

Flow Sitometri ile Çok Yıllık Buğdaygil Yem Bitkisi Genetik Kaynaklarının Karakterizasyonu

*Gülsemin SAVAŞ TUNA¹ Hüseyin KELEŞ² Damla GÖÇMEN² Vesile GÜLERYÜZ²
İlker NİZAM² Evren CABİ³ Ayşe YAZICI⁴ Şerafettin ÇAKAL⁴ Metin TUNA²

¹Ebru Nayim Fen Lisesi, Tekirdağ

²Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Tekirdağ

³Namık Kemal Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tekirdağ

⁴Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Erzurum

*Sorumlu yazar e-posta (Corresponding author e-mail): glsvs@yahoo.com

Öz

Çok yıllık buğdaygil yem bitkisi türlerinin morfolojik olarak birbirlerine çok benzemeleri, aralarında kolayca melezlenerek hibrit türler oluşturabilmeleri ve doğal varyasyon sebebiyle teşhislerinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Buna ilave olarak bu türlerde polyploidi çok yaygındır ve aynı türün dahi farklı kromozom sayılarına sahip formları mevcuttur. Bundan dolayı çok yıllık buğdaygil türlerine ait genetik kaynakların bilimsel araştırma ve ıslah çalışmalarında kullanılmadan önce tür teşhislerinin doğru bir şekilde yapılarak ploidi düzeylerinin belirlenmesi zorunludur. Aksi takdirde yapılacak olan melezlemelerde ortaya çıkabilecek genetik uyumsuzluk ve kısırlık gibi sorunlar araştırmacıların zaten kit olan emek, zaman ve maddi kaynaklarının heba olmasına sebep olmaktadır. Bu çalışmada, ıslah programlarında kullanmak amacıyla Doğu Anadolu Bölgesi dağlık bölgelerinden toplanmış olan 169 buğdaygil yem bitkisi popülasyonunun (*Festuca* sp., *Koeleria* sp. ve *Agropyron* sp.) çekirdek DNA içerikleri flow sitometri yöntemi ile ilk defa belirlenmiş ve popülasyonların ploidi düzeyi ile safiyetlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Yapılan çekirdek DNA analizi sonuçlarına göre *Festuca* popülasyonlarında ploidy düzeyi diploid ile octoploid ($2n=14$, 28, 42, ve 56) arasında değişirken *Koeleria* popülasyonlarında diploid ($2n=14$) ile tetraploid ($2n=28$) arasında değiştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte bazı popülasyonların ise saf olmayıp farklı ploidy düzeyine sahip bitkilerden oluştuğu saptanmıştır. Çalışmada incelenen tüm *Agropyron* popülasyonlarının ise diploid ($2n=14$) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm popülasyonlar çekirdek DNA analiz sonuçlarında yardımıyla taksonomik olarak teşhis edilmiş ve isimlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Festuca* sp., *Koeleria* sp., *Agropyron* sp., flow sitometri, genetik kaynak

Characterisation of Genetic Resources of Perennial Forage Grasses by Using Flow Cytometry

Abstract

Taxonomic identification of perennial forage grasses is a difficult task due to their morphological similarities, ability to form interspecific hybrids by crossbreeding and natural variation. Additionally, polyploidy is very common in those species and there are individuals with different chromosome numbers within the same species. Therefore, it is necessary to identify plants taxonomically and determine their ploidy levels before using them in basic scientific research and plant breeding projects. Otherwise, the problems such as genetic incompatibility and sterility that may occur during the crossings can cause waste of limited resources of the researchers such as labour, time and money. In this study, nuclear DNA contents of 169 populations of the forage grasses (*Festuca* sp, *Koeleria* sp and *Agropyron* sp) collected from mountainous areas of Eastern Anatolia Region to use in breeding programmes were determined for the first time using flow cytometry and the information obtained from nuclear DNA content analysis was used to determine the ploidy levels and purity of the populations. According to the results of the study, ploidy levels of *Festuca* populations varied between diploid and octoploid ($2n=14$, 28, 42, and 56) while ploidy levels varied between diploid ($2n=14$) and tetraploid ($2n=28$) in *Koeleria* populations. In addition, some populations were not pure and included plants with different ploidy levels. All *Agropyron* populations analysed in the study were diploid ($2n=14$). All populations analysed in the study were taxonomically identified and named with the help of nuclear DNA analysis.

Keywords: *Festuca* sp., *Koeleria* sp., *Agropyron* sp., flow cytometry, genetic resources

Giriş

Buğdaygil yem bitkisi türlerinin taksonomisi oldukça karmaşık olup türlerin teşhisi ve sınıflandırılması ciddi bir uzmanlık gerektirmektedir. Aynı cins içerisinde yer alan buğdaygil türlerinin birbirlerine çok benzemeleri, aralarında kolayca melezlenerek hibrit türler oluşturabilmeleri, poliploidinin yaygın olması ve doğal varyasyon sebebiyle bu türlerin teşhislerinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Bu nedenlerle buğdaygillere ait genetik kaynakların bilimsel araştırmalarda kullanılmadan önce tür teşhislerinin doğru bir şekilde yapılarak ploidi düzeylerinin belirlenmesi zorunludur. Aksi takdirde çeşitli sorunlar (genetik uyumsuzluk, kısırılık, zaman ve emek kaybı) yaşanmaktadır. Bitkilerin ploidi düzeyi geleneksel olarak yavaş ve çok fazla iş gücü gerektiren feulgen veya asetokarmin ile boyanmış kök ucu dokularından hazırlanmış preparatlarda mitoz kromozomlarını ışık mikroskobu ile sayarak belirlenmektedir (Karp, 1991). Ancak, yöntem genetik kaynak koleksiyonlarında olduğu gibi çok sayıda bitki örneğinin analiz edilmesinin gerektiği durumlarda ploidi düzeyi belirlemede pratik ve kullanışlı değildir. Buna ilave olarak, kromozomları küçük ve ploidi düzeyi yüksek olan türlerde bu yöntem ile ploidi analizi oldukça zahmetlidir ve çoğunlukla da genetik kaynakların yanlış sınıflandırılmasına neden olmaktadır (Brummer ve ark., 1999). Bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğundan, çekirdek DNA miktarı ile ploidi düzeyi arasında sıkı bir doğrusal ilişki vardır (Lu et al. 1998). Bu nedenle çekirdek DNA içeriği esasına göre ploidi analizi giderek yaygınlaşmaktadır. Önceleri bitkilerde çekirdek DNA miktarları feulgen mikrospektrofotometri ile belirlenmekteydi (Bennett and Smith 1976). Ancak, son yıllarda, kolaylığı, hızı ve hassasiyetinden dolayı flow sitometri ploidi analizlerinde tercih edilen metot olmuş ve başarıyla kullanılmaktadır (Rayburn et al. 1989; Heslop-Harrison 1995, Tuna ve ark. 2001, 2005, 2006). Bir bitki hücresindeki DNA miktarı "C" harfi ile pikogram cinsinden belirtilir. C değeri haploid genom; 2C değeri ise diploid somatik genomun DNA miktarını ifade etmektedir. Bitkilerin çekirdek DNA'larına ait C değerleri 0.1 pg ile 125 pg arasında değişmektedir. Pikogram cinsinden belirlenen DNA miktarları nükleotid baz çiftine (1pg = 980 Mbp) dönüştürülebilmektedir (Bennett and Leitch, 1995). Genom başına çekirdek DNA miktarı hem tek bir bitkinin hücreleri arasında hem

de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeyecek sabit kalmakta ve bu yüzden de türlere özel olmaktadır. Çekirdek DNA miktarlarının türlere özel olması, çekirdek DNA' sı değerlerini sitotaksonomi ve evrim çalışmaları için vazgeçilmez bir temel bilgi yapmaktadır (Bennett and Leitch 1995). Rees and Walters (1965) feulgen metodu ile belirlenmiş çekirdek DNA miktarlarından yola çıkarak hexaploid olan ekmeçlik buğdayın orjinlendiği yabani buğday türlerini belirlemiş ve evrimini incelemiştir. Ohri (1998) bir cins içerisinde aynı kromozom sayısına sahip çok sayıda türün bulunduğu durumlar, varsa türler arasındaki çekirdek DNA içeriği farklılıklarının türlerin teşhisi ve sınıflandırılmalarında çok etkili olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada; ıslah programlarında kullanmak amacıyla ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi doğal florasından toplanmış olan 3 buğdaygil yem bitkisi cinsine (*Festuca* L., *Koeleria* Pers. ve *Agropyron* Gaertn.) ait 169 adet doğal popülasyonun çekirdek DNA içerikleri ile ploidi düzeylerini belirlemek ve elde edilen verileri kullanarak türleri teşhis etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada; Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi doğal florasından toplanmış olan 3 buğdaygil yem bitkisi cinsine ait genetik kaynak koleksiyonlarını oluşturan 169 popülasyon (131 *Festuca*, 24 *Koeleria*, ve 14 *Agropyron*) materyal olarak kullanılmıştır.

Tohumların Ekilmesi ve Yetiştirilmesi

Popülasyonlardan her birine ait tohumlar 3:1 oranında steril torf ve perlit kullanılarak viyollere ekilmiştir. Plastik sera içerisinde yetiştirilen fideler her popülasyondan 7 bitki olacak şekilde, aralıklı olarak (100x100 cm) tarlaya şaşırtılmıştır.

Çekirdek DNA Analizi

Çekirdek DNA analizleri Tarla bitkileri Ana Bilim Dalı, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizler *Agropyron cristatum* hariç her popülasyon için 5 tek bitki üzerinde ayrı ayrı yapılmış ve popülasyon ortalaması hesaplanmıştır.

*Agropyron cristatum*da ise büyük bir varyasyon gözlenmemesi sebebiyle her popülasyondan 3 bitki analiz edilmiştir.

Analizlerde *Agropyron* için çavdar, *Festuca* ve *Koeleria* için adi fiğ bitkisi standart olarak kullanılmıştır. Analizlerde PARTEC firmasının hazır kitleri kullanılmış ve üretici firmanın protokolü takip edilmiş olup prosedür kısaca aşağıdaki gibidir. Yaklaşık olarak 0.5 cm² büyüklüğünde taze yaprak dokusu petri kabına alınır ve üzerine 500 µl Extraction Buffer ilave edilir. Yaprak dokusu keskin jilet ile küçük parçalara ayrılana kadar (30-60 saniye) parçalanır. Hazırlanan örnek petri kabı içerisinde hafifçe çalkalanır (10-15 saniye). Çalkalama işleminden sonra 40 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek Partec marka 30 µm CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir. Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml staining solüsyonu ilave edilir. Hazırlanan örnek ışısız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir.

Staining Solüsyonun Hazırlanması

Her örnek için; 2 ml Staining Buffer, 6 µl RNase stok solüsyon ve 12 µl PI (Propidium Iodide) stok solüsyonu karıştırılarak staining solüsyonu hazırlanır.

Çekirdek DNA İçeriğinin Hesaplanması

Bir örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği, örnek ile seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül aracılığıyla pikogram olarak hesaplanır (Formül 1).

İstatistiksel Analiz

Her cinse ait popülasyonların çekirdek DNA ortalamaları confidence intervalları kullanarak kendi aralarında kıyaslanmıştır.

Mitoz Kromozomlarının Sayılması

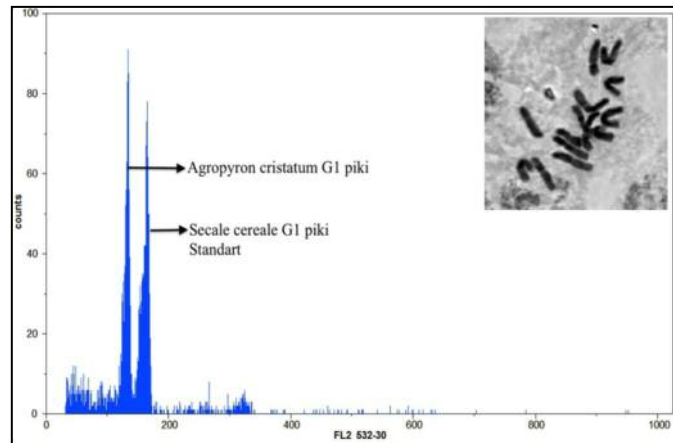
Popülasyonların çekirdek DNA içeriği ile kromozom sayılarını ilişkilendirmek amacıyla her cins içerisinde çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren popülasyonları temsilen en az bir bitkinin mitoz kromozomları sayılmıştır. Kromozom sayımları kök ucu meristem dokuları kullanılarak Feulgen metoduna göre hazırlanmış olan preparatların ışık mikroskobu altında incelenmesiyle yapılmıştır.

Taksonomik Teşhisler

Teşhislerde 2012 bahar aylarında deneme alanına dikilen bitkiler kullanılmıştır. Herbaryum materyali haline getirilen bitkiler, Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florasında (Davis 1985) verilen ilgili cins anahtarları kullanılarak teşhis edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışma, ülkemiz florasından toplanmış olan *Agropyron*, *Koeleria* ve *Festuca* türleri üzerinde ilk kez yapılan çekirdek DNA analizi sonuçlarını içermektedir. Flow sitometri analizleri sonucunda; *A. cristatum* popülasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 12.97 pg/2C ile 13.01 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 1). Yapılan analizlerde popülasyonların ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan



$$\text{Örnek Çekirdek DNA İçeriği} = \frac{\text{Örneğin Floresan Yoğunluğu (G1 Pikinin Değeri)}}{\text{Standartın Floresan Yoğunluğu (G1 Pikinin Değeri)}} \times \text{Standartın Pikogram Olarak Bilinen DNA İçeriği}$$

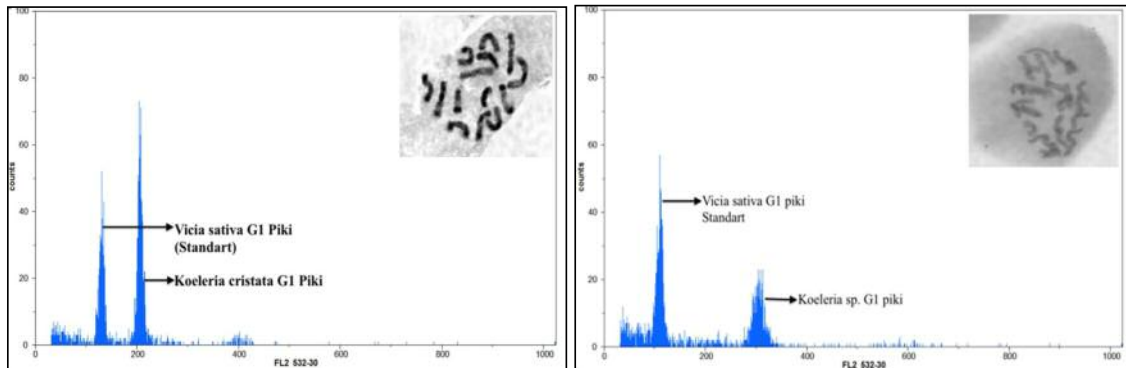
Şekil 1.a) Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanması b) *Agropyron cristatum* ile standart bitkiye (*Secale cereale*) ait G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları ve *A. cristatum*'un mitoz kromozomlarının görünüşü
Figure 1. a) Calculation of nucleus DNA b) Positions of *Agropyron cristatum* and G1 peaks of reference plant (*Secale cereale*) and view of mitosis chromosomes of *A. cristatum*

önemsiz olduğu saptanmıştır. Bu sonuç analiz edilen tüm *Agropyron* popülasyonlarının tek bir türe ait olduğunu işaret etmektedir. Populasyonların çekirdek DNA içeriklerini ploidy düzeyleri ile ilişkilendirmek için koleksiyonu oluşturan bazı *A. cristatum* bitkilerinin kromozomları sayılmış ve tüm bitkilerin 14 kromozoma ($2n = 14$) sahip olduklarını ve dolayısıyla tüm *A. cristatum* popülasyonlarının diploid olduğu belirlenmiştir (Şekil 1). Çalışmada elde edilen sonuçların, Vogel et al. (1999)'nın yapmış olduğu çalışmadaki sonuçlar (13.93) ile oldukça benzer olduğu gözlenmiştir. Aradaki küçük farklılığın çalışmalarda kullanılan standart bitkiden kaynaklandığı düşünülmektedir. Koeleria popülasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin ise 4.81 pg/2C ile 9.40 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu popülasyonların çekirdek DNA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve *Koeleria* popülasyonlarının 4 farklı gruba ayrıldığı gözlenmiştir. 1. grupta (grup A) ortalama çekirdek DNA içeriği 4.86 pg/2C olan tek bir popülasyon yer almaktadır. 2. grupta (grup B) ortalama çekirdek DNA içeriği 5.14 pg/2C olan yine tek bir popülasyon yer almaktadır. 3. grupta ortalama çekirdek DNA içeriği 5.41 pg/2C ile 5.57 pg/2C olan 20 popülasyon yer almaktadır. 4. grupta ise ortalama çekirdek DNA içerikleri 9.44 pg/2C ile 9.47 pg/2C olan 2 popülasyon yer almaktadır. Yapılan kromozom sayımlarında 1., 2. ve 3. gruptaki bitkilerin diploid ($2n=14$), 4. gruptaki bitkilerin ise tetraploid ($2n=28$) olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Yapılan taksonomik değerlendirmede diploid popülasyonlar *K. cristata*, tetraploidler ise *K. nitidula* olarak teşhis edilmişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlar

Pecinka et al. (2006)'ın Avrupa'nın orta bölgelerinden elde ettikleri *Koeleria* taksonları üzerinde yaptıkları çalışmadan elde ettikleri sonuçlar ile büyük benzerlik göstermektedir. Pecinka ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 2C çekirdek DNA içeriği 4.85-5.20 pg arasında değişen 3 diploid, ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 9.31 pg olan 1 tetraploid, ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 22.89 pg olan 4 decaploid ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 29.23 pg olan 1 dodecaploid tür bulunduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar diploid türleri *K. glauca*, *K. macrantha*, *K. pseudoglauca* olarak, tetraploid türü *K. majoriflora*, olarak, decaploid türü *K. pyramidata* ve dodecaploid türü *K. tristis* olarak teşhis etmişlerdir.

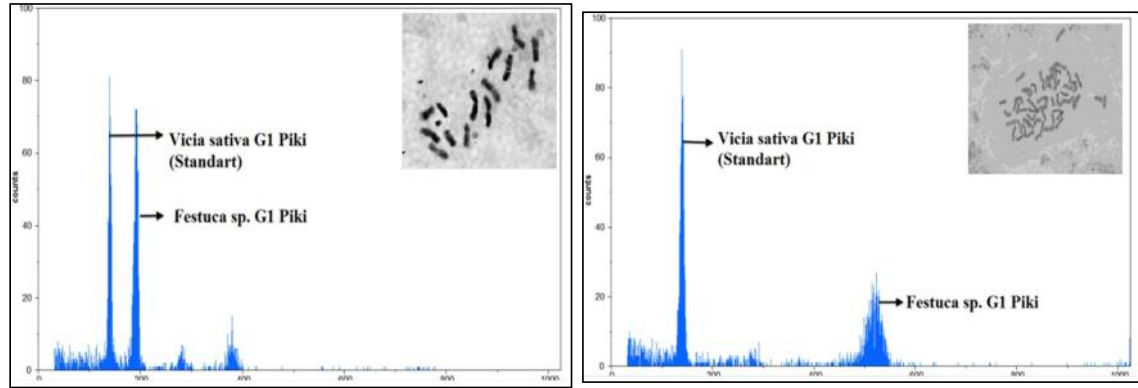
Çekirdek DNA içeriklerinin bir birine çok benzer olmasına rağmen çalışmalar arasındaki türlerin farklı türler olmaları ve Erzurum bölgesinde decaploid ile dodecaploid türlere rastlanmamasının bölgeler arasındaki flora farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan analizlerde; *Festuca* popülasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 4.51 pg/2C ile 15.03 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda popülasyonların çekirdek DNA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve *Festuca* popülasyonlarının 9 farklı gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Birinci (grup A) ve ikinci grupta (grup B) yer alan 72 popülasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri bir birine oldukça yakın olup, 4.51 pg/2C ile 4.80 pg/2C arasında değişmektedir. Bu iki grubun ortalama çekirdek DNA içeriklerinin bir birine yakın olması grupların birbirine çok benzer



Şekil 2. Diploid (sol) ve tetraploid (sağ) Koeleria bitkileri ile standart bitkiye ait (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları, ve diploid ve tetraploid Koeleria bitkilerinin mitoz kromozomlarının görünüşü

Figure 2. Positions of diploid (left) and tetraploid (right) Koeleria plants reference plant (*Vicia sativa*) G1 peaks and the view of mitosis chromosomes of diploid and tetraploid Koeleria plants



Şekil 3. Diploid (sol) ve octaploid (sağ) Festuca bitkileri ile standart bitkiye ait (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları, ve Festuca bitkilerinin mitoz kromozomlarının görünüşü

Figure 3. Positions of diploid (left) and octaploid (right) Festuca plants and reference plant (*Vicia sativa*) G1 peaks and the view of mitosis chromosomes of Festuca plants

genomlara sahip birden fazla türü ve onların hibritlerini içermesi yada *Festuca*' ların sahip olduğu yüksek heterojen yapı ile açıklanabilir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu iki grupta yer alan bitkilerin 2 = 14 kromozom sayısına sahip olduğu ve dolayısıyla diploid oldukları belirlenmiştir (Şekil 3). Yapılan taksonomik değerlendirmelerde bir popülasyon hariç (F-123) bu grup içerisinde yer alan tüm popülasyonlar *F. valessiaca* olarak teşhis edilmiştir. F-123 nolu popülasyon *Vulpia myuros* olarak teşhis edilmiştir. Üçüncü (grup C) ve dördüncü grupta (grup D) yer alan 27 popülasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri de bir birine oldukça yakın olup, 9.20 pg/2C ile 9.60 pg/2C arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu iki grupta yer alan bitkilerin 2n = 28 kromozom sayısına sahip tetraploid bitkiler oldukları belirlenmiştir. Poliploidlerin diploid bitkilerden orijinlendiği göz önünde bulundurulduğunda poliploidlerinde yüksek bir heterojen yapıya sahip olması normal bir durumdur. Yapılan taksonomik değerlendirmelerde tetraploid popülasyonlar *F. chalcophaea* subsp. *Chalcophaea* olarak teşhis edilmiştir. Beş, altı, yedinci ve sekizinci (Grup E, F, G, H) gruplarda yer alan toplam 14 popülasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri de önceki gruplarda olduğu gibi bir birine oldukça yakın olup, 12.46 pg/2C ile 13.27 pg/2C arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu gruplarda yer alan popülasyonların 2n=42 kromozom sayısına sahip hexaploid bitkiler oldukları belirlenmiştir. Yapılan taksonomik değerlendirmelerde hexaploid popülasyonlar *F. heterophylla* olarak teşhis edilmiştir.

Dokuzuncu grupta (grup I) yer alan 5 popülasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri 14.37 pg/2C ile 15.03 pg/2C arasında

değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu grup içerisinde yer alan bitkilerin 2n=56 kromozoma sahip octaploid bitkiler oldukları belirlenmiştir (Şekil 3). Bu grupta yer alan 2 popülasyona ait bitkiler üzerinde teşhis yapılmaya çalışılmış ve F-6 nolu popülasyon *F. heterophylla* olarak teşhis edilirken F-51 nolu popülasyon *F. chalcophaea* subsp. *chalcophaea* olarak teşhis edilmiştir. Yapılan bu çalışmada F-114 nolu popülasyonun 7.36 pg/2C ortalama çekirdek DNA içeriği ile festucalardan ayrıldığı dikkati çekmiş ve bu popülasyona ait bitkilerin yapılan taksonomik değerlendirmesinde bitkiler *Poa pratensis* olarak teşhis edilmiştir. *Festuca* popülasyonlarından 9 popülasyonun ise (F- 24, 49, 62, 73, 81, 86, 92, 113, 116) aslında farklı ploidy düzeyine sahip türleri hatta farklı ploidy düzeyine sahip bitkilerin melezlerini içerdikleri ve dolayısıyla karışık oldukları saptanmıştır.

Sonuç

Çalışmada elde edilen sonuçların daha önce yapılmış olan çalışmalar ile benzer olduğu gözlenmiştir. Samarda ve arkadaşları (2008), 101 *Festuca* taksonu ve 14 yakın akrabasının çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile belirlemiş ve cinsin içerisinde 2C çekirdek DNA içeriğinin 3.88 pg (*F. arvensis*) ile 24.08 pg (*F. gamisansii*) arasında değiştiğini gözlemişlerdir. Ancak çalışmalarda kullanılan bitki materyallerinin aynı olmaması sebebiyle tam bir karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır. Yapılan çalışmada; flow sitometri yöntemiyle popülasyonların çekirdek DNA içerikleri belirlenmiş ve türlerin ploidy düzeyleri ile taksonomik teşhislerinde kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre doğal vegetasyonlardan toplanan buğdaygil yem bitkisi

popülasyonlarının sıklıkla farklı tür ve ploidi araştırma yada ıslah programlarına dahil edilmeden önce muhakkak doğru bir şekilde teşhis edilerek ploidy düzeylerinin belirlenmesi gerektiği açıkça ortaya çıkmıştır. Ayrıca, flow sitometri yönteminin özellikle morfolojik olarak bir birine çok benzeyen ve doğada birlikte yetişen yem bitkilerinin teşhisi ile ploidy düzeylerinin belirlenmesinde son derece yararlı olduğu görülmüştür. Bu nedenle flow sitometrinin benzer çalışmalarda en güvenilir, ucuz, kolay ve hızlı bir metot olarak kullanılabileceği bir kez daha ortaya konmuştur.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 113O156 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Bennett M.D. and Smith J.B., 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., 274:227-276
- Bennett M.D. and Leitch I.J., 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Ann. Bot., 76:113-176
- Brummer E.C., Cazcarro P.M. and Luth D., 1999. Ploidy determination of alfalfa germplasm accessions using flow cytometry. Crop Sci., 39:1202-1207
- Davis P.H., 1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. – Pp: ? in Davis PH (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands 9. - Edinburgh: Edinburgh University
- Heslop-Harrison J.S., 1995. Flow cytometry and genome analysis. Probe, 5:14-17
- Karp A., 1991. Cytological techniques. (Ed: K. Lindsey), Plant Tissue Culture Manual. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands. P. C4:1-13
- Lu K., Kaepler S.M., Vogel K.P., Arumuganathan K. and Lee D.J., 1998. Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass. Great Plains Research 8 (Fall 1998): 269-80
- Ohri D., 1998. Genome size variation and plant systematics. Ann. Bot., 82 : 750-812
- Pecinka A., Suchankova P., Lysak M.A., Travnicek B. and Dolezel J., 2006. Nuclear DNA content variation among Central European Koeleria taxa. Annals of Botany, 98:117-122
- Rayburn A.L., Auger J.A., Benzinger E.A. and Hepburn A.G., 1989. Detection of intraspecific DNA content variation in *Zea mays* L. by flow cytometry. J. Exp. Bot., 40:1179-1183
- Rees H. and Walter M.R., 1965. Nuclear DNA and the evolution of wheat. Heredity, 20:73-82
- Smarda P., Bures P., Horova L., Foggi B. and Graziano R., 2008. Genome size and GC content evolution of festuca: ancestral expansion and subsequent reduction. Annals of Botany, 101: 421-433
- Tuna M., Vogel K.P., Arumunagathan K. and Gill K.S., 2001. DNA contents and ploidy determination of bromegrass germplasm accessions by flow cytometer. Crop Science, 41:1629-1634
- Tuna M., Deepak K.K., Shresta M.K., Arumuganathan K. and Golan-Goldhirsh A., 2004. Characterization of *Dactylis* polpulations collected from natural ranges of Thrace Region of Turkey based on ploidy and RAPD analysis. Euphytica, 135: 39-46
- Tuna M., Vogel K.P. and Arumuganathan K., 2006. Cytogenetic and nuclear DNA content characterization of diploid *Bromus erectus* and *Bromus variegatus*". Crop Science, 46: 637-641
- Vogel P.K., Arumuganathan K. and Jensen K.B., 1999. Nuclear DNA content of perennial grasses of the Triticeae. Crop Sci., 39:661-667