T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİ (*HELIANTHUS* SPP) YABANİ TÜRLERİNİN MOLEKÜLER FİLOGENETİK ANALİZİ VE GENETİK KARAKTERİZASYONU

SİMGE BAĞCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. YALÇIN KAYA

EDİRNE-2023

SİMGE BAĞCI'nın hazırladığı **"AYÇİÇEĞİ (*Helianthus* spp.) YABANİ TÜRLERİNİN MOLEKÜLER FİLOGENETİK ANALİZİ ve GENETİK KARAKTERİZASYONU"** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalında** bir **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri: İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Yalçın KAYA

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

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

17/01/2023

SİMGE BAĞCI

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Ayçiçeği *(Helianthus* spp.) Yabani Türlerinin Moleküler Filogenetik Analizi ve Genetik Karakterizasyonu

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

ÖZET

Bilindiği üzere ayçiçeği ülkemizde ve dünyada yaygın olarak kullanılan oldukça önemli bir yağ bitkisidir. Ülkemizin bitkisel yağ ihtiyacının her geçen gün artan nüfusumuz ile birlikte karşılanması için, ülkemizde en çok ekilen yağ bitkisi olan ayçiçeğinden elde edilen verimin de arttırılması son derece önemlidir. Tane veriminin dolayısıyla üretimin arttırılması ve daha yüksek kalitede ayçiçeği elde edilebilmesi için, halihazırda ekilen çeşitlere olumsuz çevre şartlarına dayanıklı genlerin ve verimi arttırıcı yeni özelliklerin aktarılması mutlak gereklidir. Bu amaçlar için en önemli gen kaynakları, ABD de birçok olumsuz koşullarda yetişebilen ayçiçeğinin yabani türleridir. Yabani ayçiçeği türlerinin sınıflandırılarak ayçiçeği ıslahçılarına daha doğru bilgiler vermek amacıyla günümüze kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Klasik sınıflandırmanın yanında, daha doğru ve tutarlı bilgiler veren moleküler filogenetik çalışmaları kullanarak, yabani türlerin özellikleri ve birbirileriyle ilişkileri araştırılması da son derece önemlidir. Bu tez çalışmasında *Helianthus* cinsindeki 52 farklı ayçiçeği türü kullanılarak, ayçiçeği cinsindeki türler arasındaki benzerlikleri araştırmak amacıyla, daha önceki literatürlerde belirtilen ayçiçeğinde polimorfizm gösterdiği bilinen 14 farklı primer ile moleküler filogenetik çalışması yapılmıştır. Primerler ile yapılan PCR reaksiyonları sonucu elde edilen PCR ürünlerine ait DNA fragmentleri kapiler elektroforez cihazıyla ölçülmüştür. Elde edilen veriler uygun formatta tablo haline getirilmiştir. Elde edilen allellerin frekansları GenAlex 6.5, PIC değerleri CERVUS programları kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışan 8 primerden toplam 134 allel elde edilmiştir. En çok allel (19) ORS662 markırın da görülmüştür. En az allel (10) ise ORS331 markırında görülmüştür. Lokus başına allel sayısı ortalama 16 olarak hesaplanmıştır. Daha sonra benzerlik matriksilerine

dayalı UPGMA dendrogamı oluşturulmuştur. Elde edilen dendrograma göre kültür ayçiçeğine *(H. annuus)* en yakın türün *H. eggertii* olduğu görülmüştür. İki tür arasındaki benzerlik indeksi 0,589 olarak hesaplanmıştır. *H. eggerti* türünden sonra en benzer türler sırasıyla *H. pauciflorus, H. praecox* ve *H. decapetalus* olmuştur. Bu çalışma ile ayçiçeği türleri arasında ayırt edici olabilecek 8 adet markır belirlenmiş ve türlerin birbirine olan yakınlıkları hakkında sonuçlar elde edilmiştir.

Yıl: 2023

Sayfa Sayısı: 71

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, Yabani, Moleküler Filogenetik, SSR, Dendrogram

Master's Thesis

Molecular Phylogenetic Analysis and Genetic Characterization of Wild Species of Sunflower (*Helianthus* spp.)

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Genetic and Bioengineering

ABSTRACT

As it is known, sunflower is a very important oil crop that is generally used in Turkey and the world. To compensate of our country vegetable oil need increased day by day with increasing population, it needs to increase the sunflower yield. The increase sunflower seed yield and production as well as the quality, the planted cultivars should have the resistant genes for better adaptation capability to bad environmental conditions as well as new better specifications for higher yielding. Sunflower wild species growing in many bad environments are the main resources for these purposes. There are many conducted studies to give right and proper information to sunflower breeders until now for classifying wild species. In addition to classical phylogenetic, it is so important that searching of relationships and specifications of sunflower wild species utilizing from molecular phylogenetic studies given more appropriate and reasonable information. In this thesis study, molecular phylogenetic analysis was performed utilizing from 14 different primers known to show polymorphism in sunflower mentioned in the previous literatures to define of the similarities among wild sunflower species with using 52 different species in *Helianthus* genus. DNA fragments of PCR products obtained as a result of PCR reactions with primers were measured with a capillary electrophoresis device. The obtained data has been tabulated in the appropriate format. The frequencies of the obtained alleles were analyzed using GenAlex 6.5 and PIC values were analyzed using CERVUS programs. A total of 134 different alleles were obtained from 8 working primers. The most allele (19) was seen in the ORS662 marker. The least allele (10) was seen in ORS331 marker. The average number of alleles per locus was calculated as 16. Then, the UPGMA dendrogam was created based on similarity matrices. According to

the obtained dendrogram, it was observed that the closest species to cultivated sunflower (*H. annuus*) was *H. eggertii.* The similarity index between the two species was calculated as 0.589. After *H. eggerti,* the most similar species were *H. pauciflorus, H. praecox* and *H. decapetalus*, respectively. With this study, 8 markers that could distinguish the similarities among sunflower species were determined and the results were obtained about the proximity of the species to each other.

Year: 2023

Number of Pages: 71

Keywords: Sunflower, Wild, Molecular Phylogenetic, SSR, Dendrogram

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her anlamda desteğini esirgemeyen, sabır ve sevgi ile her zaman yardımcı olan danışmanım Prof. Dr. Yalçın KAYA'ya (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), özellikle laboratuvar çalışmalarımda fakat haricinde her konuda destek olan hocam Prof. Dr. Semra HASANÇEBİ'ye (Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü), laboratuvar uygulamalarında yardımlarından ve her zaman son derece sıcakkanlı, yardımsever yaklaşımlarından dolayı Öğr. Gör. Emrah AKPINAR, Araş. Gör. Burak TATLISES, Dr. Müge TÜRKOĞLU KOÇ'a, çok sevgili arkadaşlarım Havva AKAR, Elifgül AKSU, Nilsu İZGİ'ye, maddi ve manevi destekleri ile arkamda duran aileme teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TÜBİTAK 119O218 nolu "Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi" projesi ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TUBAP 2020/62 numaralı "Yabani Ayçiçeği (*Helianthus spp*) Türlerinin Moleküler ve Klasik Metotlarla Filogenetik Analizi" projesiyle desteklenmiştir. TÜBİTAK'a ve TUBAP birimine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET....iv
ABSTRACT....vi
TEŞEKKÜR....viii
İÇİNDEKİLER....ix
SİMGELER DİZİNİ....xi
KISALTMALAR DİZİNİ....xii
AATI : Advance Analytical Fragment Analyzer....xii
ÇİZELGELER DİZİNİ....xv
BÖLÜM 1....1
GİRİŞ....1
BÖLÜM 2....3
GENEL BİLGİLER....3
2.1. Ayçiçeği (*Helianthus* spp.) Taksonomisi....3
2.2. Ayçiçeğinin Tarihçesi....5
2.3. Ayçiçeğinin Morfolojik Özellikler....6
2.4. Biyoçeşitlilik ve Bitki Gen Kaynakları....7
2.5. Ayçiçeğinde Biyoçeşitlilik....9
2.6. Yabani Ayçiçeği Türlerinin Tespit Edilen Avantajlı Özellikleri....13
2.7. Türler Arası Filogenetik İlişkinin Analizi....15
2.8. Ayçiçeği Türlerinde Moleküler Filogenetik....16
2.9. SSR (Simple Sequence Repeat) Markır....18
2.10. Kültürü Yapılan Ayçiçeğinde SSR Markır Çalışmaları....19
3. BÖLÜM....21
MATERYAL ve METOD....21
3.1 Materyal....21
3.2 Yöntem....23
3.2.1 Çimlendirme....23
3.2.2 DNA İzolasyonu....25

3.2.3 DNA Konsantrasyon Ölçümü ve Kalite tayini 26
3.2.4 SSR Markırlarının Belirlenmesi 26
3.2.5 PCR Analizleri 27
3.2.6 Kapiler Elektroforez 30
3.2.7 Verilerin İşlenmesi ve Dendrogramın Oluşturulması 30
BÖLÜM 4 31
BULGULAR 31
4.1. gDNA İzolasyonu İle İlgili Sonuçlar 31
4.2. Kapiler Elektroforez Sonuçları 32
4.3. Yabani Ayçiçeği Türlerinde SSR Lokusları ve Çeşitlilik 42
BÖLÜM 5 47
SONUÇLAR ve TARTIŞMA 47
KAYNAKLAR 50
ÖZGEÇMİŞ 55

SİMGELER DİZİNİ

^{0}C :	Santigrat derece
cm :	Santimetre
nm:	Nanometre
M :	Molarite
mg :	Miligram
ml :	Mililitre
µL :	Mikrolitre
mM :	Milimolar
nm :	Nanomol
ng :	Nanogram
% :	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AATI : Advance Analytical Fragment Analyzer

bp,bç : Base pair (Baz Çifti)

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

gDNA : Genomik DNA

ha: hektar

LG: Linkage group

MAS: Markır destekli seleksiyon

pH: Potansiyel Hidrojen

PCR : Polymerase Chain Reaction

PIC : Polymorphic information content (Polimorfik Bilgi İçeriği)

ppm.: parts per million

RNA: Ribonükleik Asit

rpm : Dakikadaki Devir Sayısı

SSR : Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Arası Tekrarları)

SN: Sort No

spp.: species pulural

Tm : DNA'nın Erime Sıcaklığı

USDA: United States Department of Agriculture

UV : Ultraviole Işığı

vb.: ve benzeri

vd.: ve diğerleri

QTL: Kantitaif karakter lokusu

X: Konsantrasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. *Helianthus annuus L.* (*Helianthus annuus*, 2023) 4
Şekil 2.2. Çalışma bahçemizden farklı yabani ayçiçeği görüntüleri 7
Şekil 3. 1. Petri kaplarına alınan tohumlar- Tohumlara etafon eklenmesi 23
Şekil 3. 2. Tohumun çimlenmesi 24
Şekil 3. 3. Çimlendikten sonra viyollere alınan tohumlar 24
Şekil 3. 4. PCR hazırlığı 28
Şekil 3. 5. Çalışmada kullanılan kapiler elektroforez cihazı 30
Şekil 4. 1. ORS381 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri …..33
Şekil 4. 2. ORS309 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 34
Şekil 4. 3. ORS788 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 35
Şekil 4. 4. ORS887 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 36
Şekil 4. 5. ORS423 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 37
Şekil 4. 6. ORS1043 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 38
Şekil 4. 7. ORS331 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 39
Şekil 4. 8. ORS662 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri 40
Şekil 4. 9. Çalışmayan markır görüntüsü. (ORS1120) 41
Şekil 4. 10. Çalışmayan markır görüntüsü. (ORS899) 41
Şekil 4. 11. Allelerin farklı türlerde görülme sıklığı 43
Şekil 4. 12. 49 Yabani ayçiçeği türüne ait dendrogram(İşaretli türler çok yıllıktır) 45
Şekil 4. 13. Genetik benzerlik matrisi 46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Ayçiçeği Taksonomisi ("Helianthus annuus L. Taksonomi," 2022) 4
Çizelge 2.2. Yabani Ayçiçeği Türleri 10
Çizelge 2. 3. Hastalıklara dirençli ayçiçeği türleri 13
Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan türler ve numaralandırılması 21
Çizelge 3. 2. Kullanılan markırlar ve özellikleri 26
Çizelge 3. 3. PCR uygulamasında kullanılan reaksiyon bileşenleri 28
Çizelge 3. 4. Lokuslarının çoğaltımı için uygulanan PCR aşamaları 29
Çizelge 3. 5. ORS1043 markırı için uygulanan PCR adımları 29
Çizelge 3. 6. ORS662 markırı için uygulanan PCR adımları 29
Çizelge 4. 1. Genomik DNA spektrofotometre sonuçları 31
Çizelge 4. 2. Kullanılan SSR Markırlarına ait allel bilgileri 42
Çizelge 4. 3. Çeşitlere özgü alleler 44

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kökeni çok eskiye dayanan ayçiçeği, ülkemizde ve dünyada özellikle bir yağ bitkisi olarak oldukça önemlidir. Yağ eldesi dışında pek çok alanda kullanılmış olup, süs bitkisi olarak, tohumundan un eldesinde, yemeklerde ve hatta tekstil alanında boya, merhem yapımı gibi farklı amaçlarla dahi kullanılmıştır. Asıl kökeni Kuzey Amerika olan ayçiçeği bitkisinin ticarileştirilmesi Rusya'da gerçekleştirilmiş olup, sonrasında ayçiçeği bir yağ bitkisi olarak oldukça popüler olmuştur.

Ayçiçeği pazarlama kolaylığına sahip, uyumu ve mekanizasyon oranı yüksek, ayrıca tüketiciler tarafından fazlasıyla tercih edilmesi nedenlerinden dolayı, ülkemizin en önemli yağ bitkisidir (Kaya Y, 2016). Yağlık ayçiçeği üretimi ağırlıklı olarak Trakya Bölgesi'nde yapılmakta ise de birim alandan elde edilen gelirin artmasıyla ekim alanları diğer bölgelere de yayılmış ve özellikle de Konya ve Çukurova bölgelerinde ekim alanları son yıllarda artış göstermiştir. Verimi değişken olup, üretimini kısıtlayan en önemli etmenler; orobanş paraziti, yabancı otlar ve mildiyö hastalığıdır (Kaya Y, 2016).

Ayçiçeği (*Helianthus*) cinsi en büyük ve çeşitli familyalardan olan *Asterecea* familyasına ait n=17 kromozom sayılı bir bitkidir. *Helianthus* cinsi 51 tür ve 19 alttürden oluşmaktadır. Bunlardan 14 ü tek yıllık ve 37 adedi ise, çok yıllık türdür. Her türün kendine özgü çeşitli avantajlı veya dezavantajlı özellikleri bulunmaktadır. Bu geniş genetik varyasyon evrimsel geçmişleri boyunca meydana gelen çok sayıda sürecin sonucudur. Ayçiçeğinin bu genetik çeşitliliği kültürü yapılan ayçiçeğinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu süreçler hakkında kapsamlı bir anlayış kazanmak için türetildikleri yabani türlerin daha geniş bağlamda yeniden yapılandırılmasını gerektirmektedir. Yapılan bu tür değerlendirmeler, erken evcilleşmeye ve modern çeşitlere yol açan ataların soylarına ilişkin çıkarımlar sağlayabilir ve gen havuzları

boyunca genetik çeşitliliğin dağılımını açıklayan faktörlere ilişkin iç görüler sağlayabilir (Park veBurke, 2020)

Birçok farklı yabani türü olan ayçiçeğinin türleri farklı özellikleri ve çok aşırı iklim koşullarda adaptasyonuyla geniş bir değişkenlik göstermektedir. Bu türlerin birbirleriyle olan ilişkilerini bilmek son derece önemlidir. Çünkü her bir tür kültürü yapılan ayçiçeğinin geliştirilmesinde avantajlı özellikler sağlayabilecek potansiyele sahiptir. Ayçiçeği tarihi hakkında kapsamlı bilgi elde edebilmek ve birbirileriyle olan ilişkilerini anlamlandırabilmek için filogenetik çalışmalar yapılmaktadır. Moleküler filogeni organizmalar veya genler arasındaki evrimsel ilişkiler hakkında bilgi toplamak amacıyla DNA dizilerinde görülen farklılıkları analiz eden bir filogenetik dalıdır. Moleküler tekniklerin gelişmesi ile yapılan çalışmalar, pek çok kolaylık sağlamaktadır.

Organizmaların tanımlanması, incelenmesi ve sınıflandırılması filogenetik ve moleküler çalışmalar sayesinde oldukça kolaylaşmıştır. Özellikle moleküler markırlar tüm organizmalarda kullanılan güçlü araçlardır. Bu sayede bitki moleküler sistematiği de oldukça gelişmiştir. Özellikle çevresel koşullardan bağımsız herhangi bir dokusu, gelişim evresi için uygulanabilir olmaları, az miktarda materyal gerektirmeleri ve genomun tamamı temsil etmeleri sebebiyle diğer markırlara (morfolojik ve biyokimyasal) göre daha çok tercih edilmektedirler (Tingey ve Del Tufo, 1993).

Bu tez çalışması kapsamında, genomda sık tekrarlanması, yüksek polimorfizm göstermesi, tekrarlanabilir, hızlı ve kolay olması gibi sebeplerden oldukça avantajlı olan SSR (Simple Sequence Repeat) markırları seçilmiştir. SSR markırları farklı amaçlarla kullanılabilmekte olup, genetik haritaların oluşturulması, popülasyon analizleri, markır yardımı ile seleksiyon bunlara örnek verilebilir (Gupta veVarshney, 2000). Bu markırlar tür içi karışıklığın olduğu durumlarda da kullanılabilmektedir (Nimmakayala vd., 2010). DNA' da tekrar eden en küçük birimler mikrosatellitler olup, tekrar motifi 1-6 bç aralığındadır. Bu bölgeleri saran dizilerin (flanking region) bilinmesi durumunda yaklaşık 20-25 bç uzunluğunda uygun primerler tasarlanabilir ve PCR tekniği ile çoğaltılabilir (Filiz veİbrahim, 2011). Çoğaltılmış bölgede tekrarlayan nükleotid dizilerinin sayısındaki fark, SSR markırlarda polimorfizmi oluşturmaktadır. Bu tez çalışmasında SSR markır ile *Helianthus* cinsine ait türlerinin birbirileriyle olan ilişkileri, evrimsel süreçte yakınlıkları bakılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Ayçiçeği (*Helianthus* spp.) Taksonomisi

Dünya da ve ülkemizde en çok tercih yağlı tohumlarından biridir. Botanik adı *Helianthus,* Yunanca helios (güneş) ve anthos (çiçek) kelimelerinden gelmektedir. *Helianthineae* alt kabilesine, *Helianthea* kabilesine, *Asteroideae* alt familyasına ve *Compositae (Asteraceae*) familyasına ait bir türdür (Çizelge 2.1). Ayçiçeğinde kültüre alınmış tüm tek yıllık türler, yabani türler gibi diploid iken (2n = 2x = 34); çok yıllık olanlar genellikle tetraploid (2n = 4x = 68) veya hekzaploiddir. (2n = 6x = 102). Ayçiçeğinin tahmin edilen genom boyutu 3000 Mbp olup, bu boyut Arabidopsis, pirinç, darı, soya ve domates ile karşılaştırıldığında, oldukça büyüktür (Zambelli, León, &Garcés, 2015). *Helianthus* cinsi, ılıman Kuzey Amerika'ya özgüdür, tarımsal yönden önemli özellikler ve yararlı allelik varyasyonlar içeren 14'ü yıllık ve 37'si çok yıllık olmak üzere 51 yabani tür içermektedir (Schilling, 2006) (Çizelge 2.2). Yaygın olarak ekilen, kültürü yapılan, yağ eldesinde kullanılan ve çoğu kişi tarafından bilinen tür *Helianthus annuus'tur* (Şekil 2.1). Yabani tip ayçiçeği türlerinin çoğu, nispeten küçük çiçeklerle çevrili birden fazla sapa sahip olsada, kültür ayçiçekleri, belirli tipte üreme büyümesine ve çok sayıda akene sahip tek, büyük boyutlu bir başlığa sahip dalsız bitkilerdir. Kültür ayçiçeği, tane boyutuna göre üç tipte karakterize edilmiştir: yağlı tip ayçiçeği, yüksek yağ içeriğine sahip (% 40-54 arasında değişen) daha küçük tanelere sahipken, şekerleme ve kuşyemi ayçiçeği, büyük tane boyutuna, daha düşük yağ içeriğine (%30) ve yüksek gövde içeriğine sahiptir (Warburton vd., 2017).

Yüksek oranda doymamış yağ asitleri içerdiğinden ve üretim alanı çok fazla olduğundan, özellikle de yağ üretimi için ıslah çalışmalarındaki öneminden dolayı *Helianthus* cinsi içindeki en önemli tür ayçiçeğidir (*Helianthus annuus* L.) (Kantar vd., 2015). Ayçiçeği yaklaşık %70 linoleik ve %20 oranında oleik asit içeriğine sahiptir. Bu

oranın soya ve kolza yağ içerikleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmektedir. Yağ içeriği kalitesinin yanı sıra selüloz, protein, mineral madde içeriği de yüksektir (Andrianasolo, Casadebaig, Langlade, Debaeke, &Maury, 2016).

Çizelge 2.1. Ayçiçeği Taksonomisi ("Helianthus annuus L. Taksonomi," 2022)

Alem	**Plantae (Bitkiler)**
Şube	**Magnoliophyta (çiçekli bitkiler)**
Sınıf	**Magnoliopsida (iki çenekliler)**
Takım	**Asterales**
Familya	**Asteraceae (Ayçiçeğigiller)**
Cins	***Helianthus* L.**



Şekil 2.1. *Helianthus annuus L.* ("Helianthus annuus. ," 2023)

2.2. Ayçiçeğinin Tarihçesi

Arkeolojik bulgular, MÖ 4625'te ilk ayçiçeği yetiştirenlerin Amerikan Kızılderilileri olduğunu göstermektedir (Crites, 1993). Ayçiçeği başlıca süs bitkisi olarak kullanılmasının yanında, geçmişten günümüze tohumu öğütülüp besin olarak ve tekstil, boya, merhem yapımı gibi farklı amaçlarla da kullanılmıştır. Günümüzde ise en önemli yağ bitkilerinden biri olarak tercih edilmektedir. Avrupa'da yağ bitkisi olarak kullanımı 1700'lü yıllara dayanmaktadır. Türkiye'de yayılışının Romanya ve Bulgaristan'dan gelen göçmenler aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. İlk geldiği zamanlar üretimi daha çok Trakya'da yapılmış, sonrasında yurdun birçok bölgesine yayılmaya devam etmiştir (Arıoğlu, 1999; Ilısulu, 1973; Incekara, 1972). Artan fiyatlara bağlı olarak ekim alanları genişlemiş ve yayılmıştır. Konya ve Çukurova bölgelerinde üretimin arttığı gözlemlenmiştir (Kaya Y, 2016). Ayçiçeği genel olarak çerezlik ve yağlık olmak üzere iki tipte yetiştirilmektedir. Ülkemizde çoğunlukla yağlık olarak yetiştirilmektedir. Yağlık tipte yetiştirilen ayçiçeğinin tane içeriği %38-50 yağ, %20 proteindir. Bu tip ayçiçeği yoğunlukla Marmara ve Trakya bölgesinde yetiştirilir. Çerezlik tipte olan ise genellikle İç ve Doğu Anadolu Bölgelerinde üretilmektedir. Bunun yanı sıra az da olsa başka bölgelerde üretimi yapılmaktadır. İklim ve ayçiçeği ekonomisine bağlı ekim alanları ve üretimi son yıllarda değişkenlik göstermektedir (Kaya Yalcın, 2018). Ayçiçek yağı, insan beslenmesi için kullanımının yanı sıra, örneğin polimer sentezi için temel bileşen, biyoyakıt, emülgatör veya yağlayıcılar gibi bir dizi endüstriyel uygulamaya sahiptir (Dimitrijević vd., 2017).

Ayçiçeğinin kullanım alanın artmasına bağlı olarak ayçiçeğine duyulan ihtiyaçta oldukça fazladır. Bu yüzden ayçiçeği üretimini arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Daha iyi özelliklere sahip yüksek kalitede ayçiçeği yetiştirmek için çalışılmaktadır. Özellikle ayçiçeğinde orobanş ve mildiyöye dayanıklı, kaliteli yağ içeriğine sahip türler geliştirmeye yönelik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar açısından ayçiçeğinin yabani türleri önem taşımaktadır. Yabani türlerde istenilen özelliklerin saptanabilmesi ve kullanılabilir olması için moleküler analiz yöntemleri önem taşımaktadır.

2.3. Ayçiçeğinin Morfolojik Özellikler

Ayçiçeği boyu uzun bir bitkidir. Türden türe değişmekle beraber ortalama 150-200 cm boylara sahiptir. Farklı genotipler mevcuttur (Şekil 2.2). Bazı türlerde cücelik (50-100 cm), yarı cücelik (100-150 cm) görülürken, bazı yabani türler ise 4-5 metre kadar uzunlukta olabilmektedirler. Toprak koşullarındaki farklılıklar ve iklim bitkinin boyunu belirlemektedir. Ayrıca kuraklık ve besin elementleri de önemli ölçütlerdir. Verimi pozitif yönde etkilemesinden dolayı bitki boyu önemlidir (Jocic, Miladinovic, &Kaya, 2015).

Ayçiçeğinde tabla çapı da önemli özelliklerden biridir. Genelde 20 ila 30 cm çapındadır. Yetiştiricinin tercihine göre düz, iç bükey, dış bükey olabilen tabla şekillerinde farklılıklar vardır. En önemli nokta baş merkezinin tozlaşmalı ve dolgun tohumlara sahip olmasıdır. Baş eğimi ve pozisyonu, kuş hasarı ve baş çürüklüğü hastalıklarına yatkınlık ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. 135-180°'lik bir açıda ve gövdeye sıkıca bağlı bir kafa pozisyonu, yetiştiriciler tarafından en çok tercih edilen konfigürasyondur (Kaya, Jocic, &Miladinovic, 2016).

Kök yapısı derin ve geniş bir yayılım göstermektedir. Bu özellik su ve besin alımı açısından kolaylık sağlamaktadır. Kök sisteminin büyümesi hızlıdır, 3 metreden daha derine kadar uzayabilmektedir (Alberio, Izquierdo, &Aguirrezábal, 2015). Saplar basit yapıdadır ve bitkinin diğer kısımlarıyla birlikte tüysüzden çok yoğun tüylüye kadar değişir. Yapraklar karşılıklı veya alternatiftir. İlk gerçek yapraklar her zaman zıttır, ancak bazı türlerde kısa sürede alternatif hale gelir. Yapraklar genellikle saplı ve üç sinirlidir, şekil olarak doğrusaldan ovale değişir ve tam veya tırtıklıdır, çok nadiren biraz lobludur.

Ayçiçeğinde yetişme süresi birçok araştırmacı tarafında da ifade edildiği gibi, ekimden fide çıkışına, fide çıkışından tabla oluşumuna, tabla oluşumundan çiçeklenmeye, çiçeklenmeden olgunluk süresine kadar geçen sürelerin tamamını kapsamaktadır. Ayçiçeği çeşitlerinde fide çıkış süresi, büyük ölçüde toprak, nem ve sıcaklığın etkisi altında kalmaktadır (Ilbas, Yildirim, Arslan, Dede, &Günel, 1996). Ayçiçeğinin yetişme süresi yaklaşık 100-150 gün olduğu bilinmektedir. Bu süreç boyunca 2600-2850 °C civarında toplam sıcaklık istemektedir.

Ayçiçeğinde morfolojik markırlar kullanarak yabani türleri ilişkilendirmek oldukça yetersizdir. Daha kapsamlı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle moleküler filogenetik çalışmalar bu anlamda daha başarılı sonuçlar vermektedir.



Şekil 2.2. Çalışma bahçemizden farklı yabani ayçiçeği görüntüleri

2.4. Biyoçeşitlilik ve Bitki Gen Kaynakları

Biyoçesitlilik tanımı için kısaca bir bölgedeki var olan türlerin, ekosistemlerin, genlerin ve ekolojik olayların bir bütünü denilebilmektedir. Genel anlamda bir yerdeki tüm bitki, hayvan ve mikroorganizma türlerini içerir. Ve temelde üç bölümden oluşmaktadır; ekosistem çeşitliliği, tür çeşitliliği, genetik çeşitlilik (Topçu, 2012). Tüm dünyaca kabul edilen bir gerçek olarak biyoçeşitlilik tarımsal üretim ve gıda güvenliğinin temel gereksinimlerindendir (Dilbirliği, 2007; Thrupp, 1988).

Canlı ve tüketilebilir kaynaklar her geçen gün giderek azalmaktadır. Bu kaynaklar bir ülke için son derece önemlidir ve bir ülkenin sahip olduğu avantajlar olarak görülmektedir. Yeryüzünde her geçen gün tarım alanları ve su kaynakları hızla kirlenmekte ve hatta yok olmaktadır. Kısa süre içerisinde insanların su ve gıda sıkıntısıyla karşılaşacağı öngörülmektedir (Agah, 2015).

Sürdürülebilir tarımın hedefleri, yeni tarımsal teknolojilerin kullanılmasıyla doğal kaynakları koruyup çevreye zarar vermeden tarımsal bir temel oluşturarak ekonomiyi canlı tutmak, çalışanların yaşam standartlarını arttırmak ve bu hedef doğrultusunda çalışmalar yapmaktır (Turhan, 2005). Temel amacı ise, kaynakların korunmasını sağlamak ve bunu kuşaktan kuşağa aktarmaktır (İkincikarakaya, Beyaz, &Rezael, 2013). Bu yüzden hava, su, toprak, enerji ve gen kaynaklarının korunması ve kullanımı tarımsal faaliyetler açısından oldukça önemlidir.

Bitkisel çeşitliliği ve bunların yabani akrabalarının korunması oldukça önemlidir. İyi verim almanın yanı sıra oluşabilecek zararlara ve hastalıklara karşı direncin arttırılması gerektiği bilinmelidir (Dilbirliği, 2007). Bitkilerdeki genetik çeşitliliğin toplanması ve korunması için neredeyse bir yüzyıl harcanmıştır (Altındal veAkgün, 2015). Bitki türlerinin genetik çeşitliliğe sahip olması çevre koşullarına uyum açısından önemlidir. Bitki genetik kaynakları daha iyi kalitede türlerin geliştirilmesi için biyoteknoloji alanında kullanılan ham maddedirler. Gen bankaları (germplasm koleksiyonları), tarımsal ürünlerin iyileştirilmesi için gen kaynağı olarak kurulan genetik varyasyon depoları olarak hizmet veren canlı tohum ve diğer doku koleksiyonlarıdır. Mahsul performansını iyileştirmek için yabani akraba genlerinin kullanımı, 60 yıldan daha eskiye dayanan önemli örneklerle iyi bir şekilde kurulmuştur. Ürünlerin atalarının yanı sıra onlarla az çok yakın akraba olan diğer türleri de içeren yabani akrabalar, bitki ıslahçılarına potansiyel olarak yararlı genlerden oluşan geniş bir havuz sağlayarak modern tarım için yadsınamaz derecede faydalı olmuştur (Hajjar veHodgkin, 2007; Holden, Peacock, Peacock, &Williams, 1993).

“Bitkisel Çeşitlilik” ya da “Bitki Genetik Kaynakları” olarak adlandırılan materyal; “Bitki Islahı Çalışmaları” için oluşturulacak gen havuzunda oldukça önem taşımaktadır. Ülkemiz biyoçeşitlilik yönünden oldukça zengindir. Bu çeşitlilik yok olma ihtimaline karşılık toplanıp koruma altına alınmaktadır (Tan, 2009).

Kültüre alınmış bitki ve hayvan türlerinin kökeni doğadaki yabani akrabalarına dayanmaktadır. İhtiyaçlara uygun şekilde yeni çeşitler geliştirmek için yabani türlerden yararlanılmaktadır. Aynı zamanda ekosistemlerde bu türler sayesinde farklı kazanımlara sahip olmuştur. Tarımsal biyoçeşitliliğin insanlığa beslenme, barınma, giyecek vb. hayati öneme sahip ihtiyaçları karşılayabilecek pek çok kullanım şekli vardır. Birçok bitki için

Anadolu anavatandır. Bitki türü fazla olduğu kadar kültür bitkisi açısından da zengindir (Polat veSelvi, 2020). Bitki genetik kaynakları biyolojik çeşitlilik içerisinde önemli bir yere sahiptir. Yabani türler, istenilen özellikle genler sağlayabilen yedek gen deposu niteliğindedir (Karadag, 2022). Bu yüzden her biri önemli birer gen kaynağıdır. Biyoçeşitlilik ve gen kaynaklarının önemi her geçen yıl daha da artmaktadır. Biyoçeşitlilik hem ekonomik hem kültürel manada insanoğlunun yaşamı için çok önemlidir. Bu sebeple biyoçeşitliliğin korunması adına birçok adım atılmıştır. Türkiye'de biyoçeşitliliğin korunması, endemik türlerin ve tehlike altındaki türlerin korunmasına daha fazla önem verildiğini göstermektedir. Bunun yanında biyolojik ve genetik kaynakların korunması ve geliştirilmesinin gıda ve sağlık için çok önemli olduğu tartışılmaz bir gerçektir.

2.5. Ayçiçeğinde Biyoçeşitlilik

Genetik kaynaklar, küresel gıda güvenliğinin biyolojik temelini oluşturmaktadır. Önemli bitki türlerinin çeşitlerinin, topraklarının ve yabani akrabalarının korunması, sürdürülebilir verimli tarımın temelini oluşturur. Korunan genetik kaynaklar, bitki ıslahçılarına, çiftçilere ve diğer tarım bilimcilerine, gelecekteki gıda, lif ve tohumu güvence altına alan yeni mahsul çeşitleri ve melezleri geliştirmek için genetik materyaller sağlayacaktır. Tüm türlerin hastalıklar ve zararlılar gibi biyotik ve abiyotik streslere uyum sağlamalarına olanak tanıyan özellikleri kapsayacak bir havuz oluşturulabilecektir (Campbell vd., 2010). Genetik çeşitlilik, türlerin çevrelerindeki değişikliklere hızlı adapte olmasını sağlayarak uzun sürede hayatta kalmalarına katkı sağlamaktadır.

Kültür ayçiçeği (*H. annuus*) içinde *Helianthus* türlerinde biri olup, *Helianthus* cinsi Kuzey Amerikaya özgüdür ve 37 çok, 14 tek yıllık 51 türden oluşmaktadır. (Çizelge 2.2) Bu türler ABD'de yabani formda bulunmaktadır. (Şekil 2.2) *Helianthus* cinsi n=17 kromozomludur. Fakat bazı türleri diploid (2n=34), tetraploid (2n=68), hexaploidtir (2n=102). Tek yıllık türlerin hepsi diploid, çok yıllıkların 26'sı diploid, 3'ü tetraploid, 7'si hexaploid ve 3'ü mixaploidtir (G. Seiler, Marek Fredrick, L, 2011; Gerald J. Seiler, Qi, &Marek, 2017). Farklı ploidi seviyeleri genetik çeşitliliğin artmasına sebep olur, fakat kültür germplazmına dahil edilmesini de zorlaştırmaktadır. Yabani türlerin ABD sınırları içerisinde olması ayçiçeği germplazmasının toplanmasını kolaylaştırmıştır. USDA-ARS,

1948 yılında Iowa, Ames'teki Ulusal Bitki Germplazma Sistemi, Kuzey Merkez Bölgesel Bitki Tanıtım İstasyonu'nda bir kültür ayçiçeği germplazma koleksiyonu kurmuştur. Yabani *Helianthus* germplazm koleksiyonu ise 1976 yılında USDA-ARS Bushland, Texas istasyonunda kurulmuştur. Halen her iki koleksiyon da Ames, Iowa'da muhafaza edilmekte ve yönetilmektedir. Şu anda yabani *Helianthus* koleksiyonu, yaklaşık üçte ikisi yıllık türler olmak üzere 2163 aksesyon içermektedir (Gerald J Seiler veGulya, 2004). Bu germplazm, ortaya çıkan zararlılar ve çevresel zorluklarla mücadele etmek için mevcut ve gelecekteki önemli bir genetik kaynaktır ve ayçiçeğinin yaşayabilir büyük bir küresel yağlı tohum ürünü olarak sürdürülmesine ve gelecek nesiller için korunmasına yardımcı olur (G. Seiler, Marek Fredrick, L, 2011). Yabani türler çeşitli ortamlarda farklı iklim koşullarında yetiştikleri için farklı çevre koşullarına uyum sağladığından, farklı direnç özelliklerine sahiptirler. Yabani ayçiçeği türleri birçok hastalık ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık açısından, çok fazla gen kaynağını muhafaza etmektedir. Yeni çeşit geliştirme çalışmalarının başarılı olabilmesi için, ıslah çalışması yapılacak tür veya gen kaynakları hakkında arasındaki genetik uzaklıkların, yeterli biyolojik, taksonomik, genetik ve agronomik bilgi birikimine mutlak gereksinim vardır.

Çizelge 2.2. Yabani Ayçiçeği Türleri

Tür	**Tip**	**Kromozom Sayısı**
H. agrestis	Tek yıllık	34
H. niveus	Tek yıllık	34
H. debilis	Tek yıllık	34
H. praecox	Tek yıllık	34
H. petiolaris	Tek yıllık	34
H. annuus	Tek yıllık	34
H. argophyllus	Tek yıllık	34
H. neglectus	Tek yıllık	34
H. bolanderi	Tek yıllık	34
H. anomalus	Tek yıllık	34
H. paradoxus	Tek yıllık	34
H. gracilenthus	Çok yıllık	34

H. pumilus	Çok yıllık	34
H. cusickii	Çok yıllık	34
H. arizonensis	Çok yıllık	34
H. laciniatus	Çok yıllık	34
H. ciliaris	Çok yıllık	68
H. mollis	Çok yıllık	34
H. divaricatus	Çok yıllık	34
H. decapetalus	Çok yıllık	34
H. occidentalis	Çok yıllık	34
H. hirsutus	Çok yıllık	68
H. strumosus	Çok yıllık	68,102
H. eggertii	Çok yıllık	102
H. tuberosus	Çok yıllık	102
H. rigidus	Çok yıllık	102
H. giganteus	Çok yıllık	34
H. grossesseratus	Çok yıllık	34
H. nuttallii	Çok yıllık	34
H. maximilliani	Çok yıllık	34
H. salicifolius	Çok yıllık	34
H. exilis	Çok yıllık	34
H. resinosus	Çok yıllık	102
H. schweinitzii	Çok yıllık	102
H. californicus	Çok yıllık	102
H. laetiflorus	Çok yıllık	102
H. microcephalus	Çok yıllık	34
H. glaucophyllus	Çok yıllık	34
H. smithii	Çok yıllık	34
H. longifolius	Çok yıllık	34
H. laevigatus	Çok yıllık	68
H. angustifolius	Çok yıllık	34
H. simulans	Çok yıllık	34

H. floridanus	Çok yıllık	34
H. silphioides	Çok yıllık	34
H. atrorubens	Çok yıllık	34
H. heterophyllus	Çok yıllık	34
H. radula	Çok yıllık	34
H. carnosus	Çok yıllık	34
H. porteri	Çok yıllık	34
H. pauciflorus	Çok yıllık	34

Artan ihtiyaçlar doğrultusunda ayçiçeği önemi her geçen artmaktadır. Özellikle ayçiçeğinde, yüksek oleik asit içeriği, orobanşa, mildiyöye, böceklere dayanıklılık, kuraklığa dayanıklılık, tuza tolerans, geniş tabla çapı, istenilen özelliklerdir. Bu özelliklere sahip yabani türler, faydalı birer gen kaynağı sağlamaktadır.

Ayçiçeği üretiminde en temel sorunlardan biri hastalıkların kontrolünde karşılaşılan sıkıntılardır. Bu önlemek amacıyla hastalık etkenine karşı dirençli türler geliştirilmesi gereklidir. Bu sebeple türe ait genetik kaynakların kullanımı önemlidir. İstenilen özelliklerin üreme yoluyla aktarımı melezleme ile yapılır ve yeni bir çeşidin geliştirilmesi uzun zaman alan karmaşık bir süreçtir (Melchinger, 1990). Önemli karakterleri taşıyan yabani türlerden ıslah materyallerinin geliştirilmesi, bu karakterlerin bulunduğu lokusla bağlantı gösteren moleküler markırların belirlenmesi ile hızlanmıştır. Bu markırların ıslah programlarında istenen karakteri taşıyan türlerin seçiminde kullanılması, diğer bir deyişle MAS (markır destekli seleksiyon) , yeni çeşit geliştirilmesi çalışmalarında önemli yararlar sağlamaktadır (Tarpomanova, Hvarleva, Hristova, &Atanassov, 2009).

Bazı yabani türlerin hastalıklara ve orobanş parazitine karşı dirençli oldukları bilinmektedir (Çizelge 2. 3). Örneğin *H. tuberosus*'un (Parker veRiches, 1993; Vranceanu, 1980), *H. argophyllus*, *H. maximiliani* ve *H. debilis* (Fernández-Martínez, Pérez-Vich, &Velasco, 2015) gibi yabani ayçiçeği türlerinde ayçiçeği için ciddi sorunlardan biri olduğu bilinen orobanş için direnç genleri içerdiği tespit edilmiştir.

Ayçiçeği ıslah programlarında yüksek verimli çeşitler geliştirmek için, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık genlerinin yabani türlerde belirlenerek kültürü yapılan ayçiçeğine aktarılması, filogenetik analiz vb. çalışmalar yapılarak genetik uzaklıklarının ortaya çıkarılması son derece önemlidir.

Çizelge 2. 3. Hastalıklara dirençli ayçiçeği türleri

	Hastalık/Parazit	Dirençli yabani türlerin sayısı	
		Tek yıllık	Çok Yıllık
Hastalık	Pas	3	5
	Tüylü mildiyö	10	15
	Beyaz çürüklük	7	18
	Phomopsis	7	18
	Alternaria	3	9
	Tozlu mildiyö	3	9
	Vertisilyum	4	3
	Rhizobus	0	4
	Phoma	2	8
	Özükuru hastalığı	0	5
Parazit	Orobanş	5	25
Toplam		44	119

2.6. Yabani Ayçiçeği Türlerinin Tespit Edilen Avantajlı Özellikleri

Ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) bir introgresyon başarı öyküsüdür ve sitoplazmik erkek kısırlığı, herbisit toleransı, kuraklık ve biyotik stres direnci ve modifiye yağ asidi profilleri ve daha birçok özellik yağ verimi ve kalitesinde bozulma olmaksızın yabani akrabalardan kültüre alınmış gen havuzuna sokulmuştur. Birçok yabani tür, ulusal ve uluslararası gen bankalarında güvenli bir şekilde depolanmaktadır (Warburton vd., 2017). Yetiştiriciler ilgilendikleri özellikler için mevcut çeşitliliği genişletmek, yeni genetik kaynakları geliştirmek ve karakterize etmek için çalışmalar yapmışlardır.

Yabani türlerin ilk kullanımına yönelik çalışmalar pasa karşı dirençli olan *H. argophyllus*'un ayçiçeği yetiştiriciliğinde kullanılmasıdır. Daha sonra Zhdanov, dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde *H. tuberosus*'u kullanmıştır (Koç, 2022).

Ayçiçeğinde erkek kısırlık ilk kez 1968'de keşfedilmiştir. Bu önemli bir adım çünkü ayçiçeğinin dünyaya yayılmasındaki ana etkenlerden biri sitoplazmik erkek kısırlığının ve bunu restore eden genlerin keşfedilmesi sonucu hibrit üretiminin kolaylaşmasıdır (Kaya Y.)

H. argophyllus Torr türünün bireyleri. A. Gray, *H. petiolaris, H. annuus,* ve *H. debilis Nutt*. kültür ayçiçeği ile çaprazlanmıştır, bu da bazı durumlarda türetilmiş soylarda artan moleküler markör çeşitliliğine ve diğer durumlarda gelecekte üremesi zor olabilecek kromozomal yapısal yeniden düzenlemelere yol açmıştır (Sujatha, Prabakaran, Dwivedi, &Chandra, 2008).

Yapılan bir çalışmada en yüksek yağ verimine sahip türün *H. ciliaris*, en yüksek polifenol verimine *H. strumosus*, en fazla hidrokarbon içeren türün ise *H. salicifolius* olduğu rapor edilmiştir (Gerald J Seiler, Carr, &Bagby, 1991).

Başka bir çalışmada *H. anomalus, H. deserticola* türlerinin yüksek yağ konsantrasyonuna ve daha iyi bir yağ asidi profiline sahip olduğu tespit edilmiştir (GJ Seiler, 2007).

H. porteri, H. atrorubens, ve *H. schweinitzii* türlerinin yüksek linolenik asit içerdiği (G Seiler, 2010), *H. anomalus, H. agrestis, H. debilis subsp. cucumerifolius,* and *H. exilis'in* süpürge direncine karşı dayanıklı oldukları (Fernández-Martínez, Melero-Vara, Muñoz-Ruz, Ruso, &Domínguez, 2000), *H. argophyllus'un* kuraklığa ve ısıya dayanıklı genler içerdiği (Hussain, Rauf, Riaz, Al-Khayri, &Monneveux, 2017), *H. paradoxus*'un tuz direncine sahip olduğu (Lexer, Welch, Durphy, &Rieseberg, 2003), *H. deblis Nutt., H. anomalus Blake,* and *H. divaricatus L*'un abiyotik strese toleranslı oldukları (Kantar vd., 2015), *H. maximiliani'nin Sclerotinia sclerotiorum* hastalığına karşı dirençli olduğu (Rönicke vd., 2004) bildirilmiştir.

Görüldüğü üzere yabani türlerin kendine has farklı özellikleri bulunmaktadır. Bunların bilinmesi ve kullanılması açısından moleküler filogenetik teknikler kullanılmaktadır. Böylece tespit edilen genler kültür çeşitlerine aktarılmaktadır.

2.7. Türler Arası Filogenetik İlişkinin Analizi

Türler arasındaki filogenetik ilişkileri bilmek, biyolojideki birçok çalışmanın temelidir. Filogenetik bir grup taksonun dallanma sırasını ve bazen de farklılaşma zamanlarını içeren ortak atalardan türeyiş tarihidir. Filogenetik Yunanca kelimelerin bir araya gelmesiyle türetilmiştir. Phlon "kabile" veya "klan" veya "ırk" anlamına gelmektedir. Genesis ise, "köken'' veya "kaynak" anlamına gelmektedir. Genomlar birçok mutasyon sonucu evrimleşir ve değişirler. Bu sürecin sonunda organizmaların genomlarındaki nükleotid dizisi farklılıkları gerçekleşir. Farklı genomları karşılaştırarak aralarındaki evrimsel ilişki hakkında bilgi edinilebilir (Freeman S veHerron J.C, 1999). Her organizma bir evrim sürecinin sonucu olduğundan evrimsel tarihini bilmek gerekmektedir. Dünya da ki mevcut çeşitlilik düşünüldüğün de çeşitli organizmaların filogenetik ilişkisini belirlemek oldukça zordur. Bu çeşitlilik fenotipik karakterlere yansıdığı gibi yapısal, biyokimyasal, moleküler özelliklere de yansır. Klasik filogenetik yaklaşım bir organizmanın morfolojik özelliklerine dayanırken moleküler yaklaşımlar RNA ve DNA'nın nükleotit sekanslarına ve modern teknikler kullanılarak belirlenen bir proteinin amino asit sekanslarına bağlıdır. Moleküler filogenide organizmalar veya genler arasındaki ilişkiler, DNA ve protein dizilerinin homologları karşılaştırılarak incelenmektedir. Diziler arasındaki farklılıklar, zaman içinde moleküler evrimin bir sonucu olarak genetik ayrışmayı göstermektedir. Morfolojik temelli yöntemlerin ve moleküler analiz temelli yöntemlerin bir kombinasyonu, organizmaların filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinin uygulanmasını büyük ölçüde güçlendirir.

Gelişen moleküler teknikler sayesinde günümüzde türler arası ilişkilerin incelenmesi kolaylaşmıştır. Özellikle moleküler markırlar yapılabilecek çalışmalar için önemli bir araçtır. Tür içi veya türler arası ilişkilerin belirlenmesinde moleküler markırlar kullanılmaktadır. Son on yıldaki en heyecan verici gelişmelerden biri de, filogenetik çalışmaların problemlerine güçlü ve ultra hızlı nükleik asit dizileme tekniklerinin uygulanması olmuştur. Büyük miktarda dizi verisinin hızla elde edilebilirliği, evrim sürecini açıklamak için sağlam matematiksel ve istatistiksel analiz araçlarının geliştirilmesini gerektirdi ve bu ihtiyaç, nihayetinde moleküler sistematiği bilimine yol açtı. Moleküler filogeni, gerçekten geniş bir şekilde biyolojinin bir alanı olsa da, moleküler sistematiği, daha çok, güçlü hesaplama tabanlı simülasyon deneylerinin, bir

bilgisayardan elde edilen bu biyolojik verilerden filogenetik ağaçları çıkarmak için kullanıldığı bir istatistiksel bilim olarak görülebilir (Patwardhan, Ray, &Roy, 2014).

Kısaca anlatmak gerekirse filogeni; türlerin evrimsel süreçteki akrabalık ilişkisi olarak açıklanabilir. Filogenetik analiz var olan karakterlerin farklı ölçütler ile değerlendirilip, bunun sonucunda türler arası ilişkilerin ortaya çıkarılmasıyla soy ağaçlarının oluşturulmasıdır (Saitou veImanishi, 1989). Bu soy ağaçları oldukça karmaşık metotlar ile elde edilirler.

SSR markırı ile filogenetik analiz aşamaları kısaca;

- gDNA izolasyonu.
- SSR bölgesinin PCR ile çoğaltılması.
- Elde edilen markır lokusuna ait her bir bireydeki DNA fragmentinin boyutunu belirlemek için kapiler elektroforez.
- Veri dosyası hazırlama ve filogenetik ağaç oluşturma.

2.8. Ayçiçeği Türlerinde Moleküler Filogenetik

Ayçiçeğinin yabani ayçiçeği türlerinin ve melezlerinin filogenisini araştırmak için genetik karakterizasyonda moleküler metotlar kullanılmıştır (Burke vd., 2004; Mwangi vd., 2019; Schilling, 1997; Suresha, Kulkarni, Supriya, Darshan, &Patil, 2017). Ayçiçeği çeşitleri arasındaki DNA dizi farklılıklarına bakılarak tür için veya türler arası ilişkiler incelenebilmekte ve filogenetik ağaçları oluşturulabilmektedir. DNA dizi farklılıklarını saptamak için moleküler metotlardan yararlanılmaktadır. Ayçiçeğinde bu gibi farklıkları saptamak amacıyla farklı moleküler metotlardan yararlanılmaktadır. RFLP, AFLP, RAPD, SSR markırları yanı sıra SNP, cpDNA bölgeleri, rRNA bölgeleri ayçiçeğinde genetik çeşitliliği ve soy ağacının araştırılmasına olanak sağlamaktadır. Nüklear 16S, 26S rDNA bölgeleri kullanılarak ilk kez ayçiçeği için yüksek oranda çözülmüş bir Filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Timme, Simpson, &Linder, 2007)). 2014 yılında araştırmacılar Rusya Vavilov Araştırma Enstitüsü'nden elde ettikleri 80 farklı yabani ve kültür formlarının bulunduğu çeşitler ile kloroplast DNA'larını kullanarak bir çalışma yapmış ve ayçiçeği kloroplast genomunun polimorfizmini incelemişlerdir. 2016 yılında Çin'de

yapılan bir çalışmada üç cpDNA bölgesi kullanılarak (ndhF, matK, rbcL) bu familyaya ait filogenetik ağaç çıkarılmıştır (Fu, Jiao, Nie, Zhang, &Gao, 2016). Nüklear genom büyüklüğünün varyasyonuna dayalı bir çalışma yapılmıştır. 49 *Helianthus* için kapsamlı bir veritabanı oluşturulmuş ve cinsteki değişkenlik incelenmiş ve karşılaştırılmalı bir filogenetik analiz sunulmuştur (Qiu vd., 2019).

SSR markır da yüksek polimorfizm, tekrarlanabilirlik, hızlı ve kolay oluşu, genomda sıklıkla bulunması gibi özelliklerinden dolayı genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi, türler hakkında kapsamlı bilgi edinilebilmesi açısından güçlü bir tekniktir. Zia vd., (2014)'nin yaptığı çalışma ile SSR markırları kullanılarak 44 farklı ayçiçeğinin genetik çeşitliliği tahmin edilmiştir. Bunun için 22 primer kullanılmış, sonuç olarak toplam polimorfizmin %45.19 olduğu ve %25 ile %100 arası değiştiği gözlenmiştir. Zeinalzadeh-Tabrizi vd., (2018), yine SSR markır kullanarak yaptığı bir çalışmada, 68 *Helianthus* genotipinin genetik çeşitliliğinin tahmini için 21 çift SSR primeri ile bakılmış, 49 polimorfik bant oluşumu gözlenmiştir.

Markin vd., (2020), yaptığı bir başka çalışmada ise, 29 *Helianthus* türünün genotiplemesi gerçekleştirilmiş, bunun için 52 SSR markırı seçilmiştir. Değişen ortalama PIC değeri 0.72 olduğu görülmüştür, bu da SSR tabanlı sistemin yüksek çözünürlüğünü göstermektedir. SSR markırın bu ayırt edici gücü ayçiçeği türlerini sınıflandırmaya olanak vermiştir. Yine başka bir çalışmada ayçiçeğinde 23 ebeveyni ve bunların 60 hibritinin genetik saflığını kontrol etmek için 110 SSR markırı kullanılarak DNA tabanlı bir çalışma yapılmıştır. Polimorfizm, %83.63 değerinde 92 markörde gösterilmiştir (Ahmed vd., 2022).

Markırlar moleküler filogenetik için önemli araçlardır. Ayçiçeğinde kökeni daha çok Kuzey Amerika olmak üzere pek çok farklı yabani tür mevcuttur, her birinin farklı avantajlı ve dezavantajlı özellikleri bulunmaktadır. Kültürü yapılan ayçiçeği geliştirilmesi adına yabani türleri bilmek önemlidir, çünkü her biri önemli birer genetik kaynaktır.

Bu yüzden yabani ve kültüre alınmış *Helianthus* türlerinin genetik kaynaklarını kullanabilmek önemlidir. Özellikle yabani türler birçok hastalık ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık açısından çok fazla gen kaynağı saklamaktadır. Başarılı yeni çeşitler elde edebilmek için gen kaynaklarının arasındaki genetik uzaklıkların, yeterli

biyolojik, taksonomik, genetik ve agronomik bilgiye ihtiyaç vardır. İstenilen özellikteki karakterleri taşıyan yabani türlerden bu karakterin bulunduğu lokusla bağlantı gösteren moleküler markırların belirlenmesiyle hız kazanılmıştır. Bu markörlerin ıslah programlarında istenen karakteri taşıyan bireylerin seçiminde kullanılması, diğer bir deyişle MAS, yeni çeşit geliştirilmesi çalışmalarında önemli avantajlar sunmaktadır (Hvarleva ve ark., 2009). Ayçiçeği yetiştiriciliğinde, türler arası melezleme ile elde edilen hibritlerin genetik materyal hacmi, heterosis, dayanıklılık ve daha yüksek verim ve daha kaliteli hibritlerin büyümesini etkileyen faydalı genlerin kullanılması esastır. Yabani türlerin genetik kökenini, evrimsel süreçteki değişimlerinin bilinmesi kültürü yapılan ayçiçeğinin gelişimi açısından önemlidir. Bu süreç hakkında kapsamlı bir bilgi edinebilmek ve ataların birbiriyle olan ilişkilerini ortaya koymak için filogenetik çalışmalar yapılmaktadır. Yabani türlerin filogenetik analizi için SSR markırlarından yararlanılabilmektedir.

2.9. SSR (Simple Sequence Repeat) Markır

Gelişen teknoloji ile günümüzde moleküler yöntemlerin kullanımı ön plana çıkmaktadır. SSR (kısa ardışık tekrar dizileri) markır PCR tabanlı oldukça kullanışlı bir yöntemdir. SSR'lar ilk kez 1984'te bitkilerde keşfedilmiştir (Tautz veRenz, 1984). Moleküler işaretleyici olarak kullanımları ise 5 yıl sonra 1989'da farkedilmiştir (Tautz, 1989). O zamandan beri SSR marker buğday, pirinç, soya fasülyesi, vb. pek çok bitki de moleküler belirteç olarak kullanılmıştır. Mikrosatellitler, yaklaşık 150 nükleotid uzunluğunda, tekrarlayan yaklaşık 1-7 bazlık DNA dizileridir. Bu dizilerin tekrar sayıları değişkenlik gösteren bir popülasyonda çok sayıda alele sahip olmak, canlıların DNA'larını polimorfik yapan özelliklerden biridir (Akbar, 2018). SSR'lar genomda yaygındırlar, diğer markırlara oranla daha polimorfik, eş baskındırlar. Yüksek tekrarlanabilirlikleri türe özel olmalarından dolayı kullanışlıdırlar (Miah vd., 2013; Varshney, Graner, &Sorrells, 2005). SSR markırları, en çok tercih edilen markırlardan biridir.

Genomda sıklıkla yer alan bu tekrar bölgelerin kenarlarında spesifik korunmuş bölgeler bulunmaktadır, bu sebepten SSR'lar türe özgüdür. Spesifik kenar bölgelere uygun primerler dizayn edilip sentezlenmektedir. Başlıca türlerde uygun SSR primerleri veri tabanlarında mevcuttur ancak diğer durumlarda sıfırdan tasarlanması gerekmektedir. SSR'ların dezavantaj denilebilecek yanlarından birisi primer tasarımının zorluğudur denilebilmektedir. Uygun primerler ile PCR yapılmaktadır daha sonra elde edilen PCR ürünlerinin boyut farklılıkları agaroz/poliakrilamid jelde, kapiler elektroforez de gözlemlenmektedir. SSR markırlar bitki biyoteknolojisinde birçok farklı amaçla kullanılmaktadır.

- Genetik çeşitliliğin belirlenmesi
- Kantitatif karakter lokuslarının (QTL) saptanması
- Tür içi ve türler arası ilişkilerin belirlenmesi
- Markır destekli seleksiyon
- Genetik haritalama

2.10. Kültürü Yapılan Ayçiçeğinde SSR Markır Çalışmaları

Helianthus cinsi birçok yabani türü kapsamakta olup, genetik çeşitliliği oldukça yüksektir. (Şekil 4. 13) Her bir tür çok çeşitli habitatlarda büyüdükleri için farklı çevresel koşullara adapte olmuşlardır ve biyotik ve abiyotik direnç özellikleri açısından önemli değişkenliğe sahiptirler (Cvejić vd., 2020). Tang vd. (2002) ayçiçeğinde SSR markörlerini kullanarak ilk bağlantı haritasını oluşturmuşlardır. Yabani türler, geliştirilmiş hastalık direnci, yağ verimi ve kalitesi, vb., türler arası çaprazlamalar ile ayçiçeği melezleri elde etmek için arzu edilen genlere sahip olan ayçiçeği yetiştirme programlarında çok değerli bir kaynaktır.

Bitkilerde hibrit üretimi son yıllarda artmaktadır ve oldukça önemlidir. Ayçiçeğinde de çok sayıda hibrit çeşit bulunmaktadır, hibrit çeşit üretimi hetorosis olgusuna dayalıdır. Günümüzde, yüksek ayçiçeği verimi elde etmek için farklı genetik kaynaklara sahip kendilenmiş ebeveyn hatlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Liu veBurke, 2006). Ayçiçeği melez ıslah programlarında bu tür ebeveyn hatların genetik çeşitliliğinin

çeşitli moleküler markörler aracılığıyla değerlendirilmesi çok önemlidir. Ayçiçeği ebeveyn hatlarının tanımlanması çoğu zaman morfolojik karakterlere dayalıdır ancak sayıca sınırlıdır ve kararsızdır. Genom boyunca mevcut olan DNA markörleri sayıca sınırsızdır (Sahranavard Azartamar, Darvishzadeh, Ghadimzadeh, Azizi, &Aboulghasemi, 2015). Markırlar sayesinde istenilen özellikte gen bölgesi belirlenerek kültürü yapılan ayçiçeğinin geliştirilmesi için kullanılabilmektedir. Ayçiçeği üretiminde en önemli engellerden biri hastalıkların kontrol edilmesinde ortaya çıkan sorunlardır. Bu sorunlara çözüm olarak dirençli ayçiçekleri geliştirilmesi gerekmektedir.

Bazı ayçiçeği türlerinde kromozomların belli bölgelerinde (LG-linkage group) kümelenmiş dayanıklılık sağlayan genler vardır. Bu türlerin bu hastalığa daha dirençli olduğu bilinmektedir. Örneğin mildiyö için dayanıklılığı sağlayan Pl genleri vardır. Şu an pek çok farklı araştırmacı mevcut yabani ayçiçeği türlerinde yeni dayanıklılık genleri bulmak için çalışmaktadır.

3. BÖLÜM

MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

Bu tez çalışmasında ABD Tarım Bakanlığından temin edilen halihazırda mevcut tek ve çok yıllık yabani *Helianthus* türleri koleksiyonu, projede genetik materyaller olarak kullanılmıştır. (Çizelge 3.1) Proje materyal listesindeki *Helianthus* türlerinin her birinden 4-5 adet aksesyon olduğundan, projede her bir türde yeterli alternatifler bulunmaktadır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan türler ve numaralandırılması

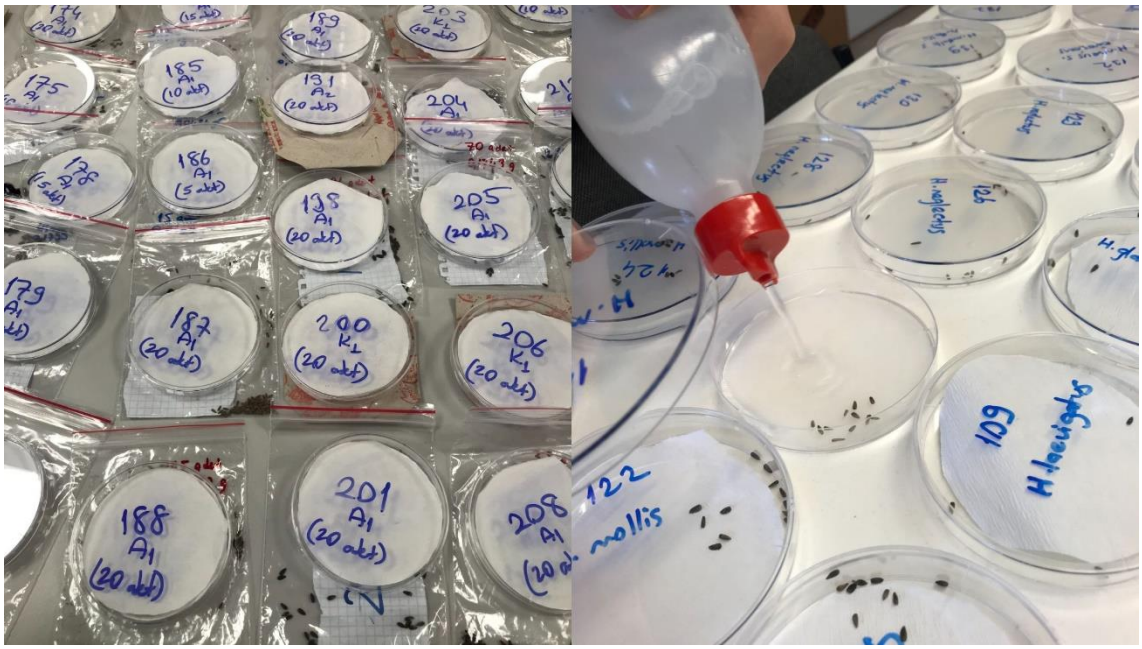
1	**Taxonomy**	**Sort No**	**Type**	**Country of Origin**
2	*Helianthus agretis*	3	Tek Yıllık	US Florida
3	*Helianthus annuus*	9	Tek Yıllık	US South Dakota
4	*Helianthus argophyllus*	14	Tek Yıllık	US Florida
5	*Helianthus atrorubens*	23	Çok Yıllık	US North Carolina
6	*Helianthus bolanderi*	27-30	Tek Yıllık	US California
7	*Helianthus californicus*	32-33	Çok Yıllık	US California
8	*Helianthus carnosus*	35-36	Çok Yıllık	US Florida
9	*Helianthus cusickii*	40	Çok Yıllık	US Washington
10	*Helianthus debilis subsp. cucumerifolius*	46-47	Tek Yıllık	US Georgia
11	*Helianthus debilis subsp. silvestris*	49	Tek Yıllık	US Texas
12	*Helianthus decapetalus*	52-55	Çok Yıllık	US Ohio
13	*Helianthus divaricatus*	63	Çok Yıllık	US Virginia
14	*Helianthus eggertii*	65-67	Çok Yıllık	US South Carolina
15	*Helianthus exilis*	68	Tek Yıllık	US California
16	*Helianthus giganteus*	74-77	Çok Yıllık	US North Carolina
17	*Helianthus glaucophyllus*	81	Çok Yıllık	US Tennessee
18	*Helianthus gracilentus*	83	Çok Yıllık	US California
19	*Helianthus grosseserratus*	87-88-89-91	Çok Yıllık	US North Dakota
20	*Helianthus heterophyllus*	95	Çok Yıllık	US Alabama
21	*Helianthus hirsutus*	97-99	Çok Yıllık	US Oklahoma
22	*Helianthus laciniatus*	102-105	Çok Yıllık	US Texas
23	*Helianthus laevigatus*	107-109	Çok Yıllık	US Virginia

24	*Helianthus longifolius*	111-113	Çok Yıllık	US Georgia
25	*Helianthus maximiliani*	114-116	Çok Yıllık	US Kentucky
26	*Helianthus mollis*	120-124	Çok Yıllık	US Missouri
27	*Helianthus neglectus*	127-130	Tek Yıllık	US New Mexico
28	*Helianthus niveus subsp. canescens*	131	Tek Yıllık	US Arizona
29	*Helianthus nuttallii*	136	Çok Yıllık	Canada Alberta
30	*Helianthus nuttallii subsp. nuttallii*	138-141	Çok Yıllık	US Oregon
31	*Helianthus nuttallii subsp. rydbergii*	144	Çok Yıllık	US North Dakota
32	*Helianthus occidentalis subsp. plantagineus*	148-149	Çok Yıllık	US Texas
33	*Helianthus paradoxus*	150-151	Tek Yıllık	US Texas
34	*Helianthus pauciflorus*	152-154	Çok Yıllık	Canada Manitoba
35	*Helianthus pauciflorus subsp. subrhomboideus*	160-162	Çok Yıllık	US Iowa
36	*Helianthus petiolaris*	164	Tek Yıllık	US Missouri
37	*Helianthus petiolaris subsp. petiolaris*	168-169	Tek Yıllık	US New Jersey
38	*Helianthus porteri*	182	Tek Yıllık	US Georgia
39	*Helianthus praecox*	184	Tek Yıllık	US Texas
40	*Helianthus praecox subsp.hirtus*	185	Tek Yıllık	US Texas
41	*Helianthus praecox subsp. praecox*	186	Tek Yıllık	US Texas
42	*Helianthus praecox subsp. runyonii*	188	Tek Yıllık	US Texas
43	*Helianthus pumilus*	191	Çok Yıllık	US Colorado
44	*Helianthus radula*	197	Çok Yıllık	US Florida
45	*Helianthus resinosus*	198	Çok Yıllık	US Mississippi
46	*Helianthus salicifolius*	203	Çok Yıllık	US Kansas
47	*Helianthus silphioides*	207-208	Çok Yıllık	US Arkansas
48	*Helianthus simulans*	212	Çok Yıllık	US Georgia
49	*Helianthus smithii*	214-216	Çok Yıllık	US North Carolina
50	*Helianthus strumosus*	223	Çok Yıllık	US Indiana
51	*Helianthus tuberosus*	231	Çok Yıllık	US South Dakota
52	*Helianthus winteri*	237	Çok Yıllık	US California
53	*Helianthus laetiflorus*	239	Çok Yıllık	US Virginia

3.2 Yöntem

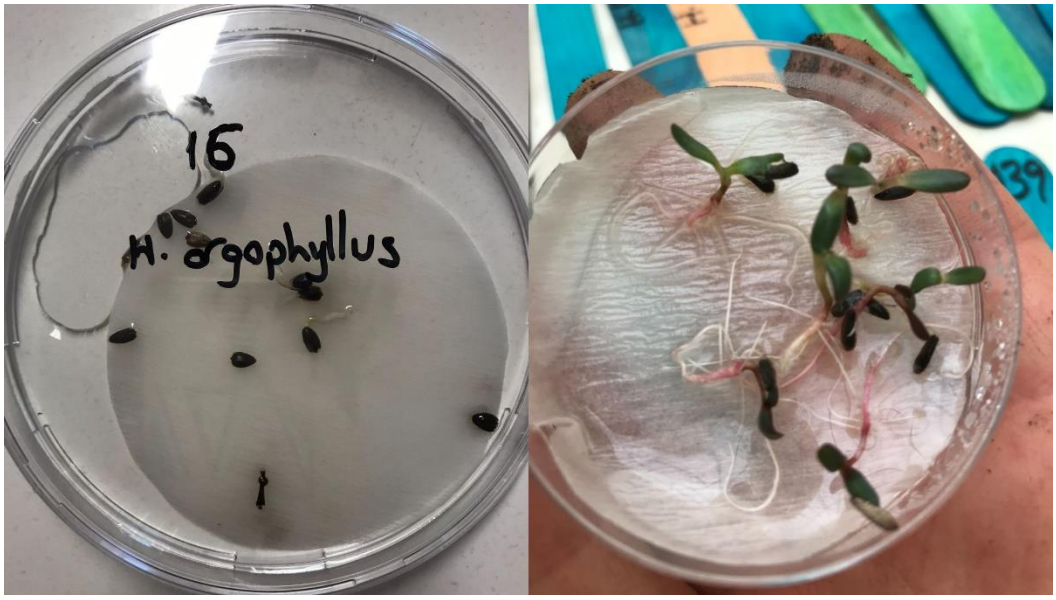
3.2.1 Çimlendirme

Çalışma için temin edilen ayçiçeği türlerine ait tohumlar petri kaplarına 10-15 adet olacak şekilde ekilmiştir. Tohumların üzerine 25 ppm etafon (yapay bitki büyüme düzenleyicisi) ilave edilmiştir. 26°C bekletilen tohumlar distile su ile durularak ozonlu su içerisine alınmıştır. Petrilerin üzerine sort no ve türlerin isimleri yazılmıştır ve çimlendirmek üzere uygun koşullarda bekletilmiştir. (Şekil 3.1, Şekil 3. 2)



Şekil 3.1. Petri kaplarına alınan tohumlar- Tohumlara etafon eklenmesi

Çimlenmeye başlayan türler içinde torflu toprak bulunan viyollere aktarılmıştır (Şekil 3.3). Toprakta yeterli miktarda büyüyen bitkiler daha sonra yabani ayçiçeği koleksiyon bahçesine aktarılmıştır. Bu bahçede yetişen türlerden alınan yapraklar çalışmada kullanılacak materyali sağlamıştır.



Şekil 3. 2. Tohumun çimlenmesi



Şekil 3.3. Çimlendikten sonra viyollere alınan tohumlar

3.2.2 DNA İzolasyonu

Tüplere alınan yaprak dokularına 3 mm metal bilye eklenmiş ve tüpler sıvı azota daldırılmıştır. Dokular bilye ve doku parçalayıcı (RETSCH MM400) ile toz şeklinde hazırlanmıştır. Toz şekline gelen dokulara gDNA izolasyonu yapmak amacıyla NORGEN Plant/Fungie DNA Isolation Kit (Product#26200) protokolü uygulanmıştır. Metotta aşağıdaki adımlar takip edilmiştir.

1. Örneklere 500 µl lizis tamponu ve 1 µL RNAase A eklenmiştir.

2 10 dakika 65°C su banyosunda bekletildi. Bu aşamada örnekler aralıklarla ters yüz edilmiştir.

3. 100 µL Binding Buffer eklenmiş ve 5 dakika buzda bekletilmiştir.

4. 2 dakika 14000 rpm'de santrifüj edilip filtreler aracılığıyla süpernatant alınmıştır.

5. Alınan süpernatant kadar %70 etanol eklenip vortekslenmiştir.

6. 650 µL gri kolonlu (filtre) tüplere eklenmiştir.

7. Tüpte kalan DNA'lar alttaki sıvıyı atıp tekrar eklendi ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

8. Alt fazlar dökülüp 500 µL Solution WN eklendi ve 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

9. Ardından tekrar alt fazlar dökülüp 500 µL Wash Solution A eklendi ve tekrar 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve daha sonra bu adım tekrarlanmıştır.

11. Tüplere hiçbir şey eklemeden 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.

12. Elution tüplere isimleri yazılıp gri kolonlar bu tüplere alınmıştır.

13. 70 µL Elution Buffer B eklenip 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

14. 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

15. Örnekler kalite ve konsatrasyonları ölçülmek üzere kaldırılmıştır.

3.2.3 DNA Konsantrasyon Ölçümü ve Kalite tayini

OPTİZEN NanoQ Spektrofotometresi kullanılarak örneklerin OD260 nm'de ng/µl biriminde DNA miktarları ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Sonrasında örneklerin OD260/OD280 nm'deki absorbans oranları ile saflıklarına bakılmıştır.

3.2.4 SSR Markırlarının Belirlenmesi

Çalışmada türe özgü olması, yüksek polimorfizm göstermesi, genomda sık tekrarlanması gibi özelliklerinden dolayı SSR markırlar ile çalışılmıştır. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda tür içi ayrımı sağlayacak 14 farklı markır belirlenmiştir. Seçilen SSR markırlarına ait bilgiler çizelge de sunulmuştur (Çizelge 3.2).

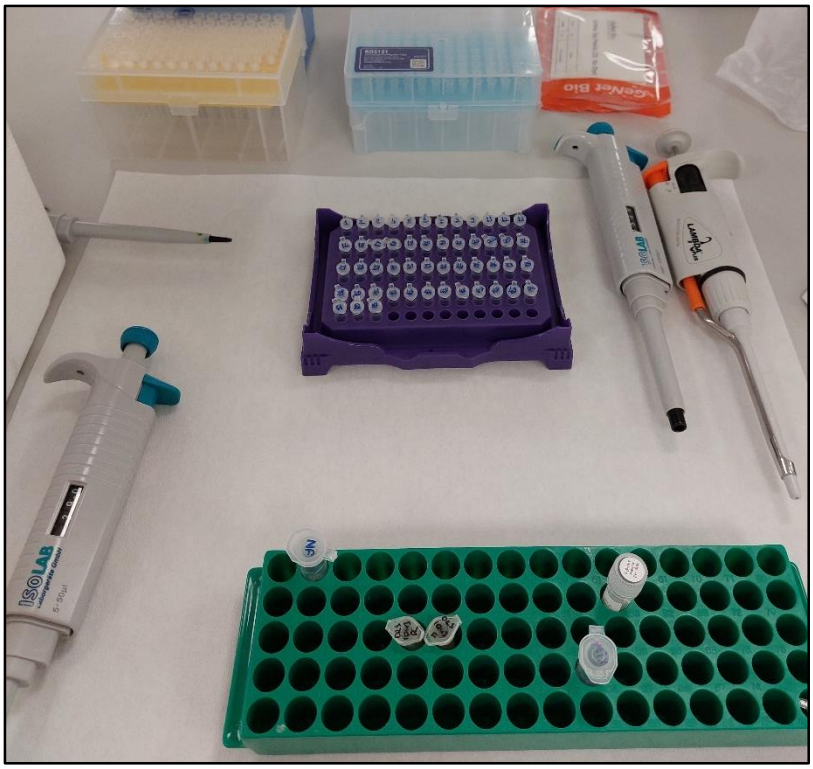
Çizelge 3.2. Kullanılan markırlar ve özellikleri

Markır Kodu	Primer İleri	Primer Geri	Tekrar motifleri	Allel Aralığı (bç)
ORS309	CATTTGGATGGAGCCACTTT	GATGAAGATGGGGAATTTGTG	$(A)_{19}$	107-148
ORS331	TGAAGAAGGGTTGTTGATTACAAG	GCATTGGGTTCACCATTTCT	$(CT)_{12}(AC)_{13}$	185-198
ORS381	CCAACGGTGATGTAACTAGGAA	GTTCTCCTGGATAGCTCGACA	$(AC)_{11}$	100,216,550
ORS398	CACGTCCTAAATTAAGTAGGAACGA	CCAAGACCTCCGTTGAGCTAT	$(AT)_9(GT)_{10}$ $(AT)_2(GT)_6$	298
ORS423	TCATATGGAGGGATCTGTTGG	AAGCAACCATAATGCATCAGAA	$(GT)_{18}$	375-393
ORS613	GTAAACCCTAGGTCAATTTGCAG	ATCTCCGGAAAACATTCTCG	$(AG)_{16}$	204-247
ORS788	CTGGATAAAGATGGGATAAAGAGAG	GGACCCACCAAGATTTGTTTT	$(AG)_{13}$	252-296
ORS887	TCGAAAACGACTAATCCAACTTTC	GAGCATGAACAAGAATTGACACA	$(AC)_{11}$	224-249

ORS899	GCCACGTATAACTGACTATGACCA	CGAATACAGACTCGATAAACGACA	$(AC)_{19}$	323-341
ORS1120	TAACGTGTGCAGGTCTGTCTAAA	TGCAAATAATAAGATAATGACCGATT	$(GT)_{13}(GA)_{16}$	250,300,321,400,600
ORS963	CCTCCTAGGGTGTGAGGATGAG	TCGAACTCTGGCTCTTGTAGTTG	$(GT)_{10}$	340
ORS1043	CCAAACCGTCATGTTCTATGTTC	AGTGTGATTGCGAATTGTAGTGC	$(CT)_{16}$	204
ORS662	CGGGTTGGATATGGAGTCAA	CCTTTACAAACGAAGCACAATTC	$(AG)_{16}$	314
ORS243			$(GGT)_{7}$	

3.2.5 PCR Analizleri

Yaprak dokularından saflaştırılan gDNA'lar 14 adet markır ile PCR işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.4). PCR sırasında kullanılan bileşenler ve konsantrasyonları (Çizelge 3.3)'de verilmiştir.



Şekil 3.4. PCR hazırlığı

Çizelge 3.3. PCR uygulamasında kullanılan reaksiyon bileşenleri

PCR İçeriği (15µl)	**Final Miktarı**
Master Mix(2X)	10µl
Primer F(10mM)	0.5µl
Primer R(10mM)	0.5µl
H_2O	7µl
gDNA(30ng/mL)	2µl

PCR reaksiyonları hacmi 15 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Her bir primer için PCR reaksiyonuna negatif kontrol ilave edilmiştir. Primerler için uygun reaksiyon koşulları aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.4, Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6).

Çizelge 3.4.Lokuslarının çoğaltımı için uygulanan PCR aşamaları

Sıcaklık(℃)	Süre	Döngü (Cycle)
94	3 dakika	1
94	45 saniye	35
(Tm) (53-53-49-59-52-56)	45 saniye	
72	45 saniye	
72	5dakika	1

Çizelge 3.5.ORS1043 markırı için uygulanan PCR adımları

Sıcaklık (℃)	Süre	Döngü (Cycle)
95	3 dakika	1
95	30 saniye	7 tekrar (her tekrarda -1℃)
64	40 saniye	
72	45 saniye	
94	30 saniye	33 tekrar
58	40 saniye	
72	1 dakika	
72	5 dakika	1

Çizelge 3.6. ORS662 markırı için uygulanan PCR adımları

Sıcaklık (℃)	Süre	Döngü (Cycle)
95	3 dakika	1
95	30 saniye	7 tekrar (her tekrarda -1℃)
64	30 saniye	
72	30 saniye	
95	30 saniye	33 tekrar
58	30 saniye	
72	30 saniye	
72	3dakika	1

3.2.6 Kapiler Elektroforez

PCR sonrası SSR lokuslarına ait DNA fragmentleri boyut analizi için kapiler elektroforez cihazına yüklenmiştir (AATI Fragment Analyzer) (Şekil 3. 5). 1/5 oranında dilution buffer ile sulandırılmış, PCR ürünleri 96'lı plate'lere yerleştirilmiştir. 1-500 bp arasındaki DNA fragmentlerinin analiz edilmesi için DNF-905 dsDNA 905 Reagent Kiti ve kite ait olan ‘’DNF-905-55 - DNA 1-500bp.mthds’’ metodu seçilerek örnekler cihaza alınmıştır. DNA fragmentleri 80 dakika boyunca 9,0 kV elektrik akımında birbirinden ayrılmıştır. Elektroforez işlemi sonrası elde edilen veriler exel dosyasına kaydedilmiştir.



Şekil 3. 5. Çalışmada kullanılan kapiler elektroforez cihazı

3.2.7 Verilerin İşlenmesi ve Dendrogramın Oluşturulması

Kapiler elektroforez sonucu elde edilen her bir markır lokusuna ait allel büyüklükleri uygun formatta tablo haline getirilmiştir. Taranan tüm ayçiçeği materyaline ait 12 farklı SSR markırına ait allellerin frekansları GenAlex 6.5 programı kullanılarak tek tek hesaplanmıştır. Ortaya çıkan allel bulguları istatistiksel olarak değerlendirilip, genetik uzaklık ve benzerlik matriksleri oluşturulmuştur (Şekil 4. 11, Şekil 4. 13). Benzerlik matrikslerine dayalı UPGMA dendrogamı ise DarWin ile oluşturulmuştur (Şekil 4. 12).

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. gDNA İzolasyonu İle İlgili Sonuçlar

49 adet *Helianthus* türünden çalışmada kullanılmak amacıyla yaprak dokularından gDNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen gDNA'ların konsantrasyon ölçümleri spektrofotometre de yapılmış ve kayıt altına alınmıştır (Çizelge 4.1). Genel olarak kaliteli DNA elde edildiği görülmüştür.

Çizelge 4.1. Genomik DNA spektrofotometre sonuçları

3	114 ng / uL	141	301 ng / uL
9	398 ng / uL	144	224 ng / uL
14	148 ng / uL	149	693 ng / uL
23	104 ng / uL	150	478 ng / uL
27	211 ng / uL	152	147 ng / uL
33	98 ng / uL	162	113 ng / uL
36	366 ng / uL	164	311 ng / uL
40	137 ng / uL	168	690 ng / uL
46	165 ng / uL	183	570 ng / uL
55	678 ng / uL	184	388 ng / uL
63	476 ng / uL	185	380 ng / uL
67	122 ng / uL	186	371 ng / uL
68	56 ng / uL	187	280 ng / uL
77	260 ng / uL	191	185 ng / uL
89	293 ng / uL	196	324 ng / uL
95	148 ng / uL	198	345 ng / uL
99	641 ng / uL	203	511 ng / uL

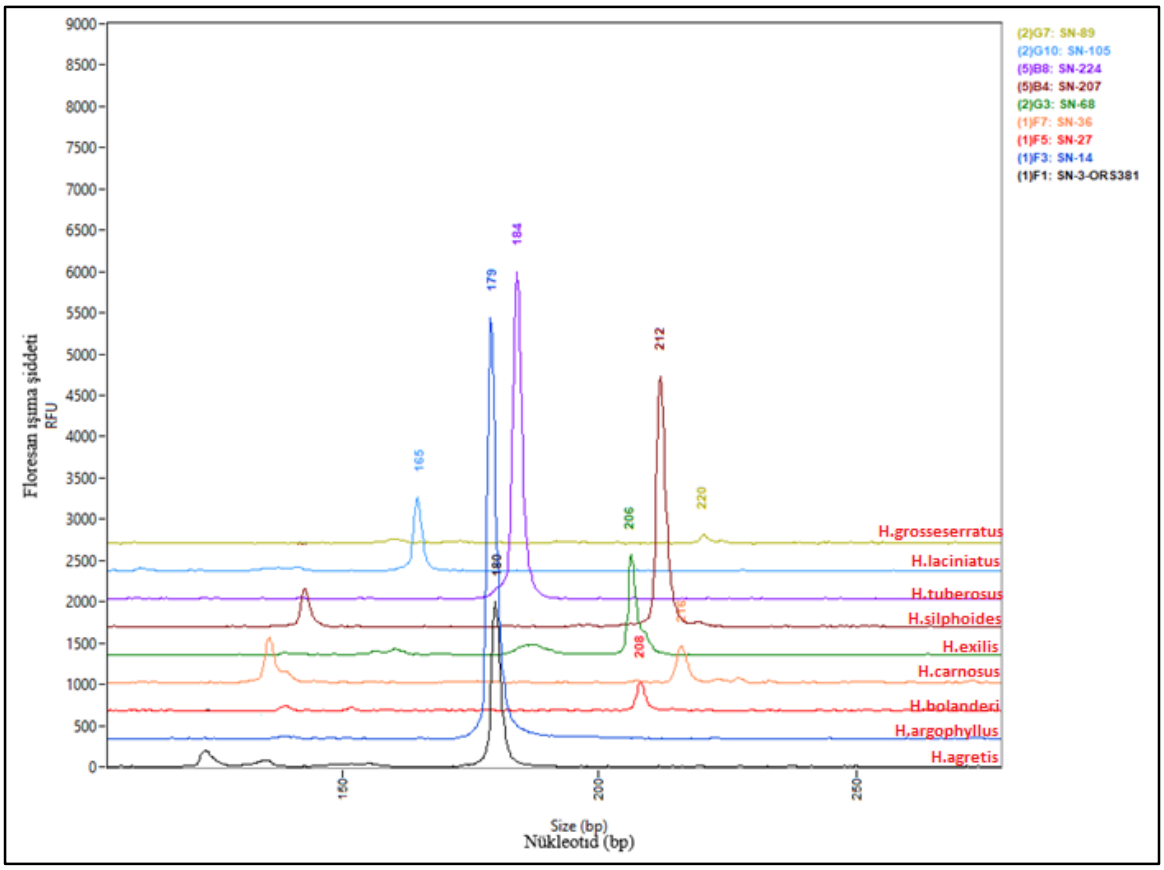
105	401 ng / uL	207	68ng / uL
109	160 ng / uL	212	127 ng / uL
113	50 ng / uL	216	74 ng / uL
116	96 ng / uL	223	85 ng / uL
124	826 ng / uL	224	98 ng / uL
130	551 ng / uL	237	144 ng / uL
131	322 ng / uL	239	86 ng / uL
136	261 ng / uL		

4.2. Kapiler Elektroforez Sonuçları

Yabani ayçiçeği türleri arasındaki genetik ilişkinin saptanması amacıyla 14 farklı markır (Çizelge 3.2) taranmıştır. Daha sonra her bir markıra ait markır lokusları kapiler elektroforez cihazıyla ölçülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucu 6 adet primer polimorfizm göstermediği ve tekrarlanmasına rağmen düzgün sonuç elde edilemediği için değerlendirmeye alınmamış ve çalışmaya dahil edilmemiştir (Şekil 4.9, Şekil 4. 10). ORS243, ORS398, ORS899, ORS1120, ORS963, ORS613 ve diğer 8 primer ile (ORS309, ORS331, ORS381, ORS423, ORS1043, ORS788, ORS887, ORS662) her bir türde üretilen DNA fragmentleri AATI fragment analyzer cihazında ayrıntılı olarak incelenmiştir.

4.2.1. ORS381 Markırı

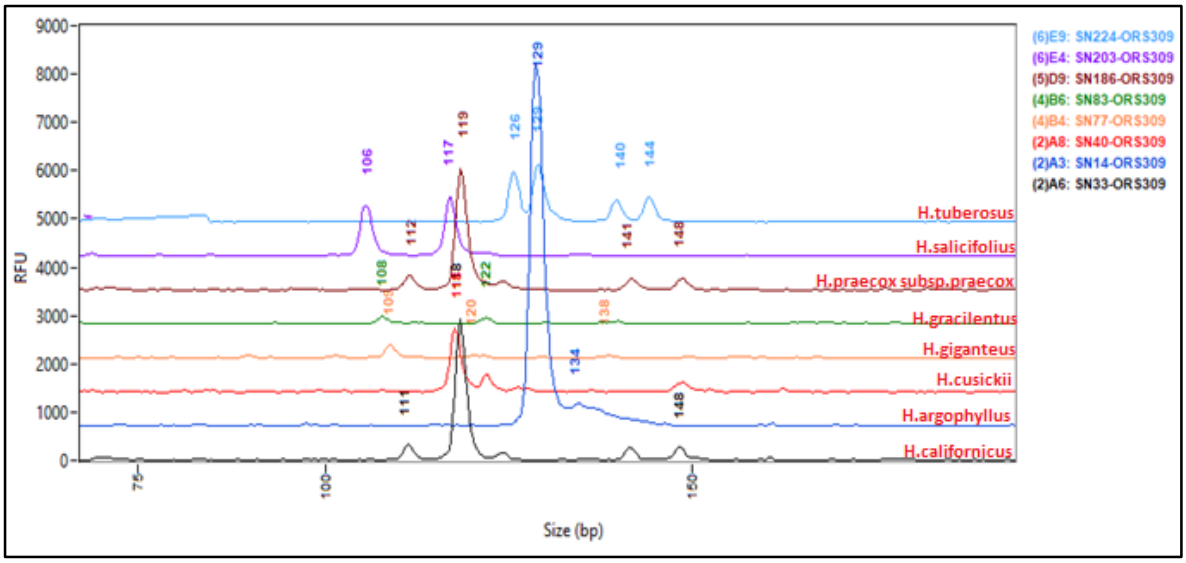
ORS381 markırı ile yapılan çalışma sonucu, maksimum 398bp, minimum 126bp büyüklüğünde olmak üzere toplam 15 farklı allel görülmüştür. Genel olarak 165- 208 bp aralığındaki alleler gözlenmiştir (Şekil 4.1). Bu markırın polimorfizm gösterdiği, türler arası ayırt edici olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.1. ORS381 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.2. ORS309 Markırı

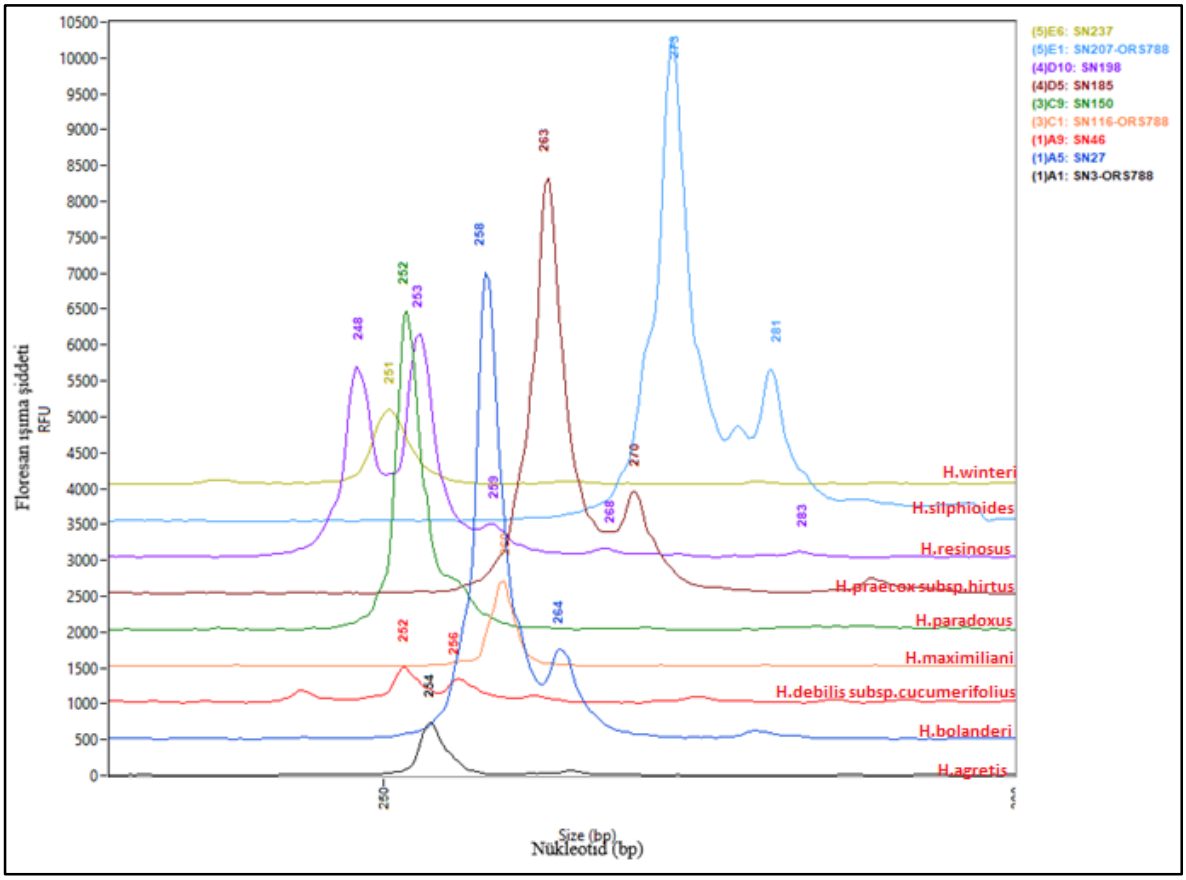
ORS309 markırı ile yapılan çalışma sonucunda maksimum 270 bp, minimum 106 bp büyüklüğünde olmak üzere 15 farklı allel görülmüştür. Genel olarak 109- 135 bp aralığında pikler gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. ORS309 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.3. ORS788 Markırı

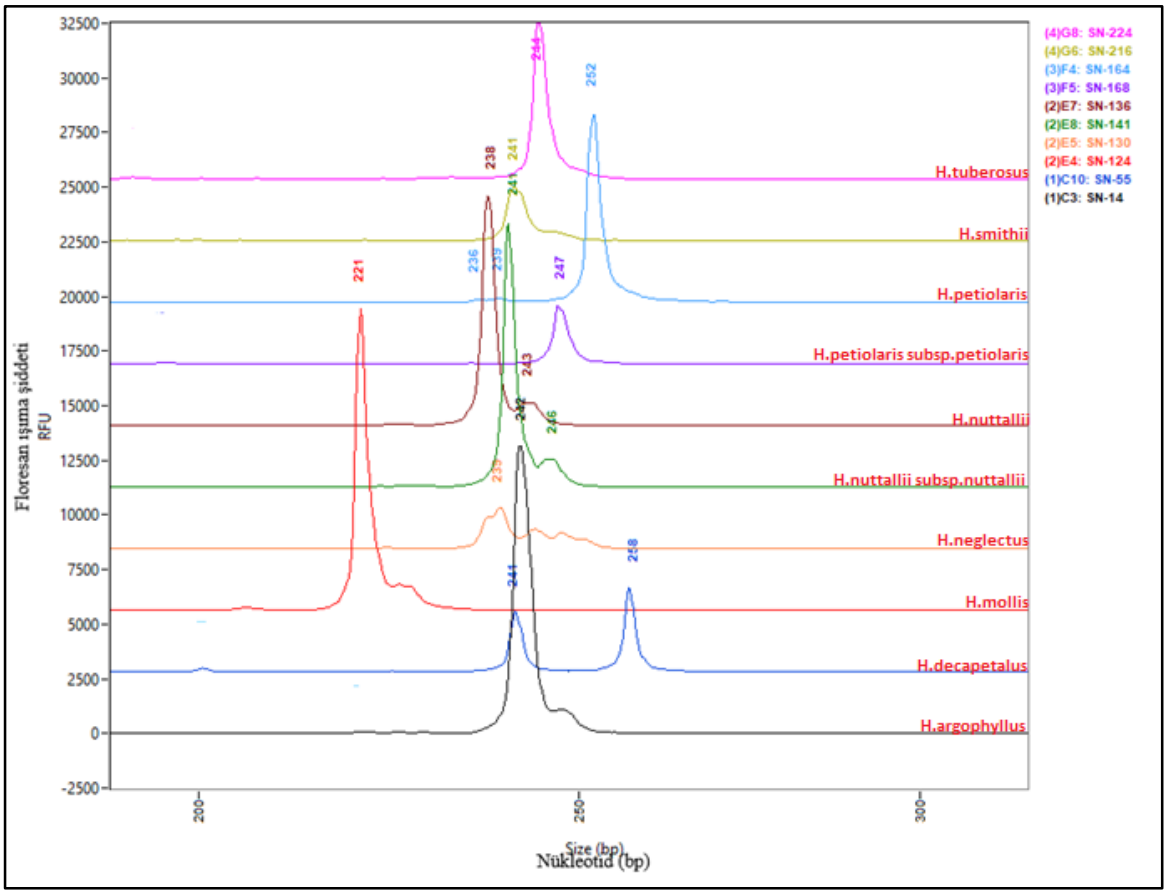
ORS788 markırı ile yapılan çalışmada, maksimum 289bp, minimum 230bp büyüklüğünde olmak üzere 24 allel görülmüştür. Genel olarak bakıldığında piklerin 250-265bp aralığında olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3). Bu markır ile oldukça kaliteli sonuçlar elde edilmiştir ve tür içi ayrımı sağlayabildiği düşünülmektedir.



Şekil 4.3. ORS788 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.4. ORS887 Markırı

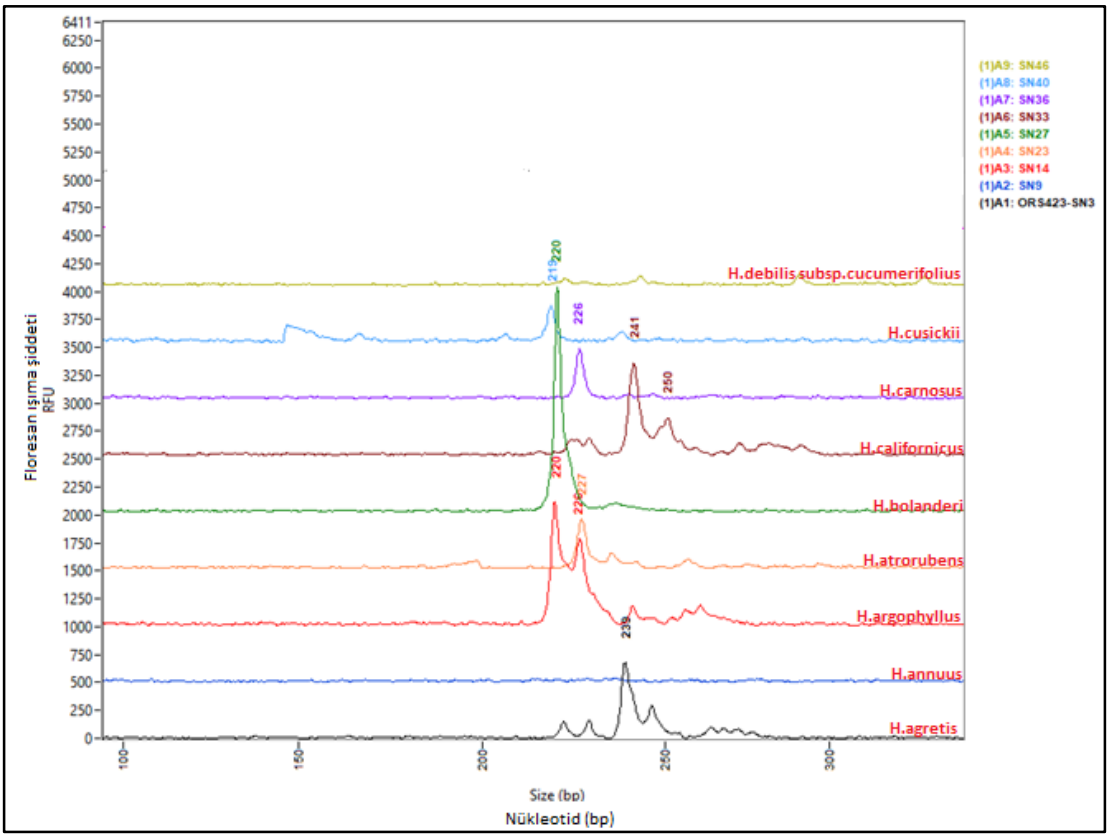
ORS887 markırı ile yapılan çalışmada maksimum 259bp, minimum 219bp büyüklüğünde olmak üzere 21 farklı allel görülmüştür. Genel olarak allelerin büyüklüğünün 235-250 bp aralığında olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. ORS887 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.5. ORS423 Markırı

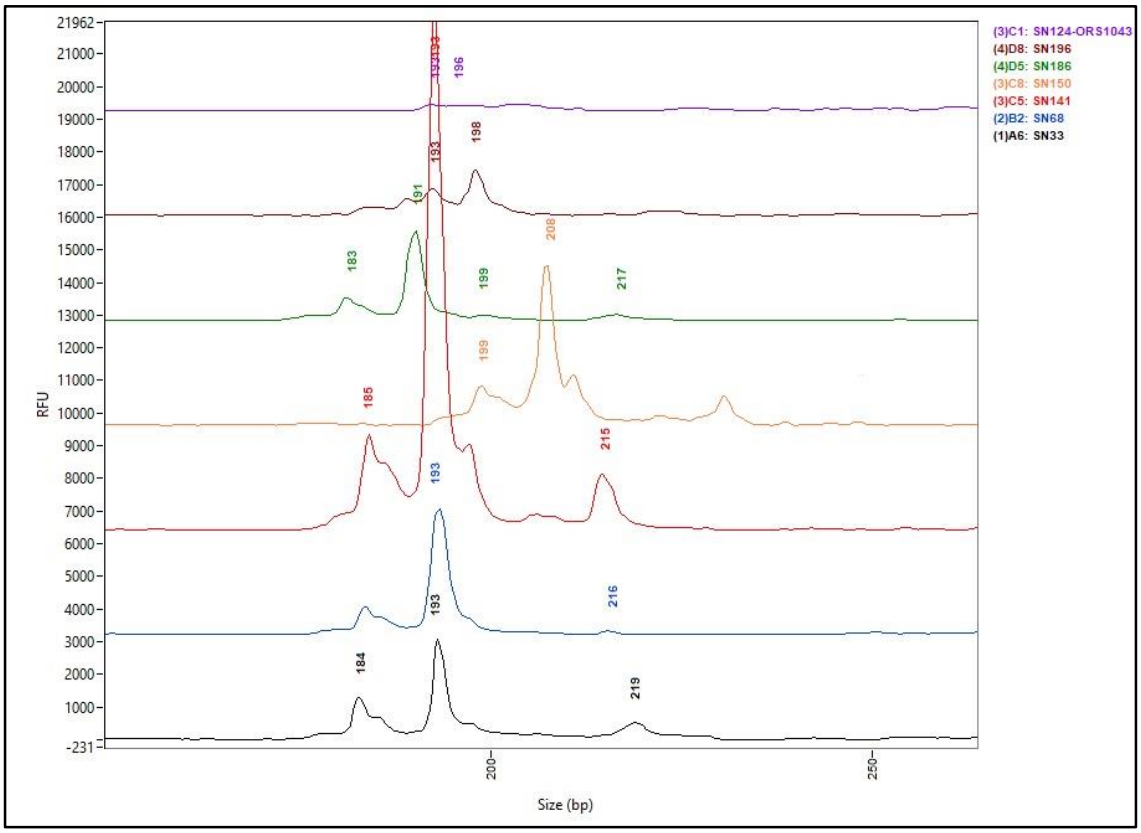
ORS423 markırı ile yapılan çalışmada genel olarak 214 – 246 bp aralığında pikler gözlenmiştir. Maksimum 246 bp, minimum 214 bp büyüklüğünde olmak üzere 18 allel görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. ORS423 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.6. ORS1043 Markırı

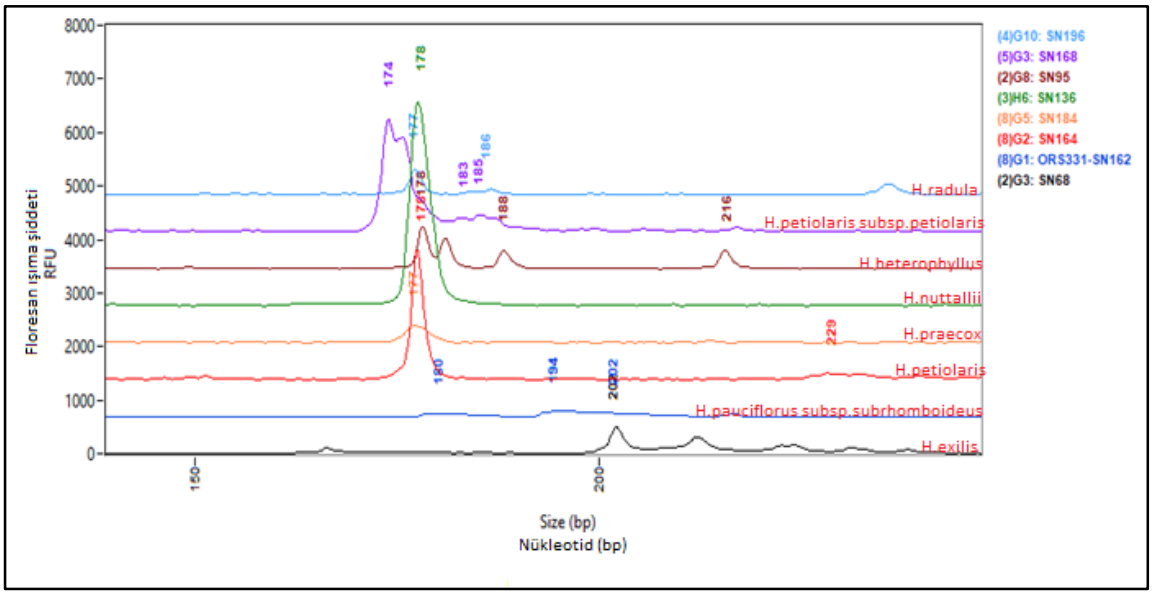
Bu markır ile yapılan çalışma sonucunda minimum 190bp, maksimum 212bp olmak üzere toplamda 12 allel gözlenmiştir. Allelerin genenl olarak 190-200bp aralığında olduğu görülmüştür (Şekil 4.6)



Şekil 4.6. ORS1043 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.7. ORS331 Markırı

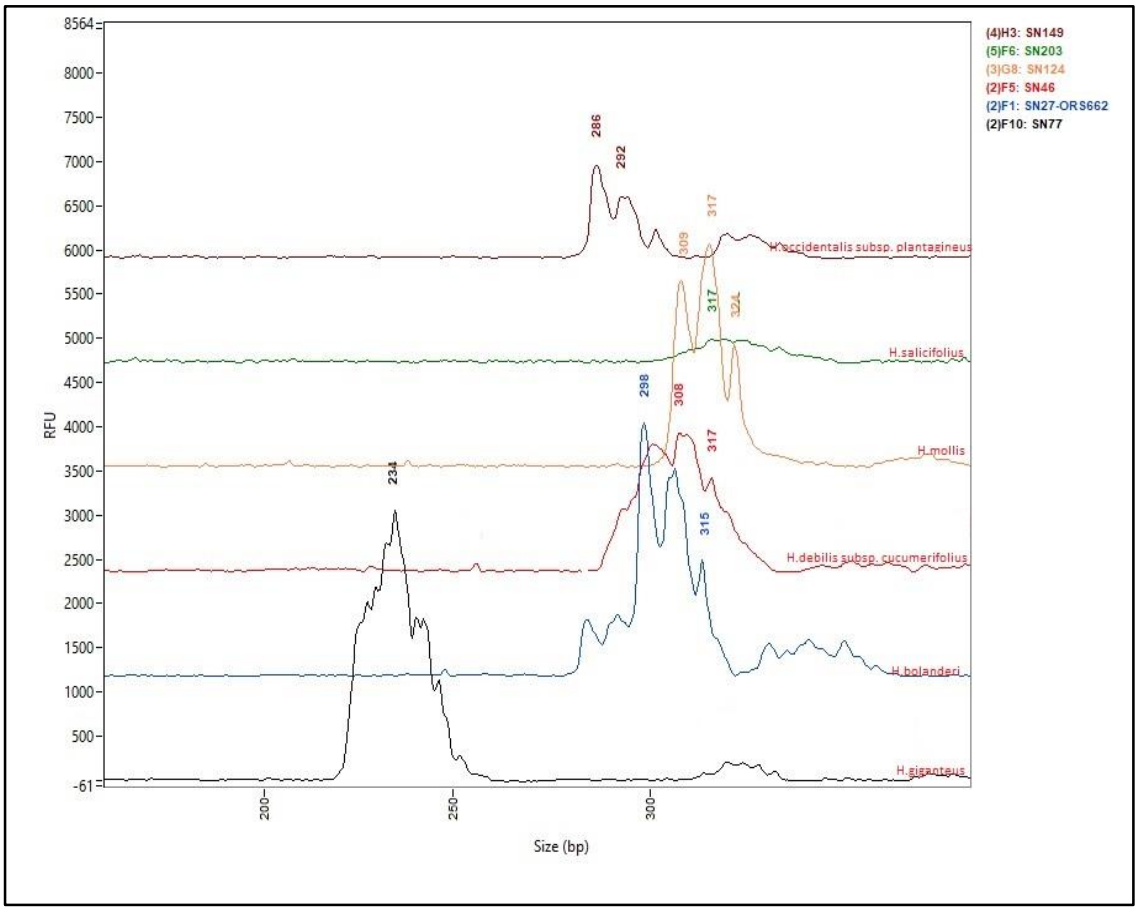
ORS331 markırı ile yapılan çalışma da maksimum 216 bp minimum 174 bp büyüklüğünde pikler görülmüştür. Anlamlı piklerin genel olarak 174-179 bp aralığında olduğu görülmektedir (Şekil 4.7). Toplam 10 farklı allel gözlenmiştir.



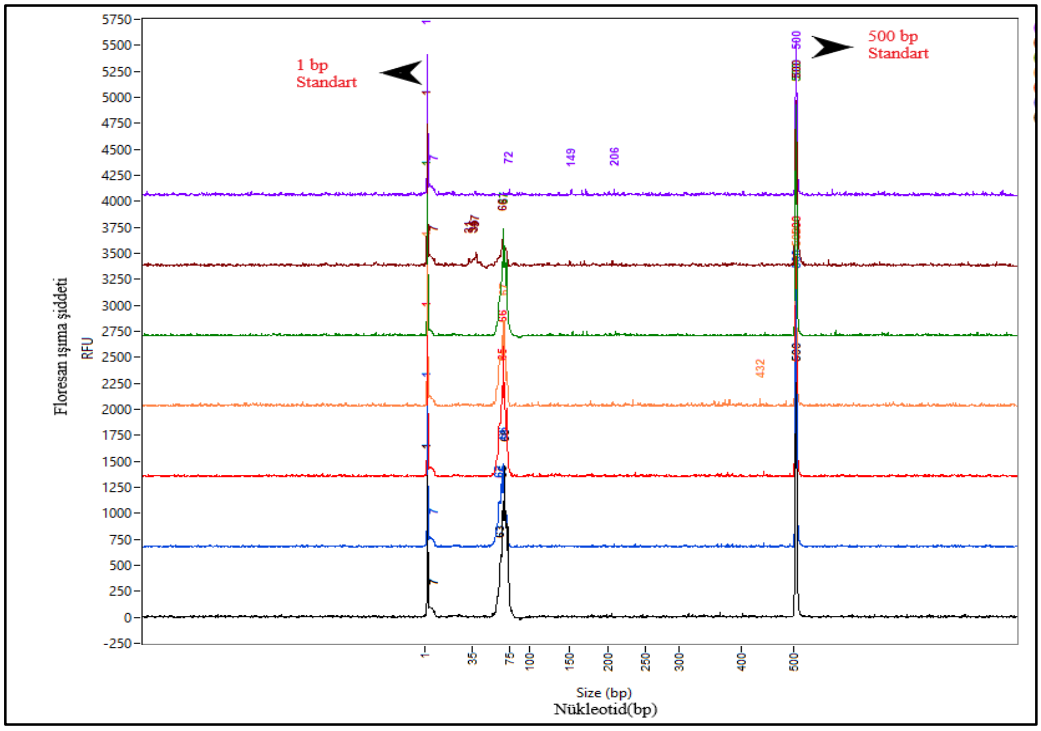
Şekil 4.7. ORS331 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri

4.2.8. ORS662 Markırı

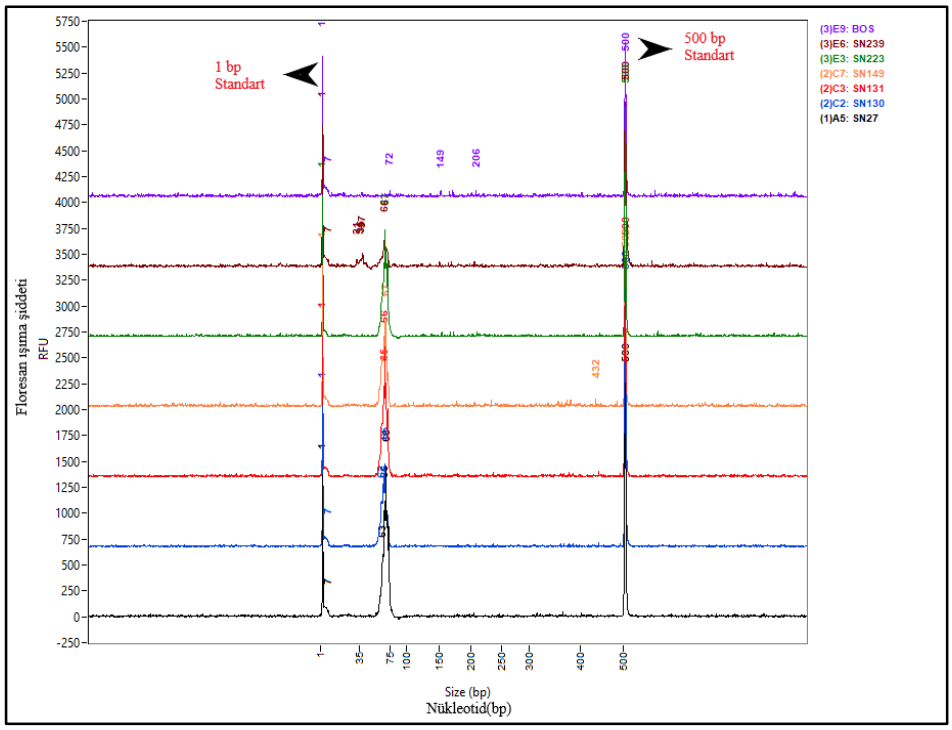
Bu markır ile yapılan çalışma sonucunda, minimum 140bp, maksimum 332bp olmak üzere toplamda 19 allel gözlenmiştir. Aleller genel olarak 306-325bp aralığındadır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. ORS662 markırı ile elde edilen farklı allelere ait DNA fragmentleri



Şekil 4.9. Çalışmayan markır görüntüsü (ORS1120).



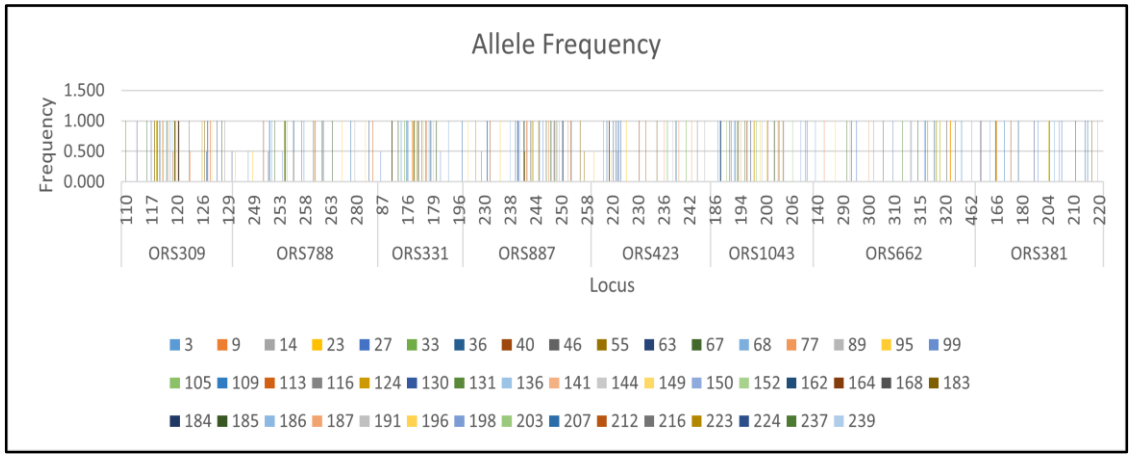
Şekil 4. 10. Çalışmayan markır görüntüsü. (ORS899)

4.3. Yabani Ayçiçeği Türlerinde SSR Lokusları ve Çeşitlilik

Kullanılan markırlara ait analizler GenAlex (Peakall veSmouse, 2006) programı ile yapılmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4. 11). Analiz edilen 8 SSR markırı için toplamda 134 allel elde edilmiştir. En çok allel (24) ORS788 markırında görülmüştür. Lokus başına allel sayısı 16 olarak hesaplanmıştır. Her bir markıra ait alleller ile, allel frekansları ve lokuslara ait allellerin taranan 50 çeşit arasındaki dağılımı ve PIC değeri (Çizelge 4.2)'de verilmiştir. DARwin 6.0 programı ile çeşitler arasındaki genetik benzerlik ve uzaklık mesafesi Nei 1987'e göre hesaplanmış Neighbor joining yöntemi kullanarak çeşitlerin filogenetik ilişkilerini ortaya koyan dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4. 12).

Çizelge 4.2. Kullanılan SSR Markırlarına ait allel bilgileri

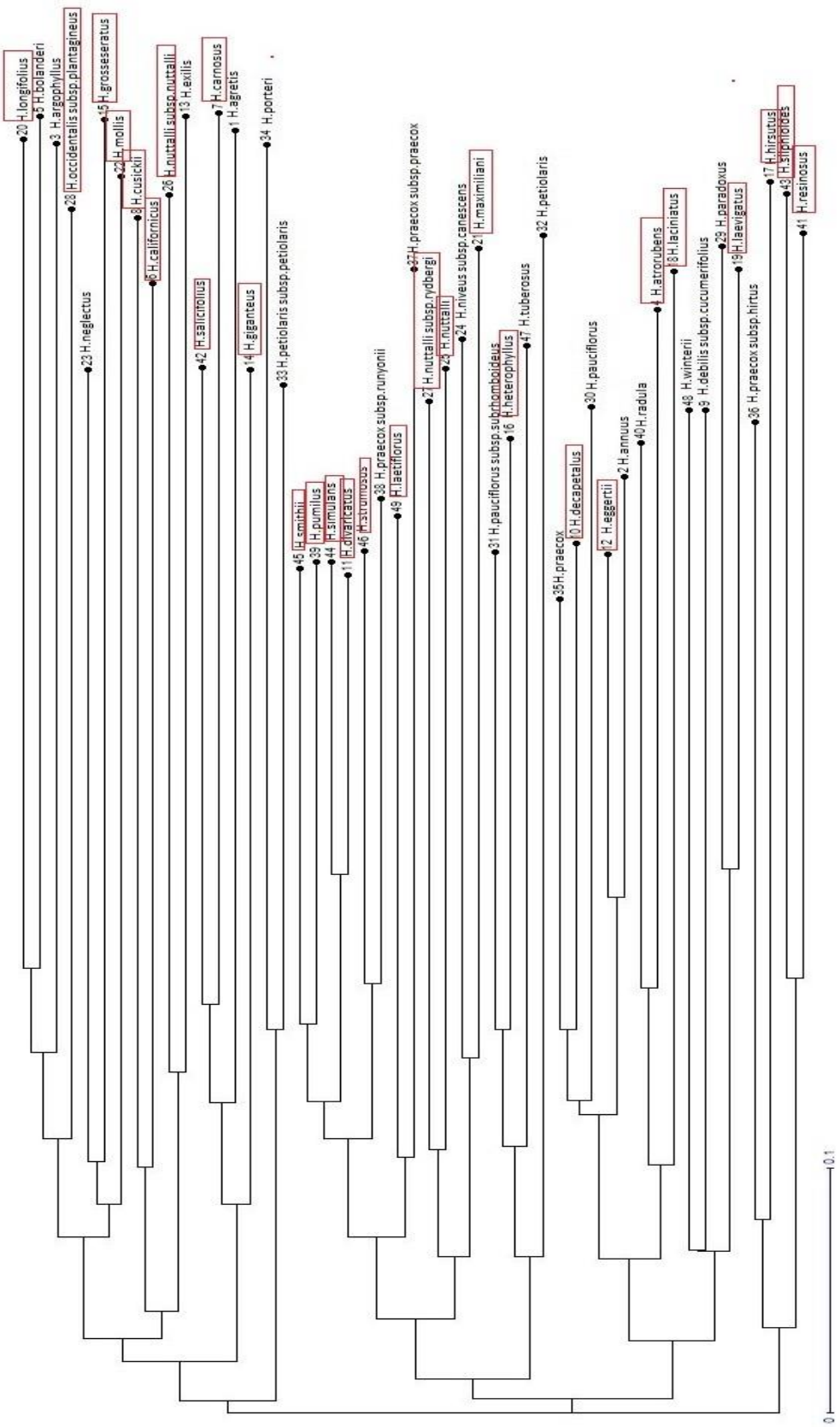
Markır	Gözlenen Allel Sayısı	Minimum Allel Büyüklüğü (bç)	Maksimum Allel Büyüklüğü (bç)	PIC (Polimorfik Bilgi İçeriği)
ORS309	13	106	270	0.846
ORS423	14	214	246	0.89
ORS331	10	174	216	0.799
ORS381	15	126	398	0.909
ORS788	17	230	289	0.899
ORS887	15	219	259	0.881
ORS1043	12	190	212	0.887
ORS662	19	140	332	0.918



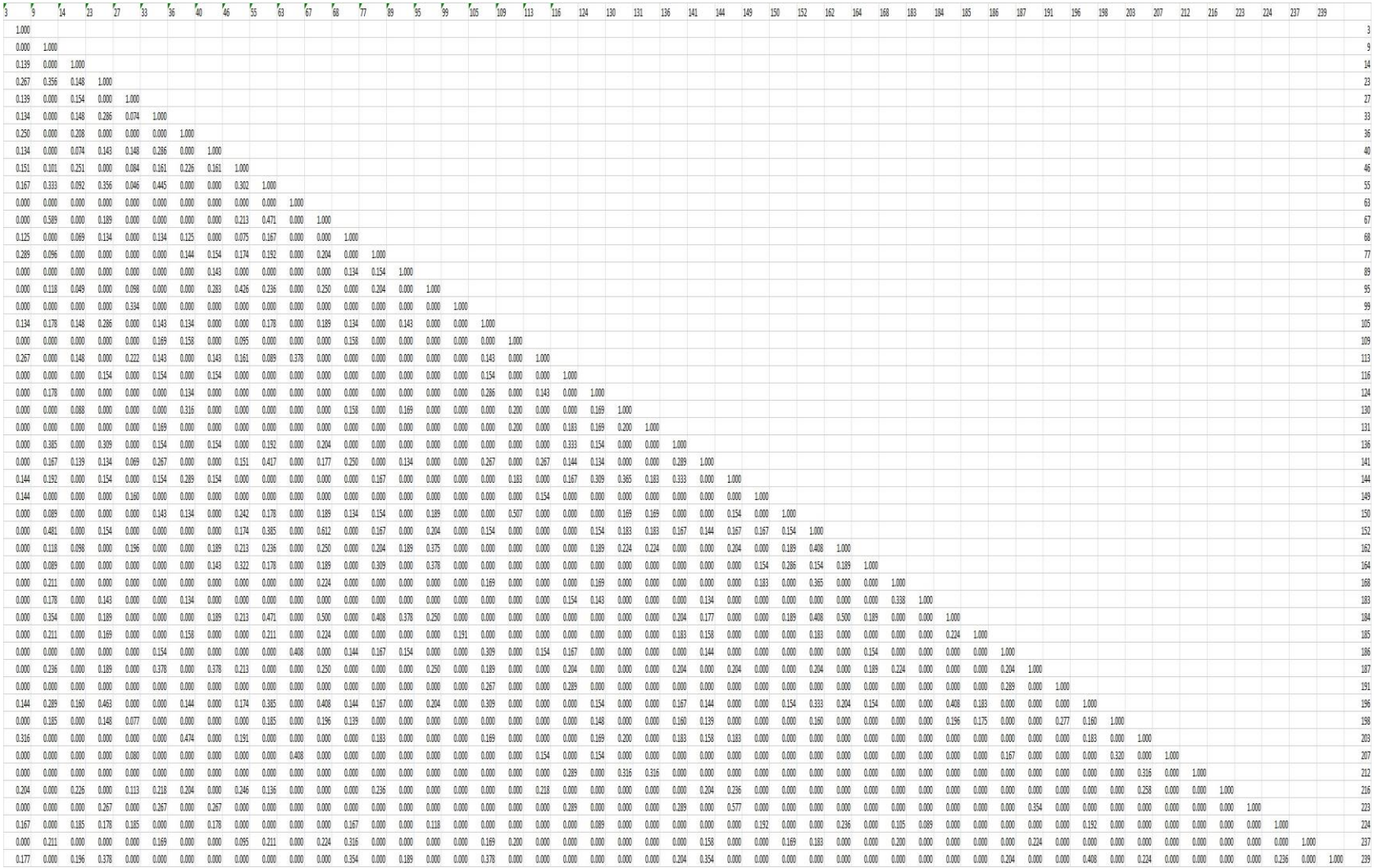
Şekil 4. 11. Allelerin farklı türlerde görülme sıklığı

Çizelge 4. 3. Çeşitlere özgü alleler

Tür	SSR Lokusu	Allel	Tür	SSR Lokusu	Allel
9	ORS309	125	185	ORS381	210
131	ORS309	110	186	ORS381	164
216	ORS309	124	207	ORS381	212
237	ORS309	116	224	ORS381	184
14	ORS662	306	40	ORS887	232
46	ORS662	608	55	ORS887	258
67	ORS662	315	95	ORS887	236
68	ORS662	140	124	ORS887	222
77	ORS662	234	136	ORS887	238
99	ORS662	310	149	ORS887	220
109	ORS662	332	183	ORS887	254
131	ORS662	312	68	ORS331	195
141	ORS662	300	99	ORS331	87
149	ORS662	286	99	ORS331	187
150	ORS662	462	207	ORS331	196
168	ORS662	320	89	ORS788	280
237	ORS662	290	95	ORS788	246
23	ORS423	228	95	ORS788	249
89	ORS423	250	113	ORS788	328
95	ORS423	214	164	ORS788	250
113	ORS423	234	185	ORS788	263
116	ORS423	244	196	ORS788	264
164	ORS423	230	198	ORS788	248
183	ORS423	235	198	ORS788	253
27	ORS381	208	207	ORS788	274
89	ORS381	220	150	ORS1043	208
99	ORS381	190	152	ORS1043	206
109	ORS381	168	198	ORS1043	186



Şekil 4. 12. 49 Yabani ayçiçeği türüne ait dendrogram (İşaretli türler çok yıllıktır)



3	9	14	23	27	33	36	40	46	55	63	67	68	77	89	95	99	105	109	113	116	124	130	131	136	141	144	149	150	152	162	164	168	183	184	185	186	187	191	196	198	203	207	212	216	223	224	237	239	
1.000																																																	3
0.000	1.000																																																9
0.139	0.000	1.000																																															14
0.267	0.356	0.148	1.000																																													23
0.139	0.000	0.154	0.000	1.000																																											27
0.134	0.000	0.148	0.286	0.074	1.000																																											33
0.250	0.000	0.208	0.000	0.000	0.000	1.000																																										36
0.134	0.000	0.074	0.143	0.148	0.286	0.000	1.000																																									40
0.151	0.101	0.251	0.000	0.084	0.161	0.226	0.161	1.000																																								46
0.167	0.333	0.092	0.356	0.046	0.445	0.000	0.000	0.302	1.000																																							55
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																					63
0.000	0.589	0.000	0.189	0.000	0.000	0.000	0.000	0.213	0.471	0.000	1.000																																				67
0.125	0.000	0.069	0.134	0.000	0.134	0.125	0.000	0.075	0.167	0.000	0.000	1.000																																				68
0.289	0.096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.144	0.154	0.174	0.192	0.000	0.204	0.000	1.000																																				77
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.134	0.154	1.000																																				89
0.000	0.118	0.049	0.000	0.098	0.000	0.000	0.283	0.426	0.236	0.000	0.250	0.000	0.204	0.000	1.000																																				95
0.000	0.000	0.000	0.000	0.334	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				99
0.134	0.178	0.148	0.286	0.000	0.143	0.134	0.000	0.000	0.178	0.000	0.189	0.134	0.000	0.143	0.000	0.000	1.000																																				105
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.169	0.158	0.000	0.095	0.000	0.000	0.000	0.158	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				109
0.267	0.000	0.148	0.000	0.222	0.143	0.000	0.143	0.161	0.089	0.378	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	1.000																																				113
0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.154	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	1.000																																				116
0.000	0.178	0.000	0.000	0.000	0.000	0.134	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.286	0.000	0.143	0.000	1.000																																				124
0.000	0.000	0.088	0.000	0.000	0.000	0.316	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.158	0.000	0.169	0.000	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000	0.169	1.000																																				130
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200	0.000	0.183	0.169	0.200	1.000																																				131
0.000	0.385	0.000	0.309	0.000	0.154	0.000	0.154	0.000	0.192	0.000	0.204	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.333	0.154	0.000	0.000	1.000																																				136
0.000	0.167	0.139	0.134	0.069	0.267	0.000	0.000	0.151	0.417	0.000	0.177	0.250	0.000	0.134	0.000	0.000	0.267	0.000	0.267	0.144	0.134	0.000	0.000	0.289	1.000																																				141
0.144	0.192	0.000	0.154	0.000	0.154	0.289	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.000	0.167	0.309	0.365	0.183	0.333	0.000	1.000																																				144
0.144	0.000	0.000	0.000	0.160	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				149
0.000	0.089	0.000	0.000	0.000	0.143	0.134	0.000	0.242	0.178	0.000	0.189	0.134	0.154	0.000	0.189	0.000	0.000	0.507	0.000	0.000	0.000	0.169	0.169	0.000	0.000	0.154	0.000	1.000																																				150
0.000	0.481	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.174	0.385	0.000	0.612	0.000	0.167	0.000	0.204	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.154	0.183	0.183	0.167	0.144	0.167	0.167	0.154	1.000																																				152
0.000	0.118	0.098	0.000	0.196	0.000	0.000	0.189	0.213	0.236	0.000	0.250	0.000	0.204	0.189	0.375	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.189	0.224	0.224	0.000	0.000	0.204	0.000	0.189	0.408	1.000																																				162
0.000	0.089	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.322	0.178	0.000	0.189	0.000	0.309	0.000	0.378	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.286	0.154	0.189	1.000																																				164
0.000	0.211	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.224	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.169	0.000	0.000	0.000	0.169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.000	0.365	0.000	0.000	1.000																																				168
0.000	0.178	0.000	0.143	0.000	0.000	0.134	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.143	0.000	0.000	0.000	0.134	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.338	1.000																																				183
0.000	0.354	0.000	0.189	0.000	0.000	0.000	0.189	0.213	0.471	0.000	0.500	0.000	0.408	0.378	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.204	0.177	0.000	0.000	0.189	0.408	0.500	0.189	0.000	0.000	1.000																																				184
0.000	0.211	0.000	0.169	0.000	0.000	0.158	0.000	0.000	0.211	0.000	0.224	0.000	0.000	0.000	0.000	0.191	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.158	0.000	0.000	0.000	0.183	0.000	0.000	0.000	0.000	0.224	1.000																																				185
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.408	0.000	0.144	0.167	0.154	0.000	0.000	0.309	0.000	0.154	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.144	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				186
0.000	0.236	0.000	0.189	0.000	0.378	0.000	0.378	0.213	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.189	0.000	0.000	0.204	0.000	0.000	0.000	0.204	0.000	0.204	0.000	0.000	0.204	0.000	0.189	0.224	0.000	0.000	0.000	0.204	0.000	1.000																																				187
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.267	0.000	0.000	0.289	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.289	0.000	1.000																																				191
0.144	0.289	0.160	0.463	0.000	0.000	0.144	0.000	0.174	0.385	0.000	0.408	0.144	0.167	0.000	0.204	0.000	0.309	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.167	0.144	0.000	0.000	0.154	0.333	0.204	0.154	0.000	0.000	0.408	0.183	0.000	0.000	0.000	1.000																																				196
0.000	0.185	0.000	0.148	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.185	0.000	0.196	0.139	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.148	0.000	0.000	0.160	0.139	0.000	0.000	0.000	0.160	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.196	0.175	0.000	0.000	0.277	0.160	1.000																																				198
0.316	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.474	0.000	0.191	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.000	0.000	0.000	0.169	0.000	0.000	0.000	0.169	0.200	0.000	0.183	0.158	0.183	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.000	1.000																																				203
0.000	0.000	0.000	0.000	0.080	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.408	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.320	0.000	1.000																																				207
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.289	0.000	0.316	0.316	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.316	0.000	1.000																																				212
0.204	0.000	0.226	0.000	0.113	0.218	0.204	0.000	0.246	0.136	0.000	0.000	0.000	0.236	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.218	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.204	0.236	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.258	0.000	0.000	1.000																																				216
0.000	0.000	0.000	0.267	0.000	0.267	0.000	0.267	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.289	0.000	0.000	0.000	0.289	0.000	0.577	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.354	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				223
0.167	0.000	0.185	0.178	0.185	0.000	0.000	0.178	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.118	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.089	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.192	0.000	0.000	0.236	0.000	0.105	0.089	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.192	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				224
0.000	0.211	0.000	0.000	0.000	0.169	0.000	0.000	0.095	0.211	0.000	0.224	0.316	0.000	0.000	0.000	0.000	0.169	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.158	0.000	0.000	0.169	0.183	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.224	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000																																				237
0.177	0.000	0.196	0.378	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.354	0.000	0.189	0.000	0.000	0.378	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.204	0.354	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.204	0.000	0.000	0.408	0.000	0.224	0.000	0.000	0.000	0.000	0.236	0.000	1.000	239

Şekil 4. 13. Genetik benzerlik matrisi

BÖLÜM 5

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu çalışma; yabani ayçiçeği türleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi, evrimsel süreçte türlerin birbirlerine olan yakınlıklarının araştırılması amacıyla yapılmıştır. Kullanılan markırlar yapılan literatür araştırmaları sonucu belirlenen, türler arası kullanılabilir olan ve ayçiçeğinde polimorfizm gösterdiği bilinen markırlardır (Çizelge 3.2).

Çalışmada 14 farklı markır kullanılmıştır. Fakat çalışılan markırlardan 2'si materyal yetmediğinden, diğer ikisi ise düzgün sonuç vermediğinden çalışmadan çıkarılmıştır. Hiç sonuç alınmadığı veya doku yetersizliğinden kaynaklı ise SN49, SN81, SN83 (*H. debilis subsp silvestris, H. glaucophyllus, H. gracilentus*) türleri çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu yüzden kalan 49 türün, 8 markır kullanılarak genotiplenmesi yapılmıştır.

GenAlex ile yapılan analizler sonucunda 49 çeşit, toplam 134 allel vermiştir. En fazla allel (19) ORS662 markırında elde edilmiştir. En az allel ise (10) ORS331 markırından elde edilmiştir. Lokus başına allel sayısı ortalama 19 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Bu çalışmada PIC değeri max ORS662 markırından 0,918 olarak, min PIC değeri ise ORS331 markırından 0,799 olarak bulunmuştur. Kullanılan markırların tümünün polimorfik olduğu görülmüştür.

DarWin programı kullanılarak çeşitler arasındaki genetik benzerlik ve uzaklık mesafesi hesaplanmış (Şekil 4. 13), Neighbor joining yöntemi kullanılarak çeşitlerin filogenetik ilişkilerini ortaya koyan dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4. 12).

SSR markırları kullanılarak yapılan moleküler analiz sonucu elde edilen dendograma göre türler 3 ana gruba ayrılmıştır. Oluşan 3 ana dalda kendi içinde dallara ayrılmıştır. 1. gruba bakıldığında bu grup kendi içinde iki dala ayrılmıştır, *H. resinosus* ile *H. silphioides, H. hirsutus* ile *H. praecox subps hirtus'un* yakın akraba olduğu görülmüştür.

2. grup kendi içinde iki alt gruba ayrılmıştır. 2. gruba bakıldığında, evrimsel süreçte ata soydan en erken ayrılan türün *H. praecox* olduğu görülmüştür. Bu türe en yakın olan tür ise *H. decapetalus'tur*. *H. laevigatus* ile *H. paradoxus, H. eggerti* ile *H. annus, H.radula* ile *H.atrorubens* türlerin daha benzer olduğu gözlenmiştir. Yine 2.grubun kendi içinde ayrılan diğer dallara bakıldığı zaman *H. smithii- H. pumilus, H. simulans-H. divaricatus, H.strumosus- H.praecox subsp.runyonii* türlerinin birbirine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. 3.grupta yine kendi içinde birden çok dala ayrılmıştır. Fakat tek bir dala ayrılıp kendi arasında takson oluşturan *H. porteri* ve *H. petiolaris subsp. petiolaris* türlerinin diğerlerinden ayrı ve birbirlerine benzer olduğu görülmüştür. Yine diğer gruplara bakıldığında *H. longifolius- H. bolanderi, H. neglectus- H. grosseserratus, H. salicifolius- H. carnosus* birbirine benzer türlerdir. Ekili ayçiçeği olarak bilinen *H. annus'a* genotipik olarak en yakın türün *H. eggerti* olduğu gözlenmiştir. Daha sonra sırasıyla *H. pauciflorus, H. decapetalus, H. praecox* en benzer türlerdir. Aynı alt gruba ait oldukları için *H. radula, H. atrorubens ve H. laciniatus* türlerininde yakın olduğu söylenilebilmektedir.

Daha önce yapılan bir çalışmada 52 SSR markırı kullanılarak 29 ayçiçeği türünün genotiplendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Ortalama PIC değeri 0,72 çıkmıştır. Yaptıkları araştırmada ORS381 SSR markırının PIC değeri 0,96, ORS788 markırı 0,94, ORS887 markırı 0,88 ve ORS1043 markırı 0,86 olarak hesaplanmıştır (Markin vd., 2020). Yürüttüğümüz çalışmada ise polimorfik olarak belirlenen bu markırlar için PIC değerleri ORS381 için 0,90, ORS788 için 0,899, ORS887 için 0,881 ve ORS1043 için 0,887 olarak hesaplanmıştır. ORS markırı polimorfizm göstermiştir ve PIC değeri 0,96 olarak tespit edilmiştir. Bu markıra ait DNA fragmenleri 100,216,550 bç büyüklüklerinde görülmüştür. Bu çalışmada da PIC değeri 0,90 olarak bulunmuştur. Çalışmaları karşılaştırdığımız zaman yakın sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Yine N.Markin vd. (2020)'nin yaptığı araştırmada kullanılan ORS398, ORS899 ve ORS243 markırlarının polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. Fakat bu markırlar yürüttüğümüz çalışmada ümit var nitelikte görülmemiştir.

Darvishzadeh vd. (2010), yaptığı bir çalışmada 28 ayçiçeği genotipi arasındaki genetik mesafeler basit dizi tekrarı 38 adet SSR markırı kullanılarak değerlendirilmiştir. Kullanılan markırlar düşük polimorfizm göstermiştir. Yine aynı araştırmada; ORS613 markırı için PIC değerinin 0,32 olduğu görülmüştür. Fakat yürütülen çalışmada kaliteli sonuç elde edilememiştir. Diğer markırlara bakarsak ise ORS423'ün PIC değerinin 0,49 ve ORS331 markırının ise 0,34 olduğu ve çok düşük olduğu görülmektedir. Fakat yürütülen çalışmada bu değerlerin daha yüksek olduğu görülmüş, ORS423 için 0,89 ve ORS331 için 0,779 olarak hesaplanmıştır. Bu farklılığın sebebinin kullanılan materyal farklılığından olduğu düşünülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalara göre bu çalışma daha geniş kapsamlı olup var olan tüm yabani türler çalışmaya dahil edilmiştir. Genotipik olarak daha uzak olan türler tespit edilmiştir. Bu sayede daha yüksek kalitede ayçiçeği yetiştirilmesi adına yapılan çalışmalarda, genetik olarak uzak türlerin belirlenip kullanılması imkânı sağlanmıştır. Aynı zaman da ayçiçeği türleri için ayırt edici markırlar belirlenmiştir. Sonuç olarak SSR markırların ayçiçeği türlerinde genetik çeşitlilik çalışmalarında, tür içi ayırt edici nitelikte olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

Agah, H. (2015). Tarım ve Biyolojik Çeşitlilik. 4 Kasım 2022 tarihinde https://www.tepav.org.tr/tr/blog/s/5414/Tarim+ve+Biyolojik+Cesitlilik adresinden erişildi.

Ahmed, H. G. M.-D., Rizwan, M., Naeem, M., Khan, M. A., Baloch, F. S., Sun, S., & Chung, G. (2022). Molecular characterization and validation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids through SSR markers. *PloS one, 17*(5), e0267383.

Akbar, H. (2018). Kısa Ardışık Tekrar Bölgelerinin ("Short Tandem Repeats"-STR) Analizi Doku Karışıklığına Çözüm Olabilir Mi ve Aynı Hastada Non-Neoplastik ve Neoplastik Bölgeler Arası STR Profilinin Karşılaştırılması?–Ön Çalışma. Doktora Tezi Hacettepe Üniversitesi, 2018.

Alberio, C., Izquierdo, N., & Aguirrezábal, L. (2015). Sunflower crop physiology and agronomy. In *Sunflower* (pp. 53-91): Elsevier.

Altındal, D., & Akgün, İ. (2015). Bitki genetik kaynakları ve tahıllardaki durumu. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 12*(1), 147-153.

Andrianasolo, F. N., Casadebaig, P., Langlade, N., Debaeke, P., & Maury, P. (2016). Effects of plant growth stage and leaf aging on the response of transpiration and photosynthesis to water deficit in sunflower. *Functional Plant Biology, 43*(8), 797-805.

Arıoğlu, H. (1999). Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No 220 s 142 Adana.

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

Campbell, B., Saha, S., Percy, R., Frelichowski, J., Jenkins, J. N., Park, W., . . . Giband, M. (2010). Status of the global cotton germplasm resources. *Crop Science, 50*(4), 1161-1179.

Crites, G. D. (1993). Domesticated sunflower in fifth millennium BP temporal context: new evidence from Middle Tennessee. *American Antiquity*, 146-148.

Cvejić, S., Radanović, A., Dedić, B., Jocković, M., Jocić, S., & Miladinović, D. (2020). Genetic and genomic tools in sunflower breeding for broomrape resistance. *Genes, 11*(2), 152.

Darvishzadeh, R., Azizi, M., Hatami-Maleki, H., Bernousi, I., Mandoulakani, B. A., Jafari, M., & Sarrafi, A. (2010). Molecular characterization and similarity relationships among sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines using some mapped simple sequence repeats. *African Journal of Biotechnology, 9*(43), 7280-7288.

Dilbirliği, E. (2007). Biyolojik çeşitlilik ve genetik kaynakların sürdürülebilir kullanım stratejilerinin değerlendirilmesi üzerine bir araştırma. *Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı Doktora Tezi*.

Dimitrijević, A., Imerovski, I., Miladinović, D., Cvejić, S., Jocić, S., Zeremski, T., & Sakač, Z. (2017). Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high-and low-oleic sunflower cross. *Crop Breeding and Applied Biotechnology, 17*, 235-241.

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

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

Filiz, E., & İbrahim, K. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011*(2).

Freeman S, & Herron J.C. (1999). *Evrimsel Analiz*: Palme Yayıncılık.

Fu, Z.-X., Jiao, B.-H., Nie, B., Zhang, G.-J., & Gao, T.-G. (2016). A comprehensive generic-level phylogeny of the sunflower family: Implications for the systematics of Chinese Asteraceae. *Journal of Systematics and Evolution, 54*(4), 416-437. doi:10.1111/jse.12216

Gupta, P. K., & Varshney, R. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica, 113*(3), 163-185.

Hajjar, R., & Hodgkin, T. (2007). The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica, 156*(1), 1-13.

Helianthus annuus L. Taksonomi. (2022). Retrieved from https://tr.wikipedia.org/wiki/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi

Helianthus annuus. (2023). Retrieved from https://tr.wikipedia.org/wiki/Helianthus

Holden, J., Peacock, W. J., Peacock, J., & Williams, T. (1993). Genes, crops and the environment: Cambridge University Press.

Hussain, M. M., Rauf, S., Riaz, M. A., Al-Khayri, J. M., & Monneveux, P. (2017). Determination of drought tolerance related traits in *Helianthus argophyllus*, Helianthus annuus, and their hybrids. *Breeding science*, 16095.

İkincikarakaya, S. Ü., Beyaz, K. B., & Rezael, F. (2013). Doğal kaynaklar ve tarım. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*(1), 104-109.

Ilbas, A., Yildirim, I., Arslan, B., Dede, Ö., & Günel, E. (1996). Van Ekolojik Kosullarinda Bazi Ayçiçegi (*Helianthus annuus* L.) Çesitlerinin Verimi ve Önemli Tarimsal Özellikleri Üzerinde Bir Arastirma. *Yüzüncü Yil Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 6*(3), 189-203.

Ilısulu, K. (1973). Yağ Bitkileri ve Islahı EÜ- Çağlayan Kitabevi. 286-290.

Incekara, F. (1972). Endüstri Bitkileri ve Islahı, EÜ Ziraat Fakültesi Yayınları- Adana.

Jocic, S., Miladinovic, D., & Kaya, Y. (2015). Breeding and genetics of sunflower. In *Sunflower* (pp. 1-25): Elsevier.

Kantar, M. B., Sosa, C. C., Khoury, C. K., Castañeda-Álvarez, N. P., Achicanoy, H. A., Bernau, V., . . . Rieseberg, L. H. (2015). Ecogeography and utility to plant breeding of the crop wild relatives of sunflower (Helianthus annuus L.). *Frontiers in plant science, 6*, 841.

Karadag, A. (2022). Biyolojik çeşitliliği koruma çalışmaları. (Powerpoint Sunumu) 27.10.22 tarihinde https://cdn.bartin.edu.tr › 10.hafta.pptx adresinden erişildi.

Kaya Y. (2016). Ülkemizde Ayçiçeği Durumu ve Gelecekteki Yönü. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 322-327. doi:10.21566/tarbitderg.282860

Kaya, Y., Jocic, S., & Miladinovic, D. (2016). Sunflower. Breeding oilseed crops for sustainable production. *Academic Press, San Diego*, 4. 55-88.

Kaya Y. Sitoplazmik Erkek Kısırlığın Ayçiçeği Islahında Kullanımı. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü-Edirne. https://arastirma.tarimorman.gov.tr › ttae

Kaya Yalcın. (2018). Ayçiçeği Tarımı. *Edirne Tarım ve Hayvancılık Dergisi*, 10-11.

Koç, M. (2022). Akış sitometri yöntemiyle yabani Ayçiçeği türlerinde çekirdek DNA ile Ploidi analizi ve Orobanşa dayanımı için seçici moleküler Markırların araştırılması. Doktora Tezi.Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne

Lexer, C., Welch, M., Durphy, J., & Rieseberg, L. (2003). Natural selection for salt tolerance quantitative trait loci (QTLs) in wild sunflower hybrids: implications for the origin of *Helianthus paradoxus*, a diploid hybrid species. *Molecular Ecology, 12*(5), 1225-1235.

Liu, A., & Burke, J. M. (2006). Patterns of nucleotide diversity in wild and cultivated sunflower. *Genetics, 173*(1), 321-330.

Markin, N., Usatov, A., Kan, K., Grinko, A., & Gavrilova, V. (2020). Ssr analysis of nuclear dna of annual and perennial sunflower species (*Helianthus* L.). *OnLine Journal of Biological Sciences, 20*(2), 77-83.

Melchinger, A. (1990). Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breeding, 104*(1), 1-19.

Miah, G., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A. B., Rahim, H. A., Islam, K., & Latif, M. A. (2013). A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *International journal of molecular sciences, 14*(11), 22499-22528.

Mwangi, E. W., Marzougui, S., Sung, J. S., Bwalya, E. C., Choi, Y.-M., & Lee, M.-C. (2019). Assessment of genetic diversity and population structure on Kenyan sunflower (*Helianthus annus* L.) breeding lines by SSR markers. *Korean Journal of Plant Resources, 32*(3), 244-253.

Nimmakayala, P., Tomason, Y. R., Jeong, J., Ponniah, S. K., Karunathilake, A., Levi, A., . . . Reddy, U. K. (2010). Genetic reticulation and interrelationships among Citrullus species as revealed by joint analysis of shared AFLPs and species-specific SSR alleles. *Plant Genetic Resources, 8*(1), 16.

Park, B., & Burke, J. M. (2020). Phylogeography and the Evolutionary History of Sunflower (Helianthus annuus L.): Wild Diversity and the Dynamics of Domestication. *Genes (Basel), 11*(3). doi:10.3390/genes11030266

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

Patwardhan, A., Ray, S., & Roy, A. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology, 2014*.

Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes, 6*(1), 288-295.

Polat, R., & Selvi, S., . (2020). Tarımsal Biyoçeşitlilik ve Sürdürülebilir Tarım. Kağan Kökten (Ed.), Tarımda Yenilikçi Yaklaşımlar; Sürdürülebilir Tarım ve Biyoçeşitlilik (S.43).

Qiu, F., Baack, E. J., Whitney, K. D., Bock, D. G., Tetreault, H. M., Rieseberg, L. H., & Ungerer, M. C. (2019). Phylogenetic trends and environmental correlates of nuclear genome size variation in *Helianthus* sunflowers. *New Phytol, 221*(3), 1609-1618.

Rönicke, S., Hahn, V., Horn, R., Grone, I., Brahm, L., Schnabl, H., & Friedt, W. (2004). Interspecific hybrids of sunflower as a source of Sclerotinia resistance. *Plant Breeding, 123*(2), 152-157.

Sahranavard Azartamar, F., Darvishzadeh, R., Ghadimzadeh, M., Azizi, H., & Aboulghasemi, Z. (2015). Identification of SSR loci related to some important agromorphological traits in different sunflower (*Helianthus annus* L.) lines using association mapping. *Crop Biotechnology, 5*(10), 73-87.

Saitou, N., & Imanishi, T. (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol. Biol. Evol.* 6(5):5 14-525.

Schilling, E. (1997). Phylogenetic analysis of Helianthus (Asteraceae) based on chloroplast DNA restriction site data. *Theoretical and Applied Genetics, 94*(6), 925-933.

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

Seiler, G. (2007). Wild annual Helianthus anomalus and H. deserticola for improving oil content and quality in sunflower. *Industrial Crops and Products, 25*(1), 95-100.

Seiler, G. (2010). Utilization of wild *Helianthus* species in breeding for disease resistance. International Symposium "Sunflower breeding on resistance to diseases"; Krasnodar, Russia.

Seiler, G., Marek Fredrick, L. (2011). Germplasm resources for increasing the genetic diversity of global cultivated sunflower. *Helia, 34*(55), 1-20.

Seiler, G. J., Carr, M. E., & Bagby, M. O. (1991). Renewable resources from wild sunflowers (Helianthus spp., Asteraceae). *Economic Botany, 45*(1), 4-15.

Seiler, G. J., & Gulya, T. J. (2004). Exploration for wild *Helianthus* species in North America: challenges and opportunities in the search for global treasures. Paper presented at the 12th International Sunflower Conference Proceedings. Fargo, ND, US.

Seiler, G. J., Qi, L. L., & Marek, L. F. (2017). Utilization of Sunflower Crop Wild Relatives for Cultivated Sunflower Improvement. *Crop Science, 57*(3), 1083-1101.

Sujatha, M., Prabakaran, A., Dwivedi, S. L., & Chandra, S. (2008). Cytomorphological and molecular diversity in backcross-derived inbred lines of sunflower (Helianthus annuus L.). *Genome, 51*(4), 282-293.

Suresha, P., Kulkarni, V. V., Supriya, S., Darshan, S., & Patil, C. B. (2017). Genetic diversity analysis in sunflower (Helianthus annuus L.) parental lines using SSR and RAPD markers. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 6*(7), 2069-2076.

Tan, A. (2009). Bitki Genetik Kaynaklarının Önemi ve Korunması - T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı

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

Tarpomanova, H., Hvarleva, T., Hristova, M., & Atanassov, I. (2009). Molecular marker characterization of breeding lines derived from *Helianthus annuus x Helianthus bolanderi* inter-specific hybrids. *Biotechnology & Biotechnological Equipment, 23*(sup1), 565-567.

Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic acids research, 17*(16), 6463-6471.

Tautz, D., & Renz, M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic acids research, 12*(10), 4127-4138.

Thrupp, L. A. (1988). Agricultural Biodiversity, World Resource Institute. Washington D.C. USA.

Timme, R. E., Simpson, B. B., & Linder, C. R. (2007). High-resolution phylogeny for Helianthus (Asteraceae) using the 18S-26S ribosomal DNA external transcribed spacer. *American Journal of Botany, 94*(11), 1837-1852.

Topçu, F. H. (2012). Biyolojik çeşitlilik sözleşmesi: Müzakereden Uygulamaya. *Marmara Üniversitesi Avrupa Topluluğu Enstitüsü Avrupa Araştırmaları Dergisi, 20*(1), 57-97.

Turhan, Ş. (2005). Tarımda sürdürülebilirlik ve organik tarım. *Tarım Ekonomisi Dergisi, 11*(1 ve 2), 13-24.

Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology, 23*(1), 48-55.

Vranceanu, A. (1980). New aspects of the production of hybrid sunflower seed. *Productia Vegetala, Cereale si Plante Tehnice, 32*(3), 27-30.

Warburton, M. L., Rauf, S., Marek, L., Hussain, M., Ogunola, O., & de Jesus Sanchez Gonzalez, J. (2017). The use of crop wild relatives in maize and sunflower breeding. *Crop Science, 57*(3), 1227-1240.

Zambelli, A., León, A., & Garcés, R. (2015). Mutagenesis in sunflower. In *Sunflower* (pp. 27-52): Elsevier.

Zeinalzadeh-Tabrizi, H., Haliloglu, K., Ghaffari, M., & Hosseinpour, A. (2018). SSR Markır Kullanılarak Ayçiçeğinde Genetik Çeşitlilik Değerlendirilmesi. *Mol Biol Res Commun, 7*(3), 143-152.

Zia, Z. U., Sadaqat, H. A., Tahir, M. H. N., Sadia, B., Bushman, B. S., Hole, D., . . . Malik, W. (2014). SSR Markır İle Genetik çeşitlilik Tahmini. *Russian Journal of Genetics, 50*(5), 498-507.

ÖZGEÇMİŞ

2019 yılında Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümünden mezun oldum. Daha sonra yine Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümünde yüksek lisansımı bitki üzerinde çalışarak tamamladım. Tez çalışmam kapsamında çoğunluklu olarak PCR, DNA izolasyonu, jel elektroforezi ve kapiler elektroforez yöntemlerini kullandım. Aynı zamanda yüksek lisans öğrenciliğim sürecinde bursiyer olarak kanser araştırmaları üzerinde çalışan bir şirkette Edirne temsilcisi olarak biyonumunelerin toplanması, işlenmesi ve saklanması görevlerinde yer aldım. Bu görevim gereği hücre kültüründe çalışma ve kendimi geliştirme fırsatımda oldu. Çeşitli alanları deneyimleyip, görmeye ve kendimi geliştirmeye açığım.

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Simge BAĞCI

Doğum Yeri: Burhaniye

Yabancı Dil: İngilizce

EĞİTİM

Lise: 2011-2015 Celal Toraman Anadolu Lisesi

Lisans: 2015-2019 Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

Yüksek Lisans: 2019- Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

DENEYİM

2017- Yeditepe Üniversitesi Nanobiyoteknoloji Laboratuvarı (Stajyer)

2018- TÜ Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Moleküler Patoloji Laboratuvarı (Stajyer)

2022- Fidelis Research (Yüksek lisans öğrenciliğim sürecinde şirketin Edirne'deki numulerinin toplanması, işlenmesi ve saklanmasında sorumlu olarak çalıştım.)

2022- TÜBİTAK 119O218 nolu "Yabani Ayçiçeği Türleri ve Türlerarası Melezlerinin DNA İçeriklerinin ve Ploidi Seviyelerinin Akış Sitometrisi Yardımıyla Belirlenmesi ve bazı Önemli Verim Öğeleri Açısından İncelenmesi" projesinde bursiyer olarak çalıştım.

SEMİNERLER & SERTİFİKALAR

2015- 19.Uluslararası Ayçiçeği Kongresi

2015- Paramı Yönetebiliyorum Projesi kapsamında Finansal Okuryazarlık Eğitimi

2016- TÜBİTAK Proje Yazma Eğitimi

2016- Proje Döngüsü Yönetimi Eğitimi

2021- TÜBİTAK 4005 Yenilikçi Eğitim Uygulamaları Destekleme Programında gönüllü rehberlik

2022- AGBIOL Kongresi (Organizasyon komitesinde görev aldım.)

2022- AGRIBALKAN kongresi (Organizasyon komitesinde görev aldım.)

REFERANSLAR

Prof. Dr. Yalçın KAYA, TÜ Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı