



**FLOW SİTOMETRİ İLE ULUSAL ELMA  
GENETİK KAYNAKLARIMIZIN ÇEKİRDEK  
DNA İÇERİKLERİ VE PLOİDİ DÜZEYLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**YAREN İPEK ŞİMŞEK**

**Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA  
2022**

**T.C.**  
**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**FLOW SİTOMETRİ İLE ULUSAL ELMA GENETİK KAYNAKLARIMIZIN**  
**ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİ VE PLOİDİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YAREN İPEK ŞİMŞEK**

**ORCID: 0000-0003-4738-4569**

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman Prof. Dr. Metin TUNA**

**TEMMUZ-2022**

**Her hakkı saklıdır.**

## ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ BEYANI

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan ve Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışması; TÜBİTAK tarafından 21O095 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yaren İpek ŞİMŞEK

25/07/2022

## ÖZET

# FLOW SİTOMETRİ İLE ULUSAL ELMA GENETİK KAYNAKLARIMIZIN ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİ VE PLOİDİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Yaren İpek ŞİMŞEK

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA

İnsanlık tarihinin ilk meyvesi olan elma (*Malus × domestica*) yabancı döllenmiş bir türdür. Temel kromozom sayısı  $x=17$  olan elma cinsi içerisinde ploidi, diploid ( $2n=2x=34$ ) ile pentaploid ( $2n=5x=85$ ) arasında değişim göstermektedir. Kültürü yapılan elma çeşitlerinin çoğunluğu diploid olmakla birlikte bir kısmı ise triploiddir. Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı flow sitometri ile Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan ulusal elma canlı genetik kaynak koleksiyonunu oluşturan genetik materyallerin çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeylerini ilk defa belirlemektir. Koleksiyon yerli ve yabancı olmak üzere toplamda 340 farklı elma çeşit ve genotipini içermektedir. Çalışma da örnekler sağlıklı bitkilerin taze yaprakları kullanılarak hazırlanmıştır. Floresan boya olarak propidium iodide ve standart olarak *Vicia sativa* (Nilüfer yaygın fiğ) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çalışma da kullanılan 340 adet elma çeşit ve genotipinin 2C çekirdek DNA içeriklerinin 1,46 pg ile 2,45 pg arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda DNA içeriği farklılıklarının önemli olduğu saptanmıştır. Koleksiyonda yer alan elma çeşit ve genotipleri 2C çekirdek DNA içeriklerine göre diploid ve triploid olmak üzere çok kolayca ayırt edilebilen iki grup oluşturmaktadır. Ortalama 2C çekirdek DNA içeriği diploid ve triploidlerde sırasıyla 1,46 ile 1,69 pg ile 2,04 ile 2,45 pg arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma sonunda ulusal elma genetik kaynak koleksiyonunda yer alan elma çeşit ve genotiplerinden 284 tanesinin diploid iken, 56 tanesinin ise triploid olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Elma, *Malus × domestica*, Çekirdek DNA içeriği, Flow Sitometri, Ploidy

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF CORE DNA CONTENT AND PLOIDY LEVELS OF OUR NATIONAL APPLE GENETIC SOURCES BY FLOW CYTOMETRY

Yaren İpek ŞİMŞEK

Department of Tarla Bitkileri

MSc. Thesis

Supervisor: Prof.Dr. Metin TUNA

Apple (*Malus × domestica*), the first fruit in human history, is a cross pollinated plant species. Basic chromosome number in the genus is  $x=17$  as ploidy varies between diploid ( $2n=2x=34$ ) and pentaploid ( $2n=5x=85$ ). Majority of apple cultivars are diploids while some of them are triploid. The objective of this study is to determine the nuclear DNA content and ploidy levels of the genetic materials that make up the national apple living genetic resource collection in Isparta Eğirdir Fruit Growing Research Institute by using flow cytometry for the first time. The collection consists of domestic and foreign 340 different apple varieties and genotypes. In the study, the samples were prepared using fresh leaf tissues from healthy plants, Propidium iodide was used as a fluorescent dye. *Vicia sativa* (Common vetch, cv Nilüfer) was used as an internal standard. According to the results obtained in the study, the 2C nuclear DNA contents of 340 apple cultivars and genotypes varied between 1,46 pg and 2,45pg. The nuclear DNA content differences among apple cultivars and genotypes were statistically significant as they established clearly separated two groups such as diploids and triploids. The 2C nuclear DNA content of diploids and triploids varied between 1,46 ile 1,69 pg and 2,04 ile 2,45 pg, respectively. In the end of this study, it was found out that 284 out of 340 apple cultivars and genotypes were diploid as the rest was triploid.

**Keywords:** Apple, *Malus × domestica*, Nuclear DNA Content, Flow Cytometer, Ploidy

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
TEŞEKKÜR.....	ix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti .....	3
1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı.....	5
<b>2. ELMA BİTKİSİNİN ÖZELLİKLERİ, EKİMİ, BAKIMI VE HASADI .....</b>	<b>6</b>
2.1 Elma Bitkisinin Genel Özellikleri.....	6
2.2 Elma Bitkisinin Habitüsü .....	7
2.3 Spur Çeşitler ve Özellikleri.....	7
2.4 Döllenme Biyolojisi .....	7
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>9</b>
3.1 Materyal .....	9
3.2 Flow Sitometri İle Çekirdek DNA Analizi .....	21
3.2.1 Stok Solüsyonun Hazırlanması .....	22
3.2.2 Doku Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması .....	22
3.2.3 Flow Sitometri İle DNA İçeriğinin Ölçülmesi Ve Mutlak Değerin Hesaplanması.....	24
3.2.4 İstatistiksel Analiz.....	27
3.3 Çekirdek DNA İçeriği İle Ploidi Düzeylerinin İlişkilendirilmesi.....	27
3.3.1 Mikroskop ile Mitoz Kromozomlarının sayılması.....	28
3.3.2 Meristem Dokuların Elde Edilmesi .....	28
3.3.3 Kök Uçlarının Elde Edilmesi .....	28
3.3.4 Kök Uçlarının Selülaz Enzimleri İle Muamele Edilmesi Ve Preparatların Hazırlanması.....	29
3.4 Kromozom Sayımı ve Fotoğraf Çekimi.....	30
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>31</b>
4.1 Çekirdek DNA Analizi .....	31
4.2 Çekirdek DNA İçeriği İle Ploidy Düzeyinin İlişkilendirilmesi .....	47

<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>49</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>50</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları .....	9
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları .....	15
Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar .....	34





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Partec ticari kiti kullanılarak örneklerin hazırlanmasına ait akış şeması.....	23
Şekil 3.2. Örneklerin karanlık yerde inkübe edilmesi .....	24
Şekil 3.3. Örneklerin flow sitometri cihazına yüklenmesi .....	24
Şekil 3.4. Diploid elma bitkisi ve standarda ait (Nilüfer yaygın fiğ ) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları .....	26
Şekil 3.5. Histogramın cihazın sahip olduğu Flowmax yazılımı ile analiz edildikten sonraki görünüşü .....	26
Şekil 3.6. Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanmasında kullanılan formül .....	27
Şekil 3.7. Kök ucu elde etmek amacıyla çimlendirmeye alınan elma tohumları .....	29
Şekil 3.8. Çimlendirmeye alınan tohumların petri kaplarındaki görünüşü.....	29
Şekil 4.1 Diploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir). .....	32
Şekil 4.2 Diploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü ( sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir ).....	32
Şekil 4.3. Triploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir). .....	33
Şekil 4.4. Triploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir). .....	33
Şekil 4.5. Diploid Olan Elma Granny Çeşidinin Kromozomlarının Görünümü .....	48

## SİMGELER DİZİNİ

C	Çekirdek DNA İçeriği
2C	Diploid Çekirdek DNA İçeriği
1C	Haploid Çekirdek DNA İçeriği



## KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu\text{L}$	Mikrolitre
ml	Mililitre
pg	Pikogram
PI	Propidium iodide
RNA	Ribonükleik Asit
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
cm	Santimetre
$\text{cm}^2$	Santimetre kare



## TEŞEKKÜR

Yürütücüsü olduğu TÜBİTAK- 210095 nolu ve 'Flow sitometri ile ulusal elma genetik kaynaklarımızın çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi' başlıklı araştırma projesine burslu öğrenci olarak katılma imkanı sunan Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsünde görevli Doç. Dr. Emel KAÇAL ve aynı zamanda katıldığım bu projeyi tez çalışmam haline getirmeme imkan sağlayan, tezimin her aşamasında yardımcı olan, tez çalışmamı başarıyla tamamlamamı sağlayan, engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım, çok değerli hocam Prof. Dr. Metin TUNA'ya tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Tez çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Dr. Gülsemin SAVAŞ TUNA' ya ayrıca teşekkürlerimi belirtmek isterim. Tez çalışmam süresince yanımda olan çalışma arkadaşlarım, Zir. Müh. Bekir CAN, Zir. Müh. Sema GÖKÇE 'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tüm hayatımda olduğu gibi eğitim hayatımda da her zaman yanımda olan, hayattaki en büyük şansım, annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme de teşekkür ve minnetimi özellikle belirtmek istiyorum.

Yaren İpek ŞİMŞEK

Ziraat Mühendisi

## 1. GİRİŞ

Flow sitometri yöntemi başlangıçta tıbbi amaç ile kan hücrelerinin hızlı ve hassas bir şekilde analiz edilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Flow sitometri sıvı bir akış sistemi içerisinde süspansiyon halinde hareket etmekte olan hücrelerin, organellerin veya nükleus ve kromozom gibi mikroskobik partiküllerin bir ışık hüzmesi önünden teker teker geçtikleri sırada optik özelliklerini (florasan yoğunluğu ve ışık saçılımı) analiz edebilen eşsiz bir tekniktir (Dolezel, Greilhuber, Suda, 2007). Yöntemin tıpta kullanımı kısa bir süre içerisinde yaygınlaşmış ve bu gün tıbbi araştırma ve klinik uygulamalarda yararlanılan vazgeçilmez yöntemlerden biri haline gelmiştir (Dolezel, vd., 2007).

Bitki hücrelerinin boyutlarının büyük olması, hücre duvarına sahip olmaları ve şekillerinin flow sitometri' ye uygun olmaması nedenleriyle yöntemin bitkilerde kullanımı yaklaşık 20 yıl gecikmiştir ( Savaş Tuna, Yücel, Şimşek, Can, Tuna, 2022). Flow sitometri ile ilk bitki hücresinin analizi 1973 yılında Friedrich Otto Heller tarafından yapılmıştır (Heller, 1973). Ancak örnek hazırlamadaki zorluklar nedeniyle yöntem ilgi görmemiştir. Flow sitometrinin bitkilerde kullanımı Galbraith ve arkadaşlarının bitki hücrelerinin analiz için hazırlanmasında kullanılan basit ve hızlı bir yöntemi geliştirmesi ile 1983 yılında yaygınlaşmaya başlamıştır (Galbraith ve Shields, 1982). Flow sitometri bugün birçok bitki laboratuvarında rutin olarak yapılan bir analiz yöntemi haline gelmiştir. Yöntem tıpta olduğu gibi geniş bir kullanım potansiyeline sahip olmasına rağmen, bitkilerde çoğunlukla çekirdek DNA analizlerinde kullanılmaktadır.

Çekirdek DNA içeriği eukaryotların nükleusu içerisinde bulunan toplam DNA miktarı olup, "C" harfi ile ifade edilmektedir (Bennett ve Leitch, 1995). Çekirdek DNA değerleri kitap ve bilimsel yayınlarda 1C ya da 2C olarak sunulmaktadır. 1C haploid bir çekirdeğin, 2C ise diploid bir çekirdeğin DNA içeriğini pikogram (pg) olarak ifade etmektedir (Bennett ve Leitch, 1995).

Çekirdek DNA içeriği bir türün aynı ploidi düzeyine sahip bireyleri arasında genellikle sabittir ve değişiklik göstermez (Bennett ve Leitch, 1995). Bununla birlikte türler arasında yaklaşık 2000 misli farklılık gösterebilmektedir (Özkan, Tuna, Kilian, Mori, ve Ohta, 2010). Bu özelliği nedeniyle çekirdek DNA içeriği genom (tür) spesifiktir (Bennett, 2000; Dolezel, 2007; Ohri, 1998; Vrana, 2014). Bundan dolayı çekirdek DNA içeriği biyolojinin taksonomi,

genetik ve evrim gibi birçok alanı ile birlikte bitki ıslahında sıkça ihtiyaç duyulan son derece önemli temel bir bilgidir (Bennett, 2000; Dolezel, 2007; Ohri, 1998; Vrana, 2014).

Kromozom sayısı ile sıkı bir doğrusal ilişkiye sahip olması nedeniyle flow sitometri ile ölçülmüş çekirdek DNA içeriği ploidi düzeyini belirlemek amacıyla mikroskop ile yapılan kromozom sayımına alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Lu, Kaepler, Vogel, Arumuganathan, DJ, 1998; Tuna, Vogel, Arumuganathan, Gill, 2001). Flow sitometri yönteminin klasik yöntem (mikroskop) ile yapılan ploidi analizine göre üstünlüğü bölünen hücreye gereksinim duymaması, hassasiyeti, kolaylığı ve hızıdır (Lu, vd., 1998; Tuna, vd., 2001). Metot özellikle bu tez çalışmasında olduğu gibi çok sayıda örneğin ploidi düzeyinin belirlenmesi gerektiği durumlarda büyük avantaj sağlamaktadır.

Dünya üzerinde eski ve köklü bir geçmişi olan elma (*Malus communis L.*), botanikte *Rosales* takımının, *Rosaceae* familyasının, *Pomoideae* alt familyasının, *Malus* cinsi içerisinde yer almaktadır (Öz ve Bulagay, 1986). Taksonomik bilgiler doğrultusunda cins içerisindeki tür sayısı 40 ile 55 arasında değişmektedir. Kültür elmalarının oluşumuna kaynak olan en önemli elma türleri *Malus communis*, *Malus baccata* ve *Malus prunifolia'dır* (Aydoğan, 2019).

İlk kültür elmasının ortaya çıkışı türler arası melezlenmenin sonucudur (Harris, Robinson, Juniper, 2002). Ancak bu türlerin atası Batı Çin ile eski Sovyet Birliği sınırında bulunan *Malus sieversii'dir*. Yetiştirilmekte olan kültür elmaları *Malus × domestica* olarak bilinirler (Korban ve Skirvin, 1984).

Elmanın temel kromozom sayısı  $n = 17$ ' dir (Westwood, 1995). Kültür çeşitlerinin çoğunluğunun diploid ( $2n=2x=34$ ) olmasına rağmen cins içerisinde ploidi düzeyi diploid ile pentaploid arasında değişim göstermektedir (Westwood, 1995).

Bununla birlikte farklı türlere ait çok sayıda çeşit ve genotip içeren ulusal elma genetik kaynak koleksiyonumuzda ki genetik kaynakların ploidi düzeyi henüz belirlenmemiştir. Bu durum koleksiyonun bitki ıslahı programlarında kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu çalışmanın amacı flow sitometri ile Isparta da bulunan canlı elma genetik kaynak bahçesinde yer alan elma çeşit ve genotiplerinin henüz bilinmeyen ploidy seviyelerinin belirlemektir.

## 1.1 Literatür Özeti

Temel kromozom sayısı  $x = 17$  olan elmanın kültürü yapılan çeşitleri çoğunlukla  $2n=2x=34$  kromozom sayısı ile diploid ploidi düzeyine sahiptir. Bununla birlikte elma cinsi içerisinde ploidi, diploid ( $2n=2x=34$ ) ile pentaploid ( $2n=5x=85$ ) arasında değişim göstermektedir (Westwood, 1995).

Örnek olarak geçmiş yıllarda yapılmış olan çalışmalarda *Malus sikkimensis* türü triploid olarak saptanmıştır. Aynı çalışma da *M. coronaria*, *M. hupehensis*, *M. lancefolia* Rehd, *M. x platycarpa* ve *M. toringoides* Rehd. Hughes., türleri ise hem triploid hem de tetraploid ( $2n=4x=68$ ) olarak saptanmışlardır (Janick, Cummins, Brown, Hemmat, 1996). Günümüzde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan "Gala", "Golden Delicious" ve "Red Delicious" gibi elma çeşitleri diploid ploidi düzeyine, "Hüryemez", "Gümüşhane" ve "Jonagold" çeşitleri ise triploid ploidi düzeyine sahiptirler.

*Malus* cinsi içerisinde 2C çekirdek DNA içeriği değerleri türlere göre farklılık göstermekle birlikte, ploidi seviyesi diploid ( $2x=34$ ) olan *Malus x domestica*'da 2C çekirdek DNA içeriği değeri 1.514; triploid ( $3x=51$ ) olan *M. hupehensis*'de 2.121; *M. sikkimensis*'de 2.164 olarak belirlenmiştir (Höfer ve Meister, 2010).

2016 yılında yapılan bir çalışmada *Malus x domestica* çeşidinin çekirdek DNA içeriğini 1,54-1,65 pg olarak saptanmıştır (Podwyszyńska, Kruczyńska, Machlańska, Dyki, Sowik, 2016).

Dickson ve arkadaşları triploid bir elma türü olan *Jonagold* için 2C çekirdek DNA içeriğini 2,43-2,53 pg olarak saptamışlardır (Dickson, Arumuganathan, Kresovich, Doyle, 1992).

Flow sitometri metodu bugüne kadar birçok bitki türünün çekirdek DNA içeriği ve ploidi düzeyinin belirlenmesinde başarıyla kullanılmıştır.

Bu çalışmaların birinde 12 serin ve sıcak mevsim çim bitkisinin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma da sıcak mevsim çim türlerinin 2C çekirdek DNA içeriklerinin 0,86 ile 1,95 pg arasında değişirken serin mevsim çim türlerinin ise 2C çekirdek DNA içeriklerinin 5,65 ile 15,59 pg arasında değiştiğini saptanmıştır (Arumuganathan, Tallury, Fraser, Bruneau, Qu, 1999).

Başka bir çalışma da ise Tuna ve arkadaşları (2018) flow sitometri ile Doğu Anadolu bölgesinin doğal florasından toplanmış olan 130'dan fazla *Festuca* (yumak) popülasyonunun 2C çekirdek DNA içeriklerini belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda *Festuca* popülasyonlarının ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 4,63 pg ile 15,03 pg arasında

değiştirdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre popülasyonların ploidi düzeylerinin diploid ile dekaploid arasında değiştiği belirlenmiştir ( Savaş Tuna, Yılmaz, Ulutaş, Şahin, Nizam, Yücel, Tuna, 2018 ).

Yapılmış olan başka bir yüksek lisans tez çalışmasında ise diploid yoncanın 2C çekirdek DNA içerikleri yaklaşık olarak 1,90 pg çıkarken tetraploid yoncanın ise 3,25 pg dolayında olduğu tespit edilmiştir (Mavioğlu Kaya, M., 2010).

Yapılmış bir başka yüksek lisans tez çalışmasında da ülkemiz koşullarında durumlarını belirlemek için yurt dışından getirilen 13 türe ait tek yıllık 70 adet yabancı ayçiçeği (*Helianthus spp.*) aksesyonunun 2C çekirdek DNA içerikleri flow sitometri metodu ile belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre ayçiçeği türlerinin ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 6,2 pg (*H. neglectus* ) ile 23,6 pg (*H. agrestis*) arasında değiştiği saptanmıştır. Çalışmada kromozomları sayılan her iki türde de  $2n=2x=34$  kromozom sayılmış ve türlerin diploid olduğu belirlenmiştir (Şahin, 2019).

Başka bir çalışma da ise flow sitometri ile Kosova bölgesinde doğal olarak yetişen *Tulipa* türlerinin (*T. luanica* ve *T. kosovorica* ) ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri sırasıyla 46,80 ve 44,41 pg olarak belirlenmiştir (Tuna, Gashi, ve Osmani, 2019).

2016 yılında yapılmış olan bir yüksek lisans tez çalışmasında flow sitometri ile Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış su kabağı bitkilerinin 2C çekirdek DNA içerikleri 0,71-0,81 pg arasında olduğu belirlenmiştir (Ersoy, 2016).

Farklı lokasyonlardan toplanmış olan bamya bitkilerinin ise 2C çekirdek DNA içerikleri 2,88 - 3,00 pg arasında değiştiği saptanmıştır (Örkücü, 2016).

2019 yılında yapılmış olan bir yüksek lisans tez çalışmasında Adana, Antalya, Bilecik ve Samsun kökenli şeker otu (*Stevia rebaudiana*) genotiplerinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 1,52 ile 1,67 pg arasında değiştiği belirlenmiştir (Karaoğlu, 2019 ).

2012 yılında flow sitometri metodu kullanılarak Adi fiğ (*Vicia sativa*) türlerinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 3,34 -3,65 pg arasında olduğu saptanmıştır (Tiryaki ve Tuna, 2012 ).

2011 yılında yapılmış olan yüksek lisans tez çalışmasında da yurt dışından temin edilmiş olan 83 *Bromus catharticus* aksesyonlarının 2C çekirdek DNA içerikleri flow sitometri ile ilk defa belirlenmiştir. Çalışma da elde edilen sonuçlara göre *Bromus catharticus* aksesyonlarının ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 11,79 ile 13,72 pg arasında değiştiği saptanmıştır (Teykin, 2011).

Yapılmış olan bir başka çalışma da Türkiye'nin batı bölgelerinden toplanmış olan *Hypericum perforatum L.* ( sarı kantaron) aksesyonlarının flow sitometri metodu ile ortalama



2C çekirdek DNA içerikleri tespit edilmiştir. Çalışmada, Türkiye'nin 23 farklı lokasyonundan toplanan 39 *Hypericum perforatum L.* aksesyonuna ait tohumlar materyal olarak kullanılmış ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 0,8-2,57 pg arasında değiştiği tespit edilmiştir ( Savaş Tuna, Duyu, Uzun, Yucel, Tuna, 2017).

## 1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Sunulan tez çalışmasının amacı; Flow sitometri ile Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan ulusal elma canlı genetik kaynak koleksiyonunu oluşturan genetik materyallerin çekirdek DNA içerikleri ve ploidi düzeylerini ilk defa belirlemektir. Koleksiyon yerli ve yabancı olmak üzere toplamda 340 farklı elma çeşit ve genotipinden oluşmaktadır. Her çeşit ve genotip koleksiyonda 3 birey ile temsil edilmektedir. Çalışmamızda koleksiyon içerisinde yer alan tüm elma bitkileri 3 tekrarlı olarak toplamda 1020 bitkinin analizi yapılmıştır.

Geçmiş yıllar da yapılan çalışmalar da saptanmış olan diploid ve triploid çeşitleri mevcut olup, mayoz bölünme sırasında çiçek tozlarında ve yumurta hücrelerin de normal dağılım göstermeyen kromozomlara sahip olan triploid çeşitlerden ürün almak için mutlaka tozlayıcılara ihtiyaç duyulmaktadır. Kurulan bahçeler de tozlayıcı olarak çoğunlukla diploid çeşitler kullanılmaktadır.

Bu nedenle koleksiyondaki genetik materyallerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi genetik kaynakları projelerine dâhil etmek isteyen elma genetik ve ıslahçıları için son derece yararlı olacaktır.

## 2. ELMA BİTKİSİNİN ÖZELLİKLERİ, EKİMİ, BAKIMI VE HASADI

### 2.1 Elma Bitkisinin Genel Özellikleri

İnsanlık tarihinin ilk meyvesi yumuşak çekirdekli meyve türleri arasında yer alan elma bitkisinin ortaya çıkış yeri tam olarak bilinmemekle birlikte Kuzey Anadolu, Güney Kafkaslar, Rusya'nın Güney Batısında kalan bölgeler ve Kazakistan'ın doğusunda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (Özbek, 1978). Yurdumuz da ise yetiştiriciliğe uygun elverişli kültür merkezleri Kuzey Anadolu ve Orta Karadeniz'dir. Farklı ekolojilere doğal olarak uyum sağlamaktadır. Bu nedenle dünya üzerinde geniş bir şekilde yayılış göstermektedir (Aydoğan, 2019).

Elma bitkisi yaklaşık 2 metre kadar derinlere inebilen bir kök sistemine sahiptir. Dal yapısı ise odun ve meyve dalı olarak iki şekilde görülmektedir. Odun dalları ağaçların şekillenmesinde ve büyümesinde görev almaktadır. İlerleyen yıllarda meyve dallarına dönüşürler. Meyve dalları ise kendi aralarında topuz, kargı, dalcık ve çitanak olarak 4 gruba ayrılır. Meyve dalı olarak topuz en kısa daldır. İlk oluştuğu yıldan itibaren dalın ucunda odun tomurcuğu vardır. Topuz dalının meyve dalına dönüştüğü yıllar da bu odun tomurcuğu ise çiçek tomurcuğuna dönüşür. Kargı dalı ise topuz dalına göre daha uzundur. İlk oluştuğu yılda bile bir çiçek tomurcuğu bulunabilir. Uzunluk bakımından topuz meyve dalı ile kargı meyve dalı arasında dalcık meyve dalı yer alır. Çitanak meyve dalı birçok kese ve bir araya toplanmasından oluşur.

Elma çiçeğine hüzme adı verilir, aynı zaman da bir hüzme de 4 ile 10 arasında çiçek bulunmaktadır. Çiçekler bir ana eksen üzerinde uç kısımlar da ve yanlarda dizilmişlerdir. Çiçeklenme eksenin üst kısmından başlamakta ve aşağıya doğru kademeli olarak devam etmektedir. Hüzme de ki çiçeklenme 4-15 gün arasında tamamlanmaktadır. Çiçeklerin yapısının da 5 adet çanak yaprak ve taç yaprak bulunur. Çanak yapraklar yeşil renklidir. Taç yapraklar ise beyaz, pembe renge sahiplerdir. Sahip olduğu dişi organ sayısı 5 tane iken erkek organ sayısı 15-20 arasında değişmektedir. Elma bitkisinin meyvesi ise yalancı meyvedir. Meyve de 5 karpelden oluşan perikarp vardır. Ender görülmekle beraber bu karpel sayısı 4 veya 6 olabilmektedir. Karpellerin oluşturduğu odacıklar da 2 adet tohum taslağı bulunmaktadır. Tohumlar bu odacıklardaki tohum taslağının gelişmesi ile oluşurlar. Perikarp ise 3 farklı kısımdan oluşmaktadır. Yenebilen etli ve yumuşak kısmı oluşturan yerlere ekzokarp ve mezokarp adı verilmektedir. Sertleşmiş ve kıkırdaksı yapıya ise endokarp adı verilmektedir (Özçağırın, vd., 2005).

İklim isteği olarak soğuk ılıman şartları sevmekle beraber sert kışlara da dayanıklılık göstermektedir. Ayrıca bol güneş alan, yeterli neme sahip topraklar da iyi yetişmektedir.

Elma meyvelerinin hasadı son derece dikkatli ve narin şekilde yapılmalıdır. Meyve ince kabuklu olduğu için hasat sırasında avuç içine alınmamalı ve parmakla sıkılma yapılmamalıdır. Hasat yapıldıktan sonra soğuk hava depolarında muhafaza edilmelidir (Özçağıran, vd., 2005).

## **2.2 Elma Bitkisinin Habitüsü**

Genetik materyalimiz olan elma ağaçlarının büyüklükleri kullanılmış olan anaçlara, bölge ekolojisine ve çeşitlere göre değişmektedir. Gelişmekte olan ağaçlar da dallar genellikle yanlara doğru açıldığından ağaçlar yayvan şekiller alırlar. Aynı zaman da bazı çeşitler dik büyürler ve piramit şeklini alırlar, bazıları ise şemsiye şeklini alırlar (Özçağıran, Ünal, Özeke, İsfendiyaroğlu, 2005).

## **2.3 Spur Çeşitler ve Özellikleri**

1950’li yıllar da Amerika Birleşik Devletlerin de elma bitkisinin doğal habitusu dışında gelişen bazı mutanlara rastlanmıştır. Normal elma ağaçlarının aksine bu mutant ağaçlar gelişme kuvvetleri ve dallanma şekilleri bakımından farklılık göstermişlerdir. Bu mutant ağaçlarda, normal elma ağaçlarının aksine gelişme kuvvetlerinin düşük olması, toplu, sık dallı, sık yapraklı ve erken meyveye yatmaları göze çarpmıştır. Bu ağaçlarda meyve dalı olarak topuz (spur ) bulunduğu için çeşitlere spur adı verilmektedir. Spur tipe sahip ağaçlar da daha küçük ve kalın dokulu yapraklar, aynı zaman da daha büyük ve iri yapılı meyveler bulunmaktadır. Normal elma ağaçlarının meyve olgulaşma periyodunun aksine bu mutant ağaçlarda meyve olgunlaşmaları 5-15 gün daha geç olmaktadır. Spur çeşitlere örnek olarak Red Delicious dan oluşan spur çeşitler arasında Starkspur Red Delicious yer alırken, Starking Delicious dan oluşan spur çeşitler arasında Redspur, Starkrimson yer almaktadır (Özçağıran, vd., 2005).

## **2.4 Döllenme Biyolojisi**

Elma bitkisinin de görülen en önemli ve başlıca sorun döllenmedir. Elma bitkisi kendi çiçek tozları ile döllenme yeteneğine sahip olmadığı için yabancı döllenir. Bu nedenle kendine verimli değildir.

Tür içersinde ploidi düzeyi bakımından farklılıklar gözlense de çeşitlerin çoğu  $2n = 34$  kromozom ile diploid yapıdadır. Diploid olan çeşitler yüksek oranda canlı çiçek tozlarına sahip olup çiçek tozlarının şekli düzgün, büyüklükleri homojendir. Bu nedenlerden dolayı elma bahçelerin de tozlayıcı olarak kullanılırlar. Bitkilerin diğer bir ploidi seviyesi ise triploid olup 51 kromozom içermektedir. Bu çeşitlerin oluşumunda mayoz bölünme sırasında kromozomlar da normal bir dağılım olmadığı için çiçek tozlarında ve yumurta hücrelerin de farklı sayıda kromozoma sahiptirler. Bu nedenle bu çeşitler kendine uyumsuz olup ürün vermek için mutlaka tozlayıcıya ihtiyaç duymaktadırlar (Özçağiran, vd., 2005).

Diploid ve triploid elma ağaçları arasında tozlanma böceklerle, özellikle arılarla sağlanmaktadır. Tozlanmanın yeterli olabilmesi için her 5 dekar alan için 1 kovan bulundurulmalıdır. Tozlanma periyodu ise çeşit ve sıcaklıklara bağlı olarak 2 ile 9 gün arasında değişmektedir. Sıcaklıkların ise  $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' nin üzerinde olması uygun tozlanmayı sağlamaktadır. Bahçe tesisi yapılırken tozlayıcı çeşidin esas çeşide oranı %10-15 arasında olmalıdır ve aralarındaki mesafe 12-15 metreden az olmalıdır (Özçağiran, vd., 2005).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan elma genetik kaynakları bahçesinde MM106 klonal elma anacı üzerinde aşılınmış canlı bitki olarak bulunan toplam 340 farklı elma çeşit ve genotipi çalışmamızda kullanılan bitki materyalini oluşturmaktadır. Koleksiyon bahçesinde bulunan her bir çeşit ve genotip 3 bitki ( $340 \times 3 = 1020$ ) ile temsil edilmektedir. Çalışmamızda koleksiyonda bulunan tüm elma bitkileri ayrı ayrı analiz edilmiş ve böylece her bir farklı genotip ve çeşit için 3 tekrarlı yapılmıştır. Çalışmamızda diploid ploid düzeyleri hali hazırda belirlenmiş olan İngiliz, Golden, Granny ve Fuji çeşitleri de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları

No	Çeşit
2	Canada Renette
3	Sinap
5	Double Red Delicious
6	Niğde İngiliz
7	Staymared
9	Close
12	Crown Gold
15	Piraziz
16	Adsız
17	WilmutaJonagold
21	Jonabress
22	Karpuz
24	Mutsu
27	Sarı Göbek
30	Sarı Elma
32	Stark
39	Cigit

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları ( devamı)

41	Jonica
45	Reinette Tardiva
48	Black Stayman Improved
50	Hüryemez
52	Black Stayman
53	Jonagold
54	Novaja
56	Kalkandelen
57	Winesap
58	<i>Malus domestica</i>
59	Candır
60	Otawa
61	Braeburn
64	Rubinstein
65	Pristine
67	Harım
69	Wayne Spur Delicious
74	S. EarlyStripe
75	Yenice
76	Manted
77	RedJim
79	Gelin Elması (Kütahya)
82	Red Elstar
85	Elstar Van Viliet
86	Delbarestivale
87	Lodi Early Golden
91	Discovery
92	Golden Weinsberg

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları ( devamı)

99	Cidagut
100	Topaz
101	Red Spur
104	Karasakı
106	Yenişehir
108	Early Blaze
110	Arlet
111	Calville Rouge Datan
113	Tavşanbaşı (Kütahya)
115	Aivania
118	Gallia Beauty
122	Astramel
125	Spartan
127	<i>Maluskirghisorum</i>
130	All Red Jonathan
132	Gümüşhane
139	<i>Malussieversii</i>
140	Mor Spur
145	Sandık
147	Delprim
148	Süs Elması
150	Gürcü
152	Top Red
155	Winter Banana
156	Oregon Spur
163	Gold Rudi
166	Mc Intosh
167	Fiesta

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları ( devamı)

170	Hena
171	Uzun Yomra
175	Ranna Çervana Ptitsa
178	Rome Beauty
179	Idared
183	Daldabir
185	Belle Fleo Jello
189	Melrose
191	Ozark Gold
192	Goldstar
193	Chesapeake
198	Yellow Spur
200	Blackjon
201	Victoria
202	Yaz Tavşanbaşı
203	Gloster
204	Rewena
206	Lena
208	Democrat
213	Enterprise
215	Starking Delicious
217	Galaxy Selecta
219	Pancarlık
220	Daldatek
223	Zlatna Preyuzho Dna
224	Pilot
227	Jonathan



Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları ( devamı)

228	Will Early Red
230	Jonafree
232	Anglyska Zelena
233	Ferik
235	Güz Tavşanbaşı
236	Raritan Rose
239	Early Red One
240	Double Red Stayman Winesap
242	Elstar
243	Summer Regent
248	Eden spur
251	Sky Line Supreme
253	Pink Lady
256	Ed Gould Golden Delicious
257	Ervin Spur
260	Red Free
263	Anna
264	Batum
268	Dayton
272	York Imperial
273	Gold Jon
275	Samsun
277	Champion
278	Calville Rouge Delicious
280	Red Dykmonszoef
281	Priam
284	Rajka
285	Paşa Elması

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan elma çeşit ve kodları ( devamı)

286	William'sPride
287	Dlatro Prevuzho Dna
289	Skyspur
290	Şeker
291	Santana
293	Rose De Benaugé
295	Ak
296	Rize Demir
300	Korella
309	Gelendost
315	Prima
316	Astragan Rouge
317	RedIngred Marie
320	Dallies
321	Reine de Renettes
325	Priscilla
326	Red Delcorf
329	Wealthy
331	Mollies Delicious
335	King Lucious
336	Amasya (Uludağ)
338	Malusniedzwezkjana
340	Hi Early Delicious

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları

<b>No</b>	<b>Genotip</b>
1	Yb-2
4	Coll 73
8	Coll 47
10	Göbek (2475)
11	546 E
13	Demir (2562)
14	GK 37
18	E 71
19	210887 (1-2)
20	GK 20
23	GK 14
25	Yaz Elması (2563)
26	392 E
28	GK 73
29	220887 (3-5)
31	Elma (2523)
33	180887 (5-1)
34	GK 76
35	Elma (2582)
36	180887 (1-1)
37	180887 (5-2)
38	190887 (1-4)
40	496 E
42	GK 55
43	Coll 72
44	GK 33
46	Mektep Elması (2565)

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

47	Demir (2486)
49	220887 (3-2)
51	GK 60
55	42-Bs-5 (Almila)
62	Gelin Elması (2475)
63	GK 18
66	GK 17
68	Tokat 1
70	42-Kp-1 (Mayhoş Tavşanbaşı)
71	KAGK 19
72	KAGK 45
73	GK 29
78	Kaşel 41
80	Coll 22
81	Cooper 41
83	KAGK 2
84	KAGK 107
88	42-Ko-1 (Yayla Pınarı)
89	GK 12
90	Gemlik 2
93	42-E-2 (Ankara Güzeli)
94	KAGK 49
95	EL-23035 ( Amasya)
96	GK 78
97	KAGK 63
98	Amasya 37
102	GK 15
103	GK 11

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

105	Coll 23
107	KAGK 43
109	GK 6
112	220887
114	Cooper 40
116	GK 38
117	Red Rome 262
119	42-C-5 (Yaz Amasya)
120	J/5/4/59 Bel.
121	Oltu Elması (2594)
123	385 E
124	Bey Elması (2477)
126	KAGK 51
128	Tatlı Elma 2492
129	220887 (1-2)
131	180887
133	42-E-4 (Mayhoş Yıldızkıran)
134	GK 65
135	KAGK 11
136	KAGK 22
137	KAGK 25
138	371 E
141	130887 (3-4)
142	Mahsusa Elması (2478)
143	KAGK 7
144	KAGK 8
146	Söğüt Elması (2480)
149	GK 57

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

151	GK 50
153	GK 19
154	KAGK 29
157	529 J
158	Yb-1
159	GK 2331
160	Cooper 7-SB-2
161	KAGK 17
162	KAGK 34
164	GK 72
165	62-1
168	KAGK 104
169	E 70
172	32 E 1
173	GK 23
174	GK 81
176	Kadir-Hatice (2602)
177	GK 67
180	Karanfil (2570)
181	GK 2334
182	Beyaz Elma (2575)
184	504 J
186	GK 5
187	GK 2328
188	GK 35
190	42-E-7 (Yıldızkıran)
194	Cooper 4
195	KAGK 114

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

196	GK 68
197	42-E-1 (Daldabir)
199	Tatlı Elma (2511)
205	42-A-1 (Yaz elması)
207	542E
209	GK 2332
210	Tokat 2
211	42-Kp-3 (Karapınar Elması)
212	Aksu 4
214	KAGK 48
216	32 E 2
218	384 E
221	GK 2
222	GK 31
225	Demir (2514)
226	KAGK 6
229	Cooper 42
231	GK P 36
234	210887(1-4)
237	Altınok Elması (2490)
238	Orak 2
241	372 E
244	Cooper 44
245	Tavşanbaşı (2531)
246	Gemlik-3
247	GK 48
249	KAGK 5
250	200887 (1-9)

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

252	Cıncık (2471)
254	Cooper 39
255	Kırmızı elma (2552)
258	GK 47
259	Elma (2590)
261	Tokat 4
262	Petek 2577
265	Susuz Elma (2500)
266	Amasya 351
267	Coll 32
269	Cooper 900
270	GK 4
271	170887(2-5)
274	473 E
276	62-2
279	190887(3-2)
282	Kış Elması (2590)
283	130887 (2-3)
288	210887 (2-1)
292	GK 66
294	GK 56
297	Petevrek Elması (2566)
298	GK 9
299	42-E-6 (Kaba elma)
301	Yb 3
302	GK 63
303	200887 (1-2)
304	GK 82



Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan elma genotip ve kodları (devamı)

305	250887 (1-10)
306	GK 2411
307	24 M 31
308	63-6-2
310	Amasya 532
311	GK 21
312	Pozmer 20
313	Sivanor Elması (2601)
314	Yaz Elması (2488)
318	42-C-3 (Tatlı Tavşanbaşı)
319	GK 34
322	180887 (2-1)
323	GK 2329
324	Kaşel 37
327	GK 13
328	180887 (4-4)
330	E 45
332	42-E-3 (Hanım Teni)
333	383 E
334	GK 32
337	GK 51
339	240887 (1-2)

### 3.2 Flow Sitometri İle Çekirdek DNA Analizi

Çekirdek DNA analizleri toplam olarak 340 adet elma bitkisi üzerinde 3 tekrarlamalı (3 ayrı bitki) olarak yapılmıştır. Analizler de bitkilere ait sağlıklı, genç fakat tam büyüklüğe ulaşmış yaprak dokuları kullanılmıştır. Yaprak dokuları Isparta'dan Tekirdağ'a buz kalıpları arasına yerleştirilmiş ve içerisinde iki tabaka nemlendirilmiş havlu kağıt bulunan klipli

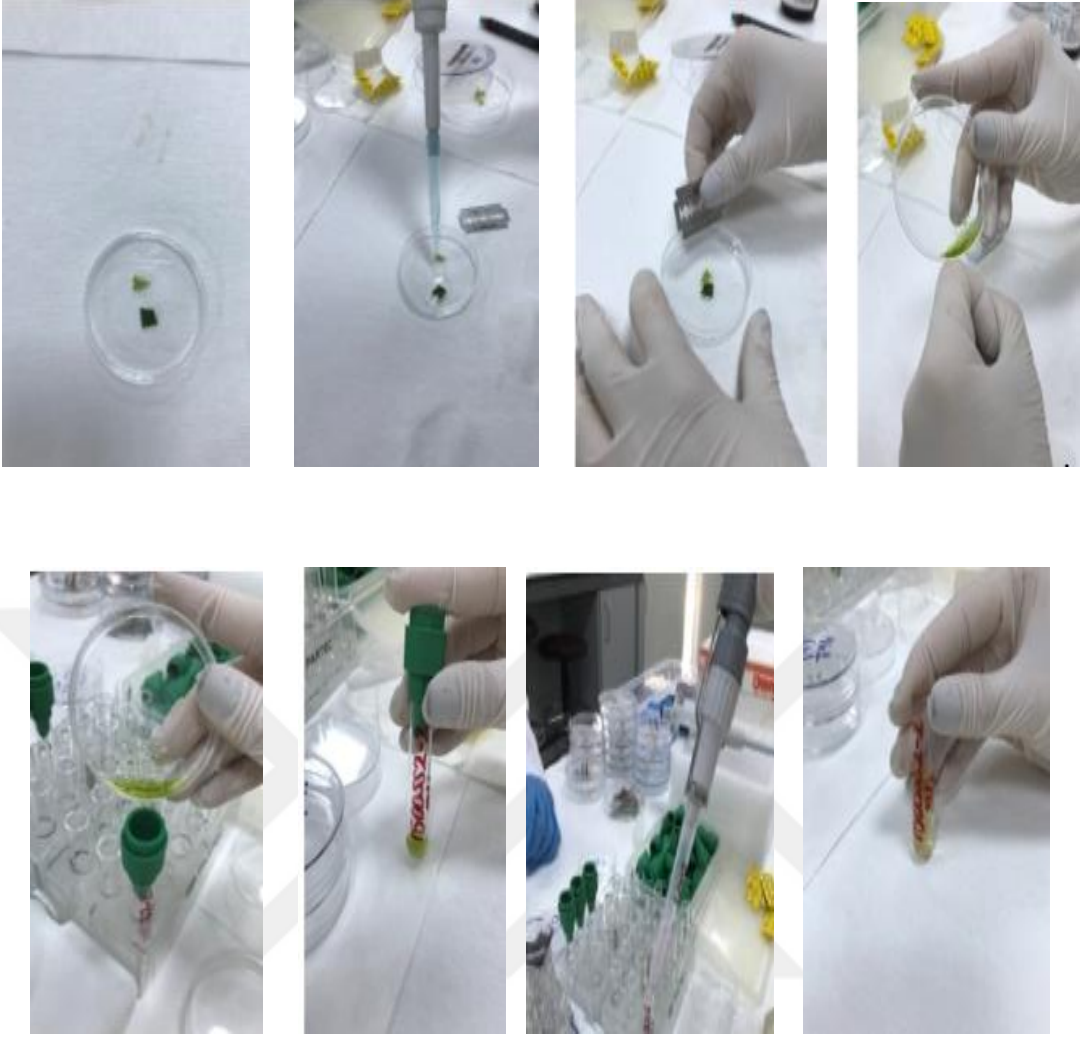
poşetler ile gönderilmiştir. Standart bitki olarak 2C çekirdek DNA içeriği 3,65 pg olarak bilinen Nilüfer yaygın fiğ (*Vicia sativa*) kullanılmıştır. Çekirdek DNA analizleri Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır. Çalışmamızda örnekler Partec firmasının çekirdek izolasyon ve DNA boyama ticari kiti (CyStain PI absolute P) kullanılarak hazırlanmıştır.

### **3.2.1 Stok Solüsyonun Hazırlanması**

Partec firmasına ait çekirdek izolasyon ve DNA boyama ticari kiti (CyStain PI absolute P) içerisinde boyama solüsyonu, izolasyon bufferi, propidium iodide ve RNase bulunmaktadır. Kit içerisinde yer alan çekirdek izolasyon solüsyonu kullanıma hazır iken boyama solüsyonu her bir örnek için; 2 ml boyama solüsyonu, 12 µl PI ve 6 µl RNA karıştırılarak hazırlanır. Solüsyon kullanımdan hemen önce hazırlanmıştır.

### **3.2.2 Doku Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması**

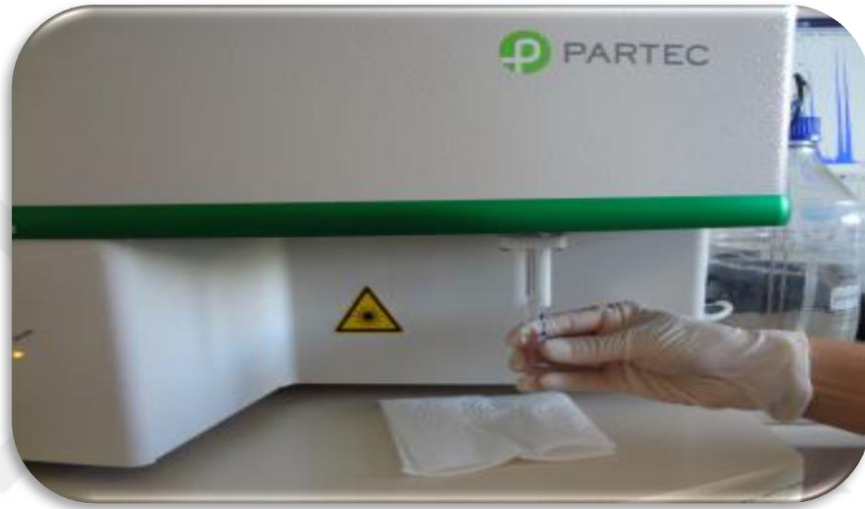
Elma ve standart olarak seçilmiş Nilüfer yaygın fiğ (*Vicia sativa*) bitkilerinin genç ve sağlıklı yapraklarından sırasıyla 1,0 cm<sup>2</sup> ve 0,5 cm<sup>2</sup> boyutunda kesilen doku parçaları petri kabına yerleştirilmiştir. Üzerlerine 500 µl çekirdek izolasyon solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra keskin bir jilet yardımıyla 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılacak kadar parçalanmıştır. Daha sonra hazırlanan örneğin içinde bulunan petri kabı 10-15 saniye kadar çalkalanmıştır. Bu işlemden sonra örnek filtre ile süzülerek tüp içerisine aktarılmıştır. Üzerine ise daha önceden hazırladığımız 2 µl boyama solüsyonu ilave edilmiş karanlık bir ortamda 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübe edilen örnekler süre sonunda flow sitometri cihazında analiz edilmiştir.



Şekil 3.1. Partec ticari kiti kullanılarak örneklerin hazırlanmasına ait akış şeması



Şekil 3.2. Örneklerin karanlık yerde inkübe edilmesi



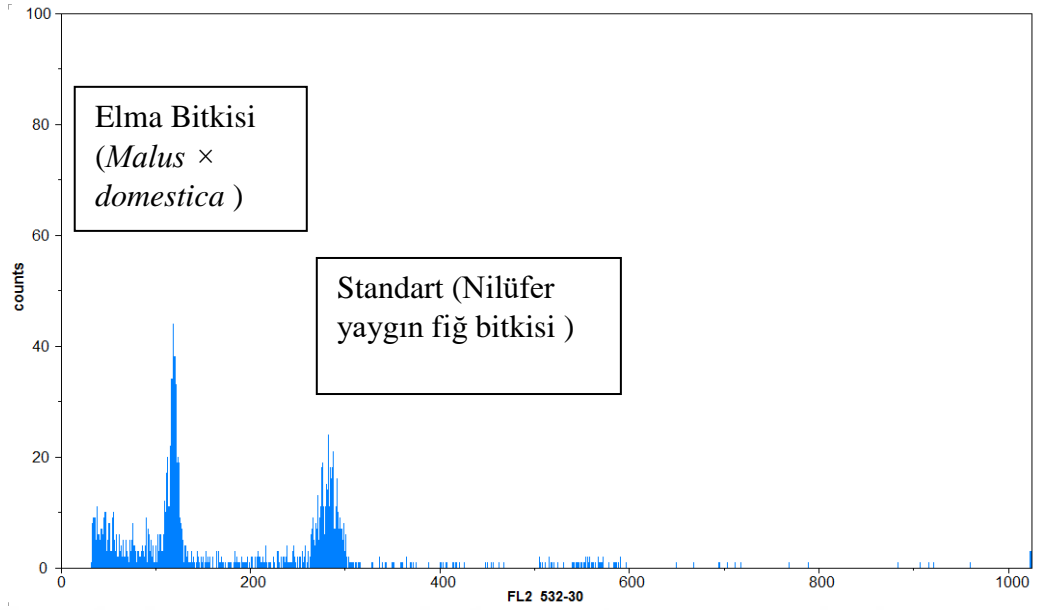
Şekil 3.3. Örneklerin flow sitometri cihazına yüklenmesi

### 3.2.3 Flow Sitometri İle DNA İçeriğinin Ölçülmesi Ve Mutlak Değerin Hesaplanması

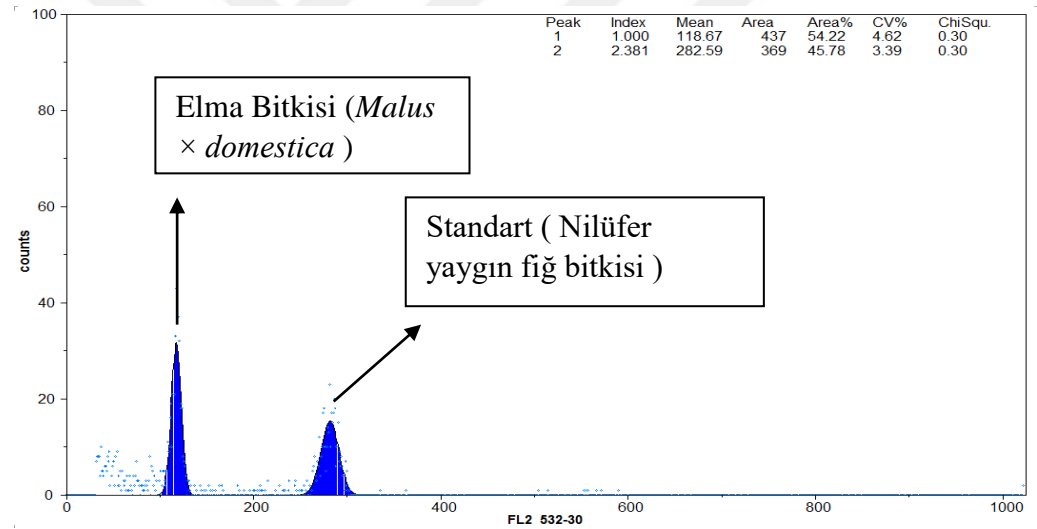
Örnek hazırlama protokolü uygulanarak işlem görmüş bitki dokularının hücreleri mekanik olarak birbirinden ayrılmıştır. Böylece hücre çekirdekleri serbest kalmış, çekirdek zarı buffer içerisinde bulunan deterjanlarca tahriş edilip çekirdek zarı üzerinde delikler oluşmuştur. Oluşan bu delikler sayesinde boyama solüsyonun içerdiği pozitif (+) yüklü propidium iodide (PI) çekirdek içerisine girerek negatif (-) yüklü nükleik asitlere bağlanmıştır. Çekirdek içerisine giren PI miktarı çekirdeğin içerisinde bulunan DNA miktarı ile orantılıdır. Süspansiyon halinde bulunan boyanmış hücre çekirdekleri Flow sitometri cihazının akış sisteminde bulunan lazer ışığı önünden teker teker geçmektedirler. Bu esnada lazer ışığı her çekirdeğin içerisinde bulunan PI boyasını aktive eder. Aktive olan PI çekirdek içerisinde bulunan PI miktarı ile orantılı bir şekilde floresan ışığı yayar. Yayılan bu floresan ışığı cihazın optik bölümlerinde ayrıştırılarak dijital değerlere (rakam) dönüştürülüp Flow histogramı olarak cihaza bağlı olan bilgisayarın monitörüne yansıtılır. Flow histogramının

dikey eksen analiz edilen partikül (çekirdek) sayısını, yatay eksen ise floresan yoğunluğunu göstermektedir. Yatay eksenin sağına doğru ilerledikçe floresan yoğunluğu artmaktadır. Flow histogram üzerinde gözlenen pikler örnek ve standarda ait G1 pikleridir. Histogramının en solunda bulunan ve konik olmayan geniş bir pik'e benzer yükseklik ise parçalanma sonucu ortaya çıkan debris denilen hücre kalıntılarını (parçalanmış çekirdekler, kromozomlar, plastitler, diğer ve organelleri) göstermektedir. Bu kısım kirlilik olarak da isimlendirilmektedir. Örneğin hazırlanması sırasında gösterilecek hassasiyet ile bu kirliliğin minimize edilmesi mümkündür.

Çekirdek DNA içeriği histogram üzerinde bulunan örnek ve standarda ait G1 piklerinin ortalama floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül ile hesaplanır. Flow histogram cihaza özel Flowmax programı ile analiz edildiğinde örnek ve standarda ait piklerin floresan yoğunluklarına ait değerleri histogramın sağ üst köşesinde tablo halinde görülmektedir (Şekil 3.5.).



Şekil 3.4. Diploid elma bitkisi ve standarta ait (Nilüfer yaygın fiğ ) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 3.5. Histogramın cihazın sahip olduğu Flowmax yazılımı ile analiz edildikten sonraki görünüşü

Örneğin çekirdek DNA içeriği Şekil 3.5.' in sağ üst köşesindeki tabloda yer alan piklere ait mean değerleri kullanılarak aşağıdaki formül aracılığı ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Çekirdek DNA İçeriği} = \frac{\text{DNA miktarı bilinmeyen (örnek) bitkiye ait floresan yoğunluğu ( G1 pikinin değeri)}}{\text{Standarda ait floresan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)}} \times \text{Standardın DNA İçeriği}$$

Şekil 3.6. Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanmasında kullanılan formül

Şekil 3.5. de sunulmuş olan histogramın mean değerleri formülde yerine yerleştirildiğinde örneğin ortalama 2C çekirdek DNA içeriği  $(118,67 / 238,10) \times 3,65 = 1,53$  pg olarak hesaplanmış olur.

### 3.2.4 İstatistiksel Analiz

Yapılan bu çalışma da 340 adet elma çeşit ve genotipine ait 2C çekirdek DNA içeriklerinin istatistiksel analizi Confidence Intervals güven aralığı analiz metodu kullanılarak yapılmıştır (Steel and Torrie, 1960). Bu test sonucunda kullandığımız her parametre için bir alt ve üst sınır değeri elde edilmiştir. Alt ve üst değerleri örtüşen çeşit ve genotipler arasında çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık olmadığı kabul edilmektedir. Yöntem (T) testine eşdeğerdir (Steel and Torrie, 1960).

### 3.3 Çekirdek DNA İçeriği İle Ploidi Düzeylerinin İlişkilendirilmesi

Flow sitometri ile yapılan ploidi analizlerinde belirlenmiş çekirdek DNA içeriğinin ploidi düzeyi ile ilişkilendirilmesi gerekmektedir. Bu işlem farklı DNA içeriğine sahip örnek gruplarında birer örneğin kromozomlarının klasik yöntem olan mikroskop ile sayılmasıyla yapılmaktadır. DNA içeriği benzer olan örneklerin ploidi düzeylerinin aynı olduğu varsayılmaktadır. Sadece bir örneğin kromozomları sayılarak tüm örneklerin ploidi düzeyleri belirlenmiş olmaktadır. Bu ilişkilendirme şayet var ise daha önce yapılmış çalışmaların sonuçlarından yararlanarak da yapılabilmektedir.

Çalışmamız da hali hazır da diploid olduğu bilinen dört adet elma çeşidi de yer almaktadır. Bu nedenle bu elma çeşitleri ile benzer DNA içeriğine sahip tüm çeşit ve genotipler diploid ( $2n = 2x = 34$ ) olarak kabul edilmiştir. Aynı zaman da bu sonucu teyit

etmek maksadıyla diploid grupta yer alan İngiliz, Golden, Granny ve Fuji çeşitlerin de mikroskop ile mitoz kromozomlarının sayımı da yapılmıştır.

Diğer grupta yer alan genotip ve çeşitlerin yaklaşık % 50 daha fazla çekirdek DNA içeriğine sahip olmaları nedeniyle triploid oldukları varsayılmıştır.

### **3.3.1 Mikroskop ile Mitoz Kromozomlarının sayılması**

Kromozom sayımı meristem dokular kullanılarak hazırlanmış sitolojik preparatlar üzerinde yer alan hücreler içerisindeki mitoz kromozomlarının mikroskop altında incelenerek yapılmıştır.

### **3.3.2 Meristem Dokuların Elde Edilmesi**

Elma bitkilerinin yabancı döllenenmelerinden dolayı başlangıçta çalışmamız da meristem dokuların sürgün uçlarından elde edilmesi planlanmış olmasına rağmen, sürgün ucu meristem dokularının elde edilememesi sebebiyle meristem dokular bu çeşitlere ait tohumların çimlendirilmesiyle kök uçlarından elde edilmiştir.

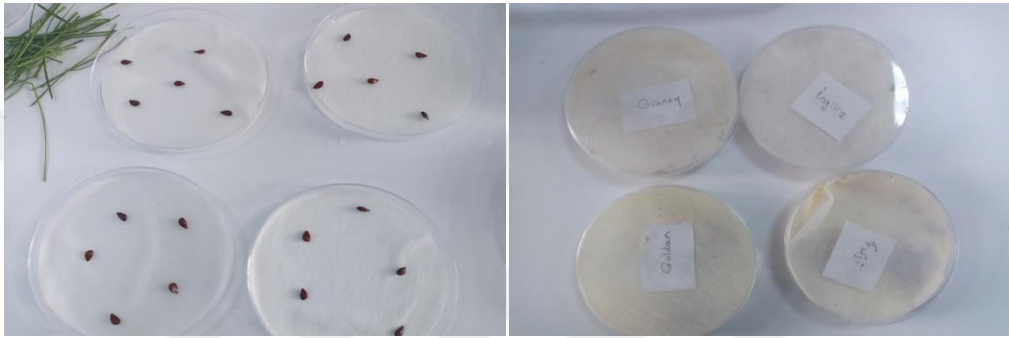
### **3.3.3 Kök Uçlarının Elde Edilmesi**

Bu amaç ile 4 diploid elma çeşidine ait tohumlar içerisinde 2 tabaka nemlendirilmiş filtre kâğıdı bulunan petri kabına aralıklı olarak yerleştirilmiştir. Petri kapları sırasıyla önce 24 saat 20 °C ye ayarlanmış etüv de daha sonra da yine 24 saat +4 °C de inkübe edilmiştir. Soğuk uygulamasından sonra petri kapları tekrar etüve transfer edilmiş ve kök uçları uygun gelişmeyi gösterene kadar ışıksız ortamda inkübe edilmiştir. Kök uçları yaklaşık 1 cm kadar büyüdüklerinde bir jilet yardımıyla kesilerek içerisinde soğuk su bulunan cam şişelere transfer edilmiştir. Kök uçları soğuk su içerisinde yaklaşık 20 saat kadar inkübe edildikten sonra içerisinde farmer solüsyonu (3 kısım etanol 1 kısım asetik asit) bulunan cam şişelere transfer edilmiştir. Kök uçları bu şekilde kullanılabildiği kadar buzdolabında (+4°C) muhafaza edilmiştir.





Şekil 3.7. Kök ucu elde etmek amacıyla çimlendirmeye alınan elma tohumları



Şekil 3.8. Çimlendirmeye alınan tohumların petri kaplarındaki görünüşü

### 3.3.4 Kök Uçlarının Selülaz Enzimleri İle Muamele Edilmesi Ve Preparatların Hazırlanması

3:1 alkol:asetik asit solüsyonu içerisinde bulunan kök uçları solüsyon ile beraber bir petri kabına aktarılmış ve ardından kök uçları peçete ile kurularak içerisinde %1'lik Sitrat Solüsyonu ile 3 defa 5 dakika bekletmek suretiyle yıkanmıştır. Yıkanmadan sonra kök uçları enzim solüsyonuna { %20(v/v) pectinase (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA), %1 (w/v) cellulase (Calbiochem, San Diego, CA, USA) ve %1 (w/v) cellulase Onozuka R-10 (Serva) } transfer edilerek 37 °C de yaklaşık 2 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda kap içerisinde bulunan enzim pipet yardımıyla kaptan uzaklaştırılmış ve sitrat buffer eklenerek buz üzerinde 10 dakika inkübe edilmiştir. Kök ucu meristem dokuları mikroskop yardımıyla kaliptra ve epidermis kısımlarından izole edildikten sonra bir mikro pipet ile alınarak lam üzerinde transfer edilmiş ve ince bir alet ile parçalanarak yayılması sağlanmıştır. Daha sonra meristem dokunun bulunduğu kısım üzerine 1 damla % 45'lik asetik asit damlatılarak lamel kapatılmıştır. Dapi ilavesi için preparat üzerindeki lamel derin dondurucuda minimum 1 saat bekletildikten sonra dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve 24 saat oda şartlarında

kurutulduktan sonra dapi ilave edilerek üzerine tekrar lamel yerleştirilmiştir. Dapi ilavesinden sonra preparatlar analiz edilene kadar buzdolabında (+4<sup>0</sup>C) karanlıkta bekletilmiştir.

### **3.4 Kromozom Sayımı ve Fotoğraf Çekimi**

Hazırlanan sitolojik preparatlar üzerinde iyi dağılmış ve tam kromozom sayısına sahip hücrelerin kromozomları olympus marka BX 51 model mikroskobu ile sayılmış ve hücrelerin fotoğrafları 1000 misli büyütülerek spot marka Rt Slider model CCD dijital kamera ile çekilmiştir.

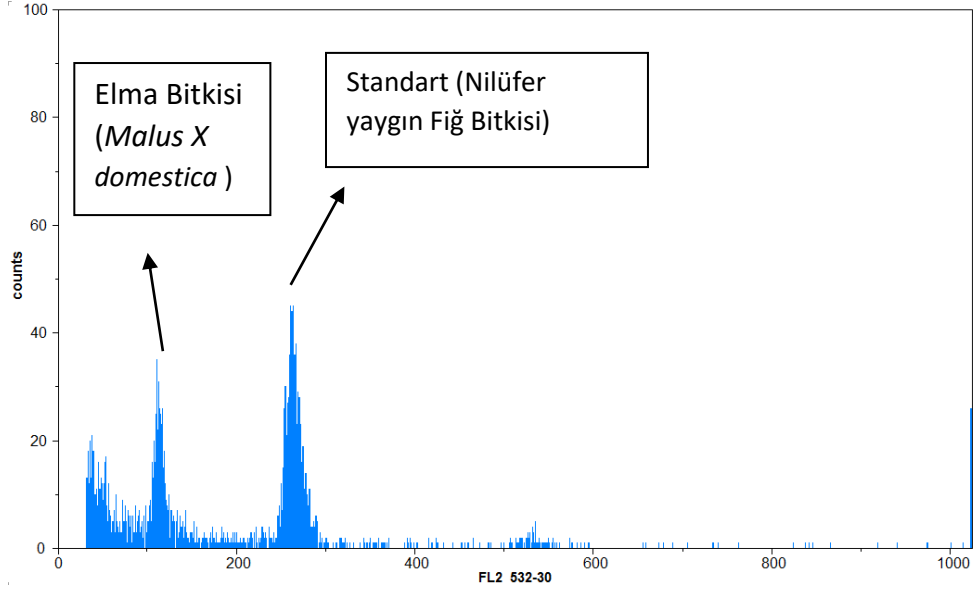


## 4. BULGULAR

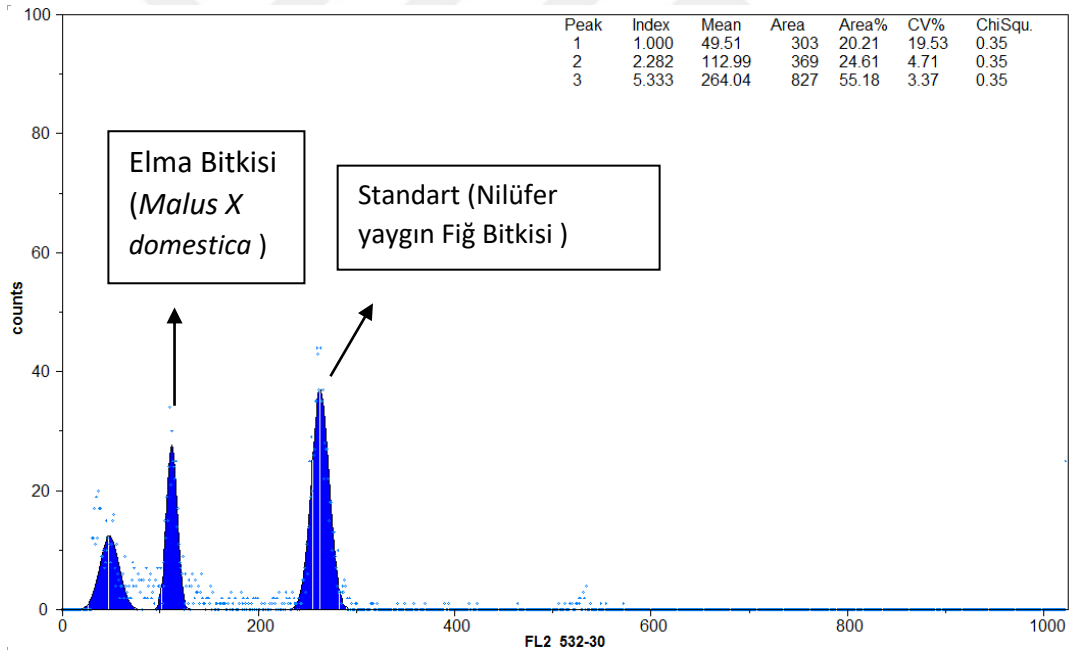
### 4.1 Çekirdek DNA Analizi

Çalışmamızda ulusal canlı elma genetik kaynak koleksiyonumuzda yer alan 340 adet elma çeşit ve genotipinin çekirdek DNA içerikleri ilk defa başarıyla belirlenmiştir. Bir kaç genotip hariç standart sapma değerlerinin 0,07 değerinin altında gerçekleşmiş olması çalışmada elde edilen sonuçların güvenilirliğini göstermektedir (Tuna, vd., 2001). Bununla birlikte 4 genotipin {Jonagold, Novaja, 42-Bs-5 (Almila), Kalkandelen} standart sapması diğerlerinden oldukça yüksek (0,40-0,49) olduğu tespit edilmiştir.

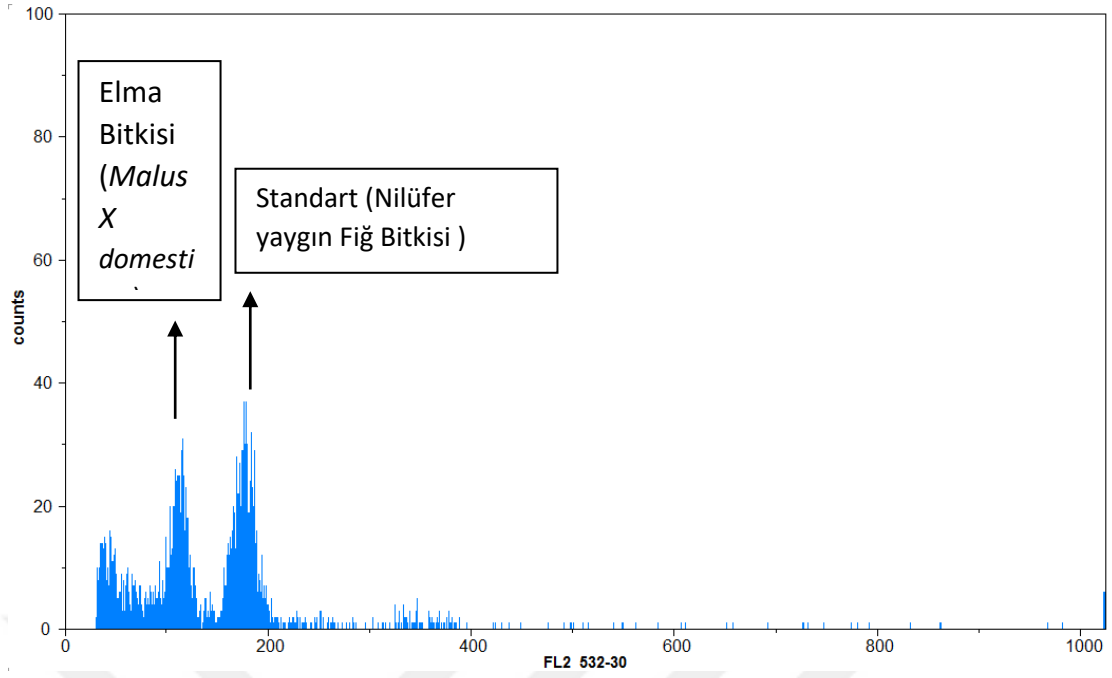
Elde edilen sonuçlar çizelge 4.1. de topluca sunulmuştur. Çizelge 4.1. den görülebileceği üzere çalışmamızda incelenen 340 elma çeşit ve genotipinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 1,46 ile 2,45 pg arasında değişmektedir. Elde edilen bu sonuçlara göre elma çeşit ve genotipleri ortalama 2C çekirdek DNA sonuçlarına göre çok bariz iki gruba ayrılmaktadır. Elma çeşit ve genotipleri arasında gözlenen çekirdek DNA farklılıkları istatistikî açıdan önemli bulunmuştur. Birinci grupta ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 2,04 ile 2,45 pg arasında değişim gösterirken ikinci grupta 1,46 ile 1,69 pg arasında değişim göstermektedir. Çekirdek DNA değerleri grup içerisinde süreklilik (continious) gösteren data özelliğine sahip iken gruplar arasında 0,35 pg lik bir aralık gözlenmektedir.



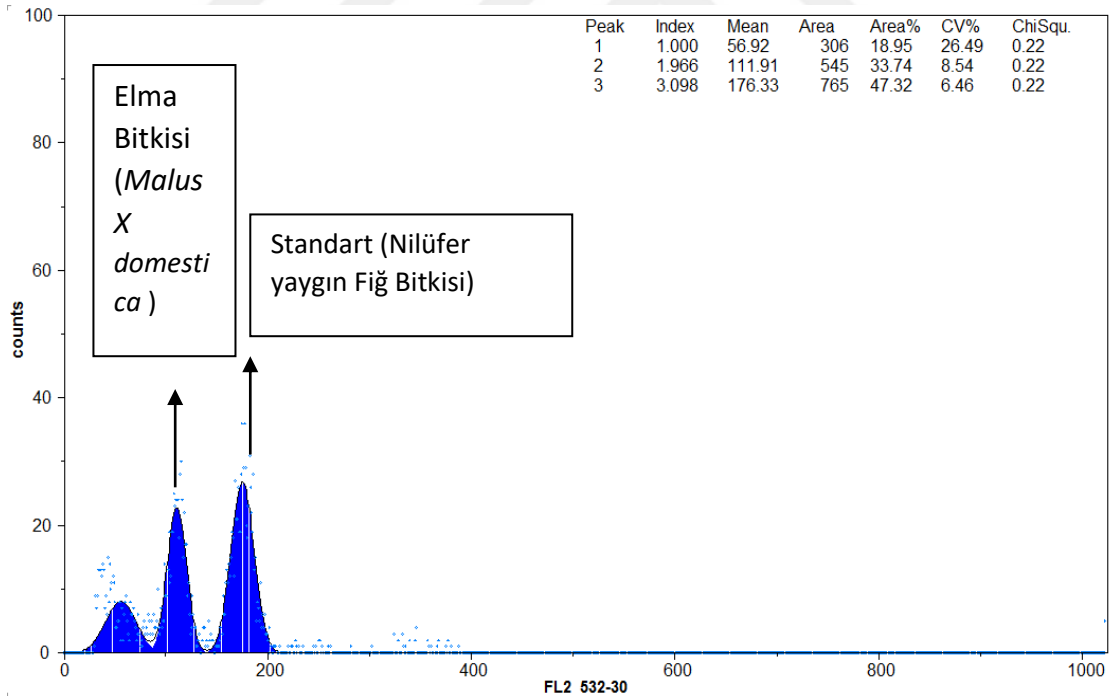
Şekil 4.1 Diploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir).



Şekil 4.2 Diploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir).



Şekil 4.3. Triploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir).



Şekil 4.4. Triploid elma bitkisine ait örneğin analizi sonucu elde edilen flow histogramın görüntüsü (sol tarafta bulunan kısa pik elma bitkisi, sağ tarafta bulunan uzun pik standarda (fiğ bitkisi) aittir).

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar

No	Çeşit	Çekirdek DNA içeriği (pg 2C)	Standart sapma	T*S <sub>x</sub>	Güven aralığı		Grup
					Alt sınır	Üst sınır	
1	Yb-2	2,45	0,03	0,02	2,39	2,52	A
2	Canada Renette	2,44	0,09	0,07	2,22	2,66	A
3	Sinap	2,43	0,04	0,03	2,34	2,51	A
4	Coll 73	2,38	0,06	0,05	2,22	2,53	A
5	Double Red Delicious	2,37	0,03	0,02	2,30	2,43	A
6	Niğde İngiliz	2,36	0,01	0,01	2,34	2,38	A
7	Staymared	2,36	0,05	0,04	2,24	2,47	A
8	Coll 47	2,36	0,06	0,05	2,21	2,50	A
9	Close	2,35	0,05	0,04	2,23	2,48	A
10	Göbek (2475)	2,35	0,03	0,03	2,27	2,43	A
11	546 E	2,35	0,05	0,04	2,24	2,47	A
12	Crown Gold	2,35	0,06	0,05	2,20	2,50	A
13	Demir (2562)	2,35	0,05	0,04	2,22	2,47	A
14	GK 37	2,34	0,01	0,00	2,33	2,36	A
15	Piraziz	2,34	0,05	0,04	2,22	2,47	A
16	Adsız	2,34	0,11	0,09	2,08	2,60	A
17	Wilmuta Jonagold	2,34	0,03	0,02	2,27	2,41	A
18	E 71	2,34	0,03	0,02	2,26	2,41	A
19	210887 (1-2)	2,34	0,07	0,06	2,15	2,52	A
20	GK 20	2,34	0,01	0,00	2,32	2,35	A
21	Jonabress	2,33	0,02	0,01	2,29	2,37	A
22	Karpuz	2,33	0,02	0,02	2,27	2,38	A
23	GK 14	2,32	0,00	0,00	2,29	2,36	A
24	Mutsu	2,32	0,02	0,02	2,27	2,37	A

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

25	Yaz Elması (2563)	2,32	0,05	0,04	2,19	2,44	A
26	392 E	2,32	0,03	0,02	2,25	2,38	A
27	Sarı Göbek	2,31	0,06	0,05	2,18	2,45	A
28	GK 73	2,31	0,07	0,06	2,13	2,48	A
29	220887 (3-5)	2,31	0,07	0,06	2,12	2,49	A
30	Sarı Elma	2,30	0,04	0,03	2,21	2,39	A
31	Elma (2523)	2,29	0,05	0,04	2,18	2,40	A
32	Stark	2,29	0,08	0,06	2,10	2,48	A
33	180887 (5-1)	2,29	0,02	0,01	2,25	2,32	A
34	GK 76	2,29	0,07	0,05	2,12	2,45	A
35	Elma (2582)	2,29	0,07	0,05	2,13	2,45	A
36	180887 (1-1)	2,27	0,03	0,02	2,20	2,35	A
37	180887 (5-2)	2,27	0,02	0,02	2,22	2,33	A
38	190887 (1-4)	2,27	0,04	0,04	2,16	2,38	A
39	Cigit	2,27	0,09	0,08	2,04	2,50	A
40	496 E	2,27	0,05	0,04	2,15	2,38	A
41	Jonica	2,26	0,06	0,05	2,11	2,41	A
42	GK 55	2,26	0,10	0,09	2,00	2,52	A
43	Coll 72	2,25	0,03	0,02	2,19	2,32	A
44	GK 33	2,25	0,03	0,03	2,16	2,34	A
45	Reinette Tardiva	2,23	0,10	0,08	1,99	2,47	A
46	Mektep Elması (2565)	2,23	0,11	0,09	1,97	2,49	A
47	Demir (2486)	2,23	0,12	0,09	1,94	2,52	A
48	Black Stayman Improved	2,22	0,03	0,02	2,15	2,30	A
49	220887 (3-2)	2,22	0,09	0,07	1,99	2,45	A
50	Hüryemez	2,21	0,08	0,06	2,02	2,39	A

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

51	GK 60	2,21	0,05	0,04	2,08	2,33	A
52	Black Stayman	2,16	0,10	0,08	1,92	2,40	A
53	Jonagold	2,13	0,40	0,33	1,12	3,13	A
54	Novaja	2,08	0,45	0,37	0,96	3,20	A
55	42-Bs-5 (Almila)	2,07	0,49	0,40	0,86	3,29	A
56	Kalkandelen	2,04	0,42	0,35	0,98	3,09	A
57	Candır	1,69	0,04	0,03	1,59	1,79	B
58	Otawa	1,68	0,02	0,01	1,64	1,71	B
59	Braeburn	1,68	0,02	0,02	1,62	1,73	B
60	Gelin Elması (2475)	1,67	0,03	0,02	1,60	1,73	B
61	GK 18	1,65	0,06	0,05	1,51	1,79	B
62	Rubinstein	1,65	0,03	0,02	1,57	1,72	B
63	Pristine	1,65	0,01	0,00	1,63	1,66	B
64	GK 17	1,64	0,07	0,06	1,46	1,81	B
65	Harım	1,64	0,03	0,03	1,56	1,72	B
66	Tokat 1	1,63	0,03	0,03	1,55	1,71	B
67	Wayne Spur Delicious	1,63	0,11	0,09	1,37	1,90	B
68	42-Kp-1 (Mayhoş Tavşanbaşı)	1,63	0,03	0,02	1,56	1,70	B
69	KAGK 19	1,63	0,02	0,02	1,58	1,68	B
70	KAGK 45	1,63	0,05	0,04	1,50	1,76	B
71	GK 29	1,63	0,01	0,00	1,61	1,64	B
72	S. Early Stripe	1,63	0,02	0,02	1,57	1,68	B
73	Yenice	1,63	0,05	0,04	1,50	1,75	B
74	Manted	1,62	0,05	0,04	1,50	1,75	B
75	RedJim	1,62	0,05	0,04	1,49	1,75	B
76	Kaşel 41	1,62	0,08	0,07	1,41	1,82	B



Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

77	Gelin Elması (Kütahya)	1,62	0,02	0,01	1,58	1,65	B
78	Coll 22	1,62	0,02	0,02	1,56	1,67	B
79	Cooper 41	1,61	0,02	0,01	1,58	1,65	B
80	Red Elstar	1,61	0,03	0,02	1,55	1,68	B
81	KAGK 2	1,61	0,08	0,06	1,42	1,80	B
82	KAGK 107	1,61	0,04	0,03	1,51	1,72	B
83	Elstar Van Viliet	1,61	0,04	0,03	1,52	1,70	B
84	Delbarestivale	1,61	0,02	0,01	1,57	1,64	B
85	Lodi Early Golden	1,61	0,02	0,02	1,55	1,66	B
86	42-Ko-1 (Yayla Pınarı)	1,61	0,02	0,02	1,55	1,66	B
87	GK 12	1,61	0,03	0,02	1,53	1,68	B
88	Gemlik 2	1,61	0,02	0,02	1,55	1,66	B
89	Discovery	1,60	0,02	0,01	1,57	1,64	B
90	Golden Weinsberg	1,60	0,03	0,02	1,54	1,67	B
91	42-E-2 (Ankara Güzeli)	1,60	0,02	0,02	1,55	1,66	B
92	KAGK 49	1,60	0,04	0,03	1,52	1,69	B
93	EL-23035 (Amasya)	1,60	0,03	0,03	1,52	1,68	B
94	GK 78	1,60	0,01	0,01	1,58	1,62	B
95	KAGK 63	1,60	0,02	0,01	1,56	1,64	B
96	Amasya 37	1,60	0,06	0,05	1,44	1,76	B
97	Cidagut	1,60	0,03	0,02	1,53	1,67	B
98	Topaz	1,60	0,01	0,00	1,58	1,61	B
99	Red Spur	1,60	0,04	0,03	1,50	1,70	B
100	GK 15	1,60	0,04	0,03	1,50	1,70	B
101	GK 11	1,60	0,03	0,02	1,53	1,66	B
102	Karasakı	1,60	0,02	0,02	1,54	1,65	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>103</b>	Coll 23	1,60	0,03	0,02	1,53	1,66	B
<b>104</b>	Yenişehir	1,60	0,04	0,03	1,49	1,70	B
<b>105</b>	KAGK 43	1,60	0,02	0,01	1,56	1,63	B
<b>106</b>	Early Blaze	1,59	0,01	0,01	1,56	1,62	B
<b>107</b>	GK 6	1,59	0,05	0,04	1,48	1,71	B
<b>108</b>	Arlet	1,59	0,01	0,00	1,58	1,61	B
<b>109</b>	Calville Rouge Datan	1,59	0,04	0,03	1,50	1,69	B
<b>110</b>	220887	1,59	0,03	0,02	1,53	1,66	B
<b>111</b>	Tavşanbaşı (Kütahya)	1,59	0,02	0,01	1,56	1,63	B
<b>112</b>	Cooper 40	1,59	0,02	0,01	1,55	1,63	B
<b>113</b>	Aivania	1,59	0,02	0,01	1,55	1,63	B
<b>114</b>	GK 38	1,59	0,03	0,02	1,52	1,66	B
<b>115</b>	Red Rome 262	1,59	0,01	0,01	1,57	1,61	B
<b>116</b>	Gallia Beauty	1,59	0,06	0,05	1,44	1,74	B
<b>117</b>	42-C-5 (Yaz Amasya)	1,59	0,06	0,05	1,45	1,73	B
<b>118</b>	J/5/4/59 Bel.	1,59	0,03	0,03	1,51	1,67	B
<b>119</b>	Oltu Elması (2594)	1,59	0,04	0,03	1,49	1,69	B
<b>120</b>	Astramel	1,59	0,03	0,02	1,52	1,65	B
<b>121</b>	385 E	1,59	0,03	0,03	1,51	1,67	B
<b>122</b>	Bey Elması (2477)	1,59	0,01	0,00	1,57	1,60	B
<b>123</b>	Spartan	1,59	0,03	0,02	1,51	1,66	B
<b>124</b>	KAGK 51	1,59	0,08	0,07	1,39	1,79	B
<b>125</b>	<i>Maluskirghisorum</i>	1,58	0,02	0,02	1,53	1,64	B
<b>126</b>	Tatlı Elma 2492	1,58	0,08	0,06	1,40	1,77	B
<b>127</b>	220887 (1-2)	1,58	0,01	0,00	1,57	1,60	B
<b>128</b>	All Red Jonathan	1,58	0,04	0,03	1,48	1,68	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>129</b>	180887	1,58	0,04	0,03	1,50	1,67	B
<b>130</b>	Gümüşhane	1,58	0,01	0,01	1,55	1,61	B
<b>131</b>	42-E-4 (Mayhoş Yıldızkıran)	1,58	0,03	0,02	1,51	1,66	B
<b>132</b>	GK 65	1,58	0,06	0,05	1,44	1,72	B
<b>133</b>	KAGK 11	1,58	0,04	0,03	1,49	1,68	B
<b>134</b>	KAGK 22	1,58	0,02	0,02	1,53	1,64	B
<b>135</b>	KAGK 25	1,58	0,02	0,01	1,55	1,62	B
<b>136</b>	371 E	1,58	0,03	0,02	1,51	1,65	B
<b>137</b>	<i>Malus sieversii</i>	1,58	0,02	0,02	1,52	1,63	B
<b>138</b>	Mor Spur	1,58	0,04	0,03	1,47	1,68	B
<b>139</b>	130887 (3-4)	1,58	0,01	0,00	1,56	1,59	B
<b>140</b>	Mahsusa Elması (2478)	1,58	0,02	0,01	1,54	1,61	B
<b>141</b>	KAGK 7	1,58	0,04	0,03	1,47	1,68	B
<b>142</b>	KAGK 8	1,58	0,01	0,01	1,55	1,61	B
<b>143</b>	Sandık	1,58	0,06	0,05	1,42	1,74	B
<b>144</b>	Söğüt Elması (2480)	1,58	0,07	0,06	1,40	1,75	B
<b>145</b>	Delprim	1,57	0,05	0,04	1,46	1,69	B
<b>146</b>	Süs Elması	1,57	0,02	0,01	1,54	1,61	B
<b>147</b>	GK 57	1,57	0,01	0,00	1,56	1,59	B
<b>148</b>	Gürcü	1,57	0,03	0,02	1,51	1,64	B
<b>149</b>	GK 50	1,57	0,05	0,04	1,46	1,69	B
<b>150</b>	Top Red	1,57	0,03	0,02	1,51	1,64	B
<b>151</b>	GK 19	1,57	0,05	0,04	1,45	1,70	B
<b>152</b>	KAGK 29	1,57	0,05	0,04	1,45	1,70	B
<b>153</b>	Winter Banana	1,57	0,04	0,04	1,46	1,68	B
<b>154</b>	Oregon Spur	1,57	0,02	0,01	1,53	1,61	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>155</b>	529 J	1,57	0,00	0,00	1,57	1,57	B
<b>156</b>	Yb-1	1,57	0,01	0,01	1,55	1,59	B
<b>157</b>	GK 2331	1,57	0,06	0,05	1,42	1,72	B
<b>158</b>	Cooper 7-SB-2	1,57	0,13	0,10	1,26	1,88	B
<b>159</b>	KAGK 17	1,57	0,04	0,03	1,47	1,67	B
<b>160</b>	KAGK 34	1,57	0,05	0,04	1,44	1,70	B
<b>161</b>	Gold Rudi	1,57	0,07	0,05	1,40	1,73	B
<b>162</b>	GK 72	1,57	0,03	0,02	1,50	1,63	B
<b>163</b>	62-1	1,57	0,01	0,00	1,55	1,58	B
<b>164</b>	Mc Intosh	1,57	0,03	0,02	1,50	1,63	B
<b>165</b>	Fiesta	1,57	0,02	0,02	1,51	1,62	B
<b>166</b>	KAGK 104	1,57	0,04	0,03	1,46	1,67	B
<b>167</b>	GK P36	1,57	0,01	0,01	1,54	1,60	B
<b>168</b>	E 70	1,56	0,02	0,02	1,51	1,62	B
<b>169</b>	Hena	1,56	0,04	0,03	1,46	1,67	B
<b>170</b>	Uzun Yomra	1,56	0,02	0,02	1,51	1,62	B
<b>171</b>	32 E 1	1,56	0,05	0,04	1,45	1,68	B
<b>172</b>	GK 23	1,56	0,03	0,02	1,50	1,63	B
<b>173</b>	GK 81	1,56	0,01	0,01	1,53	1,59	B
<b>174</b>	Ranna Çervana Ptitsa	1,56	0,05	0,04	1,44	1,69	B
<b>175</b>	Kadir-Hatice (2602)	1,56	0,02	0,01	1,53	1,60	B
<b>176</b>	GK 67	1,56	0,01	0,01	1,54	1,58	B
<b>177</b>	Rome Beauty	1,56	0,01	0,01	1,54	1,58	B
<b>178</b>	Idared	1,56	0,01	0,01	1,54	1,58	B
<b>179</b>	Karanfil (2570)	1,56	0,03	0,02	1,49	1,63	B
<b>180</b>	GK 2334	1,56	0,02	0,01	1,52	1,60	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>181</b>	Beyaz Elma (2575)	1,56	0,03	0,03	1,47	1,65	B
<b>182</b>	Daldabir	1,56	0,03	0,02	1,49	1,63	B
<b>183</b>	504 J	1,56	0,02	0,02	1,51	1,61	B
<b>184</b>	Belle Fleo Jello	1,56	0,02	0,01	1,52	1,60	B
<b>185</b>	GK 5	1,56	0,07	0,05	1,40	1,72	B
<b>186</b>	GK 2328	1,56	0,01	0,01	1,54	1,58	B
<b>187</b>	GK 35	1,56	0,03	0,02	1,49	1,63	B
<b>188</b>	Melrose	1,56	0,05	0,04	1,44	1,67	B
<b>189</b>	42-E-7 (Yıldızkiran)	1,56	0,07	0,06	1,38	1,73	B
<b>190</b>	Ozark Gold	1,56	0,03	0,02	1,49	1,62	B
<b>191</b>	Goldstar	1,56	0,01	0,00	1,54	1,57	B
<b>192</b>	Chesapeake	1,56	0,01	0,00	1,54	1,57	B
<b>193</b>	Cooper 4	1,56	0,04	0,03	1,47	1,64	B
<b>194</b>	KAGK 114	1,56	0,02	0,01	1,53	1,60	B
<b>195</b>	GK 68	1,56	0,02	0,01	1,52	1,59	B
<b>196</b>	42-E-1 (Daldabir)	1,55	0,03	0,02	1,48	1,63	B
<b>197</b>	Yellow Spur	1,55	0,04	0,03	1,45	1,65	B
<b>198</b>	Tatlı Elma (2511)	1,55	0,04	0,03	1,45	1,65	B
<b>199</b>	Blackjon	1,55	0,02	0,01	1,52	1,59	B
<b>200</b>	Victoria	1,55	0,04	0,03	1,45	1,65	B
<b>201</b>	Yaz Tavşanbaşı	1,55	0,03	0,02	1,48	1,63	B
<b>202</b>	Gloster	1,55	0,05	0,04	1,43	1,68	B
<b>203</b>	Rewena	1,55	0,01	0,01	1,52	1,58	B
<b>204</b>	42-A-1 (Yaz elması)	1,55	0,02	0,01	1,52	1,59	B
<b>205</b>	Lena	1,55	0,06	0,05	1,40	1,70	B
<b>206</b>	542E	1,55	0,05	0,04	1,44	1,66	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>207</b>	Democrat	1,55	0,02	0,01	1,51	1,59	B
<b>208</b>	GK 2332	1,55	0,02	0,01	1,51	1,59	B
<b>209</b>	Tokat 2	1,55	0,03	0,02	1,48	1,62	B
<b>210</b>	42-Kp-3 (Karapınar Elması)	1,55	0,04	0,03	1,46	1,64	B
<b>211</b>	Aksu 4	1,55	0,05	0,04	1,44	1,66	B
<b>212</b>	Enterprise	1,55	0,03	0,02	1,48	1,62	B
<b>213</b>	KAGK 48	1,55	0,06	0,05	1,40	1,70	B
<b>214</b>	Starking Delicious	1,55	0,03	0,02	1,48	1,61	B
<b>215</b>	32 E 2	1,55	0,01	0,01	1,52	1,58	B
<b>216</b>	Galaxy Selecta	1,55	0,04	0,03	1,44	1,65	B
<b>217</b>	384 E	1,55	0,08	0,06	1,36	1,73	B
<b>218</b>	Pancarlık	1,55	0,03	0,02	1,48	1,61	B
<b>219</b>	Daldatek	1,55	0,07	0,05	1,39	1,71	B
<b>220</b>	GK 2	1,55	0,03	0,03	1,47	1,63	B
<b>221</b>	GK 31	1,55	0,05	0,04	1,43	1,66	B
<b>222</b>	Zlatna Preyuzho Dna	1,55	0,06	0,05	1,41	1,68	B
<b>223</b>	Pilot	1,55	0,04	0,03	1,46	1,63	B
<b>224</b>	Demir (2514)	1,55	0,05	0,04	1,43	1,66	B
<b>225</b>	KAGK 6	1,55	0,04	0,03	1,45	1,64	B
<b>226</b>	Jonathan	1,54	0,03	0,02	1,48	1,61	B
<b>227</b>	Will Early Red	1,54	0,03	0,03	1,46	1,62	B
<b>228</b>	Cooper 42	1,54	0,02	0,02	1,49	1,60	B
<b>229</b>	Jona free	1,54	0,02	0,01	1,51	1,58	B
<b>230</b>	Anglyska Zelena	1,54	0,02	0,01	1,51	1,58	B
<b>231</b>	Ferik	1,54	0,01	0,00	1,53	1,56	B
<b>232</b>	210887(1-4)	1,54	0,01	0,01	1,51	1,57	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

233	Güz Tavşanbaşı	1,54	0,03	0,02	1,47	1,62	B
234	Raritan Rose	1,54	0,03	0,02	1,47	1,61	B
235	Altınok Elması (2490)	1,54	0,03	0,02	1,47	1,61	B
236	Orak 2	1,54	0,03	0,02	1,47	1,61	B
237	Early Red One	1,54	0,01	0,01	1,52	1,56	B
238	Double Red Stayman Winesap	1,54	0,09	0,07	1,33	1,75	B
239	372 E	1,54	0,01	0,01	1,52	1,56	B
240	Elstar	1,54	0,02	0,01	1,50	1,57	B
241	SummerRegent	1,54	0,04	0,03	1,44	1,63	B
242	Cooper 44	1,54	0,04	0,03	1,45	1,62	B
243	Tavşanbaşı (2531)	1,54	0,02	0,02	1,48	1,59	B
244	Gemlik-3	1,54	0,05	0,04	1,41	1,66	B
245	GK 48	1,54	0,01	0,00	1,52	1,55	B
246	Eden spur	1,54	0,03	0,02	1,46	1,61	B
247	KAGK 5	1,54	0,04	0,03	1,43	1,64	B
248	200887 (1-9)	1,54	0,04	0,03	1,44	1,64	B
249	Sky Line Supreme	1,54	0,07	0,06	1,36	1,71	B
250	Winesap	1,53	0,01	0,01	1,50	1,55	B
251	Cıncık (2471)	1,53	0,06	0,05	1,39	1,68	B
252	Pink Lady	1,53	0,01	0,01	1,50	1,56	B
253	Cooper 39	1,53	0,04	0,03	1,43	1,64	B
254	Kırmızı elma (2552)	1,53	0,03	0,03	1,45	1,61	B
255	Ed Gould Golden Delicious	1,53	0,02	0,02	1,48	1,59	B
256	ErvinSpur	1,53	0,08	0,07	1,33	1,74	B
257	GK 47	1,53	0,03	0,03	1,45	1,61	B
258	Elma (2590)	1,53	0,04	0,03	1,44	1,63	B
259	Red Free	1,53	0,08	0,07	1,33	1,74	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>260</b>	Tokat 4	1,53	0,05	0,04	1,41	1,66	B
<b>261</b>	Petek 2577	1,53	0,02	0,01	1,50	1,57	B
<b>262</b>	Anna	1,53	0,01	0,01	1,50	1,56	B
<b>263</b>	Batum	1,53	0,03	0,02	1,47	1,60	B
<b>264</b>	Susuz Elma (2500)	1,53	0,02	0,02	1,48	1,58	B
<b>265</b>	Amasya 351	1,53	0,02	0,02	1,48	1,58	B
<b>266</b>	Coll 32	1,53	0,01	0,01	1,51	1,55	B
<b>267</b>	Dayton	1,53	0,02	0,02	1,48	1,58	B
<b>268</b>	Cooper 900	1,53	0,02	0,01	1,49	1,57	B
<b>269</b>	GK 4	1,53	0,08	0,07	1,33	1,73	B
<b>270</b>	170887(2-5)	1,53	0,07	0,05	1,37	1,69	B
<b>271</b>	York Imperial	1,53	0,03	0,02	1,46	1,60	B
<b>272</b>	Gold Jon	1,53	0,03	0,03	1,44	1,62	B
<b>273</b>	473 E	1,53	0,03	0,02	1,46	1,60	B
<b>274</b>	Samsun	1,53	0,06	0,05	1,39	1,67	B
<b>275</b>	62-2	1,53	0,06	0,05	1,38	1,68	B
<b>276</b>	Champion	1,53	0,01	0,01	1,50	1,56	B
<b>277</b>	Calville Rouge Delicious	1,53	0,06	0,05	1,39	1,66	B
<b>278</b>	190887(3-2)	1,53	0,02	0,01	1,49	1,56	B
<b>279</b>	Red Dykmonsoef	1,53	0,10	0,08	1,28	1,77	B
<b>280</b>	Priam	1,53	0,05	0,04	1,40	1,65	B
<b>281</b>	Kış Elması (2590)	1,52	0,01	0,01	1,49	1,55	B
<b>282</b>	130887 (2-3)	1,52	0,07	0,06	1,35	1,69	B
<b>283</b>	Rajka	1,52	0,02	0,02	1,47	1,58	B
<b>284</b>	Paşa Elması	1,52	0,01	0,01	1,50	1,54	B
<b>285</b>	William'sPride	1,52	0,03	0,02	1,45	1,59	B
<b>286</b>	Dlatro Prevuzho Dna	1,52	0,01	0,01	1,50	1,54	B



Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>287</b>	210887 (2-1)	1,52	0,05	0,04	1,39	1,65	B
<b>288</b>	Skyspur	1,52	0,05	0,04	1,39	1,65	B
<b>289</b>	Şeker	1,52	0,02	0,02	1,47	1,57	B
<b>290</b>	Santana	1,52	0,06	0,05	1,36	1,68	B
<b>291</b>	GK 66	1,52	0,02	0,02	1,47	1,57	B
<b>292</b>	Rose De Benauga	1,52	0,05	0,04	1,41	1,63	B
<b>293</b>	GK 56	1,52	0,04	0,03	1,42	1,62	B
<b>294</b>	Ak	1,52	0,02	0,01	1,48	1,55	B
<b>295</b>	Rize Demir	1,52	0,03	0,03	1,44	1,60	B
<b>296</b>	Petevrek Elması (2566)	1,52	0,01	0,01	1,49	1,55	B
<b>297</b>	GK 9	1,52	0,03	0,02	1,45	1,58	B
<b>298</b>	42-E-6 (Kaba elma)	1,52	0,04	0,03	1,41	1,62	B
<b>299</b>	Korella	1,51	0,04	0,03	1,42	1,61	B
<b>300</b>	Yb 3	1,51	0,02	0,02	1,46	1,57	B
<b>301</b>	GK 63	1,51	0,04	0,03	1,43	1,60	B
<b>302</b>	200887 (1-2)	1,51	0,02	0,01	1,47	1,55	B
<b>303</b>	GK 82	1,51	0,04	0,03	1,41	1,61	B
<b>304</b>	250887 (1-10)	1,51	0,02	0,02	1,46	1,56	B
<b>305</b>	GK 2411	1,51	0,07	0,05	1,35	1,67	B
<b>306</b>	24 M 31	1,51	0,02	0,02	1,45	1,56	B
<b>307</b>	63-6-2	1,50	0,02	0,01	1,47	1,54	B
<b>308</b>	<i>Malus domestica</i>	1,50	0,04	0,04	1,39	1,61	B
<b>309</b>	Gelendost	1,50	0,04	0,03	1,42	1,59	B
<b>310</b>	Amasya 532	1,50	0,02	0,02	1,45	1,56	B
<b>311</b>	GK 21	1,50	0,01	0,00	1,49	1,52	B
<b>312</b>	Pozmer 20	1,50	0,03	0,02	1,43	1,58	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>313</b>	Sivanor Elması (2601)	1,50	0,03	0,03	1,41	1,59	B
<b>314</b>	Yaz Elması (2488)	1,50	0,07	0,05	1,33	1,66	B
<b>315</b>	Prima	1,50	0,03	0,02	1,42	1,57	B
<b>316</b>	Astragan Rouge	1,50	0,11	0,09	1,22	1,78	B
<b>317</b>	Red Ingrid Marie	1,49	0,05	0,04	1,37	1,62	B
<b>318</b>	42-C-3 (Tatlı Tavşanbaşı)	1,49	0,03	0,02	1,42	1,57	B
<b>319</b>	GK 34	1,49	0,04	0,04	1,38	1,60	B
<b>320</b>	Dallies	1,49	0,02	0,02	1,44	1,54	B
<b>321</b>	Reine de Renettes	1,49	0,09	0,07	1,27	1,71	B
<b>322</b>	180887 (2-1)	1,49	0,02	0,01	1,45	1,52	B
<b>323</b>	GK 2329	1,49	0,04	0,03	1,39	1,59	B
<b>324</b>	Kaşel 37	1,49	0,04	0,03	1,39	1,59	B
<b>325</b>	Priscilla	1,48	0,05	0,04	1,37	1,60	B
<b>326</b>	Red Delcorf	1,48	0,06	0,05	1,32	1,64	B
<b>327</b>	GK 13	1,48	0,04	0,03	1,38	1,58	B
<b>328</b>	180887 (4-4)	1,48	0,02	0,02	1,43	1,54	B
<b>329</b>	Wealthy	1,48	0,01	0,01	1,46	1,50	B
<b>330</b>	E 45	1,48	0,08	0,06	1,29	1,67	B
<b>331</b>	Mollies Delicious	1,48	0,04	0,03	1,39	1,57	B
<b>332</b>	42-E-3 (Hanım Teni)	1,48	0,03	0,02	1,41	1,54	B
<b>333</b>	383 E	1,48	0,04	0,03	1,38	1,58	B
<b>334</b>	GK 32	1,48	0,08	0,07	1,28	1,68	B
<b>335</b>	King Lucious	1,47	0,04	0,03	1,38	1,57	B
<b>336</b>	Amasya (Uludağ)	1,47	0,03	0,02	1,40	1,55	B
<b>337</b>	GK 51	1,47	0,12	0,10	1,18	1,77	B
<b>338</b>	<i>Malus niedzwetzkyana</i>	1,47	0,05	0,04	1,35	1,58	B

Çizelge 4.1. Çalışmamız da kullanılan elma çeşit ve genotiplerinin ortalama 2C Çekirdek DNA içerikleri ve güven aralıklarına ait sonuçlar (devam)

<b>339</b>	240887 (1-2)	1,47	0,05	0,04	1,35	1,58	B
<b>340</b>	Hi Early Delicious	1,46	0,05	0,04	1,35	1,57	B

## 4.2 Çekirdek DNA İçeriği İle Ploidy Düzeyinin İlişkilendirilmesi

Yapılmış olan bu tez çalışmasında incelenmiş olan 340 elma çeşit ve genotipinin çekirdek DNA içerikleri ile ploidy seviyeleri klasik yöntem ile kromozom sayarak ilişkilendirilmiştir. Ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 1,46 ile 1,69 pg arasında değişim gösterdiği ikinci gruptan 4 diploid kültür çeşidinde ( İngiliz, Golden, Granny, Fuji )yapılan kromozom sayımlarında tüm çeşitlerin  $2n=2x=34$  kromozom ile diploid ploidi düzeyine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bunun üzerine 2C çekirdek DNA içerikleri benzer olduğundan grup içerinsin de yer alan diğer B grubundaki tüm çeşit ve genotiplerinde  $2n=2x=34$  kromozom ile diploid oldukları varsayılmıştır. Böylece klasik yöntem (mikroskop) ile sadece bir kaç bitkinin kromozomlarını saymak suretiyle elma koleksiyonu içerisinde yer alan tüm çeşit ve genotiplerin ploidi düzeyi belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Diploid Olan Elma Granny Çeşidinin Kromozomlarının Görünümü

Ancak birinci grupta yer alan ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 2,04 ile 2,45 pg arasında değişim gösteren çeşit ve genotipler için elimizde somatik doku bulunmadığından kromozom saymak mümkün olmamıştır. Bununla birlikte bir türün çekirdek DNA içeriği ile kromozom sayısı arasında çok sıkı bir pozitif ilişki olduğu bilinmekte ve ploidi düzeyi arttıkça çekirdek DNA içeriğinin de misli olarak artış göstermektedir (Ozias-Akins ve Jarret, 1994). Bu nedenle diploid (2n) elma bitkilerinde ortalama çekirdek DNA içeriği yaklaşık olarak 1,50 pg civarında olduğu kabul edilirse haploid (n) elma bitkisinin ortalama çekirdek DNA içeriğinin 0,75 pg olduğu ortaya çıkmaktadır. Birinci gruptaki elma bitkilerinin çekirdek DNA içeriği 2,04 ile 2,45 pg arasında değişim gösterdiği ve ortalama değerin 2,25 pg civarında olduğu dikkate alındığında bu değer 1,50 (diploid elma genomunun ortalama değeri) + 0,75 (haploid elma genomunun ortalama değeri) pg değerlerinin toplamına çok yakın olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu grup içerisindeki bitkilerin ploidi düzeyi  $3x = 51$  kromozom ile triploid olduğu ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar daha önce yapılmış olan çalışma sonuçları ile büyük benzerlik göstermektedir. Bu çalışmalardan birin de Höfer ve Meister (2010) diploid ( $2x=34$ ) olan *Malus x domestica*'nın ortalama 2C değerini 1,51 pg, triploid ( $3x=51$ ) olan *M. Hupehensi*'in ortalama 2C değerini 2,12 pg, *M. Sikkimensis*'in ortalama 2C değerini 2,16 pg olarak belirlemiştir (Höfer ve Meister, 2010). Yapılan başka bir çalışma da Podwyszyńska vd. (2016) diploid *Malus x domestica* çeşidinin 2C çekirdek DNA içeriğini 1,54-1,65 pg olarak belirlemiştir (Podwyszyńska vd., 2016). Triploid bir elma türü olan Jonagold için 2C çekirdek DNA içeriği 2,43-2,53 pg olarak rapor edilmiştir (Dickson vd., 1992).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yürütülmüş olan bu tez çalışmasının amacı Isparta canlı elma genetik kaynak bahçesinde yer alan elma çeşit ve genotiplerinin henüz bilinmeyen ploidi seviyelerini ilk defa belirlemektir. Analizler, klasik yöntemde olduğu üzere hızlı bölünen meristem dokuya ihtiyaç duymayan, hassasiyeti, kolaylığı, hızı ve nispeten ekonomik olması nedeniyle özellikle çalışmamızdaki gibi örnek sayısı fazla olan benzer çalışmalarda en çok tercih edilen ve bu alanda en yeni metot olan flow sitometri ile yapılmıştır.

Çalışmada koleksiyonu oluşturan 340 adet elma çeşit ve genotipinin çekirdek DNA içerikleri ilk defa başarıyla belirlenmiştir. Bir kaç genotip hariç standart sapma değerlerinin 0.07 değerinin altında gerçekleşmiş olması çalışmada elde edilen sonuçların güvenilirliğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlar incelenen 340 elma çeşit ve genotipinin ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 1,46 ile 2,45 pg arasında değişmektedir. Elma genotipleri arasındaki çekirdek DNA farklılıkları istatistik açıdan önemli bulunmuştur. Elma çeşit ve genotipleri ortalama 2C çekirdek DNA sonuçlarına göre çok bariz iki gruba ayrılmaktadır. Birinci grupta ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 2,04 ile 2,45 pg arasında değişim gösterirken ikinci grupta 1,46 ile 1,69 pg arasında değişim göstermektedir. Çekirdek DNA değerleri gruplar içerisinde süreklilik (continious) gösteren data özelliğine sahip iken gruplar arasında 0,35 pg' lik bir aralık gözlenmektedir.

Elma genotiplerinin çekirdek DNA içerikleri ile ploidi düzeyleri ilişkilendirildiğinde birinci gruptaki bitkilerin triploid, ikinci gruptaki bitkilerin ise diploid ploidi düzeyine sahip oldukları belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlara göre Isparta Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan ulusal elma genetik kaynakları bahçesinde yer alan 340 elma çeşit ve genotipinin sadece diploid ve triploidlerden oluştuğu saptanmıştır. Koleksiyonda yer alan genotiplerden 56 tanesi triploid iken, 284 tanesinin ise diploid olduğu belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında çeşit ve genotiplerin belirlenmiş ploidi seviyeleri ıslah çalışmalarında kullanılabilir. Aynı zaman da bu bilgiler ışığında elma bahçesi tesisinde diploid olan çeşit ve genotiplerden tozlayıcı olarak yarar sağlanacaktır.

Yapılan bu tez çalışmasının sonucunda Flow sitometri yönteminin elma bitkilerinin ploidi düzeylerinin belirlenmesinde başarıyla kullanılacağı bir kez daha teyit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Aydoğan, A. (2019). *Elma yetiştiriciliğinde topoğrafya ve rakımın meyve özelliklerine etkisi* (Yüksek Lisans Tezi), Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Malatya.
- Arumuganathan, K., Tallury, S. P., Fraser, M. L., Bruneau, A. H. and Qu, R. (1999). Nuclear DNA content of thirteen turfgrass species by flow cytometry. *Crop science*, 39(5), 1518-1521.
- Bennett, M. D. and Leitch, I. J. (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of botany*, 76(2), 113-176.
- Bennett, M. D., Bhandol, P. and Leitch, I. J. (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses—807 new estimates. *Annals of botany*, 86(4), 859-909.
- Dickson, E. E., Arumuganathan, K., Kresovich, S. and Doyle, J. J. (1992). Nuclear DNA content variation within the Rosaceae. *American journal of botany*, 79(9), 1081-1086..
- Dolezel, J., Greilhuber, J. and Suda, J. (2007). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature protocols*, 2(9), 2233-2244.
- Ersoy, D. (2016). *Flow sitometri ile Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış olan su kabağı (Lagenaria siceraria) popülasyonlarının çekirdek dna içeriklerinin belirlenmesi ve popülasyonların ploidi düzeylerinin saptanması ile taksonomik revizyonunda kullanımı* (Doktora Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Galbraith, D. W. and Shields, B. A. (1982). The effects of inhibitors of cell wall synthesis on tobacco protoplast development. *Physiologia Plantarum*, 55(1), 25-30.
- Harris, S. A., Robinson, J. P., & Juniper, B. E. (2002). Genetic clues to the origin of the apple. *TRENDS in Genetics*, 18(8), 426-430.
- Heller, F. O. (1973). DNS-Bestimmung an Keimwurzeln von *Vicia faba* L. mit Hilfe der Impulscytophotometrie 1. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 86(5-9), 437-441.
- Höfer, M., Meister, A. (2010). Genome Size Variation in *Malus* Species. *Journal of Botany*.
- Janick, J., Cummins, J.N., Brown, S.K., Hemmat, M. (1996). *Fruit Breeding, Vol.I, Tree and Tropical Fruits: Apples*, (1st ed.) (1-77) USA: Purdue University.
- Karaoğlu, G. (2019). *Çanakkale koşullarında yetiştirilen Stevia rebaudiana bitkisinin bazı bitkisel özelliklerin belirlenmesi ve moleküler tanımlanması* (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Korban, S. S. and Skirvin, R. M. (1984). Nomenclature of the cultivated apple. *Hort Science*, 19(2), 177-180.
- Lu, K., Kaeppler, S. M., Vogel, K. P., Arumuganathan, K. and Lee, D. J. (1998). Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass. *Great Plains Research*, 269-280.

- Mavioğlu Kaya, M. (2010). *Medicago sativa subsp. varia* populasyonlarının ploidi seviyesinin flow sitometri yöntemiyle belirlenmesi (Doktora Tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Ohri, D. (1998). Genome size variation and plant systematics. *Annals of botany*, 82, 75-83.
- Ozias-Akins, P. and Jarret, R. L. (1994). Nuclear DNA content and ploidy levels in the genus *Ipomoea*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(1), 110-115.
- Özkan, H., Tuna, M., Kilian, B., Mori, N. and Ohta, S. (2010). Genome size variation in diploid and tetraploid wild wheats. *AoB Plants*, 2010.
- Örkü, P. (2016). *Farklı lokasyonlardan temin edilen bamyaya genotiplerinin morfolojik ve sitolojik karakterizasyonu belirlenmesi* (Doktora Tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Özbek, S. (1978). *Özel Meyvecilik*. Adana: Ç.Ü. Ziraat Fak. Yayınları.
- Özçağıran, R., Ünal, A., Özeke, E. ve İsfendiyaroğlu, M. (2005). Ilıman iklim meyve türleri, sert kabuklu meyveler Cilt-III. *Ege Üniversitesi Yayınları, Ziraat Fakültesi Yayın*, (566).
- Öz, F., Bulagay, A.N. (1986). *Elma ve Elma Yetiştiriciliği* (13. Baskı), Yalova: Tav Yayınları.
- Podwyszyńska, M., Kruczyńska, D., Machlańska, A., Dyki, B. and Sowik, I. (2016). Nuclear DNA content and ploidy level of apple cultivars including Polish ones in relation to some morphological traits. *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica*, 58(1).
- Savaş Tuna, G., Duyu, G., Uzun, K., Yücel, G., Tuna, M. (2017). Determination of nuclear DNA content and ploidy of *Hypericum perforatum L.* accessions collected from Western Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*, 23(4), 395-403.
- Savas Tuna, G., Yilmaz, E. C., Ulutas, N., Sahin, B., Nizam, I., Yucel, G., Tuna, M. (2018, August). Taxonomic classification and identification of fine leaved *Fescues* collected from Eastern Anatolia of Turkey using flow cytometer. In *XXX International Horticultural Congress IHC2018: VII Conference on Landscape and Urban Horticulture, IV Conference on I279* (pp. 173-182).
- Savaş Tuna, G., Yücel, G., şimşek, İY., Can, B., Tuna, M. (2022). Flow cytometric characterization of white clover populations (*Trifolium repens L.*) growing in natural grasslands of tekirdag, turkey. *Journal of Balkan Science and Technology*, 1(1), 56-61.
- Steel, R. G. D., Torrie, J. H. (1960). Principles and Procedures of Statistics. *With special Reference to the Biological Sciences* ( 4th ed.) (187-287). New York: McGraw-Hill Book Company.
- şahin, M. (2019). *Bazı yabani ayçiçeği türlerinin çekirdek DNA içeriklerinin belirlenmesi* (Doktora Tezi) Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Teykin, E. E. (2011). *Flow sitometri ile Bromus catharticus vahl aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerinin belirlenmesi* (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).

- Tiryaki, I., Tuna, M. (2012). Determination of intraspecific nuclear DNA content variation in common vetch (*Vicia sativa L.*) lines and cultivars based on two distinct internal reference standards. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(6), 645-653.
- Tuna, M., Vogel, K. P., Arumuganathan, K. and Gill, K. S. (2001). DNA content and ploidy determination of *Bromegrass* germplasm accessions by flow cytometry. *Crop Science*, 41(5), 1629-1634.
- Tuna, M., Gashi, B. and Osmani, M. (2019). *Flow sitometri ile kosova florasında doğal olarak yetişmekte olan tulipa taksonlarının çekirdek dna içeriklerinin belirlenmesi ve ploidy analizi ile taksonomik sınıflandırılmalarında kullanımı*. 7 Ocak 2019, Erişim adresi <http://acikerisim.nku.edu.tr/xmlui/handle/20.500.11776/3205>
- Vrana, J., Cápál, P., Bednářová, M. and Doležel, J. (2014). Flow cytometry in plant research: a success story. In *Applied plant cell biology* (pp. 395-430). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Westwood, M.N. (1995). Temperate-Zone Pomology, *Physiology and Culture*, (3rd ed.) Portland: Oregon State University.