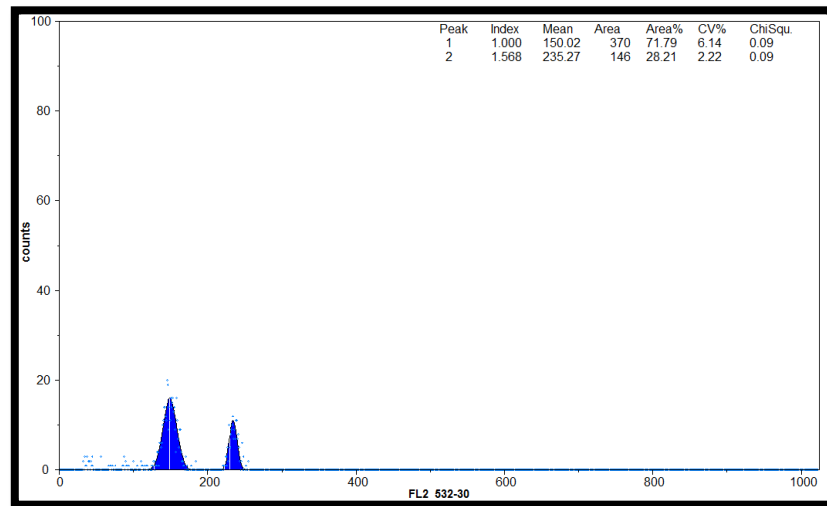
Şekil 5.124 Şekil 5.123'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



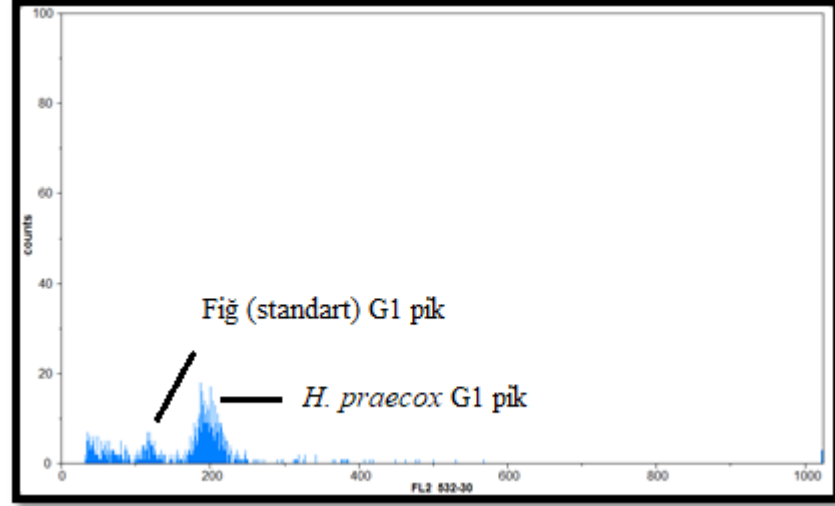
Şekil 5.125 PI 649911 *Helianthus porteri* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



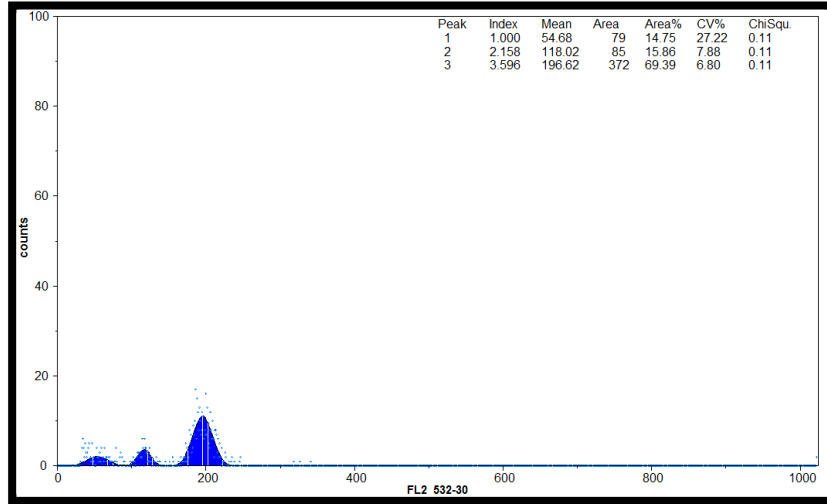
Şekil 5.126 Şekil 5.125'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



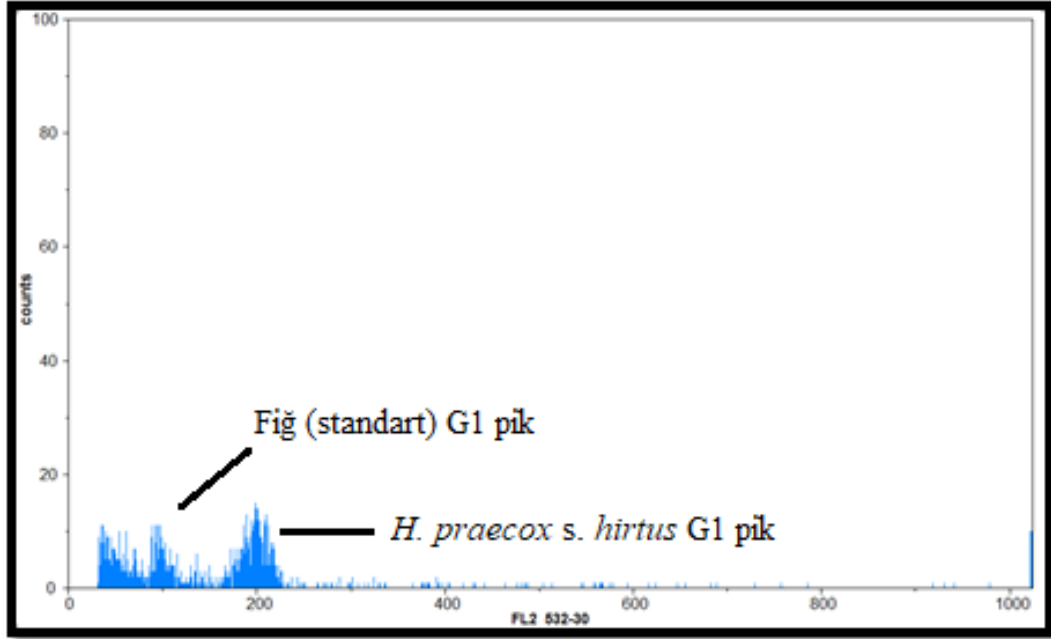
Şekil 5.127 PI 468846 *Helianthus praecox* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



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

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

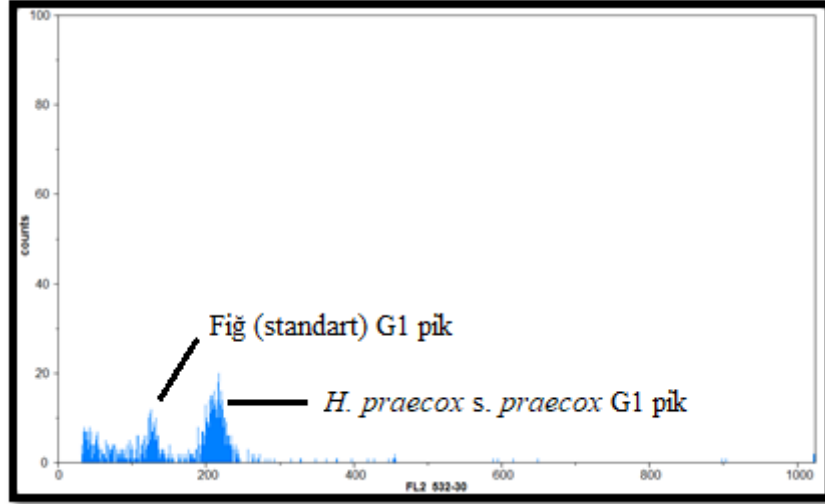
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 199,78 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 98,37 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



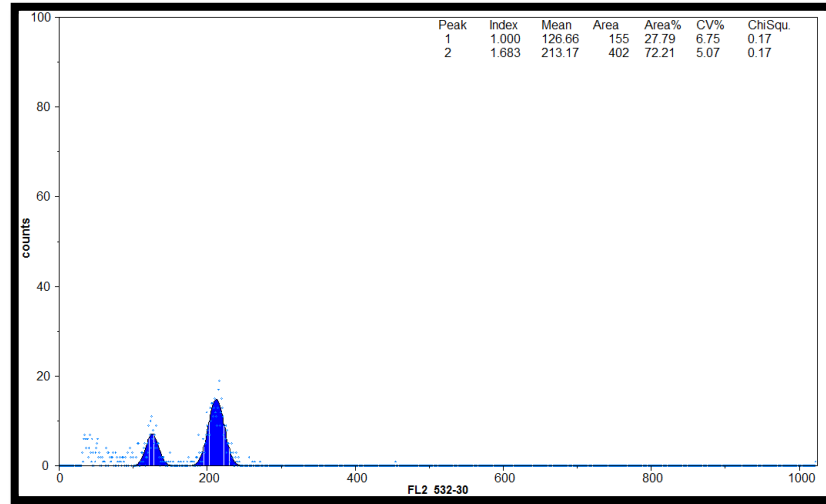
Şekil 5.129 PI 435855 *Helianthus praecox* subsp. *hirtus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



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

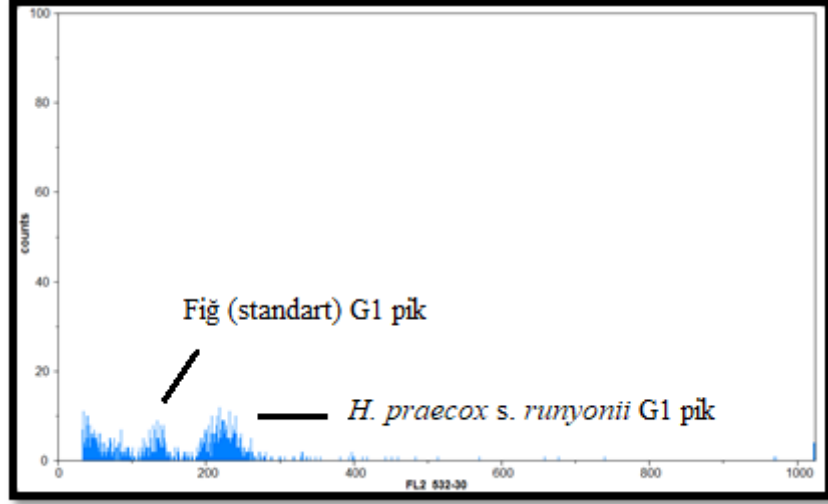


Şekil 5.131 Şekil 5.130’da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

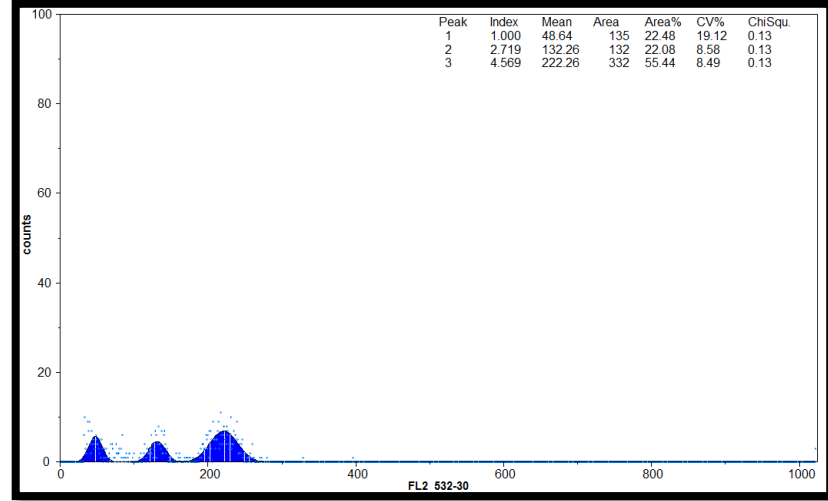


#### 5.2.42. *H. praecox* subsp. *runyonii*'nin Çekirdek DNA Miktarı

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



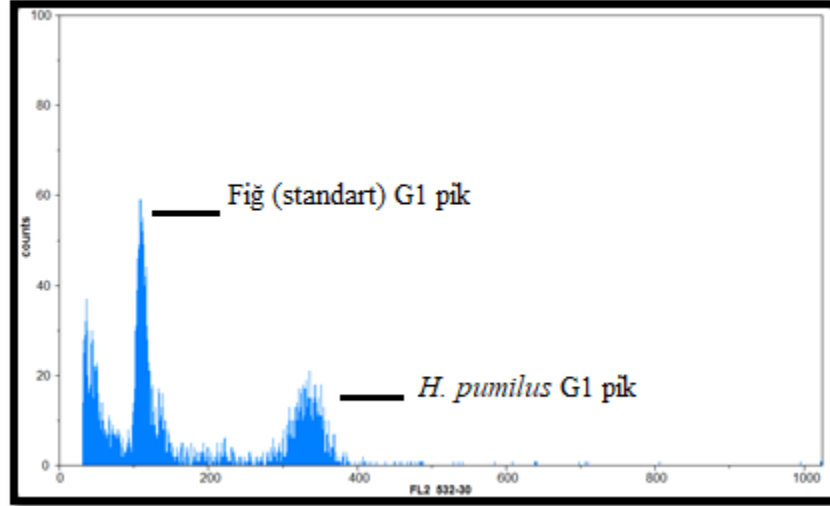
Şekil 5.132 PI 435853 *Helianthus praecox* subsp. *runyonii* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



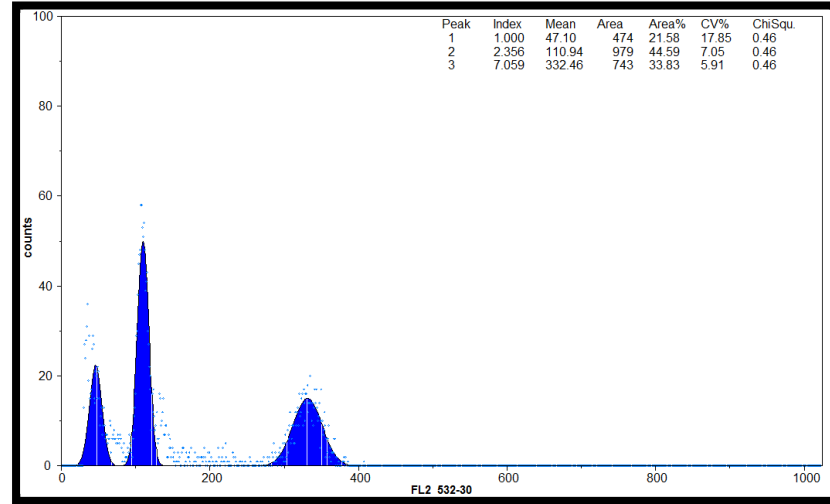
Şekil 5.133 Şekil 5.132'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



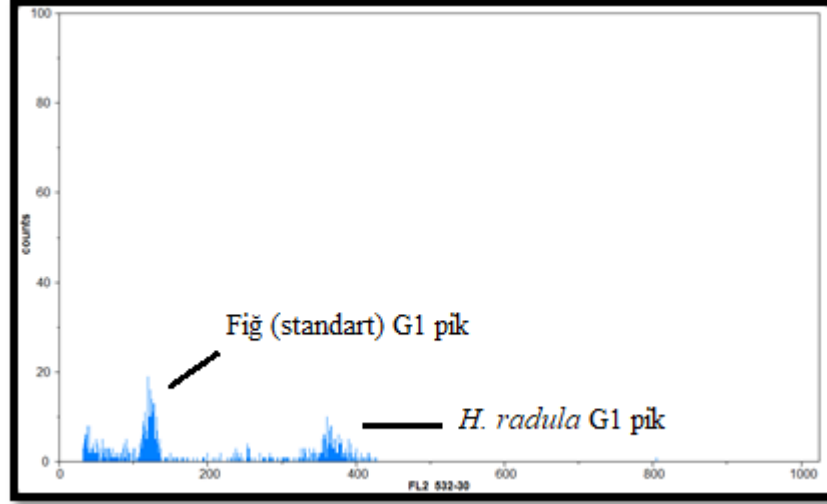
Şekil 5.134 PI 650048 *Helianthus pumilus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



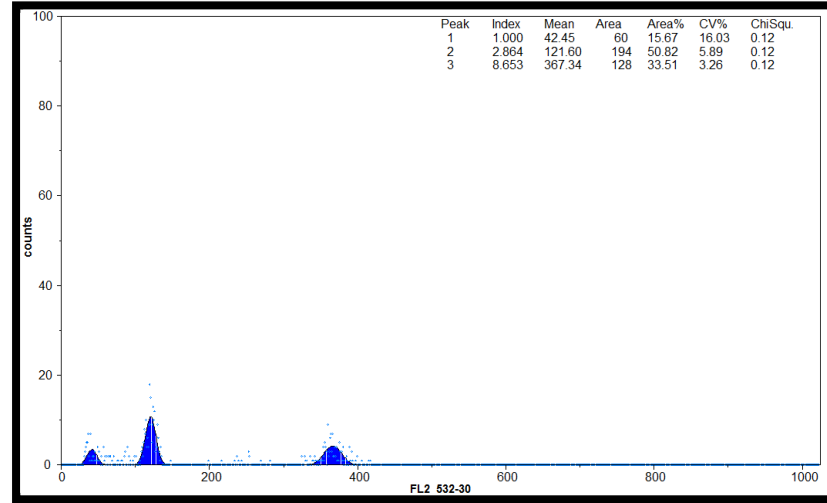
Şekil 5.135 Şekil 5.134'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



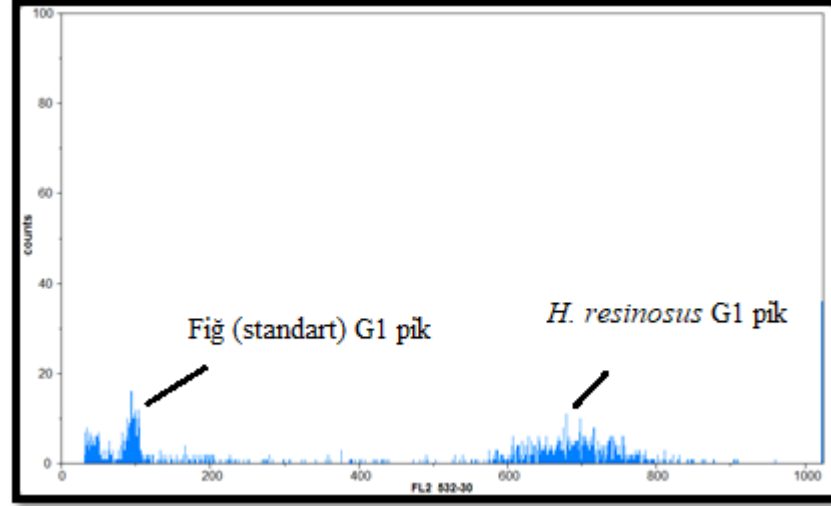
Şekil 5.136 PI 673184 *Helianthus radula* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



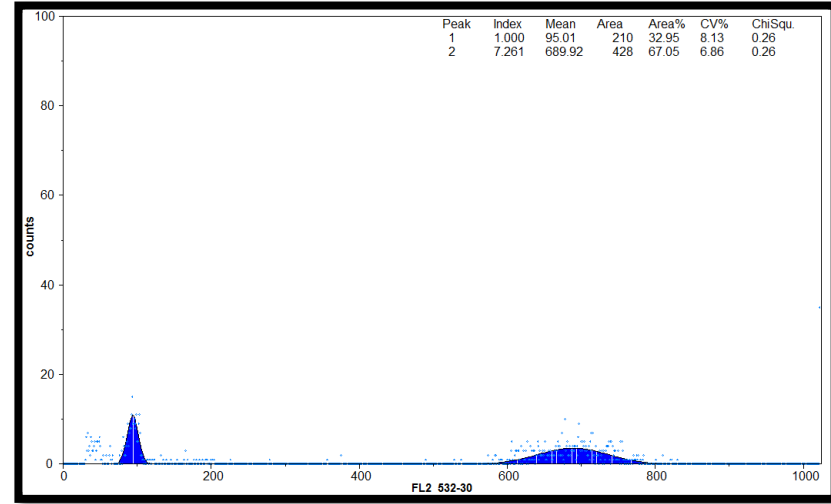
Şekil 5.137 Şekil 5.136'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



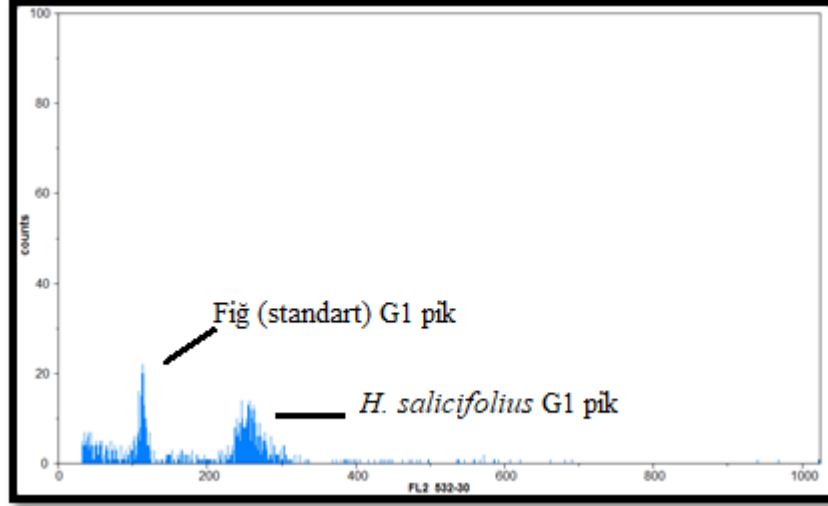
Şekil 5.138 PI 664672 *Helianthus resinosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



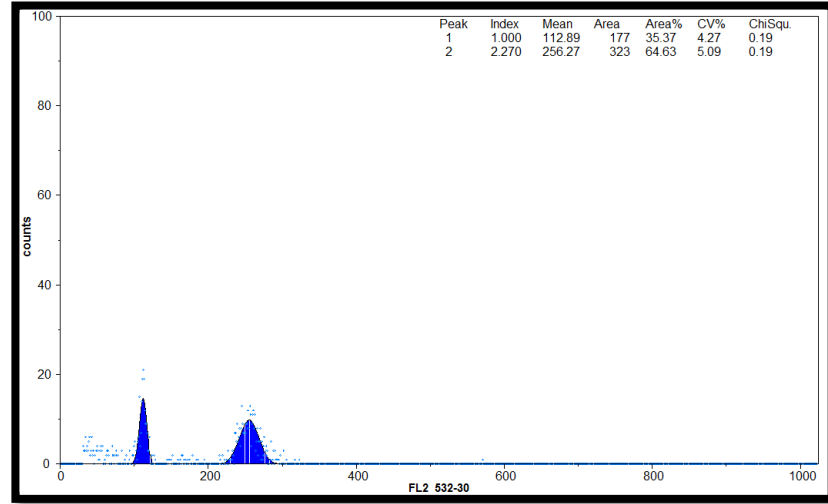
Şekil 5.139 Şekil 5.138'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



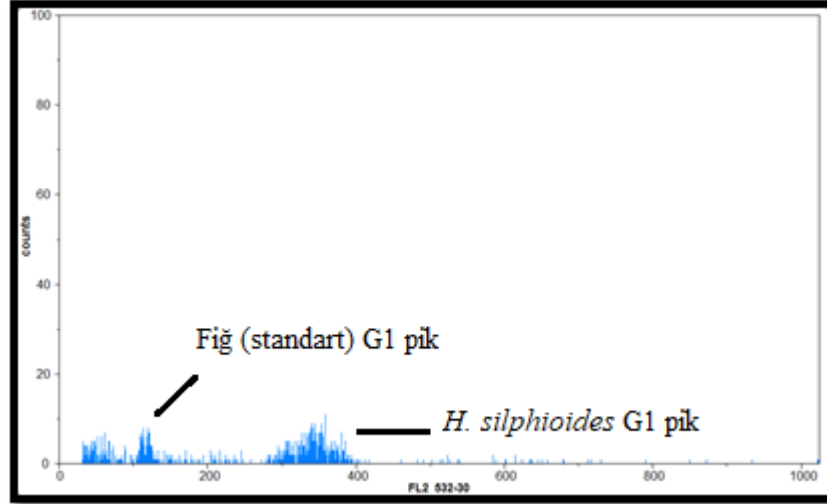
Şekil 5.140 PI 664759 *Helianthus salicifolius* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



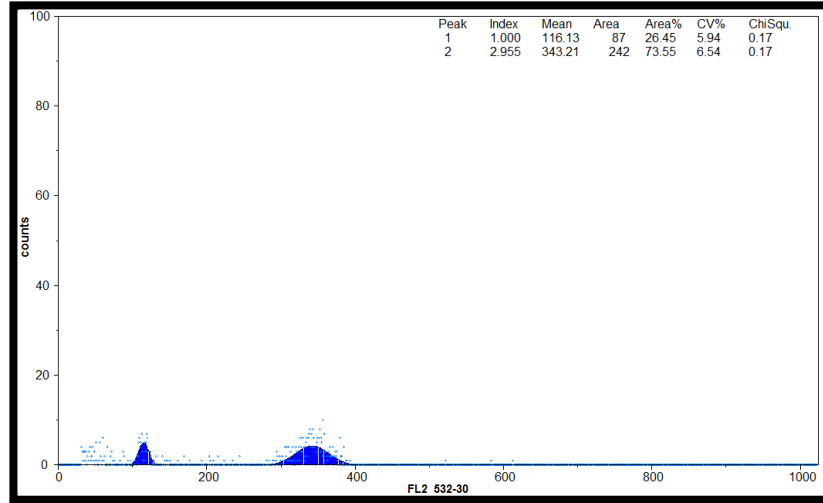
Şekil 5.141 Şekil 5.140'ta sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

### 5.2.47. *H. silphoides*'in Çekirdek DNA Miktarı

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



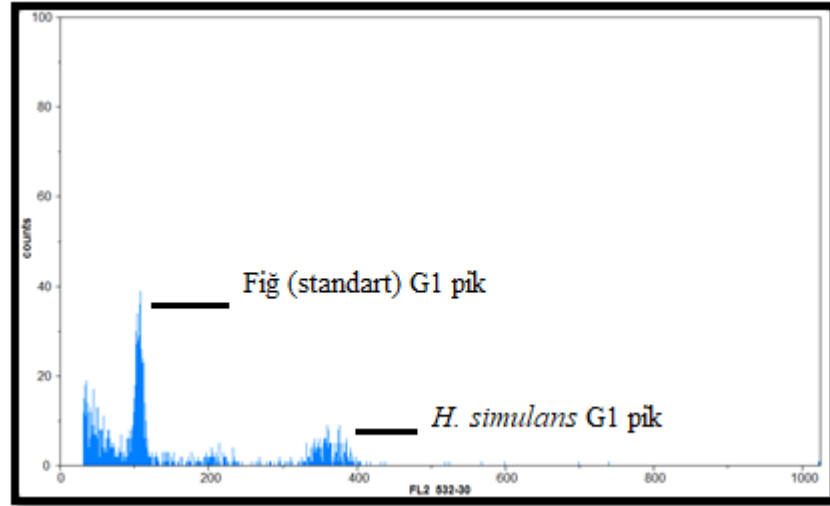
Şekil 5.142 PI 664788 *Helianthus silphoides* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



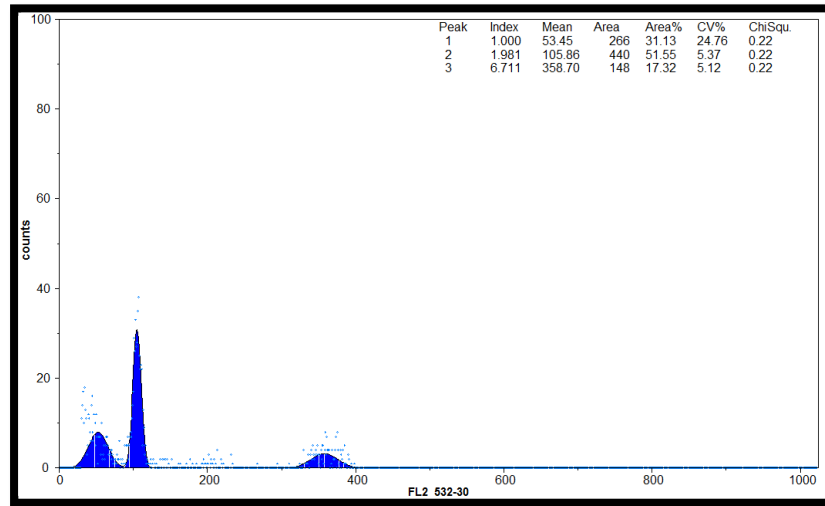
Şekil 5.143 Şekil 5.142'de sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



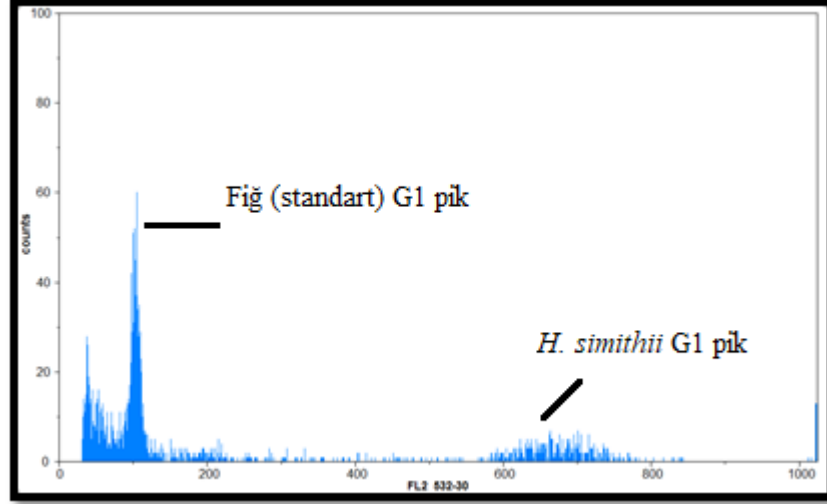
Şekil 5.144 PI 664724 *Helianthus simulans* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



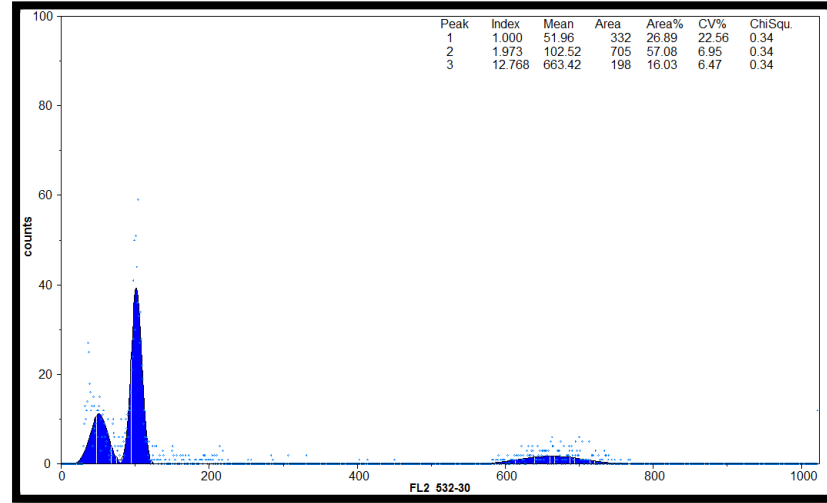
Şekil 5.145 Şekil 5.144'te sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü

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

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



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

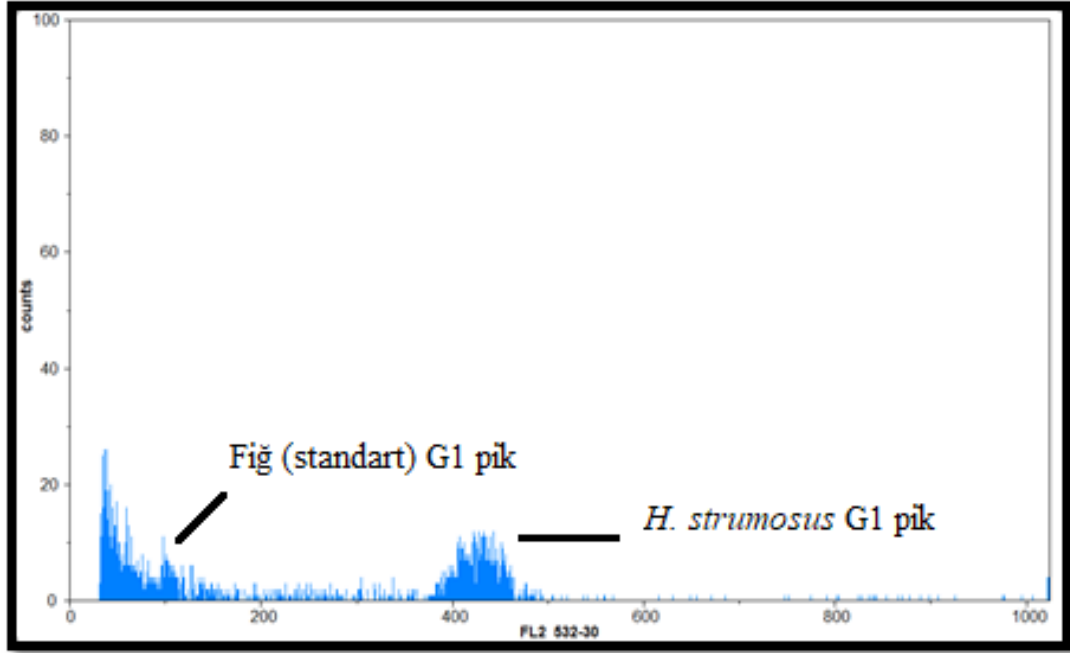


Şekil 5.147 Şekil 5.146'da sunulan orjinal histogramın Flow Sitometri sisteminin sahip olduğu Paket Programı (Flomax) ile analiz edilmesinden sonra dönüştürülmüş görüntüsü



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

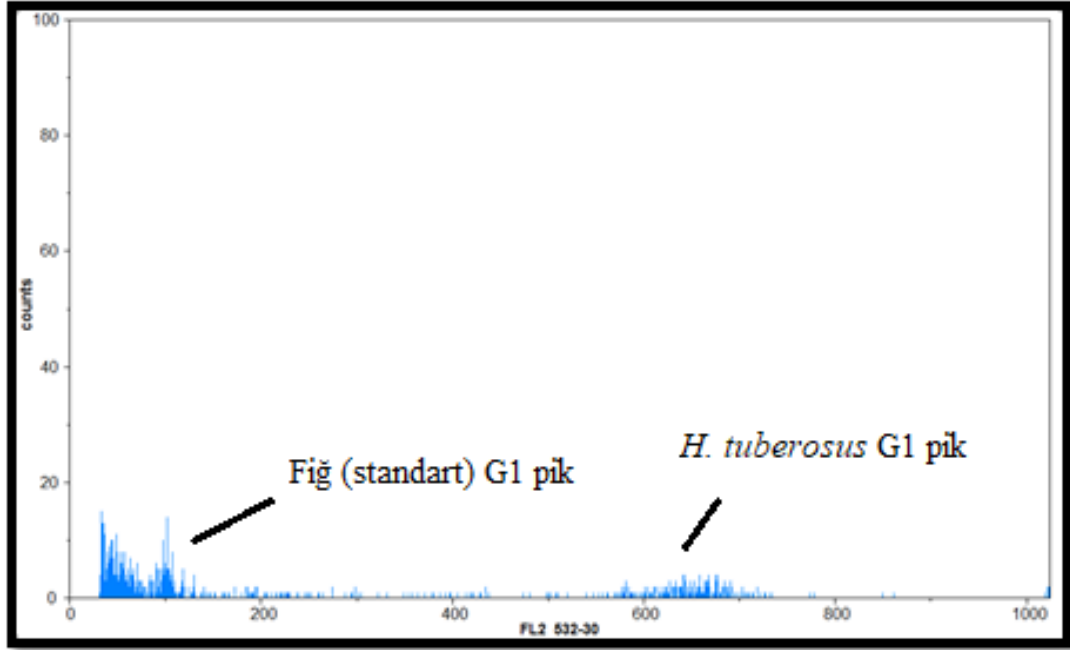
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 426,82 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 103,04 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA içeriği 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



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

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

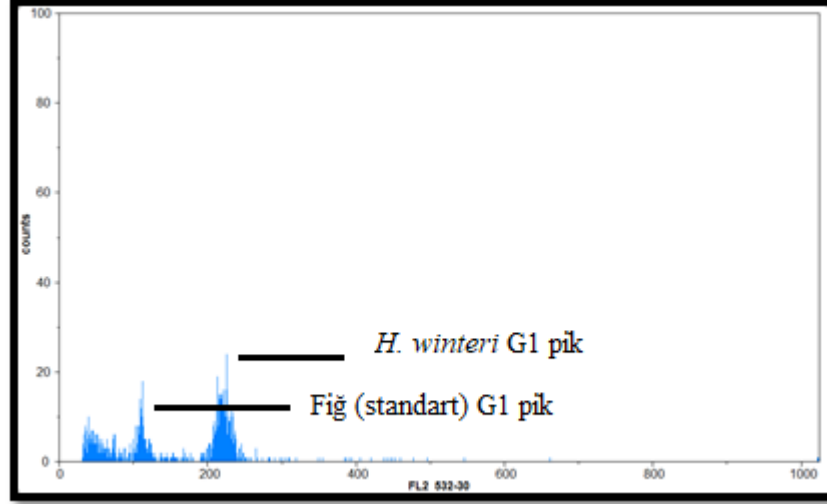
Örnekte pikler çok az ya da kirli olduğu için oransal pozisyonları program tarafından otomatik hesaplanmaktadır. Örneğin florasan yoğunluğu 747,42 iken standartın (fiğ) florasan yoğunluğu 100,63 olarak görülmektedir. Standartın (fiğ) bilinen 2C DNA ağırlığı 3,65 pg olarak alınmıştır. Buna göre örneğin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



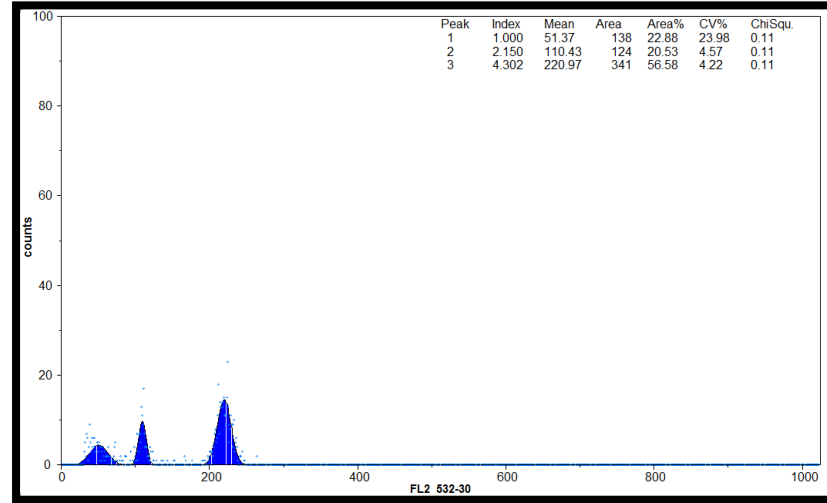
Şekil 5.149 PI 357299 *Helianthus tuberosus* ve standart olan Fiğ (*Vicia sativa*) bitkisine ait G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

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

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



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



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

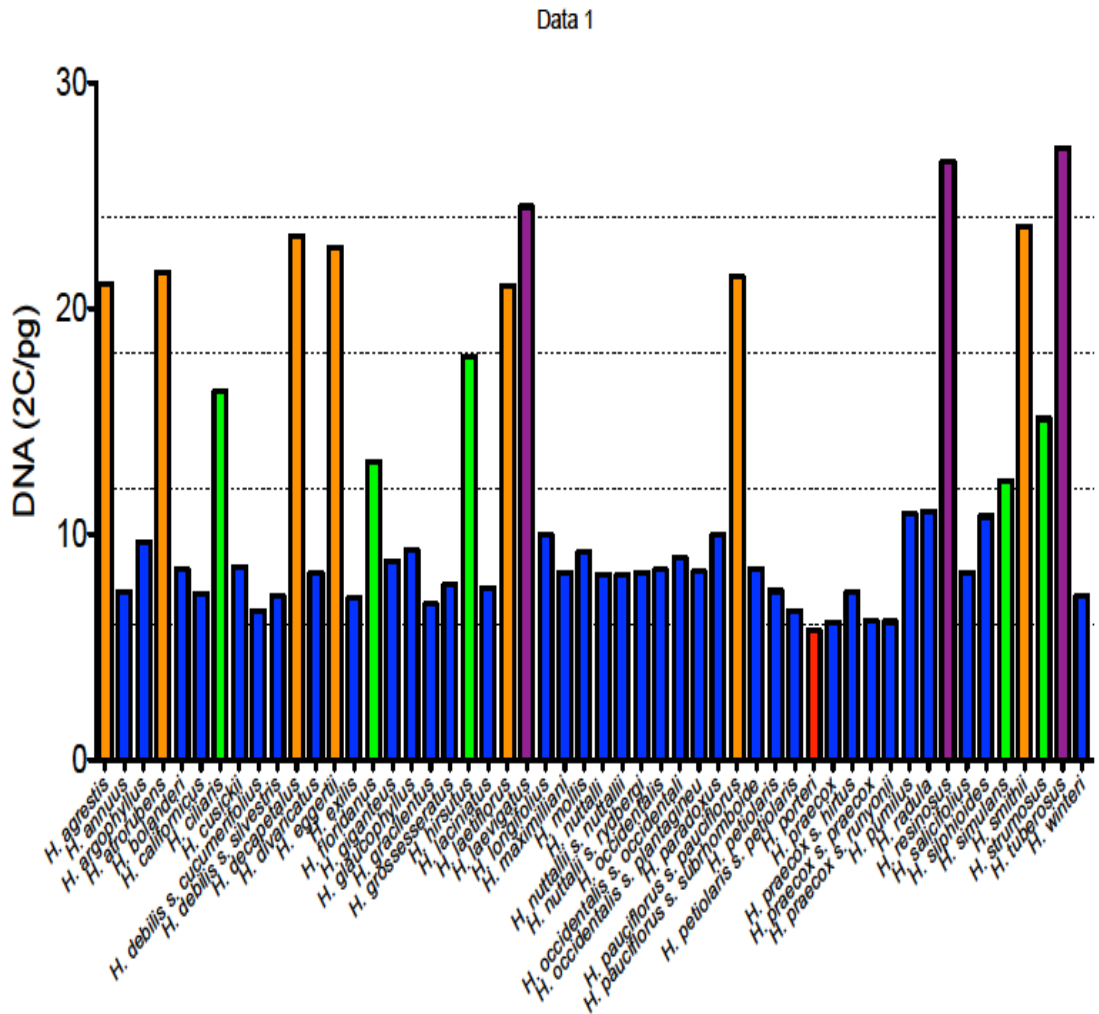
Akış sitometrisi analizi yapılan 52 yabancı ayçiçeği türlerinin analiz sonuçları çizelge olarak (Çizelge 5.1.) aşağıda sunulmuştur. Çalışmada kullanılan yabancı ayçiçeği türlerinin 2C çekirdek DNA içerikleri 5.72 pg (*H. porteri*) ile 27.11 pg (*H. tuberosus*) arasında değişim göstermiştir.

**Çizelge 5.1** Yabancı ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içerikleri

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

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

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



Şekil 5.152 Yabancı ayçiçeği türlerinin nükleer DNA içeriği

## 6. BÖLÜM

### SONUÇLAR VE TARTIŞMA

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 7,8 ile 8,5 pg arasında değişim göstermektedir. *H. exilis* türüne ait 3 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri birbirine oldukça benzer olup sadece 9,86 ile 9,92 pg arasında değişim göstermektedir *H. agrestis* türüne ait 2 aksesyon incelenmiştir. Türe ait aksesyonlar incelenen aksesyonlar arasında en yüksek çekirdek DNA içeriğine sahip iken, aksesyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 23,43 ve 23,83 pg'dır.

Çalışmada, dünyada ilk defa bu kadar sayıda yabancı ayçiçeği türünün DNA içerikleri ve ploidi düzeyleri belirlenmiştir. Bu türlerin çalışmada belirlenen çekirdek DNA içerikleri ile literatürde yer alan değerleri birbirlerine yakın olmakla birlikte aralarında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıkların nedenleri arasında kullanılan aksesyonun, yöntemin ve florasan boyanın farklı olması sayılabilir. Nitekim *Helianthus* cinsi içerisinde yer alan türlerde çekirdek DNA içeriklerinin bitkiden bitkiye göre değiştiği, hatta bazı çalışmalarda aynı bitkinin farklı yapraklarında dahi farklılıklar görüldüğü belirlenmiştir (Baack vd., 2005; Kantar vd., 2014). Çalışmamızda ortak olarak çekirdek DNA içeriği analizi yapılan türlerin sonuçları yakın ama farklı sonuçlar vermiştir. Akış sitometrisi ile analiz edilmiş çekirdek DNA içeriği sonucu; cinsin içerisinde yer alan türlerin taksonomik teşhisi, sınıflandırılması, ploidi analizi, genom yapısı, ilişki ve evrimlerinin incelenmesi, ıslah programları ve türler arası melezlerde hibritlerin teşhisinde yararlı olacağı saptanmıştır.

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

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

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

## KAYNAKLAR

- Aarts, N., Metz, M., Holub, E., Staskawicz, B. J., Daniels, M. J., & Parker, J. E. (1998). Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two *R* gene-mediated signaling pathways in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(17), 10306–10311. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.17.10306>.
- Abang, M. M., Bayaa, B., Abu-Irmaileh, B., & Yahyaoui, A. (2007). A participatory farming system approach for sustainable broomrape (*Orobanche* spp.) management in the Near East and North Africa. *Crop Protection*, 26(12), 1723–1732.
- Abbes, Z., Kharrat, M., & Chaibi, W. (2008). Seed germination and tubercle development of *Orobanche foetida* and *Orobanche crenata* in presence of different plant species. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 3(2), 101.
- Akhtouch, Bassou, del Moral, L., Leon, A., Velasco, L., Fernández-Martínez, J. M., & Pérez-Vich, B. (2016). Genetic study of recessive broomrape resistance in sunflower. *Euphytica*, 209(2), 419–428.
- Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Melero-Vara, J., Fernández-Martínez, J., & Domínguez, J. (2002). Inheritance of resistance to race F of broomrape in sunflower lines of different origins. *Plant Breeding*, 121(3), 266–268. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.00701.x>.
- Aksoy, E., Pekcan, V. (2014). Canavar Otları (*Orobanche* spp., *Phelipanche* Spp.) ve Mücadelesi. *T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı*, 15, Ankara.
- Alonso LC, Fernández-Escobar J, López G, Sallago F. (1996). New highly virulent sunflower broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) pathotypes in Spain. Proc. 6th Int. Parasitic Weed Symposium. Dirección General de Investigación Agraria, Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla, Spain. pp: 639-644.
- Aly, R. (2007). Conventional and biotechnological approaches for control of parasitic weeds. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 43(4), 304–317.
- Amri, M., Abbes, Z., Youssef, S.B., Bouhadida, M., Salah, H.B., Kharrat, M. (2012). Detection of the parasitic plant, *Orobanche cumana* on sunflower (*Helianthus annuus* L.) in Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(18), pp. 4163-4167, <http://www.academicjournals.org/AJB> DOI: 10.5897/AJB11.3031 ISSN 1684–5315 © 2012 Academic Journals.
- Anashchenko, A.V. (1974). On the taxonomy of the genus *Helianthus* L. *Bot. Zhurn.* 59:1472-1481.
- Anton, F.G., Pacureanu Joita M., Sauca F., Risnoveanu L. (2017). Evaluating of Wild Heliantus Species of Sunflower and Interspecific Hybridization for Resistance To Broomrape (*Orobanche Cumana* Wallr.). *Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series Vol. XLVII* 7–11.



- Antonova, T. S., Araslanova, N. M., Strelnikov, E. A., Ramazanova, S. A., Guchetl, S. Z., & Chelyustnikova, T. A. (2013). Distribution of highly virulent races of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in the southern regions of the Russian Federation. *Russian Agricultural Sciences*, 39(1), 46–50. <https://doi.org/10.3103/s1068367413010023>.
- Antonova, T. S., Araslanova, N. M., Strelnikov, E. A., Ramazanova, S. A., Tchelustnikova, T. A., & Guchetl, S. Z. (2011). Screening of wild *Helianthus* species for resistance to high virulent *Orobanche cumana* Wallr., affecting sunflower in the Rostov region of the Russian federation. *Helia*, 34(55), 115–124.
- Atlagić, J., Terzić, S., Škorić, D., Marinković, R., Vasiljević, L., Panković-Saftić, D. (2006). The Wild Sunflowers Collection in Novi Sad. *Helia*, 29(44), 55–64. <https://doi.org/10.2298/hel0644055a>.
- Baack, E. J., Whitney, K. D., & Rieseberg, L. H. (2005). Hybridization and genome size evolution: Timing and magnitude of nuclear DNA content increases in *Helianthus* homoploid hybrid species. *New Phytologist*, 167(2), 623–630. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01433.x>.
- Badouin, H., Gouzy, J., Grassa, C. J., Murat, F., Staton, S. E., Cottret, L., Lelandais-Brière, C., Owens, G. L., Carrère, S., Mayjonade, B., Legrand, L., Gill, N., Kane, N. C., Bowers, J. E., Hubner, S., Bellec, A., Bérard, A., Bergès, H., Blanchet, N., ... Langlade, N. B. (2017). The sunflower genome provides insights into oil metabolism, flowering and Asterid evolution. *Nature*, 546(7656), 148–152..
- Batchvarova R. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Bulgaria. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 51-54.
- Bennett, M. D., Smith, J. B. (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Botany*. <https://doi.org/10.1098/rstb.1976.0044>.
- Bennett, M.D., Leitch, I.J.(1995). Nuclear DNA Amounts in Angiosperms. *Annals of Botany* , August 1995, Vol. 76, No. 2 (August 1995), pp. 113-176. <https://www.jstor.org/stable/42764624>.
- Bent, A. F. (1996). Plant Disease Resistance Genes: Function Meets Structure. *The Plant Cell*, 8(10), 1757. <https://doi.org/10.2307/3870228>.
- Berry, S. T., Leon, A. J., Hanfrey, C. C., Challis, P., Burkholz, A., Barnes, S. R., Rufener, G. K., Lee, M., & Caligari, P. D. S. (1994). Molecular marker analysis of *Helianthus annuus* L. 2. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 91(2), 195–199.
- Bilgen, B.B., Daneshvar, S., Evci, G., Pekcan, V., Yılmaz, M.İ., Kaya, Y. (2018). Determination of High Oleic Type and Broomrape Resistant Sunflower Hybrids By DNA Markers. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*, 4(1):22-30.
- Bouzidi, M. F., Badaoui, S., Cambon, F., Vear, F., De Labrouhe, D. T., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2002). Molecular analysis of a major locus for resistance to downy mildew in sunflower with specific PCR-based markers. *Theoretical and Applied*

- Genetics*, 104(4), 592–600. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0790-3>
- Branković, G. R., Balalić, I. M., Zorić, M. Z., Miklič, V. J., Jocić, S. B., & Šurlan Momirović, G. G. (2012). Characterization of sunflower testing environments in Serbia. *Turk J Agric For*, 36, 275–283. <https://doi.org/10.3906/tar-1106-45>.
- Bretting, P.K., Widrlechner, M.P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. *North Central Regional Plant Introduction Station*, 32(77).
- Bulbul, F., Aksoy, E., Uygur, S., & Uygur, N. (2009). Broomrape (*Orobanche* spp.) problem in the eastern mediterranean region of Turkey. *Helia*, 32(51), 141–152. <https://doi.org/10.2298/HEL0951141B>.
- Burke, J. M., Lai, Z., Salmaso, M., Nakazato, T., Tang, S., Heesacker, A., Knapp, S. J., & Rieseberg, L. H. (2004). Comparative mapping and rapid karyotypic evolution in the genus *Helianthus*. *Genetics*, 167(1), 449–457. <https://doi.org/10.1534/genetics.167.1.449>.
- Burlov, V., & Burlov, V. (2010). Breeding of sunflower resistant to new races of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). *Helia* 53, 165–172. doi:10.2298/HEL1053165B
- Castañeda-Álvarez, N.P., Khoury, C.K., Achicanoy, H.A., Bernau, V., Dempewolf, H., Eastwood R.J. (2016). Global conservation priorities for crop wild relatives. *Nat. Plants* 2:16022. doi:10.1038/nplants.2016.22.
- Chen, X. M., Line, R. F., & Leung, H. (1998). Genome scanning for resistance-gene analogs in rice, barley, and wheat by high-resolution electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(3), 345–355. <https://doi.org/10.1007/s001220050905>.
- Christov, M., Hristova-Cherbadzi, M., Encheva, V., Sindrova, P., Kiryakov, I., Valkova, D., Sabev, G. and Batchvarova, R. (2010). Creating new sunflower forms and lines, resistant to diseases, the broomrape parasite. In: Proc. Int. Symp. “Sunflower breeding on Resistance to diseases” Krasnodar, Russia. Int. Sunfl. Assoc., Paris, France. Pp. 72-84.
- Christov, M., Batchvarova, R., & Hristova-Cherbadzhi, M. (2009). Wild species of *Helianthus* L. - Sources of resistance to the parasite *Orobanche cumana* wallr. *Helia*, 32(51), 65–74. <https://doi.org/10.2298/HEL0951065C>.
- Christov, M., Piskov, A., Encheva, J., Valkova, D., Drumeva, M., Nenova, N., Nikolova, V., Encheva, V., Shindrova, P., Petrov, P., & Georgiev, G. (2009). Developing sunflower hybrid cultivars with increased productivity , resistant to diseases and broomrape using classical and biotechnological methods developing sunflower hybrid cultivars with increased productivity , resistant to diseases and broomrape us. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур УААН*, № 14, 2009: 74-87.
- Christov, Michail, & Velasco, L. (2008). *Helianthus* species in breeding research on sunflower. *Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain*, 8–12.
- Cockerell, T.D.A. (1929). Shorter articles and discussion hybrid sunflowers. *The*

- American Naturalist*, Sep. - Oct., 1929, Vol. 63, No. 688 (Sep. - Oct., 1929), pp. 470-475. <https://www.jstor.org/stable/2457099>.
- Cvejić, S., Radanović, A., Dedić, B., Jocković, M., Jocić, S., & Miladinović, D. (2020). Genetic and genomic tools in sunflower breeding for broomrape resistance. *Genes*, 11(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/genes11020152>.
- Cvejić, S., Jocić, S., Dedić, B., Miladinović, D., Dimitrijević, A., Imerovski, I., Jocković, M., Miklič, V. (2018). Inheritance of resistance to broomrape in sunflower inbred line LIV-17. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 154–162.
- Cvejić, S., Jocić, S., Dedić, B., Radeka, I., Imerovski, I., & Miladinović, D. (2014). Determination of resistance to broomrape in newly developed sunflower inbred lines. *Third international symposium on broomrape (orobanche spp.) in sunflower*, Spain.
- Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>.
- Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, 411(June).
- Daniel, H. (2004). “A Review and Applications of Flow Cytometry. Department of Chemistry”, University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Davis PH, Mill RR, Tan K. (1988). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1), Vol. 10, pp. 200–201, *Edinburgh: Edinburgh University Press*.
- Dehmer, K. J., & Friedt, W. (1998). Development of molecular markers for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Industrial Crops and Products*, 7(2–3), 311–315. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00063-0](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00063-0).
- Dedic, B., Miladinovic, D., Jovic, S., Cvejic, S., Jockovic, M., Miklic, V. (2018). Increase in virulence of sunflower broomrape in Serbia. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 27–35.
- Demirel, D. (1995). “Flow sitometrik DNA analizinin temel prensipleri”, *Türk Patoloji Dergisi*, 11(2).
- Di Gaspero, G., & Cipriani, G. (2003). Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, Pto-like and receptor-like kinases related to disease resistance in grapevine. *Molecular Genetics and Genomics*, 269(5), 612–623. <https://doi.org/10.1007/s00438-003-0884-5>.
- Dolezel, J., Barto, J. (2005). Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. *Annals of Botany*, 95: 99–110, 2005 doi:10.1093/aob/mci005, [www.aob.oupjournals.org](http://www.aob.oupjournals.org).
- Doyle, JJ., Doyle, JL. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13–15.
- Duca, M., Clapco, S., Nedelcov, M., & Dencicov, L. (2019). Influence of environmental conditions on the virulence and distribution of *Orobanche cumana* Wallr. in the

- Republic of Moldova. OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids, 26(1). <https://doi.org/10.1051/ocl/2018049>.
- Duca, M.; Port, A.; Boicu, A. (2017). Molecular Characterisation of Broomrape Populations from Republic of Moldova using SSR Markers. *Helia*, 40, 47–60.
- Duca, M. (2014). Current situation of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. *Third International Symposium On Broomrape (Orobanche Ssp.) In Sunflower, June 2014*, 44–51. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4729.7125>.
- Duriez, P., Vautrin, S., Auriac, M. C., Bazerque, J., Boniface, M. C., Callot, C., Carrère, S., Cauet, S., Chabaud, M., Gentou, F., Lopez-Sendon, M., Paris, C., Pegot-Espagnet, P., Rousseaux, J. C., Pérez-Vich, B., Velasco, L., Bergès, H., Piquemal, J., & Muños, S. (2019). A receptor-like kinase enhances sunflower resistance to *Orobanche cumana*. *Nature Plants*, 5(12), 1211–1215. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0556-z>.
- Eizenberg, H., Hershenhorn, J., Plakhine, D., Kleifeld, Y., Shtienberg, D., & Rubin, B. (2003). Effect of temperature on susceptibility of sunflower varieties to sunflower broomrape (*Orobanche cumana*) and Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*). *Weed Science*, 51(3), 279–286. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2003\)051\[0279:eotoso\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0279:eotoso]2.0.co;2).
- Ellis, J., Dodds, P., & Pryor, T. (2000). The generation of plant disease resistance gene specificities. *Trends in Plant Science*, 5(9), 373–379.
- Elzein A., Kroschel J. (2003). Problem Weeds and Their Management in Crops and Non-Crop Situations. *Weed Management for Developing Countries*, Labrada L., Addendum 1, Rome.
- Encheva, V. (2018). Distribution and race composition of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Bulgaria during 2008–2017. In *Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower*, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; p. 58.
- Encheva, V., Shindrova, P. (1994). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) a hindrance to sunflower production in Bulgaria. *Proceedings of the 3rd International Workshop on Orobanche and Related Striga Research*, Amsterdam, The Netherlands, Amsterdam: Royal Tropical Institute, 619±622.
- Evcı, G., Pekcan, V., Yılmaz, İ.M., Kaya, Y., Şahin, İ., Çıtak, N., Tuna, N., Ay, O., Pilaslı, A. (2011). Ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) yağ kalitesi ve verim öğeleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi. *Türkiye IX, Tarla Bitkileri Kongresi*, S,279, Bursa.
- Faure, N., Serieys, H., Kaan, F. (2002). Partial hybridization in wide crosses between cultivated sunflower and the perennial *Helianthus mollis*: effect of in vitro culture compared to natural crosses. *Springer*, 20(10), 943–947. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0426-8>.
- Fernández-Escobar J, Rodríguez-Ojeda MI, FernándezMartínez JM, Alonso LC. (2008). Sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Castilla-León, a traditionally non broomrape infested area in Northern Spain. *Abstr. Int. Symp. on Broomrape*

- (*Orobanche* spp.) in Sunflower. Trakya Agricultural Research Institute, Edirne, Turkey. p: 18.
- Fernández-Martínez, José M., Pérez-Vich, B., Velasco, L. (2015). Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). In Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization, 129-156. AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-94-3.50011-8>.
- Fernández-Martínez, J. M., Velasco, L., & Pérez-Vich, B. (2012). Progress in research on breeding for resistance to sunflower broomrape. *Helia*, 35(57), 47–56.
- Fernández-Martínez, J. M., Domínguez, J., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2008). Update on breeding for resistance to sunflower broomrape. *Helia*, 31(48), 73–84.
- Fernández-Martínez, J., Melero-Vara, J., Muñoz-Ruz, J., Ruso, J., & Domínguez, J. (2000). Selection of wild and cultivated sunflower for resistance to a new broomrape race that overcomes resistance of the *Or5* gene. *Crop Science*, 40(2), 550–555. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402550x>.
- Feuillet, C., Schachermayr, G., Keller, B. (1997). Molecular cloning of a new receptor-like kinase gene encoded at the Lr10 disease resistance locus of wheat. *Plant J.* 11:45–52.
- Fulwyler, A. M. J. (1965). Electronic Separation of Biological Cells by Volume American Association for the Advancement of Science Stable Science , Nov. 12, 1965, New Series. *Science*, 150(3698), 910–911. URL : <http://www.jstor.org/stable/1717506>.
- Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. M., Ayres, N. M., & Dharam, P. (1983). Rapid Flow Cytometric Analysis of the Cell Cycle in Intact Plant Tissues. *Science*. 220(4601), 1049–1051.
- Gao, W., Ripley, V.L, Channabasavaradhya, A., Meyer, D.H., Velasco, L., Benson, R., Perez Vich, B., Erickson, A.L., Fernandez Martinez, J., Ren, R., Avery, M. (2019). Molecular Markers Associated With Orobanche Resistance In Sunflower. Provisional application No. 62 / 482,368 , filed on Apr. 6 , 2017. United States Patent. Patent No: US 10,883,148 B2. , Indianapolis , US.
- Gedil, M. A., Slabaugh, M. B., Berry, S., Johnson, R., Michelmore, R., Miller, J., Gulya, T., & Knapp, S. J. (2001a). Candidate disease resistance genes in sunflower cloned using conserved nucleotide-binding site motifs: Genetic mapping and linkage to the downy mildew resistance gene Pl1. *Genome*, 44(2), 205–212.
- Gedil, M. A., Wye, C., Berry, S., Segers, B., Peleman, J., Jones, R., Leon, A., Slabaugh, M. B., & Knapp, S. J. (2001b). An integrated restriction fragment length polymorphism -amplified fragment length polymorphism linkage map for cultivated sunflower. *Genome*, 44(2), 213–221.
- Geisler, F. (1931). Chromosome numbers in certain species of *Helianthus* *Butler University* URL : <https://www.jstor.org/stable/41822297> 2(5), 53–62.
- Gentzbittel, L., Vear, F., Zhang, Y. X., Bervillé, A., Nicolas, P. (1995). Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 90(7–8), 1079–1086.

- Gisca I, Acciu A, Glijin A, Duca M. (2013). Highly virulent races of sunflower broomrape in the Republic of Moldova. Proc. Biotech. Cong. Current Opinion in Biotech. 24(1): S132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2013.05.422>.
- Gray, A., (1889). Essay and reviews pertaining to darwinism. Harvard University.
- González, A.C. (2021). Breeding strategies for resistance to sunflower broomrape: New sources of resistance and markers for resistance and avirulence genes. Doktora Tezi.Cordoba Üniversitesi.
- González-Torres R, Jiménez-Díaz RM, Melero-Vara JM. (1982). Distribution and virulence of *Orobanche cernua* in sunflower crops in Spain. J Phytopathol 104: 78-89. [http:// dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.1982.tb00008.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.1982.tb00008.x).
- Gouzy, J., Pouill, N., Boniface, M.-C., Bouchez, O., Carrère, S., Catrice, O., Cauet, S., Claudel, C., Cottret, L., Faure, S., Calderón González, Á., Grand, X., Hu, L., Jézioriski, C., Lechat, M.-M., Legrand, L., Louarn, J., Marnade, W., Ribière, N., ... Muños, S. (2017). The complete genome sequence of *Orobanche cumana* (sunflower broomrape). *14th World Congress on Parasitic Plants* <http://hdl.handle.net/10261/167964>.
- Göçmen, D.B. (2016). Doğu Anadolu Dağlık Bölgelerinden Toplanmış *Phelum L.* Popülasyonlarının Agronomik, Morfolojik ve Sitogenetik Karakterizasyonu. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Guchetl, S.Z., Savichenko, D.L., Ramazanova, S.A. (2020). The search for the location of the sunflower resistance gene to race G of broomrape on the linkage map in the lines of breeding of VNIIMK. *DAICRA. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 699. doi:10.1088/1755-1315/699/1/012008.
- Habimana, S., Nduwumuremyi, A., & Chinama R, J. D. (2014). Management of orobanche in field crops-a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(1), 43–62. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000004>.
- Hablak, S., Abdullaeva, Y. (2013). The racial composition of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower crops on the Northern steppes of Ukraine. *ВісникАграрної НаукиПричорномор'я*, 73, 116–121.
- Haidar, M. A., & Sidahmed, M. M. (2006). Elemental sulphur and chicken manure for the control of branched broomrape (*Orobanche ramosa*). *Crop Protection*, 25(1), 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.022>.
- Hahn, V., Wieckhorst, S. (2010). Mapping and tagging of simply inherited traits. *Genetics, Genomics and Breeding of Sunflower*, 111–124. Science Publishers, Enfield.
- Hammond-Kosack, K. E., & Jones, J. D. G. (1997). Plant disease resistance genes. *Annual Review of Plant Biology*, 48, 575–607.
- Hargitay L. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Hungary. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. p: 32.
- Hasançebi, S., Çetin, L., Akan, K., Mert, Z., Bolat, N., Yorgancılar, O., Altinkut

- Uncuoğlu, A. (2009). Bazı Kışlık Ekmeklik Buğday Genotiplerinde RGAP Analizleri. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*. Bildiri Kitabı s: 792-795, Hatay. 19-22 Ekim 2009.
- Hassan, E.A.R.S.; Hoefft, E.; Tulsieram, L. (2011). Genetic Markers for Orobanche Resistance in Sunflower; United States Patent No. 7872170; United States Patent: Alexandria, VA, USA, 2011; pp. 1–21.
- Heiser, C. B., Smith, D. M., Clevenger, S. B., Martin, W. C. (2017). The North American Sunflowers (*Helianthus*) *Torrey Botanical Society, Stable* <http://www.jstor.org/stable/43390641>. 22(3), 1–218.
- Heiser, C. B., Smith, D. M., Clevenger, S. B., Martin, W. C. (1969). The North American Sunflowers (*Helianthus*). *Memoirs of the Torrey Botanical Club*, January 31, 1969, Vol. 22, No. 3, (January 31, 1969), pp. 1-218.
- Hladni, N., Joci, S., Miklič, V., Saftić-Panković, D., & Škorić, D. (2009). Using new Rf inbred lines originating from an interspecific population with *H. deserticola* for development of sunflower hybrids resistant to broomrape. *Helia*, 32(51), 81–90. <https://doi.org/10.2298/HEL0951081H>.
- Holt, B. F., Hubert, D. A., & Dangl, J. L. (2003). Resistance gene signaling in plants - Complex similarities to animal innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 15(1), 20–25. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(02\)00014-6](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(02)00014-6).
- Honiges, A., Wegmann, K., & Ardelean, A. (2008). Orobanche resistance in sunflower. *Helia*, 31(49), 1–12. <https://doi.org/10.2298/HEL0849001H>.
- Hu, J., Yue, B., & Vick, B. A. (2007). Integration of TRAP markers onto a sunflower SSR marker linkage map constructed from 92 recombinant inbred lines. *Helia*, 30(46), 25–36. <https://doi.org/10.2298/HEL0746025H>.
- Huettel, B., Santra, D., Muehlbauer, F. J., & Kahl, G. (2002). Resistance gene analogues of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Isolation, genetic mapping and association with a Fusarium resistance gene cluster. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(2–3), 479–490. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0933-1>.
- Hulbert, S. H., Webb, C. A., & Smith, S. M. (2001). Antimicrobial resistance gene detection in beneficial and pathogenic. *Phytopathol.* 39:285–312/285–312.
- Hunger, S., Di Gaspero, G., Mohring, S., Bellin, D., Schafer-Pregl, R., Borchardt, D.C., Durel, C-E., Werber, M., Weisshaar, B., Salamini, F., Schneider, K. (2003). Isolation and linkage analysis of expressed disease-resistance gene analogues of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Genome* 46:70–82.
- Hvarleva, T., Tarpomanova, I., Hristova-Cherbadji, M., Hristov, M., Bakalova, A., Atanassov, A., & Atanasov, I. (2009). Toward marker assisted selection for fungal disease resistance in sunflower. Utilization of *H. bolanderi* as a source of resistance to downy mildew. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23(4), 1427–1430. <https://doi.org/10.2478/V10133-009-0007-5>.
- Imerovski, I., Dedić, B., Cvejić, S., Miladinović, D., Jocić, S., Owens, G. L., Tubić, N. K., & Rieseberg, L. H. (2019). BSA-seq mapping reveals major QTL for broomrape

- resistance in four sunflower lines. *Molecular Breeding*, 39(3). <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0948-9>.
- Imerovski, I., Dimitrijević, A., Miladinović, D., Dedić, B., Jocić, S., Tubić, N. K., & Cvejić, S. (2016). Mapping of a new gene for resistance to broomrape races higher than F. *Euphytica*, 209(2), 281–289. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1597-7>.
- Imerovski, I., Dimitrijevic, A., Miladinovic, D., Dedic, B., Jovic, S., Kovacevic, B., & Obreht, D. (2013). Identification of PCR markers linked to different *Or* genes in sunflower. *Plant Breeding*, 132(1), 115–120. <https://doi.org/10.1111/pbr.12022>.
- Iuoras, M., Stanciu, D., Ciucă, M., Năstase, D., Geronzi, F. (2004). Preliminary Studies Related To The Use Of Marker Assisted Selection For Resistance to *Orobanche cumana* Wallr. In Sunflower. Romanian Agricultural Research, 1-6.
- Jain, S. K., Kesseli R., Olivieri A. (1992). Biosystematic status of the serpentine sunflower, *Helianthus exilis* Gray. *First Int. Conf. on Serpentine Ecology*, Davis, CA. 19-22. Intercept LTD., Andover, England, UK. p. 391-408.
- Jain, S. K., Olivieri, A. M., & Fernandez-Martinez, J. (1977). Serpentine Sunflower, *Helianthus exilis*, as a Genetic Resource 1. *Crop Science*, 17(3), 477–479. <https://doi.org/10.2135/cropsci1977.0011183x001700030034x>.
- Jan, C. C., & Fernandez-Martinez, J. M. (2002). Interspecific hybridization, gene transfer, and the development of resistance to the broomrape race F in Spain. *Helia*, 25(36), 123–136. <https://doi.org/10.2298/hel0236123j>.
- Jan, C. C., Vick, B. A., Miller, J. F., Kahler, A. L., Butler, E. T. (1998). Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(1), 15–22. <https://doi.org/10.1007/s001220050703>.
- Jestin C., V. Lecomte, F. Duroueix. (2014). Current situation of sunflower broomrape in France. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Broomrape (Orobanche spp.) in Sunflower*. International Sunflower Association, Paris, France, 28-31.
- Jocković, M., Jocić, S., Cvejić, S., Miladinović, D.M., Dedić, B., Terzić, S., Marjanović-Jeromela, A., Miklić, V. (2018). *Helianthus* species as a sources for broomrape resistance. In Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; pp. 178–186.
- Joel, D. M. (2000). The long-term approach to parasitic weeds control: manipulation of specific developmental mechanisms of the parasite. In *Crop Protection* (Vol. 19).
- Johnson, KL. (1992). Basic of flow cytometry, *clin Lab Sci*; 5:22-4.
- Kallamadi, P.R., Mulpuri, S. (2016). Ploidy analysis of *Helianthus* species by flow cytometry and its use in hybridity confirmation. *Springer, Nucleus*, 59:123–130, DOI 10.1007/s13237-016-0170-7.
- Kanazin, V., Marek, L. F., & Shoemaker, R. C. (1996). Resistance gene analogs are conserved and clustered in soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(21), 11746–11750. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11746>.



- Kantar, MB, Gregory J.B., Bock D.G., Rieseberg L.H. (2014). Genomic variation in *Helianthus*: learning from the past and looking to the future, *Briefing in Functional Genomics*, 13 (4): 328-340.
- Karaboz, İ., Kayar, E., Akar, S. (2008). Flow Sitometri ve Kullanım Alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi) Cilt: 06 Sayı: 2 Sayfa: 01-18 [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080201.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080201.pdf).
- Kaya, Y. (2014). Sunflower. p. 281-315. In: A. Pratap (ed.), *Alien Gene Transfer in Crop Plants*, Vol. 2. *Springer Press*.
- Kaya, Y. (2013). Ayçiçeği: Türkiye'nin En Önemli Yağ Bitkisi. *TÜRKTOB Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*. 2 (7): 20-23.
- Kaya, Y., Jovic S., Miladinovic, D. (2012a). Sunflower breeding. *Technological Innovations in Major World Oil Crops: Breeding*. *Springer*, 85- 129. Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Kaya, Y., Evcı, G., Pekcan, V., Yılmaz, M.I. (2012b). The resistance breeding to broomrape parasite and other stress conditions in sunflower. p. 78. In: Proc. 41st Annual Meeting of ESNA. Stará Lesná, High Tatras, Slovak Republic.
- Kaya, Y., G. Evcı, V. Pekcan, T. Gucer, and I.M. Yılmaz. (2009). Evaluation of broomrape resistance in sunflower hybrids. *Helia*. 32(51):161-169.
- Kaya, Y., Evcı, G., Pekcan, V., Gucer, T. (2004). Determining new broomrape infested areas, resistant lines and hybrids in Trakya Region of Turkey. *Helia*. 27(40)211-218.
- Kaya, Y. (2003a). Türkiye'deki yağlık ayçiçeği üretiminin mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri. *Cine Tarım Dergisi*. 5: (43). 34-35.
- Kaya, Y. (2003b). Ayçiçeğinde Orobanş ve Mücadelesi. *Tarım İstanbul Dergisi*. 84: 26-28.
- Knapp, S.J., Berry, S.T., Rieseberg, L.H. (2001). Genetic Mapping Insunflower. In: *DNA Markers in Plants* (Philips RL and Vasil IK, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 379-403.
- Krupp, A., Heller, A., & Spring, O. (2019). Development of phloem connection between the parasitic plant *Orobanche cumana* and its host sunflower. *Protoplasma*, 256(5), 1385–1397. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01393-z>.
- Labrousse, P., Arnaud, M. C., Griveau, Y., Fer, A., & Thalouarn, P. (2004). Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop Protection*, 23, 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.09.013>.
- Leister, D., Kurth, J., Laurie, D. A., Yano, M., Sasaki, T., Devos, K., Graner, A., & Schulze-Lefert, P. (1998). Rapid reorganization of resistance gene homologues in cereal genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(1), 370–375. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.370>.
- Leister, D., Ballvora, A., Salamini, F., & Gebhardt, C. (1996). A PCR-based approach for

- isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics*, 14(4), 421–429. <https://doi.org/10.1038/ng1296-421>.
- Lin, F., Chen, X. M. (2007). Genetics and molecular mapping of genes for race-specific all-stage resistance and non-race-specific high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat cultivar Alpowa. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(7), 1277–1287. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0518-0>.
- Linke, K.H., Sauerborn, J., Saxena, M.C. (1989). *Orobanche* field guide. University of Hohenheim, Germany. p. 41.
- Lu, Y.H., Melero-Vara, J.M., Garcia-Tejada, J.A., Blanchard, P. (2000). Development of SCAR markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Theor. Appl. Genet.* 100, 625–632. doi: 10.1007/s001220050083.
- Lu, Y.H. Gagne, G. Grezes-Besset, B. Blanchard, P. (1999). Integration of a molecular linkage group containing the broomrape resistance gene *Or5* into an RFLP map in sunflower. *Genome*, 42, 453–456.
- Ma, D., Jan, C. (2014). Distribution and race composition of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Northern China. Proceedings of the Third Symposium on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower. pp. 65–69.
- Maklik, E., Kyrychenko, V.V., Pacureanu, M.J. (2018). Race composition and phenology of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Ukraine. In *Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower*, Bucharest, Romania, 2–4 July, pp. 67–78.
- Malek, J., del Moral, L., Fernandez-Escobar, J., Perez-Vish, B., Velasco, L. (2017). Racial characterization and genetic diversity of sunflower broomrape populations from Northern Spain. *Phytopathol. Mediterr.* 2017, 56, 70–76.
- Marek, L.F. (2016). Sunflower genetic resources. In *Proceedings of the 19th International Sunflower Conference*, Edirne, Turkey, 29 May–3 June 2016; pp. 31–44.
- Markell, S.G., Harveson, R.M., Block, C.C., Gulya, T.J. (2015). *Sunflower Diseases, Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, 1 st Edition., Martínez Force, E., Turgut Dunford, N., Salas, J.J. Editors.; AOCS Press., Urbana, IL, USA.
- Martín-Sanz, A., Pérez-Vich, B., Rueda, S., Fernández-Martínez, J. M., & Velasco, L. (2019). Characterization of post-haustorial resistance to sunflower broomrape. *Crop Science*, 60(3), 1188–1198. <https://doi.org/10.1002/csc2.20002>.
- Martín-Sanz, A., Malek, J., Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2016). Increased virulence in sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations from Southern Spain is associated with greater genetic diversity. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAY2016), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00589>.
- Martinez, JE., Beck, JR., AllsbrookWC, Pantazis, CG. (1990). Flow cytometric DNA

- analysis. *Clinic Laboratory Science*, 3:180-3.
- Matthews, J.F., Allison, J.R., Ware, R.T., Nordman, C. (2002). *Helianthus verticillatus* Small (Asteraceae) Rediscovered and Redescribed. *Castanea*, Mar., 2002, Vol. 67, No. 1, pp. 13-24. <https://www.jstor.org/stable/4034312>.
- Melchinger, A. E. (1990). Use of Molecular Markers in Breeding for Oligogenic Disease Resistance. *Plant Breeding*, 104(1), 1–19. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00396.x>.
- Melero-Vara JM., Domínguez J., Fernández-Martínez JM. (1989). Evaluation of differential lines and a collection of sunflower parental lines for resistance to broomrape (*Orobanche cernua*) in Spain. *Plant Breeding* 102: 322- 326. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0523.1989.tb01263.x>.
- Meyers, B. C., Kozik, A., Griego, A., Kuang, H., & Michelmore, R. W. (2003). Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis. *Plant Cell*, 15(4), 809–834. <https://doi.org/10.1105/tpc.009308>.
- Meyers, B. C., Dickerman, A. W., Michelmore, R. W., Sivaramakrishnan, S., Sobral, B. W., & Young, N. D. (1999). Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *Plant Journal*, 20(3), 317–332. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.1999.t01-1-00606.x>.
- Michaelson, MJ, Price, HJ, Johnston, JS, Ellison, JR. (1991). Variation of nuclear DNA content in *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Am J Bot.* 78:1238–43.
- Michelmore, R. (2000). Genomic approaches to plant disease resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3:125-131.
- Mihaljčević M. (1996). Distribution and virulence of *Orobanche* population in Yugoslavia. Proc. EUCARPIA Symp. Breed. Oil Prot. Crop, Zaporozhye, Ukraine. pp: 134-136.
- Miladinovic D, Jocić S, Dedić B, Cvejić S, Dimitrijević A, Imerovski I, Malidza G. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Serbia. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 33-38.
- Miladinovic, D., Dedić, B., Quiróz, F., Alvarez, D., Poverene, M., & Cantamutto, M. (2012a). *Orobanche cumana* Wallr. resistance of commercial sunflower cultivars grown in Argentina. *BAG - Journal of Basic and Applied Genetics*, 23(1), 37–41.
- Miladinović, D., Imerovski, I., Dimitrijević, A., Jocić, S., Cvejić, S., Dedić, B., & Miklič, V. (2012b). Conventional and molecular breeding for broomrape resistance in sunflower. *International Conference on BioScience: Biotechnology and Biodiversity - Step in the Future, 2003*, 180–183.
- Molinero-Ruiz, Leire, Delavault, P., Pérez-Vich, B., Pacureanu-Joita, M., Bulos, M., Altieri, E., & Domínguez, J. (2015). History of the race structure of *Orobanche cumana* and the breeding of sunflower for resistance to this parasitic weed: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(4), 1–19. <https://doi.org/10.5424/sjar/2015134-8080>.
- Molinero-Ruiz L., Dominguez J. (2014). Current situation of sunflower broomrape in

- Spain. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. pp: 19-27.
- Molinero-Ruiz, L., García-Carneros, A. B., Collado-Romero, M., Raranciuc, S., Domínguez, J., & Melero-Vara, J. M. (2014). Pathogenic and molecular diversity in highly virulent populations of the parasitic weed *Orobanche cumana* (sunflower broomrape) from Europe. *Weed Research*, 54(1), 87–96. <https://doi.org/10.1111/wre.12056>.
- Molinero-Ruiz, M. L., Pérez-Vich, B., Pineda-Martos, R., & Melero-Vara, J. M. (2008). Indigenous highly virulent accessions of the sunflower root parasitic weed *Orobanche cumana*. *Weed Research*, 48(2), 169–178. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2007.00611.x>.
- Muller-Stöver, D., Kohlschmid, E., & Sauerborn, J. (2009). A novel strain of *Fusarium oxysporum* from Germany and its potential for biocontrol of *Orobanche ramosa*. *Weed Research*, 49(2), 175–182. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00686.x>.
- Mulpuri S., Liu Z., Feng, J., Gulya, T.J., Jan, C. (2009). Inheritance and molecular mapping of a downy mildew resistance gene, P113 in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Springer-Verlag. *Theor Appl Genet.* 119:795–803 DOI 10.1007/s00122-009-1089-z.
- Musselman, L.J. (1994). Taxonomy and Spread of *Orobanche*. Germination Ecology of *Striga* and *Orobanche* an Overview. *Biology and Management of Orobanche*, Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and Related *Striga* Research. Editors, Arnold H. Pieterse Jus A.C., Verkleij Sing, J.ter Burg Royal Tropical Institute, The Netherlands, pp. 27-35.
- Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., & Vieira, M. L. C. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29(2), 294–307. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000200018>.
- Oliveri, A.M., Jain, S.K. (1977). Variation in the *Helianthus exilis-bolanderi* complex. *Madroo*, vol 24.
- Özer Z., Kadioğlu İ., Önen H., Tursun N. (2001). *Herboloji (Yabancı Ot Bilimi) Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, No:20 Kitap seri No:10 Tokat.
- Pacureanu Joita, M., Fernández-Martínez, J., Sava, E., Raranciuc, S. (2009). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), the most important parasite in sunflower. *Analele Institutului National de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea*, 77, 49–56.
- Pacureanu-Joita, M., Raranciuc, S., Stanciu, D., Sava, E., & Nastase, D. (2008). Virulence and aggressiveness of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations, in Romania. *Romanian Agricultural Research*, 25, 47–50.
- Pacureanu-Joita, M., Veronesi, C., Raranciuc, S., & Stanciu, D. (2004). Parasite-host plant interaction of *Orobanche cumana* Wallr. (*Orobanche cernua* Loefl.) with *Helianthus annuus*. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*

- (pp. 171–177). Paris: International Sunflower Association.
- Pacureanu-Joita, M., Vranceanu, A.V., Soare, G., Marinescu, A., Sandu, I. (1998). The evaluation of the parasite-host interaction in the system *Helianthus annuus* L.–*Orobanche cumana* Wallr. in Romania. *Proceedings of the 2nd Balkan Symposium in Field Crops*, 153–158. pp. 1–20 Novi Sad, Serbia.
- Pahalawatta, V., and Chen, X. M. (2005). Genetic analysis and molecular mapping of wheat genes conferring resistance to the wheat stripe rust and barley stripe rust pathogens. *Phytopathology*. 95:427-432.
- Pamphilis, C.W., Palmer, J.D. (1990). Loss of Photosynthetic and Chlororespiratory Genes From The Plastid Genome of a Parasitic Flowering Plant. *Nature* ,348: 337-339.
- Parker, C. (2009). Observations on the current status of orobanche and striga problems worldwide. *Pest Management Science*, 65(5), 453–459. <https://doi.org/10.1002/ps.1713>.
- Parker C, Riches CR (1993). Parasitic Weeds of the World: Biology and Control. *CAB International*, Wallingfort, UK, 332 pp.
- Pathak, A., & Kannan, C. (2014). A new cost-effective method for quantification of seed bank of Orobanche in soil. *Indian Journal of Weed Science*, 46(2), 151–154.
- Peerbolte, R.P., Peleman, J. (1996). The CARTISOL sunflower RFLP map (146 loci) extended with 291 AFLP markers. *In Proceedings of the 18th Sunflower Research Forum*, Fargo, ND, USA (Bismarck, ND: National Sunflower Association), 174–178.
- Peñuela, S., Danesh, D., & Young, N. D. (2002). Targeted isolation, sequence analysis, and physical mapping of nonTIR NBS-LRR genes in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(2–3), 261–272. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0785-0>.
- Perez-Vich, B.; Velasco, L.; Rich, P.J.; Ejeta, G. (2013). Marker-assisted and physiology-based breeding for resistance to root parasitic Orobanchaceae. In *Parasitic Orobanchaceae*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2013; pp. 369–391.
- Perez-Vich, B., Akhtouch, B., Knapp, S. J., Leon, A. J., Velasco, L., Fernández-Martínez, J. M., & Berry, S. T. (2004). Quantitative trait loci for broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) resistance in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(1), 92–102. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1599-7>.
- Perez-Vich, B., Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Fernández-Martínez, J. M., & Jan, C. C. (2002). Inheritance of resistance to a highly virulent race f of *orobanche cumana* wallr. in a sunflower line derived from interspecific amphiploids. *Helia*, 25(36), 137–144. <https://doi.org/10.2298/hel0236137p>.
- Pineda-Martos, Rocío, Pujadas-Salvà, A. J., Fernández-Martínez, J. M., Stoyanov, K., Velasco, L., & Pérez-Vich, B. (2014). The genetic structure of wild *orobanche cumana* wallr. (Orobanchaceae) populations in eastern Bulgaria reflects introgressions from weedy populations. *Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2014/150432>.

- Pineda-Martos, R., Velasco, L., Fernández-Escobar, J., Fernández-Martínez, J. M., & Pérez-Vich, B. (2013). Genetic diversity of *Orobanche cumana* populations from Spain assessed using SSR markers. *Weed Research*, 53(4), 279–289. <https://doi.org/10.1111/wre.12022>.
- Pototskyi G. (2014). Current situation of sunflower broomrape in Ukraine. Proc. 3rd Int. Symp. on Broomrape (*Orobanche* spp.) in Sunflower, Córdoba, Spain. p: 56.
- Quint, M., DuBle, C. M., Melchinger, A. E., & Lübberstedt, T. (2003). Identification of genetically linked RGAs by BAC screening in maize and implications for gene cloning, mapping and MAS. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(7), 1171–1177. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1105-z>.
- Radwan, O., Ahmed, T.A., Knapp, S.J. (2009). Identification of TIR-NBS-LRR resistance gene candidates linked to *Or5* locus for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower.
- Radwan, O., Gandhi, S., Heesacker, A., Whitaker, B., Taylor, C., Plocik, A., Kesseli, R., Kozik, A., Michelmore, R. W., & Knapp, S. J. (2008). Genetic diversity and genomic distribution of homologs encoding NBS-LRR disease resistance proteins in sunflower. *Molecular Genetics and Genomics*, 280(2), 111–125. <https://doi.org/10.1007/s00438-008-0346-1>.
- Radwan, O.E., Abratti, G., Heesacker, A.F., Bazzalo, M.E., Zambelli, A., Leon, A.J., Knapp, S.J. (2007). Discovery, mapping, and expression of NBS-LRR genes linked to downy mildew and rust resistance gene clusters in sunflower. *Plant and Animal Genome Conference*, San Diego, CA, USA, January 13-17.
- Radwan, O., Bouzidi, M. F., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2004). Development of PCR markers for the P15/P18 locus for resistance to *Plasmopara halstedii* in sunflower, *Helianthus annuus* L. from complete CC-NBS-LRR sequences. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(1), 176–185. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1613-0>.
- Radwan, O., Bouzidi, M. F., Vear, F., Philippon, J., De Labrouhe, D. T., Nicolas, P., & Mouzeyar, S. (2003). Identification of non-TIR-NBS-LRR markers linked to the P15/P18 locus for resistance to downy mildew in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(8), 1438–1446. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1196-1>.
- Rees, H., & Walters, M. R. (1965). Nuclear DNA and the evolution of wheat differences between genotypes to be directly reflected by differences in the total amount of nuclear DNA, in the DNA base ratios and in the order of bases along the DNA chains. *Where differences b.* 1944.
- Rieseberg, L. H., Choi, H., Chan, R., & Spore, C. (1993). Genomic map of a diploid hybrid species. *Heredity*, 70(3), 285–293. <https://doi.org/10.1038/hdy.1993.41>.
- Rieseberg, L. H., Soltis, D. E., & Palmer, J. D. (1988). A Molecular Reexamination of Introgression between *Helianthus annuus* and *Helianthus bolanderi* (Compositae). *Evolution*, 42(2), 227. <https://doi.org/10.2307/2409227>.
- Rîsnoveanu, L., Joița-Păcureanu, M., & Anton, F. G. (2016). The virulence of Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower crop in Braila area, in Romania. *Helia*, 39(65), 189–196. <https://doi.org/10.1515/helia-2016-0015>.

- Robinson, R. G. (1978). Production and culture. *Sunflower Science and Technology*, no. 19, pp. 89-143.
- Rodriguez-Ojeda, M. I., J., Fernandez-Escobar, Alonso, L.C. (2001). Sunflower inbred line (KI-374) carrying two recessive genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* Loefl./*O. cumana* Wallr. race "F". *Proceedings of 7th International Parasitic Weed Symposium*, 208—211, Nantes, France.
- Saavedra del Río M., Fernández-Martínez JM., Melero-Vara JM. (1994). Virulence of populations of *Orobanche cernua* Loefl. attacking sunflower in Spain. Proc. 3rd Int. Workshop on *Orobanche* and related Striga research. Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Netherlands. pp: 139- 141.
- Saghir, A.R. (1986). Dormancy and Germination of Orobanche seeds in Relation to Control Methods. In *Biology and Control of Orobanche. Proceedings of a Workshop in Wageningen, The Netherlands*, 13-17 January 1986. Pages 25-34.
- Saftić-Panković, D., Hladni, N., Satovic, Z., Radovanović, N., Kraljević-Balalić M. (2010). Genetic distance and heterosis for yield components in hybrid combinations of inbred lines from interspecies crosses. *8<sup>th</sup> European Sunflower Biotechnology Conference SUNBIO*, 1-3 March, Antalya, Turkey, 45.
- Sauerborn, J., Buschmann, H., Ghiasvand Ghiasi, K., & Kogel, K. H. (2002). Benzothiadiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *Orobanche cumana*. *Phytopathology*, 92(1), 59–64. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.1.59>.
- Sayago, A., Perez-Vich, B., Fernandez-Martinez, J.M., Velasco, L. (2018). A new source of posthaustorial resistance to sunflower broomrape derived from *Helianthus praecox*. In *Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower*, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018; p. 147.
- Schilling, E.E. (2006). *Helianthus*. In: *Flora of North America* Editorial Committee, editors, *Flora of North America north of Mexico*. Vol. 21. *Oxford Univ. Press, New York and Oxford*. p. 141–169.
- Schilling, E.E., Heiser, C. B., Taxon, S., & May, N. (1981). Infrageneric Classification of *Helianthus* (Compositae). *Wiley*, 30(2), 393–403. Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/1220139>.
- Seiler, GJ, Qi, L., Science, L. M.-C. (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Wiley Online Library*, 57(3), 1083–1101. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0856>.
- Seiler, G., Marek, F. (2011). Germplasm resources for increasing the genetic diversity of global cultivated sunflower. *Helia*, 34(55), 1–20. <https://doi.org/10.2298/HEL1155001S>.
- Seiler, G.J., Jan, C., Gulya, T.J. (2008). Use of Wild *Helianthus* Species in Sunflower Breeding. *Proceedings of the International Conference on Conventional and Molecular Breeding of Field and Vegetable Crops*, November 24-27, Novi Sad, Serbia. p. 71-76.

- Seiler, G., Gulya, T. (2004). Exploration for wild *Helianthus* species in North America: challenges and opportunities in the search for global treasures. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA. pp: 43–68.
- Seiler, G.J., Rieseberg, L.H. (1997). Systematics, Origin, and Germplasm Resources of the Wild and Domesticated Sunflower. In A.A. Schneiter (ed.) *Sunflowertechnology and production*, p.21-65.
- Serieys, H. (1994). Report on the past activities of the FAO working group: "identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources", for the period 1991-1993. *Helia*. <https://hal.inrae.fr/hal-02699857>.
- Sestacova, T., Giscă, I., Cucereavii, A., Port, A., & Duca, M. (2016). Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(4), 685–691. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1179591>.
- Sims, LE, Price, HJ. (1985). Nuclear DNA content variation in *Helianthus* (*Asteraceae*). *Am J Bot*, 72: 1213-19.
- Skorić, D., Seiler GJ., Zhao, L., Chao-Chien, J., Miller, JF. (2012a). Sunflower Genetics and Breeding. *International Monogram. Serbian Acad. Sci.* 1-125.
- Skoric, D. (2012b). The Genetics of Sunflower. In Sunflower Genetics and Breeding, Editors: Skoric, D., Sakac, Z. *Serbian Academy of Sciences and Arts: Novi Sad, Serbia*, 1–163.
- Škorić, D., Pacureanu, M. (2010). Sunflower breeding for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* wallr.). Krasnodar Symposium, June 23-24.
- Shapiro, H. M. (1985). *Pages\_from\_Practical\_Flow\_Cytometry.pdf*.
- Shi, B.X., Chen, G.H., Zhang, Z.J., Hao, J.J., Jing, L., Zhou, H.Y., Zhao, J. (2015). First Report of Race Composition and Distribution of Sunflower Broomrape, *Orobanche cumana*, in China. *Plant Dis.* 2015, 99, 291.
- Shindrova, P. (2006). Broomrape (*Orobanche cumana* wallr) in Bulgaria -distribution and race composition. *Helia*, 29(44), 111–120. <https://doi.org/10.2298/hel0644111s>.
- Staskawicz, B. J., Ausubel, F. M., Baker, B. J., Ellis, J. G., & Jones, J. D. G. (1995). Molecular Genetics of Plant Disease Resistance. *Science*, 268(6), 661–667.
- Sujatha, M. (2006). Wild *Helianthus* Species Used for Broadening the Genetic Base of Cultivated Sunflower in India. *Helia*, 29(44), 77–86. <https://doi.org/10.2298/hel0644077s>.
- Şahin, M. (2019). Bazı Yabancı Ayçiçeği Türlerinin Çekirdek Dna İçeriklerinin Belirlenmesi. *Trakya Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Edirne*.
- Sestacova, T.; Giscă, I.; Cucereavii, A.; Port, A.; Duca, M. (2016). Expression of defence-related genes in sunflower infected with broomrape. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2016, 30, 685–691.



- Tang, S., Heesacker, A., Kishore, V. K., Fernandez, A., Sadik, E. S., Cole, G., & Knapp, S. J. (2003). Genetic mapping of the *Or5* gene for resistance to Orobanche Race E in sunflower. *Crop Science*, 43(3), 1021–1028. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1021>.
- Tavoljanskiy, N. P., Tavoljanskiy, A. N., Chiryayev, P. V., & Tikhomirov, V. T. (2004). Interspecific Hybridization in Sunflower Breeding for Economically Valuable Characteristics. *Helia*, 27(40), 143–148. <https://doi.org/10.2298/hel0440143t>.
- Tavoljanski, N., Yesaev, A., Akhtulova, E., Tikhomirov, V., & Yakutkin, V. (2002). Using the collection of wild species in sunflower breeding. *Helia*, 25(36), 65–78. <https://doi.org/10.2298/hel0236065t>.
- Terzić, S., Dedić, B., Atlagić, J., Jocić, S., & Tančić, S. (2010). Screening wild sunflower species and F1 interspecific hybrids for resistance to broomrape. *Helia*, 33(53), 25–30. <https://doi.org/10.2298/HEL1053025T>.
- Tolmachyov VV. (1990). Genetic control of sunflower resistance to broomrape - *Orobanche cumana* Wallr. PhD -thesis, Leningrad. 23 p. [In Russian].
- Tuna, M. (2009). Bitkilerde Çekirdek DNA İçeriğinin Flow Sitometri İle Belirlenmesi ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanım Alanları. Türkiye VIII. *Tarla Bitkileri Kongresi*, Cilt I, Sunulu Bildiriler, 683-687, 19-22 Ekim, Hatay.
- Tuna, M., Khadka, DK., Shrestha, MK., Arumuganathan, K., Golan–Goldhirsh, A. (2004). Charecterization of Natural Orchardgrass Populations of Thrace of Turkey Based on Ploidi and DNA Polymorphisms. *Euphytica*, 88:25-34.
- Tuna, M., Vogel, K.P., Arumuganathan, K., Gill, K.S. (2001). DNA Content and Ploidy Determination of Bromegrass Germplasm Accessions by Flow Cytometry. *Crop Science*, Vol, 41:1629–1634.
- TÜİK. (2019). Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı Ankara. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim Tarihi: 25.12.2019).
- Tüik. (2021). <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16020>.
- Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: Features and applications. *Trends in Biotechnology*, 23(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005>.
- Vassilevska-Ivanova, R., Tcekova, Z. (2003). Hybridization in perennial sunflowers: *Helianthus annuus* x *Helianthus pauciflorus* ssp. *subrhomboides*. *Bulgarian Academy of Sciences*, 56(12): 97-102.
- Vear, F. (2011). Helianthus. In Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Oilseeds (pp. 161–170). *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-14871-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-14871-2_9).
- Vear, F., & Grezes-Besset, B. (2010). Progress in breeding sunflowers for resistance to Sclerotinia. *Proceedings of the International Symposium: Sunflower Breeding on Resistance to Diseases.*, 184.
- Vear, F. (2004). Breeding for Durable Resistance to the Main Diseases of Sunflower. *Proc. 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA.

- Velasco, L., Pérez-Vich, B., Yassein, A. A. M., Jan, C. C., Fernández-Martínez, J. M. (2012). Inheritance of resistance to sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in an interspecific cross between *Helianthus annuus* and *Helianthus debilis* subsp. *tardiflorus*. *Plant Breeding*, 131(1), 220–221. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01915.x>.
- Velasco, L., Pérez-Vich, B., Jan, C. C., & Fernández-Martínez, J. M. (2007). Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) race F in a sunflower line derived from wild sunflower species. *Plant Breeding*, 126(1), 67–71. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01278.x>.
- Veronesi, C., Bonnin, E., Calvez, S., Thalouarn, P., & Simier, P. (2007). Activity of secreted cell wall-modifying enzymes and expression of peroxidase-encoding gene following germination of *Orobanche ramosa*. *Biologia Plantarum*, 51(2), 391–394. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0084-y>.
- Vieira, M. L. C., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. de F. (2016). Microsatellite markers: What they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, 39(3), 312–328. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>.
- Vranceanu, A.V., Tudor, V.A., Stoenescu, F. M., Pirvu, N. (1980). Virulence groups of *Orobanche cumana* Wallr., different hosts and resistance sources and genes in sunflower. *Proceedings of 9th International Sunflower Conference*, 74–82. Torremolinos, Spain.
- Watson, E. E. (1929). Contributions to a monograph of the genus *Helianthus*. New York University.
- [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org). (2019).
- Yu, J. K., Tang, S., Slabaugh, M. B., Heesacker, A., Cole, G., Herring, M., Soper, J., Han, F., Chu, W. C., Webb, D. M., Thompson, L., Edwards, K. J., Berry, S., Leon, A. J., Grondona, M., Olungu, C., Maes, N., & Knapp, S. J. (2003). Towards a saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower. *Crop Science*, 43(1), 367–387. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0367>.
- Yu, Y. G., Buss, G. R., & Saghai Maroof, M. A. (1996). Isolation of a superfamily of candidate disease-resistance genes in soybean based on a conserved nucleotide-binding site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(21), 11751–11756. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11751>.
- Zare, G., & Dönmez, A. A. (2013). Two new records of the genus *Orobanche* (Orobanchaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 37(3), 597–603. <https://doi.org/10.3906/bot-1205-44>.
- Zhang, X., Zheng, C., Wang, M., An, Y., Zhao, S., Jan, C.C. (2018). Identification of Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) Biotypes in the Main Sunflower Growing Areas of China. In *Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July 2018*; pp. 19–22.
- Zoltán P. (2001). Napraforgószárdor - (*Orobanche cumana* Loefl.) populációk patogenitásának vizsgálata. *Növényvédelem* 37: 173-18

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı:** Müge TÜRKOĞLU KOÇ

**E-Posta:** mugeturkoglu@hotmail.com



### EĞİTİM BİLGİLERİ

**Doktora:** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mühendislik Bölümü  
Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı / 02.2016 – 01.2022

**Doktora Tezi:** Akış Sitometri Yöntemiyle Yabani Ayçiçeği Türlerinde Çekirdek DNA  
İle Ploidi Analizi Ve Orobanşa Dayanım İçin Seçici Moleküler Markırların Araştırılması  
(Tamamlandı). Danışman: Prof. Dr. Yalçın KAYA

**Yüksek Lisans:** Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Botanik  
Anabilim Dalı / 09.2011 – 04.2014

**Yüksek Lisans Tezi:** " Trakya Bölgesi'nde Bulunan *Viola* L. Türleri Üzerinde  
Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Araştırmalar " (Tamamlandı). Danışman:  
Prof. Dr. Feruzan DANE

**Ön Lisans:** Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi/ Bitkisel ve Hayvansal Üretim  
Bölümü, Tarım Programı/8.6.2021

**Lisans:** Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü / 09.2007  
– 06.2011

**Lise:** Diyarbakır Cumhuriyet Lisesi / 2004 mezunu

### **İŞ TECRÜBESİ**

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde TÜBİTAK'ın Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesinde bursiyer olarak çalışmaktayım.(2019-2022)

Trakya Üniversitesi Devlet Konservatuarı Bale ve Müzik Ortaokulu'nda Fen Bilimleri Öğretmeni 02.2014 – 01.2018

### **AKADEMİK VE İDARİ GÖREV**

2019-2022 TÜBİTAK Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesi 'Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi' adlı projede bursiyer olarak çalışmaktayım.

2014-2018 Trakya Üniversitesi Devlet Konservatuarı Bale ve Müzik Ortaokulu'nda Fen Bilimleri derslerine girdim.

2013-2014 Trakya Üniversitesi Balkan Arboretumu Canlı Ağaç Müzesi projesinde çalıştım.

2012-2014 yılından beri EDTU Herbarium sorumlusu Doç. Dr. Mehmet Aybeke'nin yanında Herbarium çalışmalarında bulundum.

2009-2013 yılları arasında Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesinde Yrd. Doç. Dr. Nuran Ekici'nin yanında preparasyon çalışmalarında bulundum.

### **YAYINLAR**

#### **Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler**

**Koç Türkoğlu, M.,** Dane F., " Trakya Bölgesi'nde *Viola L. (Violaceae)* Cinsi" IJABES, Vol:3, Issue: 2(1-3), 2667-6540, 2021.

**Müge Türkoğlu & Feruzan Dane** (Reports 110-113) 2012: *Viola L. (Violaceae)*, in: Vladimirov V, Dane F.,Matevski. V.,Stevanović V& Tan K.,: New chorological data fortheBalkans: 19 PhytologicaBalcanicae 18 (2): 223, Sofia,

AKBAŞ H. , LEVENTER S. ,DANE F. , **TÜRKOĞLU M.** ve KÖSE B. "Katyonik Gemini Sürfaktant (10-2-10), (12-2-12) ve Ticari Sürfaktant CTAB'nın Allium cepa L. Üzerindeki Fitotoksik Etkisi" Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 7 (2): 06-09 (Şubat 2014)

### **Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler (Proceedings)**

Dane F., Akbaş H., **Türkoğlu M** and Leventer S. "INTERNATIONAL Conference on Chemical, Environment and Biological Sciences (CEBS-2014)", KUALA LUMPUR (MALAYSIA) , "Phytotoxic Effects of dimeric cationic surfactant Gemini (16-2-16), (16-6-16) and (16-10-16)" (Eylül 2014)

### **Uluslararası Konferans ve Sempozyumlar**

Dane, F., Akbaş, H., **Türkoğlu M.**, Leventer, S., "Phytotoxic Effects of Dimeric Cationic Surfactant Gemini (16-2-16), (16-6-16) and (16-10-16)." IICBE Kuala Lumpur, MALAYSIA, 17-18 Eylül 2014.

### **Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler**

**Koç Türkoğlu, M.**, Dane F., " Trakya Bölgesi'nde *Viola L. (Violaceae)* Cinsi", 8. Ulusal Botanik Kongresi, 22-24 Ekim 2021, Online, Abstracts Book, p. 13, Turkey [Sözlü bildiri, özet metin halinde basılmıştır].

Akbaş, H., Leventer S., Dane, F., **Türkoğlu M.**, Köse B., "Katyonik Gemini Sürfaktant (10-2-10), (12-2-12) ve Ticari Sürfaktant CTAB nın Allium cepa L. Üzerindeki Etkileri." Ulusal Botanik Kongresi, Antalya, TÜRKİYE, 25-28 Ekim 2014.

### **PROJELER**

TÜBİTAK Bulgaristan ile İkili İşbirliği Projesi 'Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi' (Proje no: 1190218) Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Yalçın KAYA, (2019-2022) Devam ediyor.

"Trakya Bölgesi'nde Bulunan *Viola* L. Türleri Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Araştırmalar" (Yüksek Lisans Tez Projesi-TUBAP-2013 /63), Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Feruzan DANE, Tamamlandı (04. 2014)

Trakya Üniversitesi Arboretumu Canlı Ağaç Müzesi, Bitkilendirme ve Bitkilerin Adlandırılması Çalışmaları, Seraların Kurulması ve Bakımı, 5 Mart 2013

## **KONGRE VE SERTİFİKALAR**

### **8. Ulusal Botanik Kongresi / Online/ 22-24 Ekim 2021**

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **E-AGBİOL 2021 Kongresi / 1–3 Eylül 2021.** (Organizasyon Komitesi)

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü **E-AGRİBALKAN 2021 Kongresi / 29 Ağustos-1 Eylül 2021.**(Organizasyon Komitesi)

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Kulübü, **Biyoteknoloji V4 Konferansı / 26-27 Aralık 2020**

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji ve Genetik Bölümü, **E-AGBİOL 2020 Kongresi / 1-3 Eylül 2020.** (Organizasyon Komitesi)

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

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

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü **21.Ulusal Biyoloji Kongresi / 03-07 Eylül 2012**

Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde Düzenlenen **DNA ve RNA Tabanlı Moleküler Yöntemler** Çalıştayı / 25-26 Nisan 2012

Trakya Üniversitesi **Kariyer Günleri** 2010 Katılım Belgesi / 28-29 Nisan 2010

**SINAV BİLGİLERİ**

ALES - Akademik Personel ve Lisansüstü Eğitimi Giriş Sınavı (71,17) / 02.2021

YÖKDİL – Yabancı Dil Sınavı (62,50) / 03.11.2019