

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE

**Proje Türü** : Altyapı Projesi (AYP)  
**Proje No** : 14A0430002  
**Proje Yöneticisi** : Prof. Dr. E. Sümer ARAS  
**Proje Başlığı** : Yerli ve yabancı aspir (*Carthamus tinctorius* L) çeşitlerinde oleik asidin (Omega 9) linoleik aside (Omega 6) çevriminden sorumlu olan ve kaliteli yağ üretiminde rol sahibi olduğu düşünülen *FAD2* genlerinin Real-Time PCR aracılığıyla analizi

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM

GEREKÇESİ:

16.12.2015

Prof. Dr. E. Sümer ARAS

1946

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ**  
**SONUÇ RAPORU**

Yerli ve yabancı aspir (*Carthamus tinctorius* L) çeşitlerinde oleik asidin (Omega 9) linoleik aside (Omega 6) çevriminden sorumlu olan ve kaliteli yağ üretiminde rol sahibi olduğu düşünülen *FAD2* genlerinin Real-Time PCR aracılığıyla analizi

Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Öğr. Gör. Dr. İlker BÜYÜK

Arş. Gör. Ekrem BÖLÜKBAŞI

14A0430002

26.06.2014

26.06.2017

16.12.2015

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Ankara - " 2015 "

**RAPOR FORMATI**

Bilgisayarda 12 punto büyüklüğünde karakterler ile, tercihan "Times New Roman" stili kullanılarak yazılacak ve aşağıdaki kesimlerden (alt kesimler de dahildir) oluşacaktır.

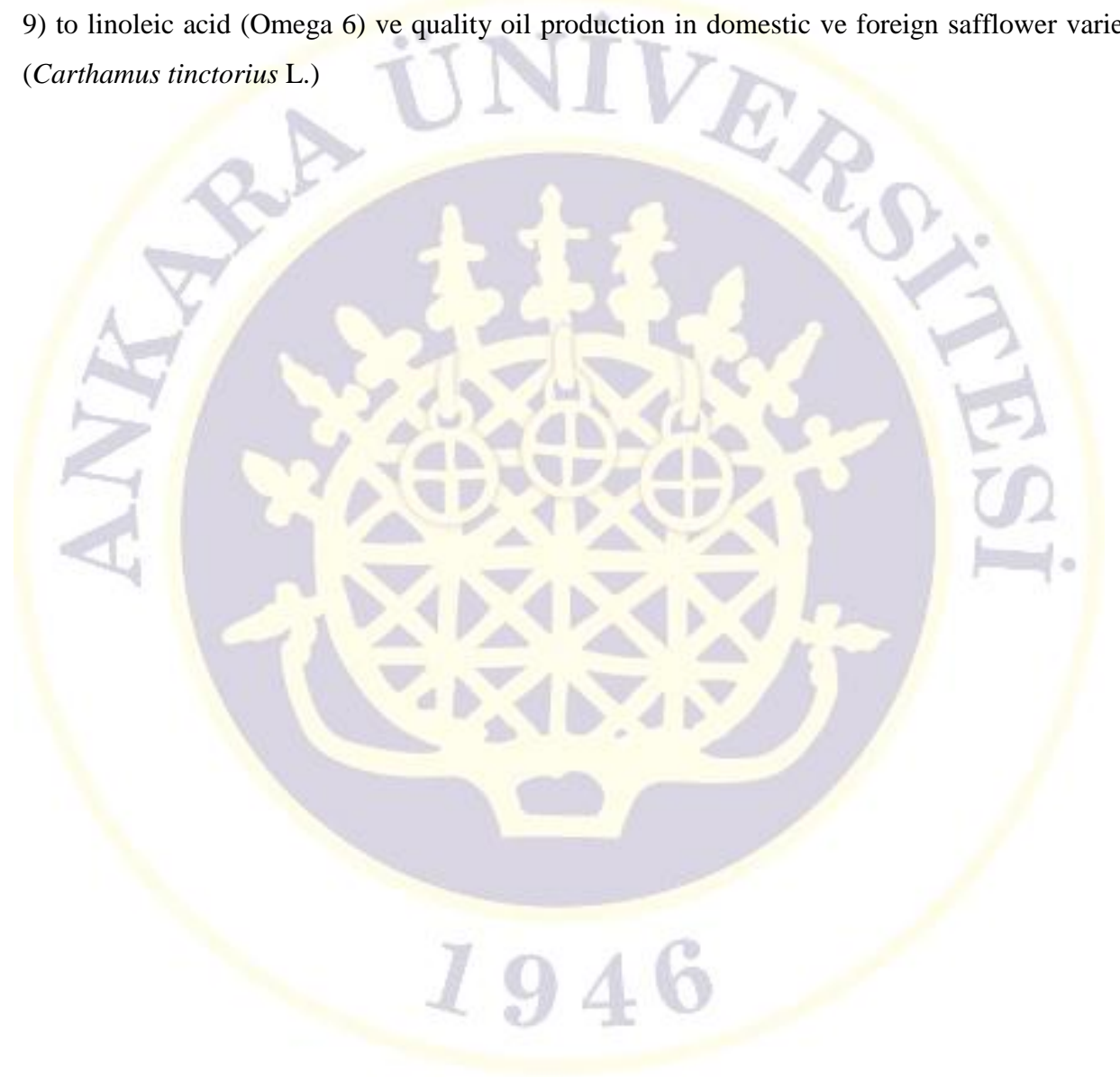
- I. **Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri**
- II. **Amaç ve Kapsam**
- III. **Materyal ve Yöntem**
- IV. **Analiz ve Bulgular**
- V. **Sonuç ve Öneriler**
- VI. **Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkıları**
- VII. **Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler**
- VIII. **Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları**
- IX. **Kaynaklar**
- X. **Ekler**
  - a. Mali Bilanço ve Açıklamaları
  - b. Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar
  - c. Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)
  - d. Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**
  - e. Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**

**NOT: Verilen sonuç raporu bir (1) nüsha olarak ciltsiz şekilde verilecek, sonuç raporu Komisyon onayından sonra ciltlenerek bir kopyasının yer aldığı CD ile birlikte sunulacaktır. Sonuç raporunda proje sonuçlarını içeren, ISI' nın SCI veya SSCI veya AHCI dizinleri kapsamında ve diğer uluslararası dizinlerce taranan hakemli dergilerde yayınlanmış makaleler, III. Materyal ve Yöntem ve IV. Analiz ve Bulgular bölümleri yerine kabul edilir.**

**I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri**

Yerli ve yabancı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinde oleik asidin (Omega 9) linoleik aside (Omega 6) çevriminden sorumlu olan ve kaliteli yağ üretiminde rol sahibi olduğu düşünülen *FAD2* genlerinin Real-Time PCR aracılığıyla analizi

Real-Time PCR analysis of *FAD2* genes which are important for conversion of oleic acid (Omega 9) to linoleic acid (Omega 6) ve quality oil production in domestic ve foreign safflower varieties (*Carthamus tinctorius* L.)



## Özet

Aspir yağı, gıda ve endüstriyel uygulamalarda kullanımı olan oleik ve linoleik yağ asitleri için önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Günümüzde bitki ıslahçıları aspir bitkisinin önemi dolayısıyla yüksek oleik veya yüksek linoleik yağ asidi içeren tipteki aspir hatlarının erken seçilimine odaklanmışlardır. Bu kapsamda gerçekleştirilen projede, oleik ve linoleik içeriklerine göre aspir çeşitlerinin erken seleksiyonunda kullanılabilecek genleri belirlemek amacıyla 6 adet *CtFAD2* geninin 4 ulusal aspir çeşidinin (LINAS, OLAS, Remzibey-05 ve Dincer) kök ve yapraklarındaki ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. qRT-PCR sonuçlarına bakıldığında farklı aspir çeşitlerinde çalışılan tüm genlerin ifade seviyelerinin farklılaştığı görülmektedir. Tüm *CtFAD2* genleri arasında en yüksek mRNA seviyesi yüksek verim ve yağ kapasitesine sahip LINAS aspir çeşidinin yapraklarında gözlenmiştir. 6 adet *CtFAD2* geni arasında, *CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* genlerinin ifade seviyelerinin bütün aspir çeşitlerinin yapraklarında benzer oldukları belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genlerinin yapraktaki ifade seviyeleri göz önünde bulundurulursa bu genlerin yüksek oleik/linoleik aspir çeşitlerinin erken seleksiyonunda kullanılacak iyi aday markör gen olduğu ve ıslah çalışmalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

## Abstract

Safflower oil constitutes an important source of oleic acid ve linoleic acid which can be used for food ve industrial applications. Because of their importance, nowadays breeders are focused on selection of high-oleic or linoleic safflower breeding lines for particular end use purposes. For this aim, we investigated the expression levels of six *CtFAD2* genes at leaf ve root tissues of four Turkish safflower varieties (LINAS, OLAS, Remzibey-05 ve Dincer) by qRT-PCR to find out suitable genes for the early selection of safflower lines with desired oleic/linoleic content. qRT-PCR results showed that all the genes exhibited differential expression levels among different safflower varieties. The highest mRNA levels of all *CtFAD2* genes in the leaves were observed in LINAS safflower variety which is a high-linoleic type safflower variety having high yielding ve high oil capacity. Among all six *CtFAD2* genes, mRNA levels of *CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* genes were interestingly quite similar among leaf tissues of all safflower varieties. Results of the current study suggest that, according to their expression levels in leaf tissues, *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genes are appeared as good cveidates for early selection of high oleic/high linoleic safflower varieties ve can be conveniently used in breeding studies.

## II. Amaç ve Kapsam

Günümüzde yağlık bitki ıslahçılarının temel hedeflerinden birisi, her tür çevre şartlarında tanedeki oleik asit oranını kararlı kılabilen çeşitlerin ıslahını sağlamaktır. Bu kapsamda gerçekleştirilmiş olan çalışmada, tarımsal açıdan önemi günden güne artış gösteren aspir bitkisinde oleik asidin linoleik aside çevriminden sorumlu olan FAD2 genlerinin mRNA düzeyindeki ifadeleri incelenmiş ve elde edilen veriler eşliğinde çeşitlerin kaliteli yağ oluşturma kapasiteleri ve bu durumun FAD2 genleri ile olan bağlantısı ortaya konmuştur.

Çalışmada yağlık bitkilerden aspir bitkisinin seçilmesinin önemli nedenleri vardır. Stratejik bir bitki olarak tanımlanan aspir ülkemizde yalancı safran olarak da bilinmektedir. Kuraklığa dayanıklı ve ayrıca tohumunun ortalama yağ oranının yüzde 40 civarında olması sebebiyle çiftçi açısından birçok avantaj sağlamaktadır. Yetiştirilme şartları açısından ülkemizin coğrafi yapısına çok uygun olan aspir bitkisinin az yağış alan ülkemizde neredeyse hiç sulama yapmadan bile üretimi mümkündür. Aynı zamanda ülkemizdeki yağlık bitkiler arasında üretimine en çok destek verilen bitkidir (Anonim).

Özetle çalışmanın amaç ve hedefleri şu şekilde sıralanabilir;

1. Ulusal 4 farklı aspir bitkisi çeşidinde (Remzibey, Dinçer, Linas, TRE-ASO12/08 (Olas)) FAD2 genlerinin ifadeleri düzeylerinin belirlenmesi,
2. İfade düzeyleri ile linoleik veya oleik asit içerikleri arasındaki korelasyonlar saptanarak, oleik asidin linoleik aside çevriminden sorumlu olan FAD2 genlerin gösterilmesi,
3. Çalışılan genlerin kök ve yapraktaki mRNA düzeylerinin saptanması ve karşılaştırılması,
4. Farklı çeşitler arasında mRNA düzeyleri karşılaştırılarak, bu genlerin kaliteli yağ üretme kapasitesine sahip çeşitlerin belirlenmesinde bir moleküler markör olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırılması hedeflenmiştir.

### III. Materyal ve Yöntem

#### 1. Bitkisel materyalin temini

Araştırmada bitkisel materyal olarak Aspir (*C. tinctorius*) türüne ait toplam 4 çeşit kullanılmıştır. Bu çeşitler Remzibey, Dinçer, LINAS ve TRE-ASO12/08 (OLAS) çeşitleridir. Çalışılacak çeşitlerin temini 'Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Geçitkuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanmıştır.

#### 2. Aspir çeşitlerinin yetiştirilmesi

Araştırmamız için temin edilmiş aspir tohumları yüzey sterilizasyonunun ardından steril perlit içeren bitki yetiştirme kaplarına ekilmiştir. 4 farklı aspir çeşidi fide haline gelinceye dek iklim ve geliştirme dolabında günlük 16 saat (25 °C) gündüz, 8 saat (22 °C) gece döngüsünde yetiştirilmiştir. Bütün aspir çeşitlerinin yaprak ve kök dokularından örnekler alınarak, alınan örnekler sıvı azotta dondurularak RNA izolasyonuna kadar -80'e kaldırılmıştır.

#### 3. Besi ortamının hazırlanması

Aspir (*C. tinctorius*) tohumları 25 gün süre ile aşağıda içeriği bulunan 1/10 luk Hoglve besi ortamı içerisinde geliştirilmiştir. Buna göre çözeltideki son iyon konsantrasyonları 2mM Ca, 10<sup>-6</sup> M Mn, 4mM NO<sub>3</sub>, 2.10<sup>-7</sup> M Cu, 1mM Mg, 10<sup>-8</sup> M NH<sub>4</sub>, 2mM K, 10<sup>-6</sup> M Zn, 0.2 mM P, 10<sup>-4</sup> M Fe ve 10<sup>-6</sup> M B olacak şekilde; makro besin içerikleri; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (15.7 g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2.7 g), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (24 g), Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O (47.23 g) ve KCl (0.0746 g) ayrı ayrı 2'şer L dH<sub>2</sub>O içerisinde çözülmüştür. Böylece 10 L 10X makro besin elementi hazırlanmıştır. Mikro besin içerikleri; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (0.124 g), MnSO<sub>4</sub> (0.066 g), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0.100 g), NH<sub>4</sub>Mo (0.048 g), ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.1553 g) 1 L dH<sub>2</sub>O içerisinde çözdürülmüştür. Her 10 L 10X makro besin elementi için 50 ml makro besin elementi karıştırılarak ve hazırlanan bu çözelti 1/10 seyreltilerek ve her 1L 1X konsantrasyondaki solüsyona 1 ml 1000 X FeEDTA solüsyonundan eklenerek kontrol çalışma ortamı olarak kullanılmıştır (1000 X FeEDTA hazırlayabilmek için 365 g FeEDTA 1 L dH<sub>2</sub>O içerisinde çözdürülmüştür).

#### 4. RNA izolasyonu

Muhafaza edilen bu örneklerden RNA izolasyonu Trizol protokolüne (Chomczynski ve Mackey, 1995) göre Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Moleküler Biyolojisi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Buna göre:

Alınan örnekler sıvı azotta ezilir.

2 ml'lik tüpe 1ml trizol eklenir.

Üzerine 300-500 mg örnek eklenir.

Elle tüp kuvvetli bir şekilde sallanarak karışım sağlanır, vortekslenir ve örnekler oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.

Üzerine 250 µl kloroform eklenir ve karıştırılır.

Oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.

14.000 rpm de 4 °C de 10 dk santrifüj edilir ve üst sıvı yeni bir tüpe aktarılır.

Üzerine 250 µl 1.2 M NaCl, 250 µl 0.8 M Na-sitrat ve 250 µl izopropanol eklenir.

10 dk oda koşullarında (tercihen -20 °C de 10 saat veya gece boyu) bekletilir.

14.000 rpm de 4 °C de 10 dk santrifüj edilir, üst sıvı atılır (pellet bu aşamada tüp dibinde görülmelidir.)

Pellet %70'lik EtOH ile yıkanır ve dikkatlice kurutulur.

20-50 µl DEPC muamele edilmiş suda çözdürülür.

Trizol protokolüne göre izole edilen RNA'ların NanoDrop Lite spektrofotometre aracılığıyla saflık ve miktar tayini yapılmış ve %1'lik agaroz jelde yürütülerek teyit edilmiştir.

### **5. cDNA (Komplementer DNA) sentezi**

cDNA sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örneklerinde saflık ve miktar tayini yapılmıştır.

### **6. Real-time PCR uygulaması**

Real-Time PCR uygulaması Light Cycler Nano (Roche) cihazı aracılığıyla SYBR Green I Master boyası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışılması hedeflenen NCBI UNIPROT gibi veri tabanlarından elde edilmiş dizilere uygun kullanılan primerler Tablo 1.' de verilmiştir. Referans gen olarak aktin (ACT) geni kullanılmıştır. Real-Time PCR yöntemi ile kantitasyon (miktar belirleme = gen ekspresyonu miktarı belirleme) çalışması SYBR Green I boyası kullanılarak gerçekleştirilmiş ve kantitasyonu takiben PCR'ın etkinliğini saptamak ve herhangi bir dimer oluşumu olup olmadığını gözlemlemek amacıyla Erime Eğrisi Analizi yapılmıştır.



**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan FAD2 genine ait diziler

Gen-primer	İleri ve geri primer
CtFAD2-1	5'- GTGTATGTCTGCCTCCGAGA -3' 5'- GCAAGGTAGTAGAGGACGAAG -3'
CtFAD2-2	5'- GCCTCAAAGATTCATTCAGGTC - 3' 5'- CAAGATGGATGCGATGGTAAGG -3'
CtFAD2-3	5'- ACGTGGCGGTCTCAGGTT -3' 5'- AGGCGGTGACAATTATGATATC -3'
CtFAD2-4	5'- AAGGCAGGCCGTGATGCCGAT -3' 5'- AGTATTTGATCAATCCGCTGG -3'
CtFAD2-5	5'- CAATACGGTAGAGGCCACACAG -3' 5'- ATCATCTCTTCGGTAGGTTATG -3'
CtFAD2-6	5'- GACATGTGCTCACGTGGTGCAT -3' 5'- GTTGCTAATATCCACACCCTA -3'
CtFAD2-7	5'- CGAATCACACCCACGGGATC -3' 5'- CTAAAGAATTTCCATGGTGTTAC -3'
CtFAD2-8	5'- GAGCAACGGAGAGAAGTAACC -3' 5'- GAGGGATGATAGAAAGAGGTCC -3'
CtFAD2-9	5'- CATGTGTGGCTGGAGGATTCGA -3' 5'- GCACCGAGTTTAGCCTTTGTCT -3'
CtFAD2-10	5'- CCAACAAACAAACCATCTCTCG -3' 5'- GAGAGACGGTGGAAAGTAGGTG -3'
CtFAD2-11	5'- CCATTGATCCACCCTTCACCTTA -3' 5'- AAAGACATAGGCAACAACGAGATC -3'
ACT	5'- CTGAACTGCAATTATCTAGG -3' 5'- GGTATTGGTATTGGATGGGCG -3'

## 7. İstatistiksel hesaplamalar

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Kenneth J. Livak ve Thomas D. Schmittgen 2001'e ait  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemine göre ve One Way ANOVA (Dunnett)'a ile yapılmıştır. Bu yolla farklılaşan gen ekspresyon sonuçlarının Housekeeping gen olarak seçilen ACT genine göre normalizasyonu yapılmıştır.

#### IV. Analiz ve Bulgular

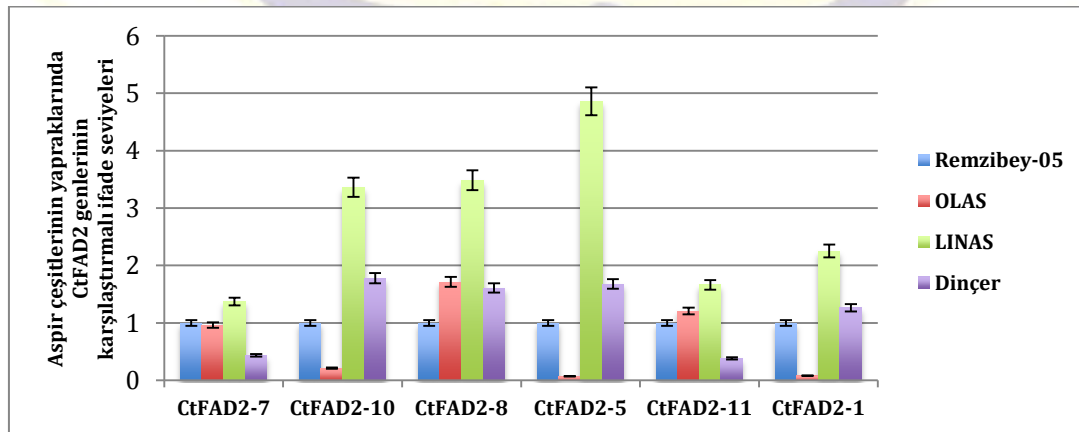
Projede kullanılan aspir çeşitlerinin yağ asidi kompozisyonları ve yağ miktarlarına dair bilgiler ‘Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Geçitkuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nden sağlanmıştır ve Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan aspir çeşitlerinin yağ asidi kompozisyonu ve oranı

Aspir çeşitleri	Oleik/Linoleik asit oranı %	Toplam yağ oranı %	Tescil tarihi
LINAS	%71.3 Linoleik	39.9	2013
OLAS	%70.0 Oleik	39.2	2015
Remzibey-05	%37.3 Oleik	29.9-32.1	2005
Dincer	%15.6 Oleik	29.1-31.9	1983

#### Farklı aspir çeşitlerinde FAD2 genlerinin ifade seviyeleri

Çalışılan *CtFAD2* genlerinin tamamı açısından en yüksek ifade seviyelerinin gözlemlendiği aspir çeşidi 2013 yılında ‘Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü’ tarafından tescil edilen yüksek verim ve yağ kapasitesine sahip linoleik içeriği bakımından zengin LINAS çeşidi olarak belirlenmiştir (Şekil 1).

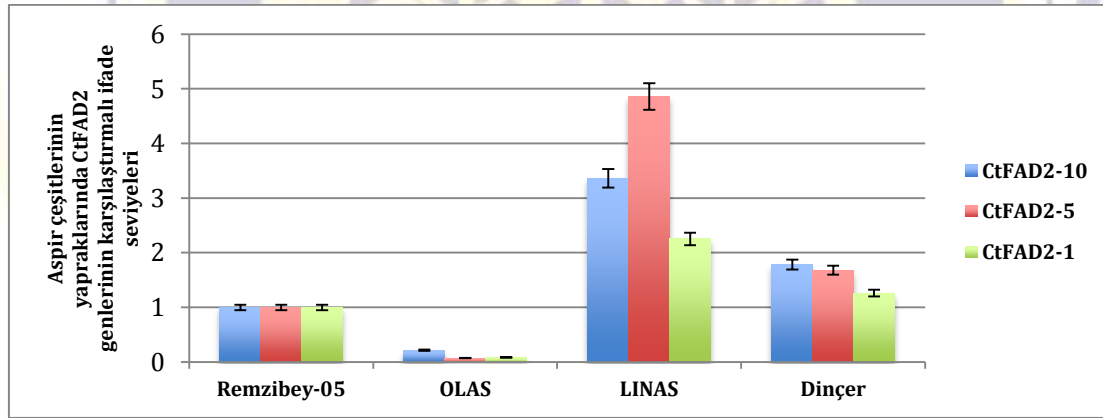


**Şekil 1.** 4 farklı aspir çeşidi yapraklarında 6 *CtFAD2* genine ait karşılaştırmalı ifade seviyeleri (n=3).

*CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* genlerinin ifade seviyelerinin Remzibey-05, OLAS, LINAS ve Dinçer aspir çeşitlerinin hepsinin yaprak dokularında benzer profil sergilediği gözlenmiştir. Bu 4 genin yapraklardaki ifade seviyelerine göre aspir çeşitlerini büyükten küçüğe doğru sıralamamız durumunda çeşitlerin LINAS, Dincer, Remzibey-05 ve OLAS olarak sıralveği görülmektedir (Şekil 1).

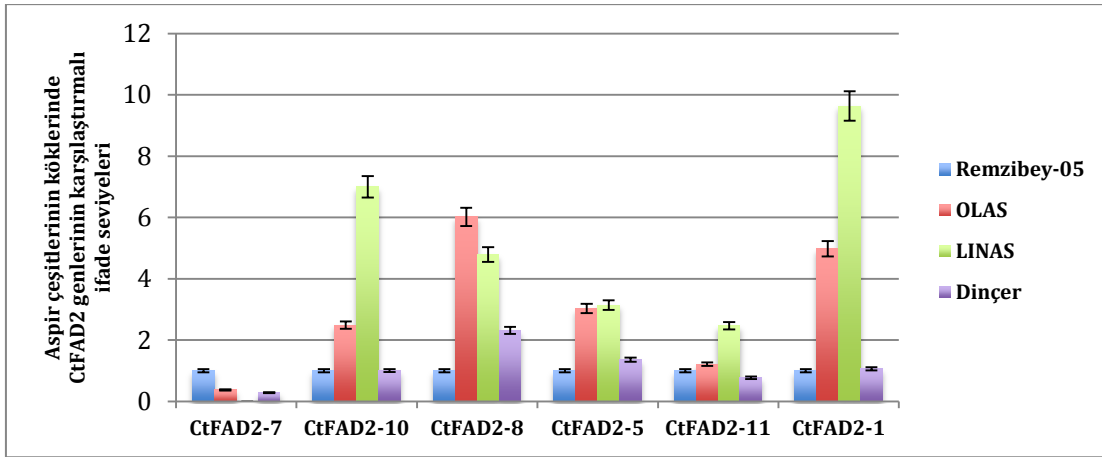
En yüksek ifade seviyeleri yüksek-linoleik tip LINAS aspir çeşidi yapraklarında gözlenirken en düşük ifade seviyeleri ise yüksek-oleik tipteki OLAS çeşidinin (Önceki adı: TRE-ASO12/08 aspir hattı) yapraklarında saptanmıştır. OLAS 2015 yılında Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından tescil edilen yüksek oleik yağ içeriğine sahip bir aspir çeşididir.

LINAS ve OLAS aspir çeşitlerinde *CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* genlerinin ifade seviyeleri karşılaştırıldığında, LINAS çeşidinde *CtFAD2-10*, *CtFAD2-1* ve *CtFAD2-5* genlerinin yapraktaki ifade seviyelerinin OLAS çeşidine göre sırasıyla 15 kat, 27 kat ve 82 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. En yüksek ifade seviyesi LINAS çeşidinde *CtFAD2-5* geninde belirlenmiştir (Şekil 2).

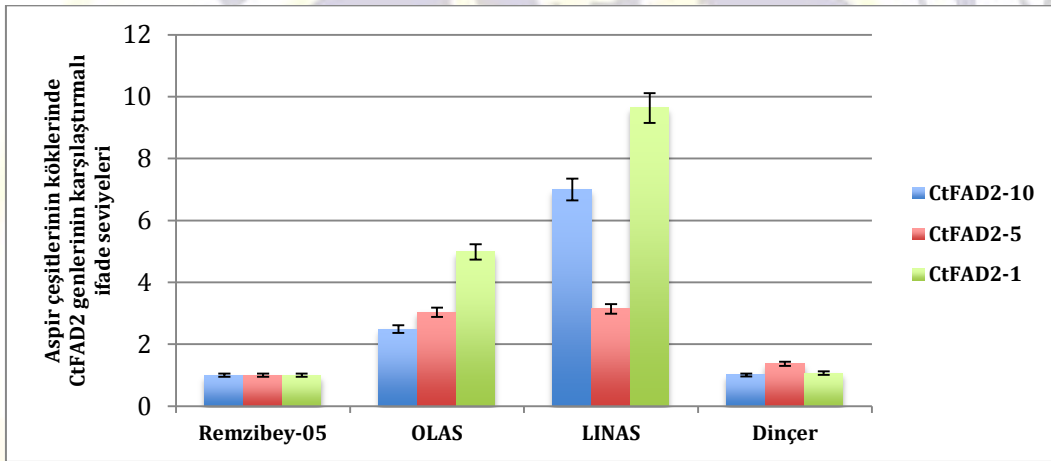


**Şekil 2.** 4 aspir çeşidinin yapraklarında *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genlerinin ifade seviyelerinin karşılaştırılması (n=3)

Çalışılan 6 adet *CtFAD2* geninin köklerdeki ifade durumları incelendiğinde, yapraktaki ifade seviyelerine kıyasla bazı önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır (Şekil 3). Ancak saptanan bu farklılıklara rağmen en yüksek ifade seviyelerinin yine LINAS aspir çeşidi köklerinde *CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* genlerinde olduğu belirlenmiştir. Remzibey-05 ve Dinçer aspir çeşitlerinin köklerinde de bu 3 *CtFAD2* geninin benzer şekilde ifade olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 3. 4 farklı aspir çeşidinin köklerinde 6 *CtFAD2* genine ait karşılaştırmalı ifade seviyeleri (n=3).



Şekil 4. 4 aspir çeşidinin köklerinde *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genlerinin ifade seviyelerinin karşılaştırılması (n=3)

Çalışmada yaprak ve kök dokularında çalışılan tüm *CtFAD2* genlerinin ifade seviyelerini mukayese edebilmek amacıyla aspir çeşitleri arasından bir tanesi (Remzibey-05) referans olarak seçilmiş ve qRT-PCR sonuçlarının normalizasyonu bu şekilde yapılmıştır. Mukayese sonucunda elde edilen sonuçlara bakıldığında *CtFAD2-5*, *Ct-FAD2-1* ve *CtFAD2-10* genlerinin aspir çeşitlerinin yaprak dokularına oranla köklerde daha fazla düzeyde ifade olduğu belirlenmiştir. Köklerde yüksek seviyede *CtFAD2-7* geni ifade seviyesi gözlenirken *CtFAD2-11* geni ifade düzeyleri aspir çeşitlerinin her iki dokusunda da benzer düzeydedir (Şekil 3).

## V. Sonuç ve Öneriler

Gerçekleştirilen bu projede, 4 farklı ulusal aspir çeşidinde 6 *CtFAD2* geni ifade seviyeleri ele alınmış ve rapor edilmiştir. Çalışılan çeşitlerden OLAS ve LINAS çeşitleri yeni tescil olmuş ve Dinçer ve Remzibey-05 çeşitlerinden daha iyi performansa sahip çeşitlerdir (BABAOĞLU ve GÜZEL 2015).

Bu iki yeni aspir çeşidi (OLAS ve LINAS) ilerleyen yıllarda Türkiye'nin yağ ihtiyacını azaltabileceği düşünülen çeşitlerdir. Bu sebeple bu yeni ulusal aspir çeşitlerinin detaylı olarak çalışılması önem arz etmektedir. Günümüze dek bazı ulusal aspir çeşitlerinin tohum yağ biyokimyasal düzeyde çalışılmış olmasına rağmen *CtFAD2* genlerinin ifade düzeylerine ilişkin herhangi bir sonuç bildirilmemiştir (CAMAS ve ark.. (2007) ve COSGE ve ark.. (2007)).

qRT-PCR analizlerinden elde edilen sonuçlara bakıldığında projede ele alınan *FAD2* ailesi üyesi tüm genlerin farklı aspir çeşitlerinde değişik düzeylerde ifade olduğu görülmektedir. Ayrıca aspir yapraklarındaki *FAD2* genleri ifade düzeylerinin köktekilere oranla oleik/linoleik aspir çeşitlerini ayırmada daha etkili olduğu saptanmıştır. *CtFAD2* genlerinin aspir çeşitlerinin yaprak ve kök dokularındaki karşılaştırmalı analizleri, *CtFAD2-10*, *CtFAD2-8*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genlerinin 4 ulusal aspir çeşidinin köklerinde yapraklarındakinden daha fazla ifade olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bu sonuç CAO ve ark.. (2013) çalışmasındaki bulgularıyla uyumlu gözükmektedir. Bahsedilen çalışmada *CtFAD2-5*, *CtFAD2-8* ve *CtFAD2-10* genlerinin kökteki ifadesinin yapraktakinden daha fazla olduğu belirtilmiştir.

LINAS yeni tescil edilmiş ve yüksek tohum verimi, yüksek yağ içeriği ve Türkiye'nin her yerine adaptasyon yeteneği gibi özellikleri bakımından diğer ulusal aspir çeşitlerinden daha iyi performansa sahip bir çeşittir (BABAOĞLU ve GÜZEL, 2015). Beklenildiği üzere tüm *CtFAD2* genleri LINAS çeşidinde OLAS, Remzibey-05 ve Dinçer çeşitlerine oranla daha yüksek seviyede ifade göstermiştir.

*FAD2* genleri yağlık bitkilerde oleik yağ asidinin linoleik yağ asitlerine çevriminden sorumlu olan genlerdir (CHEN ve ark., 2015). Bu bilgiye dayanarak gerçekleştirilmiş olan projede yüksek oleik veya yüksek linoleik aspir çeşitlerinin erken seçiliminde kullanılacak markör genlerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* genlerinin yapraktaki ifade seviyeleri göz önünde bulundurulursa bu genlerin yüksek oleik/linoleik aspir çeşitlerinin erken seçiliminde kullanılacak iyi aday markör genleri olduğu ve ıslah çalışmalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

## VI. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar

Çalışmadan elde edilen bulgular makaleye çevrilmiştir ve uluslararası hakemli bir dergide değerlendirme aşamasındadır. Elde edilen bulgular ilerideki çalışmalarımızda farklı açılardan değerlendirilerek yeni analizlerle birlikte zenginleştirilecektir. Bu sayede ulusal ve uluslararası literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

## VII. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

Projeden sağlanan alt yapı olanakları kapsamında alınan cihazlar laboratuvarımızda devam eden öğrenci tezleri ve diğer bilimsel projeler için kullanılmaktadır.

## VIII. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

Çalışmadan elde edilen bulgular makaleye çevrilmiştir ve uluslararası hakemli bir dergide değerlendirme aşamasındadır.

## IX. Kaynaklar

Babaoğlu, M. and M. Güzel (2015). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) breeding activities at Trakya Agricultural Research Institute. Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics, 1: 20-25.

Beló, A., P. Zheng, S. Luck, B. Shen, D.J. Meyer, B. Li, S. Tingey and A. Rafalski (2008). Whole genome scan detects an allelic variant of FAD2 associated with increased oleic acid levels in maize. Molecular Genetics and Genomics, 279: 1-10.

Camas, N., C. Çırak and E. Esendal (2007). Seed yield, oil content and fatty acids composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown in Northern Turkey conditions. Journal of the Faculty of Agriculture, 22: 98-104.

Cao, S., Q.H. Zhu, W. Shen, X. Jiao, X. Zhao, M.B. Wang, L. Liu, S.P. Singh and Q. Liu (2013). Comparative profiling of miRNA expression in developing seeds of high linoleic and high oleic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) plants. Frontiers in Plant Science, 4: 489.

Chen, Y., X.R. Zhou, Z.J. Zhang, P. Dribnenki, S. Singh and A. Green (2015). Development of high oleic oil crop platform in flax through RNAi-mediated multiple FAD2 gene silencing. Plant Cell Reports, 34: 643-53.

Chomczynski, P. and K. Mackey (1995). Short technical reports. Modification of the TRI reagent procedure for isolation of RNA from polysaccharide- and proteoglycan-rich sources. Biotechniques, 19, 942-5.

Cosge, B., B. Gürbüz and M. Kırılan (2007). Oil content and fatty acid composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter. International Journal of Natural and Engineering Sciences, 1: 11-15.

Garcés, R. and M. Mancha (1993). One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 211: 139-143.

Kartha, D. (2010). Safflower oil benefits. <http://www.buzzle.com/articles/safflower-oil-benefits.html>.

Date: 10.11.2010.

Kolsarıcı, Ö. and G. Eda (2002). Effects of different row distances and various nitrogen doses on the yield components of a Safflower variety. *Sesame and Safflower Newsletter*, 17: 108-111.

Livak, K.J. and T.D. Schmittgen (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*, 25: 402-408.

Mündel, H.H. (2008). Major achievements in safflower breeding and future challenges. 7. International Safflower Conference. Australian Oilseeds Federation. Wagga Wagga, Australia.

Rozen, S. and H. Skaletsky (2000). Primer-3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods in Molecular Biology*, 132: 365-386.

Singh, V. and N. Nimbkar (2006). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genetic resources, chromosome engineering and crop improvement. 19 July 2006, Chapter-6, 167.

Warude, D., K. Joshi and A. Harsulkar (2006). Polyunsaturated fatty acids: biotechnology. *Crit Review in Biotechnology*, 26: 83-93.

Zhang, J., H. Liu, J. Sun, B. Li, Q. Zhu, S. Chen and H. Zhang (2012). Arabidopsis fatty acid desaturase FAD2 is required for salt tolerance during seed germination and early seedling growth. *Plos One*, 7: e30355.

## X. Ekler

### **Mali Bilanço ve Açıklamaları**

Toplamda 39.000,00 TL olarak belirlenen proje bütçesinin 30.326,00 TL'lik kısmı ile cihaz alımı gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda laboratuvarımıza 1 adet Class II A Güvenlik Kabini, 1 adet NanoDrop Lite spektrofotometre ve 1 adet -80 derin dondurucu alınmıştır. Proje bütçesinin 7.730,00 TL'lik kısmı ile 4 kalem (FastStart Essential DNA Green Master, LightCycler 8-Tube Strips, Transcriptor high fidelity cDNA synthesis kit ve Trizol reagent) Tüketime Yönelik Sarf Malzeme alımı gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak proje bütçesinden 1.330,00 TL'lik kısım haricinde kalan diğer kısım kullanılmıştır.

### **Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar**

Proje ile laboratuvarımıza kazandırılan cihazlar gelecek bilimsel amaçlı araştırmalar,

öğrenci tezleri ve araştırma projeleri kapsamında kullanılacaktır.

