

*Brachypodium distachyon* ( L.)P. Beauv. 'da  
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYON  
Gülsemin SAVAŞ TUNA  
Doktora Tezi  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. İsmet BAŞER

2014

**T.C.**

**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

***Brachypodium distachyon* ( L.) P. Beauv. 'da MORFOLOJİK  
VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON**

**Gülsemin SAVAŞ TUNA**

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. İsmet BAŞER**

**TEKİRDAĞ-2014**

**Her hakkı saklıdır**

Bu çalışma, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: NKUBAP.00.24.DR.10.08

Prof.Dr. İsmet BAŞER danışmanlığında, Gülsemin SAVAŞ TUNA tarafından hazırlanan “*Brachypodium distachyon*’da ( L.)P. Beauv. Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyon” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Fahri ALTAY

*İmza :*

Üye : Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT

*İmza :*

Üye : Prof.Dr. Temel GENÇTAN

*İmza :*

Üye : Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU

*İmza :*

Danışman: Prof. Dr. İsmet BAŞER

*İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdürü**

# ÖZET

Doktora Tezi

## *Brachypodium distachyon* ( L.) P. Beauv. 'da MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON

**Gülsemin SAVAŞ TUNA**

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. İsmet BAŞER

*Brachypodium distachyon*, serin mevsim buğdaygilleri için yeni bir model bitkidir. Bu çalışmada Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü *Brachypodium* koleksiyonunda bulunan ülkemizin farklı bölgelerinden toplanmış 59 aksesyon materyal olarak kullanılmıştır. Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda 48 aksesyonun *B. distachyon*, 11 aksesyonun ise *B. hybridum* olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, koleksiyonu oluşturan aksesyonlar morfolojik ve moleküler yöntemler ile analiz edilerek mevcut genetik çeşitlilik belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla yapılan morfolojik karakterizasyonda 17 morfolojik özellik incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda; aksesyonların bitki boylarının 24,7 cm, bayrak yaprak ayası boyunun 5,6 cm, bayrak yaprak ayası eninin 4,5 mm, biyokütlenin (kök hariç) 4,5, g başaklı sap sayısının 34 adet, başaksız sap sayısının 4 adet, bitki başına başakçık sayısının 111 adet, bitki başına tohum sayısının 372 tohum/bitki, bitkilerin sahip olduğu tohum ağırlığının 1,95 g ve bin tane ağırlığının 5,12 g olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tohumların çimlenme süresinin 15 gün, bitkilerin başak çıkarma süresinin 125 gün ve çiçeklenme süresinin 136 gün olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerin genel olarak yeşil renkte, tüylü yapıda ve dik formda olduğu, ancak bazı aksesyonlarda yatık ve yarı dik formların da bulunduğu belirlenmiştir.

Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizlerinde *B. distachyon* ve *B. hybridum* aksesyonları için ortalama çekirdek DNA içeriklerinin sırasıyla 0,743 pg/2C, ve 1,431 pg/2C olduğu belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda *B. distachyon* aksesyonlarının sahip olduğu çekirdek DNA içeriklerinin bitkilerin toplandığı coğrafi bölgeden etkilendiği, *B. hybridum* aksesyonlarının ise etkilenmediği tespit edilmiştir. Çekirdek DNA içerikleri dikkate alınarak hazırlanan dendogramda aksesyonların 2 gruba ayrıldığı, ilk grupta sadece bir aksesyon yer alırken diğerlerinin ikinci grupta toplandığı görülmüştür. Gruplar incelendiğinde aynı alt gruplarda yer alan aksesyonların birçok morfolojik özelliklerinin ortak olduğu belirlenmiştir.

32 *B. distachyon* aksesyonuna ait 142 birey ile 11 SSR primeri kullanılarak yapılan çalışmada 99 allel saptanmıştır. Primer başına allel sayısının 3-15 arasında değiştiği, belirlenen bölgelere göre ortalama allel sayısının 1. Bölge’de 13,67 allel/bölge , 2. Bölge’de ise 11 allel/bölge olduğu görülmüştür. Çalışmada polimorfizm oranının %100, allelik zenginliğin ( $N_A$ ) 6,302, gen çeşitliliğinin 0,645, gözlenen ( $H_0$ ) ve beklenen ( $H_e$ ) heterozigotluk düzeylerinin ise sırası ile 0,0116- 0,0366 ve 0,4111 – 0,8645 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır.

Bu çalışmada ayrıca 9’u 1. Bölge’ye, 7’si 2. Bölge’ye özgü 16 özgün allel belirlenmiştir. Bölgeler için hesaplanan genetik farklılık ( $F_{ST}$ ) değeri 0,19324, ortalama PIC değeri 0,60 (0,35 -0,84) ve genetik uzaklık 0,590 olarak hesaplanmıştır. Genetik uzaklık sonuçlarına göre hazırlanan dendogramda örneklerin genetik çeşitlilik bakımından 2 grup oluşturduğu, aynı aksesyona ait örneklerin farklı alt gruplarda, farklı bölgelerden toplanan örneklerin aynı alt grupta yer alabildiği görülmüştür. Dendogramdan elde edilen sonuçlara göre BL14, BL13, BL15, BL17, BL19 ile ED1 ve AD1 bireylerinin en uzak akraba, bu bireylerin ait olduğu aksesyona bakıldığında Bd94 ile Bd3 ve Kah Aksesyonlarının genetik açıdan birbirine uzak, Bd3 ile Kah aksesyonlarının birbirine yakın akraba olduğu görülmektedir. Bu durum aksesyonlar arasında ve aksesyon içinde genetik çeşitlilik olduğunu, ancak görülen genetik çeşitlilik ile örneklerin toplandığı coğrafi bölge arasında 11 markörün kullanıldığı bu çalışmada anlamlı bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir. Yapılan Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafiği incelendiğinde, aksesyonların iki gruba ayrıldığı, ancak gruplar arasında tam olarak kesin bir sınırın bulunmadığı, arada her iki gruba ait bireylerden oluşan bir ara grup bulunduğu görülmüştür. Farklı genetik yapıda olan bireyleri belirlemek için yapılan model-based Bayesian analizinde de genotipler iki gruba ayrılmış ancak gruplara diğer gruptan yabancı katılımlar ve her iki grubun genetik özelliklerini taşıyan genotipler

belirlenmiştir. Buna göre aynı coğrafik bölgeden toplanan örneklerin genetik benzerlik bakımından farklı gruplarda yer alabileceği, örneklerin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda coğrafi bölge içerisinde de genetik çeşitliliğin önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir

Rakım, çekirdek DNA içeriği ve morfolojik özellikler arasında korelasyon analizi yapılmış çok sayıda negatif ve pozitif korelasyonlar tespit edilmiştir. Ayrıca çekirdek DNA içeriği ile rakımın morfolojik özellikler üzerindeki etkilerini belirleyebilmek için çoklu doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. Bu analize göre; DNA miktarı arttıkça bayrak yaprak eni ve boyu, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, bitkideki tüylülük derecesi azalırken; çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin arttığı görülmüştür. Rakım arttıkça başaklı sap sayısının arttığı, çekirdek DNA içeriğinin ise azaldığı belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada, serin mevsim buğdaygilleri için yeni bir model system olarak kabul edilmiş olan *B. distachyona ait* ülkemizin farklı coğrafik bölgelerinden toplanarak oluşturulmuş olan genetik kaynak koleksiyonunun sahip olduğu genetik çeşitlilik incelenmiştir. Morfolojik ve moleküler yöntemler ile yapılan incelemelerde koleksiyonun büyük bir varyasyona sahip olduğu saptanmıştır.,

Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde oluşturulmuş olan *Brachypodium distachyon* genetik kaynak koleksiyonu yüksek bir morfolojik ve genetik varyasyona sahiptir. Bu yüzden ülkemizde kültürü yapılan ve en önemli bitki guruplarını oluşturan tahıllar ile buğdaygil yem bitkilerinin önemli bazı tarımsal karakterlerinin (hastalık ve zararlılara dayanıklılık, verim ve kalite gibi) incelenmesi, bu karakterleri kontrol eden gen bölgelerinin haritalanması, moleküler markörlerin geliştirilmesi ve genlerin klonlanması gibi çalışmalarda son derece yararlı olacaktır. Oluşturulan *B. distachyon* koleksiyonunun buğdayın orijinlendiği coğrafi bölgeden olması koleksiyonun önemini daha da arttırmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Brachypodium distachyon*, flow sitometri, çekirdek DNA içeriği, SSR, genetik çeşitlilik, genetik kaynak

## **ABSTRACT**

Ph.D. Thesis

### **MORPHOLOGIC and MOLECULAR CHARACTERIZATION** *in *Brachypodium distachyon**

**Gülsemin SAVAŞ TUNA**

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. İsmet BAŞER

*Brachypodium distachyon* is a model plant species for cool season grasses. In this study, 59 *Brachypodium* accessions collected from different geographic regions of our country which are in the collection at Namık Kemal University Field Crops Department are used as plant material. Based on the results of nuclear DNA content analysis which were made using Flow cytometry, 48 of the accessions were determined to be *B. distachyon* while 11 of the accessions were determined to be *B. hybridum*. In order to determine genetic diversity within *B. distachyon* collection which is the important one as model species, accessions further characterized morphologically and by using molecular techniques.

In the study which is conducted, 17 morphologic features are analysed. As a result of this analyse; it is determined that plant length of accessions are 24,7 cm, length of flag leaf is 5,6 cm, width of flag leaf is 4,5 mm, biomass (except the root) is 4,5 g, number of stem with anther is 34, number of stem without anther is 4, number of spikelet for each plant is 111, number of seed for each plant is 372 seed/plant, weight of seed that the plants have are 1,95 g. and the weight of one thousand is 5,12 g. Also, it is monitored that the duration of seed germination is 15 days, the duration of plants to have anther is 125 days and the duration of blossom is 136 days. It is stated that the plants are generally green, with wooly structure and have an upright form but in some accessions leaning and half upright forms are also found.



Based on the results of nuclear DNA content analysis made using flow cytometry, mean nuclear DNA contents of *B. distachyon* and *B. hybridum* were determined as 0,743 pg/2C and 1,431 pg/2C respectively. Differences among mean DNA content of the accessions of *B. distachyon* were statistically important. It was also determined that the differences were correlated with elevation. However, differences among nuclear DNA content of accessions of *B. hybridum* were not statistically important. In the dendrogram prepared based on results of nuclear DNA content of accessions, it is observed that, accessions are separated into two groups, while there is only one accession in the first group, the others are gathered in the second group. When the groups are examined, it is determined that, accessions in the same subgroups have several common morphologic features.

In SSR analysis, 99 alleles were ascertained in the study using 142 individuals belonging to 32 *B. distachyon* accession and 11 primer. It's seen that number of allele ranges from 3-15 for each primer, average number of allele according to stated regions is 13,67 allele/region in 1. Region and it is 11 allele/region in 2. Region. In the study, it is assessed that polymorphism rate is 100%, allele productivity ( $N_a$ ) 6,302, variety of gene is 0,645, observed ( $H_0$ ) and supposed ( $H_e$ ) heterozygosity level respectively ranges from 0,0116-0,0366 and 0,4111-0,8645.

Also, in this study, 16 original allele, 9 special to 1. Region and 7 special to 2. Region, are determined. It's calculated that genetic diversity value ( $F_{st}$ ) calculated for the regions is 0,19324, average PIC value is 0,60 (0,35- 0,84) and genetic distance is 0,590. In the dendrogram prepared in respect of the results of genetic distance, it's seen that, samples are separated into two groups in terms of genetic diversity, samples belonging to same accessions can take part in different subgroups and samples collected from different regions can take part in different subgroups. According to the results taken from dendrogram, BL14, BL13, BL15, BL17, BL19 are the most distant relatives with ED1 and AD1 individuals, when we look at the the accessions that these individuals belong to, Bd94 is distant in terms of genetics with Bd3 and Kah., Bd3 is close relative with Kah accession.

This situation shows that there is a genetic diversity between and within accessions, and there isn't a meaningful relation between the observed genetic diversity and geographic region that the samples are collected from. When the Factorial Similarity Analyse Graphic is examined, it is seen that, accessions are separated into two groups, but there is no exact

borders between two groups, and there is a middle group in between which is formed by the individuals belonging to both groups.

Also in the model-based Bayesian analyse to determine the individuals that have different genetic structure, genotypes are separated into two groups but outsider participation to the groups from the other group and genotypes that has the genetic features of both groups are determined. Findings support each other. According to this, it is determined that the samples which are collected from the same geographic regions can take part in different groups in terms of genetic similarity, there isn't a meaningful relation between the geographic region and the genetic diversity. At the same time, genetic diversity is abundant in the same region.

Correlation analysis between altitude, nuclear DNA content and morphological traits was made and high correlation were found. Multiple linear regression analysis was also made in order to determine the effects of nuclear DNA content and altitude on morphological features. According to this analysis, with the increasing of DNA the durations of germination, heading and flowering increase whereas width and length of flag leaf, the weight of seed, hairiness of plant increase. As the altitude gets higher the number of spiked stalks increases and nuclear DNA content decreases.

*Brachypodium distachyon* genetic resource collection in Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Namık Kemal University has a high morphologic and genetic variation. Therefore, the collection will be very usefull to study some agriculturally important traits of cultivated temperate grasses in Turkey such as cereals and forage grasses, mapping of genes controlling these traits, developing markörs, and cloning of these genes.

**Key words :** *Brachypodium distachyon*, nuclear DNA content, Morphological characters, SSR, genetic diversity, flow cytometer , gecetic resources

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>xii</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>3</b>
2.1.Biyotik ve Abiyotik Faktörlere Karşı Tolerans ile İlgili Çalışmalar .....	3
2.2.Hücre Duvarı Yapısı ve Biyoyakıt Üretimi ile İlgili Çalışmalar .....	6
2.3.Morfolojik özellikler, Tohum Yapısı ve Gelişimi ile İlgili Çalışmalar .....	9
2.4.Sitogenetik Alanındaki Çalışmalar .....	13
2.5.Transformasyon ile İlgili Çalışmalar .....	19
<b>3.MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>21</b>
3.1. Materyal .....	21
3.1.1. <i>Brachypodium distachyon</i> 'un (L.)P. Beauv. filogenetik özellikleri.....	23
3.1.2. <i>Brachypodium distachyon</i> 'un (L.)P. Beauv. sitogenetik özellikleri.....	24
3.1.3. <i>Brachypodium distachyon</i> 'un (L.)P. Beauv. morfolojik özellikleri.....	26
3.1.4. Neden model bitki olarak <i>Brachypodium distachyon</i> (L.)P. Beauv.....	27
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Morfolojik karakterizasyon çalışmaları.....	30
3.2.1.1. Tohumların çimlendirilmesi.....	30
3.2.1.2. Bitkilerin yetiştirilmesi ve morfolojik gözlemlerin yapılması.....	30
3.2.1.3.Bitkilerin hasat edilmesi.....	32
3.2.2.Moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	33
3.2.2.1. Flow sitometri ile çekirdek DNA analizi.....	33
3.2.2.1.1. Çekirdek DNA analizi için örneklerin hazırlanması ve incelenmesi.....	34
3.2.2.1.2.Flow sitometri ile DNA içeriğinin ölçülmesi.....	36
3.2.2.2.SSR analizi .....	38
3.2.2.2.1. DNA izolasyonu.....	39
3.2.2.2.2. Kullanılan mikrosatellit primerler.....	39
3.2.2.2.3. SSR allel bölgelerinin PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması... ..	40
3.2.2.2.4. PEG (Poly ethylene glycol) metodu ile PCR ürünlerinin çöktürülmesi.....	40
3.2.2.2.5. Platelerin sekanslama cihazı için hazırlanması.....	40
3.2.2.2.6. İstatistik analizler.....	41
3.2.2.2.6.a. Allelik varyasyonun hesaplanması.....	41
3.2.2.2.6.b. Heterozigotluğun Hesaplanması.....	42
3.2.2.2.6.c. F istatistikleri (F– fixation index) ve genetik uzaklığın hesaplanması.....	42
3.2.2.2.6.d. Populasyonlar arası genetik mesafenin hesaplanması.....	43
3.2.2.2.6.e. PIC (polimorfizm bilgi içeriği) ve PD (ayırılma gücü).....	44
3.2.2.2.6.f. Allellerin paylaşım uzunluklarının ölçümü.....	45
3.2.2.2.6.g. Faktöriyel birleştirici analiz.....	45
3.2.2.2.6.h. Genetik yapı analizi.....	46
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>47</b>
4.1. Morfolojik Karakterizasyon Çalışmalarında Elde Edilen Sonuçlar .....	47
4.2. Flow Sitometri ile Yapılan Çekirdek DNA Analizi Sonuçları.....	58
4.3. SSR Çalışmalarından Elde Edilen Sonuçlar ve Değerlendirilmeleri.....	72

4.3.1. Populasyonlar içi allelik varyasyonlar ve heterozigotluk analizi.....	72
4.3.2. Özgün genlerin belirlenmesi analizi.....	78
4.3.3. Genetik farklılık ( $F_{ST}$ ) ve genetik uzaklık analizi.....	84
4.3.4. PIC (Polimorfizm Bilgi İçeriği) ve PD (Ayrımlama Gücü) analizi.....	85
4.3.5. Allellerin paylaşım uzunluklarının ölçümü.....	87
4.3.6. Faktoriyel benzerlik analizi.....	92
4.3.7. Genetik yapı analizi.....	95
4.4. Korelasyon analizi.....	97
4.5. Çoklu doğrusal regresyon analizi.....	104
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>108</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>114</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>127</b>

## ÇİZELGE DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 3.1:	Çalışmada kullanılan aksesyonlar ve toplandıkları coğrafi bölgeler.....	21
Çizelge 3.2:	<i>B. distachyon</i> türünün taksonomik sınıflandırılması.....	23
Çizelge 3.3:	SSR Primerleri ve baz dizilişleri.....	39
Çizelge 4.1	: Aksesyonların bitki boyu (cm), bayrak yaprak boy ( cm), bayrak yaprak en( mm), biyokütle (g) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri.....	48
Çizelge 4.2:	Aksesyonların başaklı sap sayısı ( adet), başaksız sap sayısı ( adet), başakçık sayısı ( adet), ve tohum sayısı ( tohum / bitki) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri.....	50
Çizelge 4.3	: Aksesyonların tohum ağırlığı (g), bin tane ağırlığı (g), çimlenme süresi (gün), başaklanma süresi (gün) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri.....	52
Çizelge 4.4:	Aksesyonların çiçeklenme süresi (gün), bitki görünüşü ( 1-5), bitki rengi (1-3), tüylülük derecesi (1-3), bitki formu ( dik-yatı dik- yatık) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri.....	54
Çizelge 4.5:	Morfolojik çalışmalar sonucu dikkat çeken aksesyonlar ve özellikleri.....	57
Çizelge 4.6:	<i>B. distachyon</i> ve <i>B. hybridum</i> aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri.....	61
Çizelge 4.7:	Bölgelere göre çekirdek DNA ortalama ve standart sapma değerleri.....	65
Çizelge 4.8:	Varyans analiz sonuçları.....	66
Çizelge 4.9:	Duncan önemlilik testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	66
Çizelge 4.10:	Gözlenen allel sayılarının primerler ve bölgeler bazında dağılımı, primer ve bölge başına gözlenen allel sayıları ve ortalamaları, primerlere ait allel zenginlik ( $n_A$ ).....	72
Çizelge 4.11:	Primerler ve aksesyonlarda belirlenen gen çeşitliliği değerleri.....	75
Çizelge 4.12:	Çalışmada gözlenen ( $H_O$ ) ve beklenen ( $H_E$ ) heterozigotluk değerlerinin her bir primer için bölgelere dağılımı ve ortalama değerler.....	77
Çizelge 4.13:	Çalışmada gözlenen özgün allellerin primerler ile bölgeler açısından dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları.....	79
Çizelge 4.14:	Çalışmada gözlenen özgün allellerin primerler ile bölgeler açısından dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları.....	82
Çizelge 4.15:	Aksesyonların yer aldığı gruplara ait $F_{ST}$ değerleri.....	84
Çizelge 4.16:	Standart genetik uzaklık değerleri.....	85
Çizelge 4.17:	Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) ve ayırtılma gücü (PD) ile ilgili sonuçlar.....	86
Çizelge 4.18:	Komşu birleştirme ağacında yer alan aksesyonlar ve simgeleri.....	89
Çizelge 4.19:	DNA, rakım ve morfolojik özellikler arasındaki korelasyon.....	98
Çizelge 4.20:	Çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları.....	104

## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 3.1: <i>B. distachyon</i> ve diğer tahıllar arasındaki filogenetik akrabalık ilişkisi.....	23
Şekil 3.2: <i>B. distachyon</i> 'un kromozom yapısı.....	24
Şekil 3.3 <i>B. distachyon</i> (A), <i>B. stacei</i> (B) ve <i>B. hybridum</i> (C) bitkilerinin genel görünüşü.....	25
Şekil 3.4: Prob olarak <i>B. distachyon</i> ve <i>B. stacei</i> genomik DNAsının kullanıldığı GISH (genomik in situ hybridization) analizi ile diploid türlerin kromozomlarının farklı renkler ile boyanarak ayırt edildiğini gösteren resimler. <i>B. distachyon</i> (D), <i>B. stacei</i> (E) ve <i>B. hybridum</i> (F) ).....	25
Şekil 3.5: <i>B. distachyon</i> (L.)P. Beauv. bitkisinin genel görünüşü.....	26
Şekil 3.6: Tohumların çimlenmesi ve çoklu plastik saksılarda gelişimi.....	30
Şekil 3.7: Bitkilerin serada yetiştirilmesi.....	30
Şekil 3.8: Bitkilerin morfolojik özellikleri.....	31
Şekil 3.9: Aksesyonlara ait bitki formları, A: Dik, B: Yarı Dik, C: Yatık.....	31
Şekil3.10 A: Yaprak rengi tonları ve numaraları (3.Koyu Yeşil, 2.Yeşil, 1.Açık Yeşil), B: Farklı renge sahip bitki örnekleri.....	31
Şekil3.11: Bitkilerin tüylülük özellikleri, 1:Az tüylü, 2: Tüylü, 3: Çok tüylü.....	32
Şekil3.12: Hasat edilecek bitki örnekleri.....	32
Şekil3.13: Çekirdek izolasyonu için <i>B. distachyon</i> ve <i>O. sativa</i> 'dan örnek alınması..	34
Şekil3.14: Çekirdek izolasyonu için bitki örneklerinin parçalanması.....	34
Şekil3.15: Çekirdek izolasyonu için hazırlanan örneğin süzülmesi.....	35
Şekil3.16: DNA izolasyonu için hazırlanan örneğin saklanması ve Flow sitometri cihazına yerleştirilmesi.....	35
Şekil3.17: Staining solüsyonun hazırlanması.....	35
Şekil3.18: A: Hücre Döngüsü, B: <i>B. distachyon</i> ( Bd21) G1 ve G2 pikleri.....	36
Şekil3.19: <i>B. distachyon</i> (Bis) ve standart <i>O. sativa</i> 'ya ait G1 pik değerleri.....	37
Şekil 4.1: Standart olarak kullanılan <i>Oryza sativa</i> , <i>B. distachyon</i> ve <i>B. hybridum</i> bitkiciklerine ait G1 pikleri.....	58
Şekil 4.2: <i>B. distachyon</i> ve <i>B. hybridum</i> aksesyonlarının ülkemizdeki yayılış alanları.....	59
Şekil 4.3: Standart olarak kullanılan <i>Oryza sativa</i> ve <i>B. distachyon</i> ( Bis-5) bitkiciklerinin G1 piklerine ait analiz değerleri.....	60
Şekil 4.4: Standart olarak kullanılan <i>Oryza sativa</i> ve <i>B. hybridum</i> ( Bhyb 77) bitkiciklerinin G1 piklerine ait analiz değerleri.....	60
Şekil 4.5: Duncan önemlilik testi sonuçlarına göre aksesyonların gruplandırılması..	68
Şekil 4.6: <i>B. distachyon</i> aksesyonları çekirdek DNA içeriği dendogramı.....	70
Şekil 4.7: Bireyler arası paylaşım uzaklıkları (ASD) kullanılarak komşu birleştirme (NJT) metodu ile çizilen ağaç.....	88
Şekil 4.8: Çalışılan tüm aksesyonlara ait bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren faktöriyel benzerlik analiz grafiği.....	93
Şekil 4.9: Populasyonlar bazında genetik yapı grafiği (Herbir renk= Bir K).....	95
Şekil4.10: Bireyler bazında genetik yapı grafiği.....	95
Şekil4.11: Çekirdek DNA içeriği – rakım regresyon eğrisi.....	107

## SİMGELER DİZİNİ

AFLP	: Amplified fragment length polymorphism ( Güçlendirilmiş parça uzunluk polimorfizmi)
ARF	: Oksin tepki faktörü
BAC	: Bakteriyal yapay kromozom
BÇ	: Baz çifti
Bd	: <i>Brachypodium distachyon</i>
Best	: Brachypodium EST'si
cDNA	: Çekirdek DNA 'sı
CV	: Varyasyon katsayısı
DAP	: Diamonyum Fosfat
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DON	: Deoxynivalenol
EST	: Fonksiyonel gen segmenti
FHB	: Fusarium başak yanıklığı
FISH	: Fluorescence in situ hybridization
GISH	: Genomic in situ hybridization
LED	: Işık yayan diyot (Light emitting diode)
LOX	: Lipoksijenaz
miRNA	: Mitokondri RNA 'sı
NCBI	: National center for biotechnology information
NJ	: Neighbour joining analysis (Komşu birleştirme ağacı)
NPGS	: Doğal bitki germplasm sistemi
PCR	: Polimeraz zincirleme tepkimesi (Polymerase chain reaction)
PIC	: Polimorfizm bilgi içeriği
QTL	: Kantitatif karakter lokus
RADP	: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random amplified polymorphic DNA)
RFLP	: Kesilmiş parça uzunluğu polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism)
RFLP	: Restriksiyon enzimleri uzunluk polimorfizm tekniğini
SDS	: Sodyum dedosil sülfat
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism )
SSR	: Basit dizi tekrarları (Simple sequence repeats- mikrosatelit)
STB	: Septorya yaprak lekesi
TCA Döngüsü:	Tri karboksilik asit döngüsü
TILLING	: Genomlarda hedeflenen bölgesel lezyonları bulma
UGT	: Galaktozil transferaz
USDA	: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
wEST	: Buğday EST'si

## TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince tüm olanak ve bilgileri sağlayan, tezin gelişimini titizlikle inceleyen ve yöneten, çeşitli araştırma ve çalışmalara katılmam için beni destekleyen sayın hocam Prof. Dr. İsmet BAŞER'e, çalışmalarımı takip eden ve tez komitemde görev yaparak bana yardımcı olan sayın hocalarım Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT ve Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU'na, çalışmada kullanılan bitki materyalini, araştırmanın yürütülmesinde laboratuvar ve bilimsel alt yapı imkanlarını sağlayan, çalışmanın her aşamasında desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Prof. Dr. Metin TUNA'ya, laboratuvarında çalışmamıza imkan sağlayan sayın Prof. Dr. John VOGEL'e, analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Necdet SÜT ve Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN'a, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Vesile ve Damla'ya, bitkilerin hasat edilmesi, ölçüm ve sayımların yapılmasında benden yardımlarını esirgemeyen sevgili öğrencilerim Tolunay, Atakan, Kübra, Kardelen, Arda ve Doğuşhan'a, çalışmalarımı düzgün yürütebilmem için ders programında yardımcı olan sayın müdürüm Fuat Asım ARVAS ve müdür yardımcım Mehmet Ali ÖKSÜZOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında benden manevi desteklerini esirgemeyen başta annem, kız kardeşlerim Emine ve Ayşe olmak üzere sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Şubat, 2014

Gülsemin SAVAŞ TUNA

Biyoloji Öğretmeni



## 1.GİRİŞ

*Brachypodium distachyon*, *Brachypodium* cinsi içerisinde yer alan ve ülkemizde yalancı parlak brom olarak bilinen kısa boylu bir buğdaygil bitkisidir (Draper ve ark. 2001, Özdemir ve ark. 2008). *B. distachyon* ülkemizin de içerisinde bulunduğu güney Avrupa, Kuzey Afrika ve güney batı Asya'dan Hindistan'a kadar uzanan bölgelerde doğal olarak yetişmektedir (Schippmann 1991, Garvin ve ark. 2008, Vogel ve ark. 2009, Mur ve ark. 2011a). Bitki herhangi bir ekonomik öneme sahip olmamakla birlikte küçük bir genom (0,631 pg/2C DNA, Wolny ve Hasterok 2009 ) ve habitusa sahip olması, diploid olması, kendi kendini döllenmesi sayesinde iki jenerasyon döngüsü ile saf hatların üretilmesi (Draper ve ark. 2001, Vogel ve ark. 2009), bir generasyonda çok sayıda tohum üretebilmesi (Brkljacic 2011), vejetasyon süresinin kısa olması (Draper ve ark. 2001, Vogel ve ark. 2006a, Garvin ve ark. 2008, Brkljacic 2011, Mur ve ark. 2011a), doğada ve kontrollü sera koşullarında yüksek çimlenme oranına sahip olması (Vogel ve ark. 2006, Garvin ve ark. 2008, Vogel ve ark. 2009), büyük bir ekonomik öneme sahip olan tahıllar (buğday arpa yulaf çavdar) ve çayır mera bitkileri ile yakın akraba olmasından (Catalán ve ark. 1997, GPWG 2001) dolayı son yıllarda buğdaygil bitkileri için model olarak önem kazanmaya başlamıştır.

Bu güne kadar *Oryza sativa* ve özellikle *Arabidopsis thaliana*, bilimsel araştırmalarda kullanılan en önemli model bitkilerdir (Draper ve ark. 2001). Bu iki türün genomları da hali hazırda sekanslanmış olduğundan bitki fonksiyonel genom çalışmalarının ana kaynağını teşkil etmektedir. Bununla beraber buğdaygil türleri {tahıllar (*Triticum*, *Hordeum*, *Avena*, *Secale* türleri gibi), çayırmera türleri (*Lolium*, *Festuca*, *Brom*, *Dactylis*, *Agropyron* gibi) ve biyoyakıt üretiminde kullanılan türler (*Panicum virgatum* ve *Miscanthus* gibi türler} için ne *Arabidopsis thaliana* nede *Oryza sativa* uygun bir model sistemdir. Bu durum son yıllarda bir çok organizmanın genomlarının tamamının veya bir kısmının DNA dizilerinin belirlenmesi ile açıkça ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, *Arabidopsis* dikotiledon olduğundan, tarımsal özellikler ile ilgili birçok biyolojik özellik bakımından buğdaygil türlerine göre farklılık göstermektedir (Bennetzen ve ark. 1998, Devos ve ark. 1999).

*Oryza sativa* bir buğdaygil türü olmasından dolayı daha iyi bir model bitki olabilirdi. Ancak bir model bitkide bulunması gereken kısa ömürlü olma, küçük bir fiziki yapıya sahip olma ve yetiştirme şartlarının basit ve kolay olmaması gibi sebeplerden dolayı iyi bir model türde olması gereken şartları sağlayamamaktadır (Draper ve ark. 2001, Xu ve ark. 2005). Diğer taraftan tropikal bir tür olduğundan *Oryza sativa* serin iklim patojenlerine dayanıklılık,

soğuğa tolerans ve vernalizasyon gibi özelliklere de sahip değildir (Gaut 2002, Jenkins ve ark. 2005). Bunlara ilave olarak *Oryza sativa* yukarıda saydığımız serin iklim buğdaygil türlerinden farklı bir alt familya içerisinde bulunmaktadır (Draper ve ark. 2001, Febrer ve ark. 2010). Bu nedenle, *Oryza sativa* orthologous kromozom bölgelerinde bulunan genlerin sırası ve DNA dizileri diğer serin iklim türlerinden farklılık göstermektedir (Jenkins ve ark. 2005). Bunlardan dolayı da serin mevsim buğdaygilleri için biyolojik olarak onlara daha benzer ve filogenetik olarak daha yakın bir model bitki ihtiyacı doğmuş ve *B. distachyon* yeni bir model sistem olarak seçilmiştir (Draper ve ark. 2001). Bu güne kadar türün doku kültürü tekniklerinin, mutant hatların geliştirilmesinde kullanılan tekniklerin, gen transferi prosedürlerinin hali hazırda geliştirilmiş olması ve genomunun DNA dizilişinin tamamen belirlenmiş olması, türün kısa zamanda buğdaygil bitkileri için yeni bir model olarak geniş bir kabul görmeye başlamasına ve bu amaçla kullanımının her geçen gün dahada artmasına neden olmuştur (Garvin ve ark. 2008).

Ancak *B. distachyon*' un *Arabidopsis* gibi başarılı bir model olabilmesi için en önemli şartlardan birisi geniş bir genetik varyasyona sahip, çok sayıda doğal populasyonu içeren genetik kaynak koleksiyonuna sahip olmasıdır (Vogel 2011). Bu çalışmanın amacı daha önce NKU Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyeleri tarafından ülkemizin farklı coğrafik yapı ve iklime sahip bölgelerinden toplanmış olan *Brachypodium distachyon* aksesyonlarının sahip olduğu çeşitliliği incelemektir. 59 adet aksesyonun incelenmiş olduğu tez kapsamında;

- Koleksiyonda bulunan tüm aksesyonların nüklear genom hacimlerini belirlemek,
- Aksesyonların morfolojik özelliklerini ( bitki boyu, biomas, çimlenme- çiçeklenme tarihleri, renk, tüylülük özellikleri, bitki görüşünü, başakçık sayısı, dane sayısı, dane ağırlığı....) gözlemek ve tespit etmek,
- 142 genotip kullanılarak yapılacak SSR (Basit dizi tekrarları) analizi ile genotipler arasındaki çeşitliliği incelemek,
- Aksesyonların toplandığı lokasyon ve yükseklik ile genetik ve morfolojik özellikler arasındaki korelasyonu değerlendirmek hedeflenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Biyotik ve Abiyotik Faktörlere Karşı Tolerans ile İlgili Çalışmalar

Çevresel ve biyolojik faktörlere karşı tolerans ile ilgili *Brachypodium distachyon*'un model olarak kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda *Puccinia sp.*, *Fusarium graminearum*, *Mycosphaerella graminicola* vb. patojenler ile kuraklığa tolerans ile ilgili çalışmalar dikkat çekmektedir.

*Fusarium graminearum*'un neden olduğu Fusarium başak yanıklığı (FHB), buğday dahil küçük taneli tahıllar üzerinde en çok zarar veren hastalıklardan biridir. Ekemkelik buğdayda da bu patojene dayanıklılık sağlayan gen bölgesi (QTL) halihazırda tespit edilmiştir. **Schweiger ve ark. (2010, 2011)** çalışmalarında *Fusarium*'un farklı *Brachypodium* aksesyonlarında değişken miktarda detoksifikasyon ürünü meydana getirdiğini ve bu patojene dirençle ilgili Bd UDP-galaktozil transferaz (UGTs) gen ailesinin tahminen 177 genden oluştuğunu açıklamışlardır. Ayrıca, mayadaki toksin direncini oluşturan arpa geni HvUGT13248 ile en yüksek sekans benzerliğine sahip 6 Bd geni grubunun karakterize edildiğini; altı Bd homologundan sadece ikisinin DON direnci sunduğunu; değişken sayıda gen içeren gruplarda oluşturulan UGT'lerin, çeltik ve sorgum ile karşılaştırıldığında daha hızlı bir şekilde gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir.

**Bluemke ve Voigt (2011)** *B. distachyon*'da *F. graminearum* enfeksiyonunu hücresele seviyede inceleyebilmek için yaptıkları çalışmada, hastalık semptomlarının buğdaydaki ne benzediğini, yabani *F. graminearum* ve *Afg11* enfeksiyonunda DON birikiminde artış saptanırken, mutant suşlar *Δtri5* ve *Δgpmk1* enfeksiyonlarında DON tespit edilmediğini açıklamışlardır.

**Dufrezne ve ark. (2011)** *B. distachyon*'da potansiyel olarak bulunan dört UGT (UDP-glycosyltransferases) adayını tanımladıkları çalışmalarında, tüm dört aday genin *F. graminearum* ile inokülasyondan sonra 72. ve 96. saatler arasında ve DON uygulaması sonrasında üçüncü saatte güçlü bir şekilde uyarıldığını belirlemişlerdir.

**Peraldi ve ark. (2011b)** Oksin tepki faktörü (ARF) 2'nin fonksiyonel bir homologu olan ve *Fusarium*'a karşı direnç sağlayan geni taşıyan bir Bd mutant hattı belirlemişlerdir. Doğal bitkide de belirledikleri ARF2 geninin FHB hastalık şiddetinde ortalama %20 azalma sağladığını rapor etmişlerdir.

*Brachypodium* aksesyonlarının yaprak pası (*Puccinia brachypodii*) izolatlarına karşı farklı seviyede kantitatif direnç gösterdiğini belirleyen **Barbieri ve ark. (2011a, 2011b)**. Bd3-1 ve Bd1-1 kendilenmiş hatlarına ait 110 bitkiden F2 popülasyonunu geliştirmişlerdir. F2

bitkilerinden elde edilen sonuçların F2'den üretilmiş F3 familyasında doğrulandığını, AFLP, SNP ve SSR markörlerini uygulayarak geliştirilen ve 203 lokus kapsayan 811.8 cM'e yayılmış yeni bir *Brachypodium* bağlantı grubu belirlendiğini, 2.3 ve 4. kromozomlarda üç yaprak pası direnç geni QTLler (*Rpbq1*, *Rpbq2* ve *Rpbq3*) tanımlandığını; QTLleri izole etmek için genom sıra bilgisine dayanarak *Rpbq2* ve *Rpbq3* piklerine en yakın 8 aday gen seçildiğini ve genlerin kaynaklarda yeniden sıralandığını rapor etmişlerdir.

**Garvin (2011)** yaptığı çalışmada *Brachypodium*'un gen kaynaklarında buğday sapı pasına (*P. graminis tritici*) direnç için önemli bir doğal varyasyon bulunduğunu, çayır otu sap pası olan *P. graminis phlei-pratensis*'a karşı direnç oluşturan genin izole etme çalışmalarının devam ettiğini bildirmiştir. Çayır otu sap pası reaksiyonlarından farklı olarak kara pas hastalık fenotiplerinin oldukça çeşitli ve direncin yapı olarak kantitatif olabileceğini, mutant popülasyonların taranmasıyla artan duyarlılık ve gelişmiş dirence sahip genotiplerin tanımlandığını belirtmiştir.

*Mycosphaerella graminicola* buğdayda Septorya Yaprak Lekesi (STB) hastalığına neden olan bir patojen olup, Avrupa'da önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. **O' Driscoll ve ark. (2011)** yaptıkları çalışmada *Brachypodium*'un çeşitli *M. graminicola* izolatları ile enfekte edilmeye uygun doğal bir bitki olduğunu; görülen hastalık semptomlarının buğdayda gözlenenler ile karşılaştırıldığını ve *Brachypodium* gen havuzundaki çeşitli ekotipler incelendiğinde STB hastalığına karşı farklı tepkiler görüldüğünü; inokülasyondan sonra hastalık semptomlarının *Brachypodium*'un tüm toprak üstü kısımlarında kaydedildiğini ifade etmişlerdir.

**Marcel ve ark. (2011)**, fenotipik ve genotipik çeşitliliği en üst düzeye çıkaran topluluğu araştırmak için seçtikleri 40 hattan, diploid *Brachypodium* kendilenmiş hat koleksiyonu oluşturmuşlardır. Bu ana koleksiyonu kullanarak *Brachypodium*'un, *Magnaporthe oryzae*, *Fusarium graminearum*, *Puccinia graminis*, *P. striiformis*, *P. brachypodii* gibi fungal patojenlere, çeltik kök boğum nematodu olan *Meloidogyne graminicola*'a ve çeltik sarı mozaik virüsüne konak olma durumunu ve bu patojenlere karşı tepkisini araştırmışlardır.

**Mur ve ark. (2011b)** yaptıkları çalışmalarda ABR1 üzerinden 7 genotipin, *Magnaporthe grisea*'ya (çeltik yanıklığı), pas patojenlerine özellikle taç pasına (*Puccinia coronata*) ve gelişen çayır patojeni *Dreschlera* spp. yaprak lekesine karşı lokal ve sistemik direncini araştırmışlardır. Çalışmaları sonunda; patojenlere karşı direncin salisilik asitin artmasıyla değil jasmonik asitteki artışla ilişkili olduğunu; Ursolik asit kullanılarak jasmonik asit biyosentezi inhibe edildiğinde azalan yerel ve sistemik direnç oluştuğunu; jasmonat

biyosentezinde kilit enzimin Lipoksijenaz (LOX) olduğunu; JIC (UK) T-DNA popülasyonu (BdAAA466. BdAAA615) içinde bulunan iki LOX Bd21 T-DNA mutantlarının ikisinde de enfeksiyon üzerinde jasmonat birikiminin azalma gösterdiğini ve çeltik yanıklığına karşı direnç oluşturduklarını açıklamışlardır.

**Zubair ve ark. (2011)** yaptıkları çalışmada; *M. grisea*'nın inokülasyondan itibaren 24-28 saat içinde ABR1 bitkileri ile hassas etkileşim gösterdiğini ve patojenin epidermal hücrelere nüfuz ederken aminoasit biyosentezi, TCA döngüsü, trisakkarit ve flavanoid sentezi ile enerji metabolizmasında bozulmalara neden olduğunu; ancak bu değişikliklerin çoğunun dirençli ABR5 bitkilerinin enfeksiyonunda gözlemlenmediğini; ABR5'de *M. grisea* enfeksiyonuna metabolik bir tepkinin inokülasyondan 8 saat sonra başladığını ve 24 saat sonra enfekte olan ABR5 bitkilerinde önemli derecede yüksek seviyelerde belirli antifungal bileşikler (örn. sphingofungin E), 25 saat sonra ise pantotenik asit tuzu, malibionat, PC (18:2). PC (18:3) ve 2-16:1-lysoPG gibi fosfolipidler dahil bir dizi diğer bileşik toplandığını ve *M. grisea*'nın hassas bitkilerde bitkinin savunma metabolizmasını enfeksiyon sürecinin erken aşamasında manipüle edebildiğini açıklamışlardır.

Günümüzde yaşanan çevre sorunları nedeniyle daha az suyla önemli miktarda ürün veren, kuraklığa toleranslı tahıl tür ve çeşitlerinin geliştirmesi ihtiyacı bulunmaktadır. **Luo ve ark. (2011)** Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) Doğal Bitki Germplasm Sistemi (NPGS) tarafından geliştirilmiş *Brachypodium* doğal hat koleksiyonu üzerinde yaptıkları kuraklığa tolerans ile ilgili çalışmalarında, koleksiyon içerisinde önemli varyasyonların olduğunu saptamışlardır.

**Mur ve ark. (2011b)** 118 *Brachypodium* genotipinin nispi su içeriği ve sitoplazmik membran stabilitesini inceleyerek kuraklık toleransını değerlendirdikleri çalışmalarında, Bd2-3'ün kuraklığa karşı en duyarlı, ABR5'in ise en toleranslı olduğunu kanıtlamışlardır. Bitkilerden elde edilen polar ve apolar özleri Electrospray Ionisation Mass Spectrometry (ESI-MS) ile incelediklerinde, poliamin, arginin ve antioksidan gibi metabolitlerin miktarının ABR5'de bir artış gösterirken, Bd2-3'de ise bu metabolitlerin miktarında herhangi bir artışın gerçekleşmediğini belirlemişlerdir.

## 2.2.Hücre Duvarı Yapısı ve Biyoyakıt Üretimi ile İlgili Çalışmalar

Yeryüzünde kullanılmayan rezervlerin en büyüğünü bitki biyokütlesi oluştururken, bu rezervin çoğunluğunu ise hücre duvarları meydana getirmektedir. Enerji bakımından zengin polisakkaritler bitki hücre duvarlarının yaklaşık % 75'ini oluşturmaktadır. Bu polimerler biyoetanol gibi bazı ürünlerin elde edilmesinde kullanılmaktadırlar. Ancak, hücre duvarlarının karmaşık yapısı, çeşitli polisakkarit ve glikoproteinlerin bir ağ oluşturması, ikincil duvarda fenolik bileşiklerin bulunması bozulmaya karşı hücre duvarlarını dayanıklı hale getirmektedir. Hücre duvarı yapısı manipüle edilerek şekerlenmesi kolaylaştırılır ise birim biyokütle başına elde edilen biyoyakıt miktarı arttırılabilecektir (**Jamet ve ark. 2011**). Bu amaçla yapılan çalışmalara bazı örnekler aşağıda verilmiştir.

**Gomez ve ark. (2008)** monosakkaritlerden oluşan selülozik olmayan hücre duvarlarının tarımsal açıdan önemli akraba otlar ile benzer dikotil model *Arabidopsis thaliana*' da ise önemli ölçüde farklı olduğunu açıkladıkları çalışmalarında, hidroliz reaksiyonları ile bitkiler arasındaki sakkarifikasyon farklılıklarını tespit edebilmek için hassas bir test geliştirmişlerdir.

**Christensen ve ark. (2010)** *B. distachyon*, *Hordeum vulgare* ve *Triticum aestivum* fidelerinin primer hücre duvarlarının yapısını karşılaştırdıkları çalışmalarında; (1.3; 1.4)-beta-D-glukan sentezinin hücre uzaması gerçekleşen büyüme evrelerinde görüldüğünü; sentez sırasında şifreyi veren genlerden F (CSLF) ailesinden selüloz sentaz, CSLH ve CSLJ sentaz genlerindeki transkripsiyonal mekanizmanın üretilen (1.3; 1.4) -beta-D-glukan miktarına denk olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca, CSLF6 transkripsiyonunun üç bitki türünde de benzer ve diğer transkripsiyonlardan çok daha fazla olduğunu; CSLH transkripsiyonunun *B. distachyon*'da diğer türlere nispeten daha fazla olduğunu ancak diğer türlerden neredeyse fark edilmediğini; her üç türde de fide büyümesi süresince Arabinoxylans sürekli arttığını, ancak bu maddelerin az miktarının yedek, büyük çoğunluğunun hücre olgunlaşması sırasında matriks duvarının iç kısmında çapraz bağ oluşturduğunu açıklamışlardır. Diğer taraftan *B. distachyon*'ın diğer iki türden farklı olarak yüksek derecede arabinose substitutionuna, ikili formda iken yüksek oranda ferulik aside ve fazla miktarda ester-bağlantılı p-kumarik asite sahip olduğunu açıklamışlardır.

**Guillon ve ark. (2010)** yaptıkları çalışmada; hücre duvarı polisakkaridinin *Brachypodium distachyon*'ın endospermde yaklaşık % 52 (w/w), diğer tahılların endospermde ise % 2-7 (w/w) oranında bulunduğunu; endospermde tipik bir depo polisakariti olan nişastanın % 10'dan (w/w) daha az, büyük olasılıkla depo polisakkarit

görevini gören temel polisakarit (1–3) (1–4)- $\beta$ -glukan'ın % 40(w/w) oranında bulunduğunu; (1–3) (1–4)- $\beta$ -glukana ilaveten endosperm hücrelerinin önemli miktarda selüloz ve ksilan içerdiğini; *B. distachyon* taneciğinde ferulik asidin arabinoksilana oranının incelenen diğer tahıllara göre daha yüksek olduğunu; orta lamelde ve endospermde madde depolayan hücrelerin birleşim bölgelerinde bulunan Feruloylet rabinoksilanın hücre-hücre birleşmesinde potansiyel bir role sahip olduğunu; *B. distachyon* taneciklerinin diğer tahıl taneciklerinde karşılaşılan tüm hücre duvarı polisakaritlerini içerdiğini açıklamışlardır.

**Handakumbura ve ark. (2011)** ikincil hücre duvarı biyosentezinin transkripsiyonel düzenini anlamak için yaptıkları çalışmada, yapay mikroRNA'lar kullanarak selüloz ve lignin ile ilişkili genleri belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmalarını geliştirerek lignin sentezine neden olan düzenleyici ağları çözümlenmeyi amaçladıklarını ifade etmişlerdir.

**Harrington ve ark. (2011)** ikincil duvar oluşumunun zamanlamasını anlayabilmek için yaptıkları çalışmada, çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler uygulayarak sklerenkima hücrelerinin farklılaşması ve olgunlaşmasının moleküler düzenleyicilerini (örn. transkripsiyon faktörleri ve/veya işlem enzimleri) ve hücre duvarı yapısındaki maddeleri analiz etmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmanın sonundaki biyokütle sakkarifikasyonunu geliştirmek için gerekli düzenleyicileri tanımladıklarını açıklamışlardır.

**Hilde ve ark. (2011)** *Brachypodium*'un verim özellikleri ve sakkarifikasyon potansiyelindeki doğal varyasyonu araştırdıkları çalışmalarında, Bd21, Bd21-3 ve 4 yabancı aksesyonunun (pi185133, pi185134, pi245730 ve pi254867) toplam dal sayısı, kuru madde miktarı ve tohum verimi gibi özelliklerinde önemli farklılıklar tespit etmişlerdir. Aksesyonların sakkarifikasyon potansiyellerinin 132,75 mg glikoz/g biyokütle (pi185133) ve 187,23 mg glikoz/g biyokütle (pi254867) arasında değiştiğini, Bd21 ve Bd21-3 aksesyonlarında orta düzeyde (sırasıyla 151,27 ve 155,56 mg glikoz/g biyokütle) şeker salınımı görüldüğünü rapor etmişlerdir.

**Jamet ve ark. (2011)** hücre duvarı genişlemesinde ve ikinci duvar oluşumunda rol oynayan hücre duvarı proteinlerini tanımlamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında; yaklaşık 360 hücre duvarı proteinini tanımladıklarını, bu proteinlerin bazılarının genç veya olgun organlarda daha bol bulunduğunu bildirmişlerdir.

**Legay ve ark. (2011)** farklı ikincil hücre duvarı polimerlerine dair yaptıkları çalışmada, seçtikleri 22 doğal *Brachypodium* aksesyonunu toplam biyokütle üretimi bakımından 3 gruba ayırmışlar ve aksesyonlar arasında lignin ve polisakarit yapısında büyük bir varyasyon olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca hücre duvarı yapı farklılığının biyoetanol üretimi üzerindeki potansiyel etkisini sakkarifikasyon analizleri yoluyla değerlendirmişlerdir.

Bitkilerde Lignoselülozik biyokütle polisakkaritlerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır.. Lignosellülozun parçalanması oldukça zordur. Bu nedenle enerji üretmeden önce fermente şekerlere dönüştürmek için pahalı enzim uygulamaları gerektirmektedir..

**Marriott ve ark. (2011)** çalışmalarında bitki dokularının sakkarifikasyonundaki farklılıkları güvenilir bir şekilde tespit edebilen, çok sayıda numuneyi az miktarda insan müdahalesi gerektirecek şekilde hızlıca işleme kabiliyetine sahip, 96 tabaka formatında sakkarifikasyon analizi gerçekleştirebilecek analitik bir platform geliştirmişlerdir. Kimyasal olarak mutasyona uğramış iki popülasyonu (INRA ve USDA'dan) taradıklarında ise şeker salınımında nispeten fazla miktarda varyasyon olduğunu (% +70 ve % -50) belirlemişlerdir.

**Meineke ve ark. (2011)** çalışmalarında, *B. distachyon* ile potansiyel biyokütle sağlayan monokotil bitkilerden buğday, mısır ve *Miscanthus x giganteus*' tan aldıkları yaprak ve saplardan etanol üretimi ve hücre duvarı yapısını karşılaştırmışlardır. Çalışmaları sonunda; *B. distachyon*' in hücre duvarı yapısının ve fermantasyon özelliklerinin test edilen tahıllar ile benzerlik gösterdiğini, verilere bakıldığında en yüksek korelasyonun yakın akraba olan buğday ile değil, mısır ve *M. giganteus* ile olduğunu belirtmişler ve enerji üretimi için kullanılan tahıllarda hücre duvarı değişikliklerinin lignoselülozik etanol üretimi üzerindeki etkisini araştırmak için model bitki olarak *B. distachyon*'ı önermişlerdir.



### 2.3. Morfolojik Özellikler, Tohum Yapısı ve Gelişimi ile İlgili Çalışmalar

Morfolojik özellikler tıpkı genetik özellikler gibi canlıların sınıflandırılmasında oldukça önemlidir. Bitkinin boyu, çiçek yapısı, meyve yapısı, dal sayısı, tohum miktarı, gelişme basamakları ve benzeri gibi bazı özellikleri bitkilerin yakın akrabalarından kolayca ayrılmasını sağlamaktadır. *B. distachyon*'un bir model bitki olmasından dolayı çiçeklenmesi araştırmacılar için önemlidir. *Brachypodium*'u laboratuvarlarında model olarak kullanan araştırmacılar çiçeklenme için bitkinin vernalizasyona ihtiyaç duyduğunu rapor etmişlerdir (**Draper ve ark. 2001**). Ancak vernalizasyon süresinin iyi ayarlanması gerektiği, uzun vernalizasyonun çiçek açmayı engellediği, dal - sap sayısını, kardeşlenmeyi ve tohum üretimini azalttığını; hatlar arasında başaklı sap sayısı, sap başına tohum sayısı ve saplar ile tohumların birleşme şekilleri bakımından varyasyonlara neden olduğu bildirilmiştir (**Vogel ve ark. 2009**). 2002 yılında Ulusal Bitki Germplasm Sistemi araştırmacıları *Brachypodium*'un vernalizasyona ihtiyaç duymadan serada yetiştirerek tohum elde etmeyi başarmışlardır (**Garvin ve ark. 2008**).

**Vogel ve Bragg (2009)** yaptıkları çalışmada ülkemizin kuzey ve iç kısımlarından toplanan Bd1-1, Bd18-1 (Kaman- Kırşehir) ve NA hatlarının vernalizasyon ihtiyaçlarının 8-12 hafta, güney kesimlerinden toplanan hatların 4-6 hafta, Irak gibi daha güneyden toplanan hatların ise 2-3 haftada vernalize olduklarını açıklamışlardır. Ayrıca bir grup kendilenmiş hattın (Bd2-1, Bd3-1, Bd21, Bd21-3) uzun gün koşulları altında (20 saat ışık, 4 saat karanlık) yetiştirildiğinde vernalizasyon ihtiyaçlarının olmadığını bildirmişlerdir.

Morfolojik çalışmalarda lokasyon ve deniz seviyesinden yüksekliğin morfolojik özelliklere etkisi en fazla dikkat çeken konulardandır. **Filiz ve ark. (2009a)** Türkiye'nin 45 farklı coğrafik bölgesinden topladıkları 164 aksesyonun moleküler (çekirdek ve organel genetik yapısı), biyolojik ve sitolojik çeşitliliğini araştırdıkları çalışmalarında; 146 saf hat oluşturduklarını; hatların çiçeklenme zamanının 7-22 hafta, tohum üretiminin 4-193 tohum/bitki ve biomasın 15-77 gr arasında değiştiğini açıklamışlardır.

**Vogel ve ark. (2009)** Türkiye'den 56 farklı lokasyondan toplanan 187 diploid hatları kullanarak yaptıkları çalışmalarında tohum ağırlığının 2,5 -5,9 mg/tohum arasında değiştiğini, ortalama tohum büyüklüğünün 4,1 mg/tohum olduğunu, lokasyonlara göre tohum ağırlıkları arasında önemli farklılıklar bulunduğunu ve Tekirdağ'dan gelen hatların (ortalama 3,3 mg/tohum) diğer hatlara göre (ortalama 4,3 mg/tohum) en düşük ağırlığa sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca Tekirdağ hatlarının lemmaları üzerinde çok kısa tüylerin bulunduğunu, genel olarak diğer hatların lemmalarının çok tüylü olduğunu; Bd18-1 tohumlarında Tekirdağ hatlarına benzer tüylerin bulunduğunu rapor etmişlerdir.

**Neji ve ark. (2011)** Tunus ‘tan topladıkları 9 popülasyonu 18 morfo-fenolojik özellik bakımından karakterize etmişlerdir. 180 hattan elde ettikleri verileri istatistikî olarak değerlendirdiklerinde popülasyonlar arasında tüm özellikler için farklılıklar olduğunu, popülasyon içi ve popülasyonlar arası akrabalıkta fenotipik özellikler arasındaki çeşitliliğin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Popülasyonlar arasında başak çıkarma tarihi, sap başına internod sayısı, yaprak uzunluğu ile şeklindeki (form) çeşitliliğin, popülasyon içinde ise diğer özelliklerdeki çeşitliliğin hakim olduğunu belirlemişlerdir. Popülasyonlar arasındaki benzerlikleri analiz ederek elde ettikleri dendogramda belirgin bir coğrafi yapılanmayı yansıtan iki grup tespit etmişlerdir.

**Jaroszewich ve ark. (2012)** İran, Pakistan, Yunanistan, Fransa, İspanya, Afganistan, Türkiye, Fas, İtalya, Portekiz, Avustralya ve Bulgaristan’dan toplanan *B. distachyon* aksesyonlarının morfolojik varyasyonunu belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında; bitkilerin vejetasyon süreleri ve fazları arasında farklılıklar olduğunu, bunun doğal popülasyonların kendilenmiş hatlarınının karışımından kaynaklandığını ve bu nedenle popülasyonların özellikle çiçeklenme periyotlarının büyük farklılıklar gösterdiğini, bu farklılıkların türe doğal seleksiyon sırasında avantaj sağladığını belirtmişlerdir.

**Öney (2013)** Türkiye’nin 110 farklı lokasyonundan toplamış olduğu *B. distachyon* popülasyonlarının morfolojik özelliklerini araştırdığı çalışmasında; Akdeniz Bölgesinde yayılış gösteren diploid ekotiplerin kısa boylu (5-18 cm), cılız, çevresel koşullardan kolaylıkla etkilenebilen, dik, seyrek başaklı, açık sarı renkte, tohum boyları 6,11- 8,54mm arasında değişen, kılçık uzunlukları 6,82- 14,41 mm aralığında, 1-4 adet başaklı, 1-6 adet başakçıklı olduğunu tespit etmiştir. Tetraploidlerin ise bitki boyunun diploid ekotiplerden 2-3 kat daha fazla (18 -33 cm), dik, yarı yatık ve yatık formalarda, dolgun başaklı, sık başakçıklı, tohumlar koyu kahverengi renkte ve 6,84- 8,86 mm boy uzunluğuna sahip, kılçık uzunlukları 8,78- 14,94 mm aralığında, 1-4 başaklı, 1-5 başakçıklı olduğunu belirlemiştir. Ayrıca tetraploid popülasyonlarda 800 m’ye kadar deniz seviyesinden yükseklik ile bitki boyu arasında pozitif, 800 m’den sonra negatif korelasyon olduğunu, tetraploid aksesyonlarda kılçık uzunluğu ile yükseklik arasında negatif bir ilişki bulunurken tohum boyları ile yükseklik arasında herhangi bir ilişki bulunmadığını, yükseklik artışına bağlı olarak diploid ve tetraploid popülasyonlarda başak ve başakçık sayısında azalma olduğunu rapor etmiştir.

*Brachypodium*’un morfolojik özellikleri ve gelişim basamaklarının buğday, arpa...gibi bitkiler ile karşılaştırmalı olarak incelendiği çalışmalar da model bitki açısından büyük önem taşımaktadır. **Watt ve ark. (2009)** *Brachypodium* ve buğdayın, kök ve

gövdelerinin gelişmeleri ile anatomik yapılarının yüksek oranda benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Ancak *Brachypodium*'un (1) buğdaya (3-5) göre daha az sayıda ligulaya sahip olduğunu ve tohum üzerinde uzun bir mezokotil taşıdığını rapor etmişlerdir.

**Hands ve ark. (2011)** çalışmalarında, *B. distachyon*'ın tane yapısını ve gelişimini kültüre alınmış buğday taneleri ile karşılaştırmışlardır. *Brachypodium* ve buğday taneleri arasında endosperm doku organizasyonunda, doku yapısında ve depolama rezervlerinde farklılıklar olduğunu, *Brachypodium* tanesindeki aleuron katmanının buğdaydaki kadar belirgin veya bölgesel olarak farklılaşmadığını ve modifiye edilmiş bir aleuron bölgesi bulunmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca, merkezi endospermdeki hücre duvarları ile epidermisin belirgin ve tanecik gelişimi boyunca kalıcı olduğunu; bu önemli tanecik yapısal farklılıkların *Brachypodium*'un filogenetik pozisyonunu ve *Triticeae* ile çeltik arasında olan pozisyonunu yansıttığını ifade etmişlerdir.

**Opanowicz ve ark. (2011)** *Brachypodium*'un endosperm gelişimini inceledikleri çalışmalarında; aleuron bölgesinin buğday gibi farklılaşmadığını, merkez endosperm ve nucellar epidermisin bir depolama materyali olarak kullanılabildiğini ve hücre duvarları bileşiminin buğdaydan çok arpa ile yulafa yakın olduğunu açıklamışlardır.

**Tanackovic ve ark. (2011)** çalışmalarında, Bd21 ve Bd21-3 hatlarının nişasta granüllerinin amilopektin zincir uzunluğu dağılımını, fosfat ve amiloz içeriğini mikroskopik, kimyasal ve yapısal olarak inceleyip arpa ile karşılaştırmışlardır. Hatların çekirdek nişasta içeriği ve nişasta granül boyutunun arpadan (*Hordeum vulgare*) önemli derecede düşük,  $\beta$ -glükan içeriğinin ise arpadan çok daha yüksek olduğunu ve bu verilerin hatların yapısal açıdan tahıllara yakın akraba olduğuna kanıt olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır.

**Guillon ve ark. (2012)** *Brachypodium* karyopsisinin gelişimini üç ana evreye ayırdıkları çalışmalarında,  $\beta$ -glukanların ağırlıklı olarak endospermde depolandığını ve birikme düzeninde birikme düzeninde lokal varyasyonlar görüldüğünü, diğer tahıllar ile karşılaştırıldığında *Brachypodium*'da yeni  $\beta$ -glukanların tespit edildiğini ve nişasta azaldığında  $\beta$ -glukanlarına karbonhidrat deposu görevi gördüğünü açıklamışlardır. Karyopsiste yüksek miktarda protein (örn.: globulin ve prolamin) bulunduğunu, bu proteinlerin çeltikte de bulunduğunu ancak Pooideae için sıra dışı olan iki farklı alt hücresel yapıda depolandığını, gelişimin son aşamasında tanenin kurumasına rağmen kuru madde miktarının oldukça sabit kaldığını bildirmişlerdir.

Morfolojik özellikler ile ilgili çalışmalara **Benjamin ve ark. (2011)** ile **Catalan ve ark. (2011)**'ın yaptığı çalışmalar ve **Poire ve ark. (2011)**'in geliştirdiği yöntemler de güzel örneklerdir. **Benjamin ve ark. (2011)** kontrollü çevre koşulları [22°C, % 65 Nem, 20s ışık,

95  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (LED aydınlatma)] altında geliştirdikleri *B. distachyon*'un (Bd21-1) organlarının kuru ve taze kütlelerini ekimden itibaren her yedi günde bir ölçmüşler ve 70 günlük bitkilerde ana sap, kök filizleri ve başakçıkları saymışlardır. Taze ve kuru filiz biyokütlesi veriminin maksimum oranlarının sırasıyla 29,5 ve 14,1 mg/gün olduğunu ve bu değerlere ekim sonrası 49. ve 72. günlerde ulaşıldığını, 42. günde tesadüfi köklerin taze kütlelerinin seminal köklerden önemli derecede yüksek olduğunu; taze ve kuru kök biyokütlesi veriminin maksimum oranlarının sırasıyla 6,9 ve 0,8 mg/gün olduğunu ve bu değerlerin 37. ve 43. günlerden sonra elde edildiğini bildirmişlerdir.

**Catalan ve ark. (2011)** üç farklı *B. distachyon* sitotipini ayırdedebilmek için yaptıkları çalışmada 15 morfoanatomik özellik incelemiştir. Bu özelliklerden 12 tanesi kantitatif özelliklerdir. Çalışmaları sonunda bitki yüksekliğinin  $26,1 \pm 5,6^b$ , bayrak yaprak uzunluğunun  $6,7 \pm 1,3^b$ , bayrak yaprak genişliğinin  $2,8 \pm 0,3^b$ , yaprak stoma uzunluğunun  $23,2 \pm 2,5^c$ , çiçeklenme süresinin  $3,2 \pm 1,1^a$ , başakçık uzunluğunun  $16,3 \pm 3,1^b$ , başakçık uzunluğunun (tabanından dördüncü lemmanın apekse, dikenlerin olmadan)  $12,7 \pm 0,7^b$ , üst kavuz uzunluğunun  $7,2 \pm 0,6^b$ , lemma uzunluğunun  $8,1 \pm 0,6^c$ , kılçık uzunluğunun  $11,4 \pm 1,1^a$ , karyopsis uzunluğunun  $6,7 \pm 0,3^a$ , polen tane boyutunun  $29,9 \pm 1,8^c$ , culm yüksekliğinin  $3,3 \pm 0,9^a$ , çiçeklenme başına başakçık sayısının  $2,7 \pm 0,9^a$  ve çiçeklenme başına çiçek sayısının  $7,0 \pm 1,5^b$  olduğunu belirlemiştir.

**Poire ve ark. (2011)** *Brachypodium*'da büyüme, biyokütle, fotosentez, kök büyümesi ve yapısının incelenmesi amacıyla bir dizi analizler geliştirmişlerdir. Doğal ortamda yetişen *Brachypodium*'ların fenotiplerinde, özellikle toplam kök uzunluklarında, kök tiplerinde (nodal ve seminal kök sistemleri) ve filiz/kök oranında önemli varyasyonların görüldüğünü; bu fenotipik özelliklerin optimal kombinasyonunu tanımlamak ve altta yatan sorumlu genomik bölgeleri tespit etmek amacıyla çelişen ekotipleri, sınırlı su ve besin maddeleri altında yetiştirerek, yüksek çözünürlüklü görüntüleme analizi tekniklerini kullanmışlardır.

## 2.4.Sitogenetik Alanındaki Çalışmalar

Sitogenetik çalışmalar, model türlerden karmaşık olanlara kadar fiziksel/genetik haritalama için geliştirilen markörler, gen veya sekanslarının açıklanması ve incelenen özellikler sayesinde, tahıllarda oluşturulan atasal bitki genom yapısı, kromozom yapısı ve gen içeriğinde yüksek çözünürlüklü transkripsiyonel genomiklerin gerçekleştirilmesi gibi çalışmaları içine almaktadır. Bu konularda yapılan çeşitli çalışmalar aşağıda kısaca özetlenmiştir.

**Hasterok ve ark. (2004)** yaptıkları çalışmada, modern sitogenetik teknikler kullanarak *Brachypodium distachyon*'ın poliploid ekotiplerinin sitotaksonomisini ilk kez incelemişlerdir. rDNA ve genomik DNA problemleri kullanılarak yapılmış olan in situ hybridization analizleri ile poliploid ekotiplerin kompleks evrimi ve hybrid orijinleri açığa çıkarılmıştır.

**Olsen ve ark. (2006)** çok yıllık çim ve *Arabidopsis*'ten aldıkları LpTFL1 ve TFL1 genlerini iki farklı *B. distachyon* aksesyonuna uygulamışlardır. LpTFL1 ve TFL1'nin her iki aksesyonda da çiçeklenmeyi baskıladığını ve T1 jenerasyonundaki bitkilerde başak oluşumunun 10 hafta geciktiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca *B. distachyon*'ın kısa hayat döngüsü ve hızlı transformasyon sistemi sayesinde ilk yıl içinde T1 jenerasyonunda başaklanma tarihi analizlerinin yapılabildiğini açıklamışlardır.

**Vogel ve ark. (2006b)** yaptıkları çalışmada, yapraklar, yaprak sapı ve kınları, kökler, kallus ve gelişmekte olan tohumlu başaklardan oluşan beş cDNA kaynağından 20,440 (ESTs) fonksiyonel gen segmenti sıralamışlardır. Çalışmalarında, EST'lerin ortalama 650 bp uzunluğunda kesildiğini, yıkılan nükleotid dizilerinin SwissProt ve GenBank veritabanları karşılaştırılarak sıralandığını, toplam EST'lerin % 99,9'unun mevcut protein veya nükleotid dizileri ile bazı benzerlikler gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, Lignin altbirimlerinin biyosentezinde rol oynayan genlerin homologlarını belirlediklerini, bu EST koleksiyonunun hücre duvarı yapısının incelenmesinde yararlı olacağını; filogenetik analizler için kullandıkları bir ESTs ikincil dizisinin *Brachypodium* ile buğday ve arpa arasında yakın ilişkiyi desteklediğini açıklamışlardır.

**Huo ve ark. (2008)** *Brachypodium* nükleer genomunun % 10,9 'unu kapsayan 64,696 adet BAC ve BES markörü tanımladıkları çalışmalarında, genomun %11'inin tekrarlı DNA dizilerinin oluşturduğunu belirlemişlerdir.

**Filiz ve ark. (2009b)** Türkiye'nin 45 farklı coğrafik bölgesinden topladıkları 164 aksesyondan elde ettikleri 146 saf hattı kullandıkları çalışmalarında; bu hatlardan 116 tanesinin diploid olduğunu, ve yapılan AFLP analizlerine göre hatların büyük bir genetic

çeşitliliğe sahip olduğunu saptamışlardır. Ancak organel genom bakımından çeşitliliğin gerek hatlar içi ve gerekse hatlar arasında oldukça düşük olduğu saptanmıştır. Bununla beraber yapılan bu çalışmada kullanılan hatların coğrafik dağılımının, çekirdek veya organel genomunun çeşitliliği ile önemli bir bağlantısının olmadığı tespit edilmiştir.

**Kisha ve ark. (2009)** AFLP ve TRAP markörleri kullanarak USDA'dan temin ettikleri 30 *Brachypodium* aksesyonunda genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada aksesyonların genetik özelliklerine göre Orta Doğu, Kafkasya-Irak ve diğerleri (Güney Afrika, Avustralya, Avrupa, Kuzey Afrika ve Güney Amerika) şeklinde 3 grup oluşturduğunu, ve aksesyonlar arasında genetik çeşitliliğin çok düşük olduğunu saptamışlardır.

**Unver ve Budak (2009)** yaptıkları çalışmada, bazı miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin önceden belirlenenden farklı ve bazılarının yaprak dokularındakilere benzer olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu miRNA'ları kullanarak, *B. distachyon*'ın NCBI EST veritabanında 27 potansiyel hedef mRNA'yı ve bitki türlerinde protein kodlayan nükleotid (mRNA) NCBI veritabanında 246 hedef mRNA'yı tahmin etmişlerdir. Ayrıca hedef mRNA'ların çoğunluğunun bitki gelişimi, morfolojisi ve çiçeklenme zamanını düzenleyen transkripsiyon faktörlerini şifrelediğini açıklamışlardır.

**Kumar ve ark. (2009)** çalışmalarında *Brachypodium*, buğday ve çeltik genomları arasındaki orthologous ilişkisini araştırmak için çakışan *Brachypodium* EST'leri kullanmışlardır. Yaptıkları dizi analizlerinde, çakışan 3,818 *Brachypodium* EST'si (bEST) ile 3,792 buğday EST'sinin (wEST) fiziksel olarak eşlendiğini, çakışan 449 bEST'in buğdayın 21 kromozomunun orthologous alanlarının tümünde 1,154 wEST ile eşlenmeler oluşturduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, benzer olarak çeltiğin 12 kromozomunda da çakışan 743 bEST'in çeltiğin özel gen diziliminde yayıldığını, çakışan 183 bEST'in buğday ve çeltik gen dizilimlerinin her ikisinde de bulunduğunu tespit etmişlerdir.

**Vogel ve ark. (2009)** çalışmalarında, Türkiye'den farklı lokasyonlardan toplayarak geliştirdikleri 84 kendilenmiş hattın genotipik karakterizasyonu inceleyebilmek için BAC ve EST dizilerinden 398 SSR markörü oluşturmuşlardır. 56 lokasyondan 187 diplod hattı 43 SSR markörü ile analiz ettiklerinde hatların önemli genetik çeşitliliğe sahip olduğunu, genotipler ile geniş coğrafi bölgeler arasında bazı korelasyonlar olduğunu, ancak o bölgelerdeki farklı lokasyonlarda yüksek düzeyde genotipik çeşitlilik belirlendiğini açıklamışlardır. Genetik çeşitliliğin çiçeklenme zamanı, tohum büyüklüğü ve bitki yapısındaki değişiklikleri ortaya çıkardığını belirttikleri çalışmalarında *Brachypodium*'ların doğal kendilleştirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

**Wolny ve Hasterok (2009)** *Brachypodium* cinsinin (*B. arbuscual*, *B. retusum*, *B. rupestre*, *B. phoenicoides*, *B. pinnatum*, *B. distachyon* ve *B. sylvaticum*) genomlarında karşılaştırmalı sitogenetik analizler yapmışlardır. Cins içerisinde en az kromozom sayısının  $2n=10$  ile *B. distachyon*' a, en fazla kromozom sayısının  $2n=38$  ile *B. retusum*'a ait olduğunu, en küçük genom büyüklüğünün  $0,631\text{pg}/2C$  ile *B. distachyon*, en büyük genom büyüklüğünün ise  $2,57\text{ pg}/2C$  ile *B. retusum* türünde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları GISH analizleri sonucunda  $2n=28$  kromozomlu *B. pinnatum* türünün, *B. distachyon* ( $2n=10$ ) ve *B. pinnatum* ( $2n=18$ ) türleri arasında interspesifik bir hibrit olduğunu ve *B. retusum* ile *B. phoenicoides* türlerinin allopolyploid olduğunu açıklamışlardır

**Bevan ve ark. (2010)** çalışmalarında, *Brachypodium distachyon*'ın kompakt genomunun tam dizilimini açıklamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları deneylerde birçok olumlu özelliğini kanıtladıkları *Brachypodium* 'un büyük ve karmaşık genomlu yakın akraba bitkiler için nasıl kullanılabileceğini göstermişlerdir.

**Demircan ve Akkaya (2010)** yaptıkları çalışmada, RNA interferans yoluyla gen fonksiyon kaybına hızlı ve etkili bir yöntem olan, virüs kaynaklı gen susturulması (VIGS) metodunu ilk kez gerçekleştirmişlerdir. Çalışmaları sonunda bitki enfeksiyonundan sonra qRT-PCR ile *Pds* geninin ifadesinin azaldığının doğrulandığını, BSMV (Barley Stripe Mosaic Virus) enfeksiyonunun etkisinin GFP şifresi için oluşturulan vektörün kopyası ile test edildiğini, bu model organizmada bitkisel genlerin fonksiyonlarını değerlendirmek için VIGS aracılığıyla BSMV'nin kanıtlanmasının önemli bir adım olduğunu açıklamışlardır.

**Garvin ve ark. (2010)** çalışmalarında, diploid Bd3-1 ve Bd21 hatlarını çaprazlayarak elde ettikleri F<sub>2</sub> populasyonuna ait 1386 cm uzunluğunda ve 20 bağlantı grubu arasında dağıtılmış 139 markörü içeren bir genetik bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Ayrıca bu bağlantı haritası ile çeltik genomik sekansı arasındaki önemli makrosynteni bölgelerini belirlemişlerdir.

**Breiman ve ark. (2011)** çalışmalarında Tel-Aviv Üniversitesi Tahıl Bitkileri Geliştirme Enstitüsü'nde bulunan koleksiyonda yer alan Bd aksesyonlarından 272 bitkinin DNA içeriğini incelemişler ve 23 bölgeden toplanan 93 bitkinin diploid BD21 hattı ile benzer DNA içeriğine sahip olduğunu, diğerlerinin ise 2 kat DNA içerdiğini ve büyük olasılıkla allopoliploidi olduklarını açıklamışlardır.

**Huo ve ark. (2011)** tek nükleotid polimorfizmi (SNP) markörleri ve F<sub>2</sub> populasyonundan 476 birey kullanarak *Brachypodium*' un yeni bir genetik bağlantı haritasını geliştirmişlerdir.

**Mochida ve ark. (2011)** yaptıkları çalışmada, biyotinlenmiş CAP tutucu yöntemini kullanarak *Brachypodium distachyon* Bd21 suşunun çeşitli dokularından cDNA kütüphanesi oluşturmuşlardır. Ayrıca, Pooideae'deki ortholog kaynaklarını güncellemek için *Brachypodium*, buğday ve arpanın tam uzunlukta cDNA veri grubunun karşılaştırmalı analizlerini gerçekleştirdiklerini ve bu bilgileri diğer bilgiler ile entegre edebilmek için veri tabanı (RIKEN BrahcyFLcDNA DB ) oluşturduklarını açıklamışlardır.

**Mur ve ark. (2011a)** çalışmalarında İtalya, Fransa, Bulgaristan, Kuzey ve Güney İspanya, Fas ve İsrail işbirliği ile bu ülkelerden toplanan *Brachypodium distachyon* ve *Brachypodium hybridum*'lar dan gen kaynakları koleksiyonu oluşturduklarını ve gen kaynakları içindeki genetik çeşitliliğin mikrosatellit bölgelerindeki polimorfizm ile değerlendirdiklerini bildirmişlerdir. Aksesyonlardaki genetik çeşitliliğin, Batı ve Doğu Avrupa aksesyonları ile *Brachypodium* türleri arasındaki farklı polimorfizmlerden ve coğrafik menşeyden kaynaklandığını açıklamışlardır.

**Osmont ve ark. (2011)** yaptıkları çalışmada '*BdCESA*, *BdCESA3*, *BdCESA6* ve *BdCESA9* genlerinin *Brachypodium* köklerinde en fazla ifade edilen genler olduğunu belirlemişler ve bu genlerin ifadesini bozmak için bir dizi suni mikroRNA (amiR) yapısı geliştirmişlerdir.

**Sablok ve ark. (2011)** yaptıkları çalışmada, homoloji haritalama yöntemini kullanarak *B. distachyon*' da 128 yeni alternatif birleşme bölgesi tespit etmişlerdir. Bu bitkideki alternatif birleşme olaylarının (% 53) bitkilerdeki intron yakalamada önemli model olduğunu belirtmişlerdir.

**Pacheco-Villalobos ve ark. (2011)** ilk olarak *Arabidopsis thaliana*'da tanımlanan BRX (*BREVIS RADIX*) geninin doğal varyasyonunu 174 *Brachypodium* aksesyonundan elde etmişler ve *BRX-like* genlerini (*BdBRXL-1* ve 5 arası) yüksek verimlilik düzeyine göre bir havuzda sıralamışlardır. Ayrıca tek çenekli bitkilerde BRX benzeri genlerin fonksiyonunu daha fazla inceleyebilmek için çeşitli yapay microRNA (amiRNA) yapıları taşıyan *Brachypodium* transgenik hatları oluşturmuşlardır.

**Tuna ve ark. (2011)** Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden topladıkları *Brachypodium distachyon* aksesyonlarında çekirdek DNA içeriğinin diploidlerde 0,70 pg/2C, tetraploidlerde ise 1,30 pg/2C olduğunu rapor etmişlerdir. Bitkilerin yaklaşık olarak % 25 'inin tetraploid, 75%'inin ise diplod olduğunu, diploid ve tetraploidlerin bazı alanlarda ortak habitatı paylaştıklarını, ancak diploidlerin nispeten daha nemli ve verimli alanlarda, tetraploidlerin ise denize yakın veya sıcak ve kuru alanlarda dağılım gösterdiklerini açıklamışlardır.



**Vain ve ark. (2011)** *Brachypodium distachyon*'ın BrachyTAG mutant popülasyonunu araştırdıkları çalışmalarında, nükleer genomda mevcut iki ökaryotik başlatma faktörü 4A (eIF4A) genlerinden birinde eklenmiş bir T-DNA taşıyan bir çizgi belirlediklerini ve homozigot mutant eif4a bitkilerinin yavaş geliştiğini, ancak *Arabidopsis* eIF4A-1 geninin genomik kopyasını içeren homozigot mutant *Brachypodium* bitkilerinde kısmen böyle bir sorun yaşanmadığını, monokotil ve dikotillerde bu genin işlevini koruduğunu bildirmişlerdir.

**Vain ve Thole (2011)** çalışmalarında, *Brachypodium*'da T-DNA etiketlemeyi ve tutmayı kolaylaştırmak için Yeni İkili Vektörler (pBrachyTAG) geliştirmişlerdir.

**Vogel (2011)** doğal varyasyonu bir araç olarak kullanacak çalışmalar için 56 doğal aksesyonun genetik yapısını Birleşik Devletler Enerji Bakanlığı Ortak Genom Enstitüsü vasıtasıyla yeniden sıralamayı amaçladıkları çalışmalarında ilk altı aksesyonun analizlerini tamamlamıştır. Çalışması sonunda SNP frekanslarının SNP başına 200- 600 baz çifti arasında değiştiğini ve çok büyük çeşitlilik gösterdiğini, doğal aksesyonların fenotipik analizi için homozigot T-DNA dizileri oluşturulduğunu açıklamıştır. Ayrıca çok yıllık olmanın genetik temelini anlayabilmek için çalışmalarında *B. sylvaticum* 'u kullanıldığını bildirmiştir.

**Wannes ve ark. (2011)** *Brachypodium* Bd21-3 bitkilerinde transformasyon ve mutasyon yoluyla biyokütle üretiminin artırılması, hücre duvarının sindirilebilirliğini geliştirmek üzere yapmış oldukları çalışmada; Bd21-3 TILLING popülasyonunda 4-coumarate ligase (*4CL*) genindeki mutasyonları inceleyerek ondört mutant tanımlamışlardır. Lignin birikimi azaldığında verimin düştüğünü ve *Arabidopsis*'de bulunan *GA20ox1* geni kullanılarak bitkinin biyokütle veriminin artırılabilirliğini bildirmişlerdir.

**Wolny ve ark. (2011)** tek yıllık, 5 temel kromozom içeren, diploid bir tür olan *Brachypodium distachyon*'ın, bu cinse ait temel kromozom sayıları 8 veya 9 olan, çok yıllık ve çoğunlukla polyploid olan diğer Avrasya türlerinden çarpıcı bir şekilde farklı olduğunu belirlemişlerdir. *B. distachyon* ile çeltiğin bir kromozom üzerinde geniş ölçüde aynı gen dizilimini koruduklarını ve *B. distachyon*'ın diğer türlerden erken ayrıldığını açıklamışlardır.

**Hernando-Amado ve ark. (2012)** yapmış oldukları çalışmada, *B. distachyon* genomunda 27 Dof (DNA binding with One Finger) geni tespit etmişler ve *Oryza sativa* ile *Hordeum vulgare* 'nin Dof'ları ile filogenetik olarak karşılaştırmışlardır. Çalışmaları sonunda, *Brachypodium* ile bazı tahıl türlerinin DOF genleri ifade profillerinin yakından ilişkili olduğunu ve bazı orthologousların ortak olarak muhafaza edildiğini açıklamışlardır.

**Filiz (2012)** yaptığı çalışmada, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde dağılım gösteren *B. distachyon* genotiplerinin kloroplast ve mitokondri DNA'larını kullanarak PCR-RFLP tekniğiyle genetik çeşitliliği değerlendirmiştir. Çalışma sonunda, sekiz primer-enzim

kombinasyonundan toplam 224 DNA bandı elde edildiğini ve bu bantlardan 54 tanesinin (% 22) polimorfik olduğunu, mtDNA polimorfizminin (%29) cpDNA polimorfizmden (%9,6) daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Düşük sıcaklığa dayanıklılık için buz rekristalizasyon inhibisyon proteini genleri (IRIP), fructosyltransferase genleri (FST) ve birçok C-tekrar bağlama faktörü genleri (CBF) *Pooideae* için özel ve önemlidir. **Li ve ark. (2012)** tarımsal açıdan önemli buğdaygiller için *B. distachyon*'un bir model tür olarak potansiyelini anlamak ve belirtilen gen ailelerinin korunması ile evrimini inceleyebilmek için yaptıkları çalışmada; *B. distachyon*'un soğuğa duyarlı IRIP ve CBF3 genlerini içerdiğini, ancak genomunda CBF4 geninin bulunmadığını, FST genleri ile kontrol edilen çekirdekteki Fruktan birikiminin *B. distachyon*'da büyük ölçüde farklı olduğunu, *B. distachyon*'un *Pooideae* türlerinin düşük sıcaklığa yanıtları dahil belirli moleküler mekanizmalar için önemli bir model olarak hizmet edebileceğini açıklamışlardır

**Öney (2013)** Türkiye'nin 110 farklı lokasyonundan toplamış olduğu *B. distachyon* popülasyonlarının 77'sinin diploid, 33'ünün tetraploid olduğunu belirlediği çalışmada; diploid ekotiplerin genom büyüklüklerinin 0,74 pg/2C, tetraploidlerin ise 1,44 pg/2C olarak belirlendiğini, diploid popülasyondan 6 tanesinin polisomik (0,81- 0,92 pg/2C), 33 tetraploid aksesyonun 15'inin ise hipoploid (1,01- 1,26 pg/2C) olduğunu ve diploid aksesyonlarda 0-300 m'ye kadar genom büyüklüğü ile deniz seviyesinden yükseklik arasında pozitif korelasyon olduğunu ancak 300m'den sonra total genom miktarının azaldığını açıklamıştır.

## 2.5.Transformasyon ile İlgili Çalışmalar

Hedef dokulara transformasyonun etkili olabilmesi için üretilen embriyonik kallusların rejenerasyon yeteneğinin yüksek olması istenir. Ancak embriyonik kallusların rejenerasyon yetenekleri türler arasında hatta tek bir tür içinde bile fazlasıyla değişmektedir. Embriyonik kalluslar olgunlaşmamış *Brachypodium* embriyolarından üretilir (**Bablak ve ark. 1995, Draper ve ark. 2001, Christiansen ve ark. 2005**) ve çeşitli transformasyon sistemlerinin geliştirilmesi için kullanılır. Model bitki olarak kabul edilen bitkilerde etkin bir transformasyon sisteminin geliştirilmesi çok önemlidir (**Vogel ve ark.2006a**). Bu konuda yapılan bazı çalışmalar aşağıda özet olarak verilmiştir.

**Draper ve ark. (2001)** yaptıkları çalışmada olgunlaşmamış *B. distachyon* embriyolarının somatik embriyogenezis ile bitki rejenerasyonu için yüksek kapasite gösterdiğini ve rejenere olmuş bitkilerin çok düşük düzeyde albinizm göstermesine rağmen normal verimliliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Microprojectile bombardımanı ve higromisin seleksiyonu yöntemlerini kullanarak basit bir transformasyon sistemi geliştirdiklerini açıklamışlardır.

**Christiansen ve ark. (2005)** olgunlaşmamış embriyolardan elde ettikleri embriyonik kallusları, *uidA*( $\beta$ -glucuronidase) ve *bar* (phosphinothricin acetyl transferase) genleri ile bialaphos ve bir non-selektif herbisit ihtiva eden besi yerine transfer etmişlerdir.Oluşturdukları doku kültürünün her fazını seçim ajanı olarak kullanmışlardır. Çalışmaları sonucunda; ortalama % 5,3 dönüşüm verimliliği elde edildiğini ve tek bombardımanlı dönüşüm veriminin % 14'e kadar ulaştığını, embriyonik kallus bombardımanından transgenik T1 tohumlarının hasatına kadar diploidler için 29 hafta ve iki tetraploid aksesyonu için 5 hafta geçtiğini, yaşam döngüsü süresinin diploidler için 19 hafta ve tetraploid aksesyonlar için 15 hafta olduğunu ve 1 yıl içerisinde T 0 ile T 1 kuşaklarının yanı sıra T2 tohum üretimini de gerçekleştirdiklerini açıklamışlardır.

**Vogel ve ark. (2006a)** yaptıkları çalışmada, geliştirdiklerini *Agrobacterium* ile transformasyon protokolü ile 10-19 hattın başarılı bir şekilde test edildiğini, bu popülasyonların etkinlik derecelerine göre % 4'ten % 15'e kadar sıralandığını ve diploid Bd21 aksesyonunun kolayca transforme edildiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca transgenik jenerasyonda transgenlerin farklılık gösterdiğini ve hatların büyük bölümünde küçük genetik lokusların araya sıkıştığını açıklamışlardır.

**Pacurar ve ark. (2007)** yaptıkları çalışmada *Brachypodium distachyon* için *Agrobacterium* aracılı, yüksek verimli transformasyon sistemi geliştirmişlerdir. BDR018 aksesyonunun olgunlaşmamış embriyolarından elde ettikleri embriyonik kallusa

*Agrobacterium tumefaciens* suşu AGL1 ile iki parça T-DNA plasmidi, pDM805 ve pWBV-Ds-Ubi- bar-Ds transforme etmişlerdir. Çalışmaları sonunda 177 transgenik hattın pDM805 ile dönüştürüldüğünü, BASTA bütün hatların direnç gösterdiğini ve gusA genindeki başarının %88 olduğunu, bitkilerin %35' inde tek bir T-DNA birleşmesinin bulunduğunu ve Bialafos maddesi kullanıldığında transformatların %97'sinde tam uzunlukta entegrasyon belirlediklerini bildirmişlerdir.

**Vain ve ark. (2008)** yaptıkları çalışmada, olgunlaşmamış embriyolardan elde ettikleri kompakt embriyogenik kallusları (CEC) ve higromisin seleksiyonu ile ilgili proteini (GFP) kullanarak Bd21 hattı için, basit, verimli ve hızlı bir *Agrobacterium*-aracılı transformasyon sistemi geliştirmişlerdir. Çalışmaları sonunda, olgunlaşmamış embriyonik kalluslardan Bd21 bitkilerini geliştirdiklerini, seçim sürecinin süresini kontrol ettiklerini, transgenik bitkilerin rejenerasyonu için kültür ortamına CuSO<sub>4</sub> eklediklerini, kalluslardan %17 oranında transgenik bitki elde ettiklerini ve hatlara her deneyde T-DNA eklenerek yüzlerce transgenik bitki elde edilebileceğini rapor etmişlerdir.

**Vogel ve Hill (2008)** *Brachypodium*'dan bir model bitki olarak en üst düzeyde yararlanabilmek için geliştirdikleri *Agrobacterium* ile transformasyon sistemi sayesinde dönüştürülebilir bir kendilenmiş diploid hat (Bd21-3 ) belirlediklerini, transgenik bitkilerden elde edilen kalluslar kültüre alındığında % 41 gibi yüksek bir transformasyon verimliliği elde ettiklerini ve kültüre alma işleminin nemi alınmış (kuru) ortam şartlarında yapıldığında transformasyon etkinliğinin arttığını ifade etmişlerdir.

**Kumlehn ve ark. (2011)** *B. distachyon* fidelerinin sürgün segmentlerini kullanarak etkin bir bitki rejenerasyonunun gerçekleştiğini gösterdikleri çalışmalarında, elde ettikleri kallusa *Agrobacterium* kullanarak *hp*, *gfp*, *gus* -intron ve rapotör genlerini inoküle etmişlerdir. İnokülasyon sonra yüzden fazla bağımsız primer transgenik hatta ulaşıldığını, bu bitkilerde ve oğul döllerde rapotör gen ifadesinin gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. *B. distachyon*'da olgunlaşmamış polenden elde edilen embriyogenez ve bitki rejenerasyonu yöntemi uyguladıkları ikinci çalışmalarında, polen embriyogenezinin sıkça benzer genom dublikasyonu içerdiğinden dolayı sadece bir adımda tamamen homozigot mutant elde edilmesini ve transgenik dizilerin üretiminin kolaylaştırabileceğini bildirmişlerdir.

### 3.MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışmada, Tarla Bitkileri Bölümü Genetik Kaynak Koleksiyonunda bulunan, ülkemizin Marmara, Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri Florasında doğal olarak yayılış gösteren, 59 farklı lokasyondan toplanan *B. distachyon* aksesyonları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan aksesyonların numaraları, toplandıkları coğrafi bölge özellikleri ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan aksesyonlar ve toplandıkları coğrafik bölgeler

Sıra No:	Aksesyon No:	Lokasyon	Enlem	Boylam	Yükseklik (m)
1	3	Çakmak- Edirne	N 41° 23.438'	E 026° 39.637'	85 m (283feet)
2	4	Çiftlik-Uzunköprü	N 41° 15.686'	E 026° 37.298'	33m (111 feet)
3	8	Bıyıklı- Tekirdağ (2)	N 41° 02.028'	E 027° 22.162'	145m (482 feet)
4	11	Çeneköy- Hayrabolu	N 41° 12.029'	E 027° 11.192'	83m (275 feet)
5	12	Buzağıcı- Hayrabolu	N 41° 15.349'	E 027° 08.400'	53 m (177 feet)
6	13	BüyükKarıştıran- Kırklareli	N 41° 17.392'	E 027° 32.824'	78m (260 feet)
7	14	Kayı Köyü- Tekirdağ	N 41° 02.537'	E 027° 30.374'	216 m (720feet)
8	15	Yeşilsirt Köyü-Muratlı			
9	16	Seymen- Çorlu	N 41° 05.786'	E 027° 55.796'	107 m (357 feet)
10	37	Barağı- Keşan	N 40° 43.187'	E 026° 25.906'	18 m (60 feet)
11	38	Kılıçköy- Keşan	N 40° 47.768'	E 026° 34.282'	39 m (130 feet)
12	41	İzzetiye	N 40° 48.349'	E 026° D39.615'	99 m (329 feet)
13	42	Hasköy- Enez	N 40° 38.717'	E 026° 16.342'	37 m (124 feet)
14	62	Hasköy- Enez	N 40° 38.717'	E 026° 16.342'	37 m (124 feet)
15	63	Yenice Balya arası	N 39° 48.006'	E 027° 22.948'	350 m (1169 f)
16	65	Balıkesir merkez II Kütahya çıkışı	N 39° 41.131'	E 027° 58.782'	193 m (642feet)
17	66	Şehitlik II Çanakkale	N 40° 14.653'	E 026° 17.708'	182 m (605feet)
18	67	Harmancık- Kütahya	N 39° 40.773'	E 029° 08.846'	672 m (2240 f)
19	68	İlgardere-Gelibolu	N 40° 15.889'	E 026° 28.859'	18 m (60 feet)
20	69	İlgardere-Gelibolu	N 40° 15.889'	E 026° 28.859'	18 m (60 feet)
21	81	Çanakkale şehitlik	N 40° 15.339'	E 026° 18.774'	261 m (870feet)
22	83	TÜBİTAK MAM	N 40° 47.189'	E 029° 27.601'	178 m (593feet)
23	84	Ağva Şile yolu II	N 41° 05.347'	E 029° 45.249'	132 m (441feet)
24	85	Nevşehir'e 35 km'e kala	N 38° 50.440'	E 034° 33.266'	1174 m (3915 f)
25	86	Avanos-Nevşehir	N 38° 44.470'	E 034° 50.725'	1092 m (3640 f)
26	88	Avanos III Nevşehir	N 38° 44.536'	E 034° 50.289'	1139 m (3796 f)
27	89	Avanos 4 Nevşehir	N 38° 43.864'	E 034° 49.910'	967 m (3224 f)
28	90	18 Mart Üniv. Kampus	N 40° 06.910'	E 026° 25.482'	125 m (415feet)
29	91	Çanakkale Bursa Yolu Başlangıcı	N 38° 43.864'	E 034° 49.910'	47 m (155 feet)
30	92	Dursunbey- Balıkesir	N 39° 36.515'	E 028° 37.931'	665 m (2215 f)
31	93	Balya Yenice arası II	N 39° 46.888'	E 027° 24.375'	522 m (1740 f)

32	94	Balıkesir Merkez	N 39° 38.741'	E 027°46.100'	248 m(827 feet)
33	95	Balyadan sonra Balıkesir'e 40 km kala	N 39° 42.073'	E 027°33.289'	357 m (1190 f)
34	Bd 96	Pada Köyü Kepsut-Dursunbey arası Balıkesir	N 39° 44.669'	E 028°21.423'	498 m (1660 f)
35	97	Kütahya yolu Dursunbey-Harmancık arası	N 39° 39.306'	E 029°01.933'	606 m (2020 f)
36	99	Muğla	N 37° 07.545'	E 028°22.724'	624 m (2079 f)
37	100	Kütahya-Eskişehir arası	N 39° 34.643'	E 030°07.208'	927 m (3090 f)
38	105	Kütahya Tavşanlı çıkışı	N 39° 32.222'	E 029°38.014'	1011 m (3370 f)
39	108	Alanya	N 36° 36.539'	E 031°48.333'	18 m (59 feet)
40	109	Polatlı Haymana arası Polatlı çıkışı	N 39° 32.597'	E 032°13.909'	980 m (3265 f)
41	111	Polatlı- Haymana arası	N 39° 29.645'	E 032°26.810'	974 m (3246 f)
42	112	Kaymaz çıkışı Eskişehir	N 39° 29.650'	E 031°14.473'	1017 m (3390 f)
43	117	Kütahya'ya 10 km kala	N 39° 30.126'	E 029°52.618'	1035 m (3450 f)
44	Bis	Bismil- Diyarbakır	N 37° 52' 35.6''	D 41°0' 54.3''	159 m (529feet)
45	Gaz	Gaziantep	N 37° 7' 39.8''	D 37°23'26.9''	267 m (891 feet)
46	Koz	Kozluk- Batman	K 38 ° 9 '8.2.6 "	D 41 °36 '34.8 "	256 m (853feet)
47	Kah	Kahta- Adıyaman	N 37° 44' 2.3''	E 38°32'0.2''	200 m (665feet)
48	Adi	Adıyaman	N 37° 46' 14.5''	E 38°21'8.2''	153 m (510feet)
49	73	Milas-Muğla	N 37° 21.674'	E 027°41.217'	42 m (141 feet)
50	77	Bozyazı-Mersin	N 36° 05.815'	E 032°56.128'	17 m (57 feet)
51	102	Taşucu-Aydıncık arası Mersin	N 36° 15.694'	E 033°48.224'	211 m(702)feet)
52	103	Anamur-Gazipaşa arası Meleş Köyü Mersin	N 36° 02.464'	E 032°42.066'	136 m(452 feet)
53	106	Anamur-Gazipaşa arası Meleş Köyü Mersin	N 36° 02.464'	E 032°42.066'	136 m (452 feet)
54	10	Alanya- Antalya	N 36° 36.539'	E 031°48.333'	18 m (59 feet)
55	110	Antalya- Korkuteli yol başlangıcı	N 36° 57.506'	E 030°35.570'	300 m (1000 f)
56	113	Ölüdeniz- Fethiye	N 36° 33.013'	E 029°07.542'	20 m (65 feet)
57	114	Köyceğiz çıkışı Muğla	N 36° 59.520'	E 028°39.291'	33 m (111 feet)
58	122	Kuşadası-Aydın	N 37° 47.955'	E 027°18.279'	134 m (447feet)
59	124	Aydıncık çıkışı Mersin	N 36° 07.925'	E 033°16.702'	69 m (230 feet)

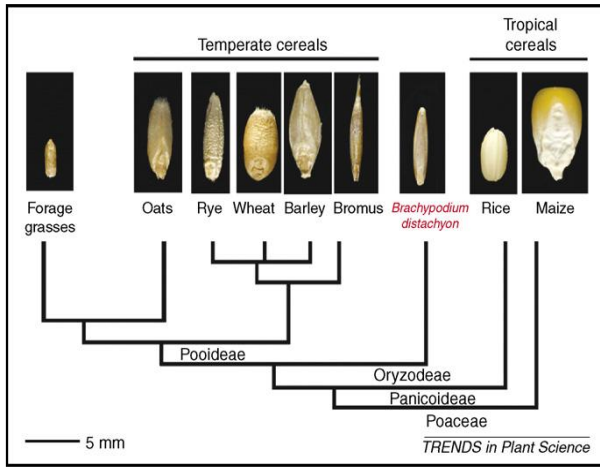
Materyal olarak kullanılan *Brachypodium distachyon*'un (L.)P. Beauv. filogenetik, sitogenetik ve morfolojik özellikleri ile neden *Arabidopsis* veya çeltik yerine model olarak tercih edildiği özetlenmiştir.

### 3.1.1. *Brachypodium distachyon* (L.)P. Beauv.’un filogenetik özellikleri

*Brachypodium* P. Beauv (alt sesil başakçıklara atıfta bulunarak) Yunanca *brachys* ‘kısa’ ve *podion* ‘küçük ayak’ olarak adlandırılan 12-15 tür içeren bir cinstir (Robertson 1981, Davis 1985, Watson ve Dallwitz 1992, Catala’n ve ark. 2011).

Çizelge 3.2. *B. distachyon* türünün taksonomik sınıflandırılması ( The Plants Database )

Alem	Plantae	Takım	Cyperales
Alt alem	Tracheobionta	Familya	Poaceae
Üst şube	Spermatophyta	Altfamilya	Pooideae
Şube	Magnoliophyta	Tribus	Brachypodieae
Sınıf	Liliopsida	Cins	<i>Brachypodium</i>
Altsınıf	Commelinidae	Tür	<i>Brachypodium distachyon</i>

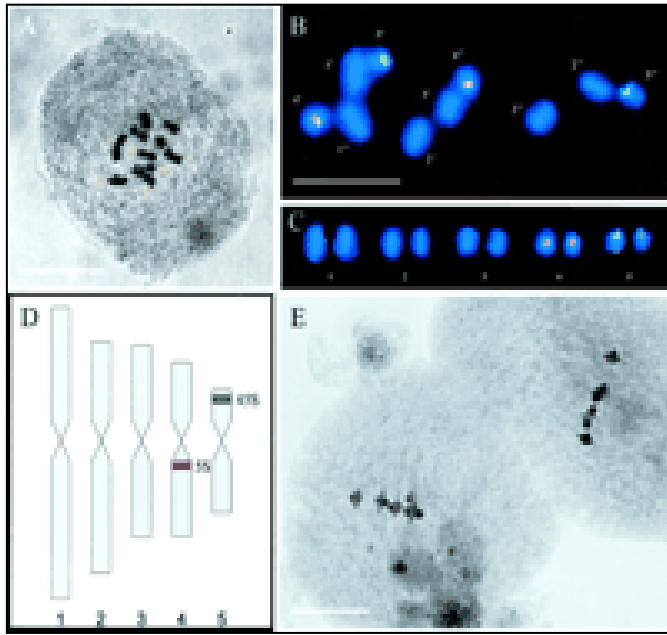


Şekil 3.1. *B. distachyon* ve diğer tahıllar arasındaki filogenetik akrabalık ilişkisi (Opanowicz ve ark. 2008)

*Brachypodium* cinsi sistematik olarak ekolojik, ekonomik ve tarımsal açıdan çeşitli önemli özelliklere sahip 600 cins ve 10.000 den fazla tür içeren *Poaceae* familyasında yer almaktadır (Şekil 3.1 ve Çizelge 3.2). *Poaceae* Çizelge 3.2’de görüldüğü gibi Ehrhartoideae, Panicoideae ve Pooideae olmak üzere üç alt familyaya ayrılmaktadır (Vogel ve ark. 2010). Soğuğa dayanıklı önemli tahılları, çayır- mera bitkileri ile yem bitkilerini içeren Pooideae, *Poaceae* familyasının en büyük alt familyasıdır (Moser ve Hoveland 1996). Yapılan çeşitli taksonomik çalışmalar sonucunda *Brachypodium* cinsinin Triticeae, Poeae, Bromeae ve Avenae tribusları ile akraba olduğu (Kellog 2001, Vogel ve ark. 2006a, Opanowicz ve ark. 2008, Bolot ve ark. 2009) ve *B. distachyon* ‘un Pooideae’nin gelişmesi sırasında (evriminde) ortak atadan gelen önemli sıcak iklim tahılları ve yem bitkilerinin çoğunluğunu içeren “core pooid” cinsinden ayrıldığı belirlenmiştir (Draper ve ark. 2001, Vogel ve ark. 2009).

### 3.1.2. *Brachypodium distachyon* (L.)P. Beauv.'un sitogenetik özellikleri

*Brachypodium* 'un diploid ekotipleri ( $2n=10$ ) mayozda yüksek düzeyde kiyazma oluşumu gösteren, kolay ayırdedilemeyen 5 kromozoma sahiptir (Draper ve ark. 2001, Vogel ve ark. 2009) (Şekil 3.2). Diploid ekotiplerin 1. kromozomu en uzun kromozom ( $7 \mu\text{m}$ ) olup submetasentriktir, 2. ve 3. kromozom 1. kromozomdan kısa olup ( $3,5- 4 \mu\text{m}$ ) akrosentriktir. Akrosentrik olan 4. kromozom 3. kromozoma benzerdir ancak daha kısadır. En küçük olan 5. kromozom akrosentriktir ve kısa kolu üzerinde NOR (nükleolar organizatör bölge) bulunmaktadır (Draper ve ark. 2001, Garvin ve ark. 2008).



Şekil 3.2. *B. distachyon*'un kromozom yapısı (Draper ve ark. 2001)

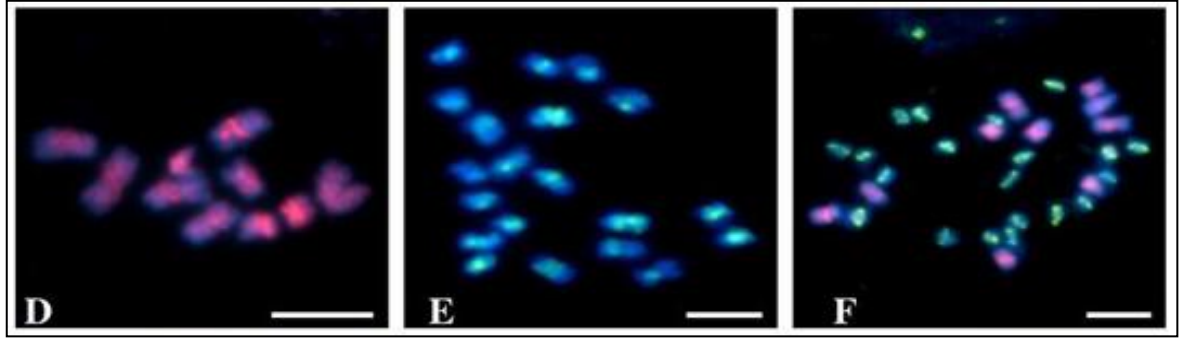
Yapılan ilk karyolojik analizlere göre *B. distachyon*'un üç farklı ploidi seviyesine ( $2n=10$ , 20 ve 30) sahip olduğu sanılmış (Robertson 1981). ve poliploidlerin autopolyploid olduğu kabul edilmiştir (Talavera 1978, Robertson 1981). Ancak, daha sonra yapılan FISH (fluorescence in situ hybridization) ve GISH (genomic in situ hybridization) analizleri sonucunda, aslında  $2n=10$  ve  $2n=20$  kromozoma sahip sitotiplerin iki farklı diploid tür olduğu ve sırasıyla  $x=5$  ve  $x=10$  temel kromozom sayısına sahip oldukları anlaşılmıştır. Yapılan bu çalışmada  $2n=30$  kromozoma sahip sitotipin ise bu iki diploid türün melezlenmesi sonucu meydana gelmiş bir allotetraploid tür olduğu belirlenmiştir (Hasterok ve ark. 2004, 2006). Bu durum son zamanlarda Idziak ve ark. (2011) tarafından en gelişmiş ve bilgilendirici sitomoleküler tekniklerden biri olan karşılaştırmalı kromozom boyama (chromosome painting) yöntemi ile teyit edilmiştir. Bunlara ilave olarak  $2n=30$  kromozomlu taksonunun



1,265 pg/2C olan genom hacminin , yaklaşık olarak iki diploid taksonun genom hacimlerinin (0,631 pg/2C ve 0,564 pg/2C ) toplamına eşit olduğu belirlenmiştir (Wolny ve Hasterok 2009). Elde edilen bu bilgiler ışığında *B. distachyon* ismi buğdaygiller için model olarak kabul edilmiş ve genomu sekanslanmış olan  $2n=10$  kromozom sayısına sahip sitotip için korunmuş,  $2n=20$  kromozoma sitotipe *B. stacei* ve  $2n=30$  kromozoma sahip sitotipe *B. hybridum* isimleri verilmiştir (Şekil 3.3 ve 3.4). Catalan ve ark (2011) tam olarak sekanslanmış olan *B. distachyon* genomuna ilave olarak gelecekte *B. stacei*, *B. hybridum* ve diğer buğdaygillerin genomlarının da tam veya kısmen sekanslanması ile kapsamlı bir filogenetik analizler için istisnai bir fırsat elde edileceğini bildirmişlerdir.

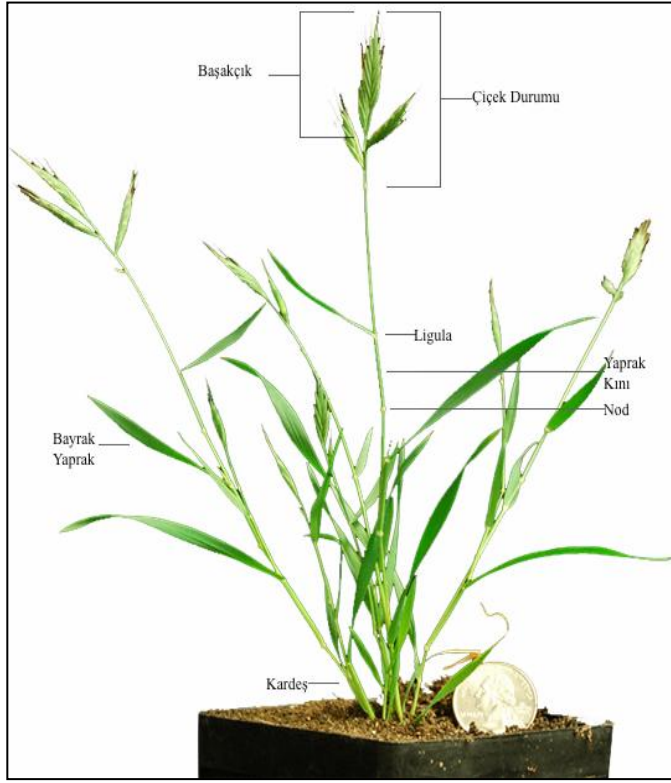


Şekil 3.3. *B. distachyon* (A), *B. stacei* (B) ve *B. hybridum* (C) bitkilerinin genel görünüşü (cm) (Catalan ve ark. 2011)



Şekil 3.4. Prob olarak *B. distachyon* ve *B. stacei* genomik DNAsının kullanıldığı GISH (genomik in situ hybridization) analizi ile diploid türlerin kromozomlarının farklı renklerle boyanarak ayırt edildiğini gösteren resimler. *B. distachyon* (D), *B. stacei* (E) ve *B. hybridum* (F) (Catalan ve ark. 2011)

### 3.1.3. *Brachypodium distachyon* (L.)P. Beauv.'un morfolojik özellikleri



*B. distachyon*'un genel görünüşü Şekil 3.5' te verilmiştir. Çiçeklenme döneminde gövde (18) 26 (35) cm uzunluğunda, tüysüz veya az tüylü, (2) 3 (5) nodlu, nodlar tüylüdür. Yaprak ayası (4,3) 7 (8,5) cm uzunluğunda, 0,25-0,33 cm genişliğindedir. Yaprak kıvrımları tüylü veya tüysüz olup yaprak ayası genellikle eksene yakın ve eksene uzak bölgelerde kısa ve uzun dağınık tüylü, kısa tüyler bazen bulunmamaktadır. Stoma bekçi hücreleri (18) 23 (29) mm uzunluğundadır.

Şekil 3.5. *B. distachyon* (L.) P.Beauv. Bitkisinin genel görünüşü (<http://bti.cornell.edu/home>)

Panikula (1,5) 3 (4,8) cm uzunluğunda, omurga tüsüzdür. (1) 3 (4) başakçıklı, başakçıklar (12,5) 16 (22) mm uzunluğunda, dördüncü lemmanın apekse uzaklığı (12) 13 (15) mm, (5) 7 (9) çiçeklidir. Kavuzları dikdörtgen- mızrak şeklinde, bitişik çiçeği daha kısa (yarısından fazlası), eksen dışı tüsüzden uzun tüylüye kadar değişken, distal (ve daha uzun) kavuzları (6,2) 7,2 (8,2) mm uzunluğundadır. Lemmalar (7) 8 (9) mm uzunluğunda, mızrak şeklinde, eksen dışı neredeyse tüsüzden yoğun uzun tüylüye kadar değişken; kılçıklar (9,5) 11,5 (13) mm uzunluğunda, lemma kadar veya daha uzun, tüylüdür. Anter 2–3, 0,5–0,7 mm uzunluğunda. Polen taneleri (27) 30 (35) mm uzunluğunda, ovaryum dikdörtgen şeklinde, uç kısmı tüylüdür. Karyopsis (4,8) 6,2 (7,2) mm uzunluğunda, dikdörtgen biçiminde olabilir.

Doğal yayılış alanı Akdeniz iklimine (Fransa, Irak, İtalya, Slovenya, İspanya, Türkiye, muhtemelen güney Avrupa, güney-batı Asya ve Kuzey Afrika) sahip bölgeler olup, deniz seviyesinden deniz seviyesinden 1700 m yüksekliğe kadar olan alanlarda yetişmektedir. *B. distachyon*'un mitoz kromozomları *B. stacei* mitoz kromozomlarından yaklaşık 2 kat daha büyüktür (Catalan ve ark. 2011).

### 3.1.4. Neden model bitki olarak *Brachypodium distachyon* (L.)P. Beauv.

Günümüzde tahıllar, yem bitkileri, çayır- mera bitkileri ve biyoenerji üretilen bitkiler ile ilgili yapılan çalışmalarda model bitki olarak *Oryza sativa* ve *Arabidopsis thaliana* yerine *Brachypodium distachyon*'ın tercih edilmesinin nedenlerini şu şekilde özetleyebiliriz.

Küçük bir Crucifer olan *Arabidopsis*, yabancı döllenir ve hızlı hayat döngüsüne sahiptir (Redei 1970). *Arabidopsis*'in çekirdek genom boyutu flow sitometri ile 164 Mbp olarak hesaplanmıştır (Bennet ve ark. 2000). Halbuki The Arabidopsis Genom Tritiave' de yapılan hesaplama ile yeni tamamlanmış tam genom diziliminin yaklaşık 125 Mbp olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte filogenetiksel olarak *Arabidopsis* dünyada yetiştirilen başlıca hububat ve mera bitkilerini içeren Poaceae familyasına yalnızca uzak akrabadır (Keller ve Feuillet 2000). Yakın zamanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre *Arabidopsis*'in tahıl türlerinde önemli kromozom bölgelerinin belirlenmesinde 'Anchor' genom olarak kullanılamayacağı ortaya çıkmıştır (Bennetzen ve ark. 1998, Devos ve ark. 1999). Ayrıca, *Arabidopsis* dikotiledon olduğundan, tarımsal özellikler ile ilgili bir çok biyolojik özellik bakımından buğdaygil türlerine göre farklılık göstermektedir (Bennetzen ve ark. 1998, Devos ve ark. 1999).

Kültüre alınmış bitkilerin en önemli grubunu oluşturan tahıllar yaklaşık 45- 47 milyon yıl önce paleopolyploid ortak bir atadan farklılaşmıştır (Mya) (Paterson ve ark. 2004). Bu ayrılmaya rağmen, tahılların genom büyüklükleri çeltikte (*Oryza sativa*) 430 Mb ile hexaploid buğdayda (*Triticum aestivum*) 16,000 Mb arasında değişse de farklı tahıl genomları arasındaki yapısal ve fonksiyonel benzerlik çok dikkat çekicidir (Gale ve Devos 1998, Feuillet ve Keller 2002). Bir buğdaygil türü olan ve tüm genom diziliminin bilinmesi nedeniyle harita tabanlı klonlama gibi çeşitli deneysel çalışmalarda model sistem olarak kullanılan çeltik daha iyi bir model bitki olabilirdi. Ancak bir model bitkide bulunması gereken kısa ömürlü olma, küçük bir fiziki yapıya sahip olma, yetiştirme şartlarının basit ve kolay olması gibi iyi bir model türde olması gereken şartları sağlayamamaktadır (Xu ve ark. 2005). Kompakt bir genoma (441 MBP) sahip olmasına rağmen gen haritasında en az 30 bağlantı bloğunun bulunması da model bitki için bir dezavantajdır (Draper ve ark. 2001). 50 milyon yıl önce yarı sucul tropikal bir bitki olduğu tespit edilen çeltiğin bu özelliği önemli mera bitkilerinden ve uzak akraba olan sıcak iklim tahıllarından ayrılmasına neden olmuştur (Gaut 2002). Diğer taraftan çeltik serin mevsim patojenlerine dayanıklılık, soğuğa tolerans ve vernalizasyon gibi özelliklere de sahip değildir (Jenkins ve ark. 2005). Bu lojistik konular çeltiğin bir model sistem olarak kullanılmasını sınırlamaktadır. Ayrıca, çeltiğin yetiştirilmesi

zordur ve kuzeye ait iklimlerde ancak seralarda uygun koşullar altında çiçeklenir. Bunun dışında çeltik bitkisinin habitusu büyük ve vejetasyon süresi uzundur. Bu yüzden özellikle çok sayıda bitkinin kullanıldığı araştırmalarda maliyet yüksek olmaktadır (Vogel ve ark. 2006a).

Bunlara ilave olarak *Oryza sativa* Ehrhartoideae alt familyasında yer alırken buğday arpa gibi buğdaygil türleri ise Pooideae alt familyası içerisinde bulunmaktadır (Draper ve ark. 2001, Febrer ve ark. 2010). Bu nedenle, *Oryza sativa* orthologous kromozom bölgelerinde bulunan genlerin sırası ve DNA dizileri diğer serin iklim tahıllarından farklılık göstermektedir (Jenkins ve ark. 2005). Son çalışmalarda çeltiğin gen dizilerindeki dinamik değişiklikler çözüldüğü için bir model bitki olarak çeltiğin yararları sorgulanmaktadır (Gaut 2002). Bunlardan dolayı da serin mevsim buğdaygilleri için biyolojik olarak onlara daha benzer ve filogenetik olarak daha yakın bir model bitki ihtiyacı doğmuştur. Buğday ve arpa genomlarının çeltik genomuna uzaklığının keşfedilmesinin ardından monokotil bitkiler için uygun bir model bitki arayışı içerisine girilmiş ve *B. distachyon* model olarak seçilmiştir (Draper ve ark. 2001, Febrer ve ark. 2010). *B. distachyon*'ın model olarak seçilmesinden sonra çalışmalar hız kazanmıştır. Akdenizin doğusunda (Güney- batı Asya) doğal yayılış bölgesinden toplanan 2n=10 kromozumlu *B. distachyon* bitkilerinden diploid Bd21 kendilenmiş hattı geliştirilmiş (Vogel ve ark. 2009, IBI 2010) ve bu hattın genom skansı 2010 yılında yayınlanmıştır. *B. distachyon* Pooideae alt familyasının genomu sekanslanan ilk üyesidir (IBI 2010, Vogel ve ark. 2010). Yapılan karşılaştırmalar sonucunda *B. distachyon*'un 21,045 ortologous gen bölgesinin çeltik, sorgum ve *Triticeae* taksonundaki bireylerle ortak olduğu tespit edilmiştir (IBI 2010).

Diploid *Brachypodium* ekotiplerinin genom boyutlarının 0,15 pg'den 0,36 pg'ye kadar değiştiği raporlanmıştır (Shi ve ark. 1993, Draper ve ark. 2001, Bennett ve Leitch 2005). Bu durum *Brachypodium* genom büyüklüğünün *Arabidopsis* (0,16 pg) ve *Oryza* (0,495 pg) arasında olduğunu ifade eder. *Brachypodium distachyon*'ın diploid ekotiplerinin genom büyüklüğünün arpa genomunun yaklaşık % 5,6'sı, ekmeklik buğday genomunun ise yaklaşık % 2'si kadar olduğu belirlenmiştir (Bennett ve Leitch 2005). Ayrıca *Brachypodium* türlerinin tipik olarak tekrarlı DNA bölgelerinin % 15'den daha az olduğu tespit edilmiştir (Shi 1991, Catalan ve ark. 1995). Yapılan son çalışmalarda genomun % 45,9'unun GC dizisi, yaklaşık % 18'inin tekrarlı dizi ve % 21,2'sinin kodlanan sekansları içerdiği açıklanmıştır (Febrer ve ark. 2010). Tekrarlı dizilerin az olması model bitkiler için bir avantajdır.

Model sistem olarak *Brachypodium*'un en önemli özelliklerinden biri de laboratuvar koşullarında kolaylıkla kültüre alınabilmesi, büyüme gereksinimlerinin az olması nedeniyle çeltiğin aksine sera veya iklim kabinlerinde *Arabidopsis*, buğday ve arpanın yetiştirme koşullarında yetişebilmesidir. İklim kabinlerinde 24 °C 'de 24 saat parlak 150  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  floresan ışığı altında, 18 °C 'de 4 saat karanlık fotoperiyodunda mat beyaz floresan ışığı altında yetiştirilebilmektedir (Vogel ve ark. 2006a, Brkljacic 2011). Ancak tür patojenlere ve toprakta bulunan toksinlere karşı oldukça duyarlıdır. Farklı toprak tiplerinde yetişmesine rağmen yoğun sulama veya su içerisinde uzun süre kalmadan olumsuz şekilde etkilenmektedir (Vogel ve Bragg 2009). Genel olarak bitki başına 100- 1000 adet arasında değişen tohum verme potansiyeline sahip *B. distachyon*'un yaşam periyodu 8-12 hafta aralığında değişmektedir (Brkljacic 2011). Bu özellikler dışında *Brachypodium*, buğday, arpave çeltik genomları arasında yapılan karşılaştırmalarda *Brachypodium*' un gen dizilişinin buğday ve arpaya çeltik bitkisinin gen dizilişinden daha çok benzediği ve dolayısıyla bu grup bitkiler için çeltikten daha iyi bir model olduğu ispatlanmıştır (Kumar ve ark. 2009). Yapılan bu çalışmalar *B. distachyon*'un model olarak önemini arttırmaktadır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Morfolojik karakterizasyon çalışmaları

#### 3.2.1.1. Tohumların çimlendirilmesi

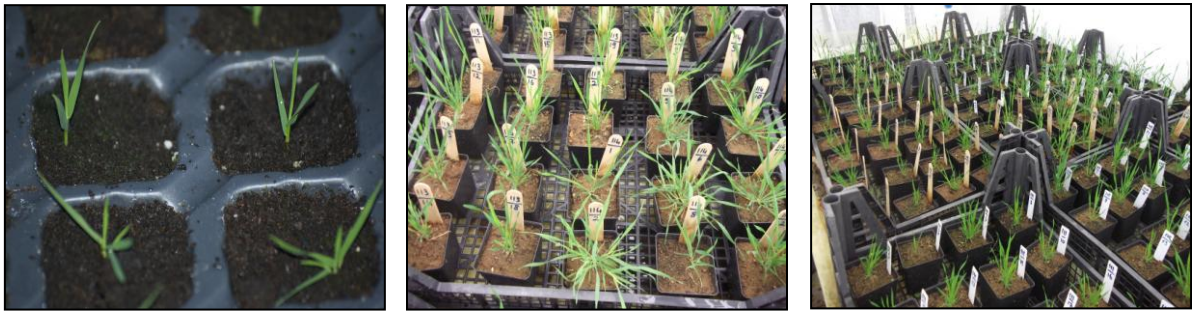
Aksesyonlara ait tohumlar, morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları için 3 tekrarlamalı olarak çoklu plastik saksılara ekilmiştir (Şekil 3.6). Ekim işlemi için torf- perlit (3/1 oranında) karışımı kullanılmıştır. Hazırlanan saksılar tohumların çimlenmesi için sera ortamına yerleştirilmiştir. Tohumların günlük bakımları ve kontrolleri yapılmış, çimlenme tarihleri (gün) tespit edilmiştir.



Şekil 3.6. Tohumların çimlenmesi ve çoklu plastik saksılarda gelişimi

#### 3.2.1.2. Bitkilerin yetiştirilmesi ve morfolojik gözlemlerin yapılması

*Brachypodium* bitkileri çimlenmeden 2 ay sonar içerisinde torf- perlit (3/1) karışımı bulunan küçük saksılara (7cm x 7cm) aktarılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Bitkilerin serada yetiştirilmesi

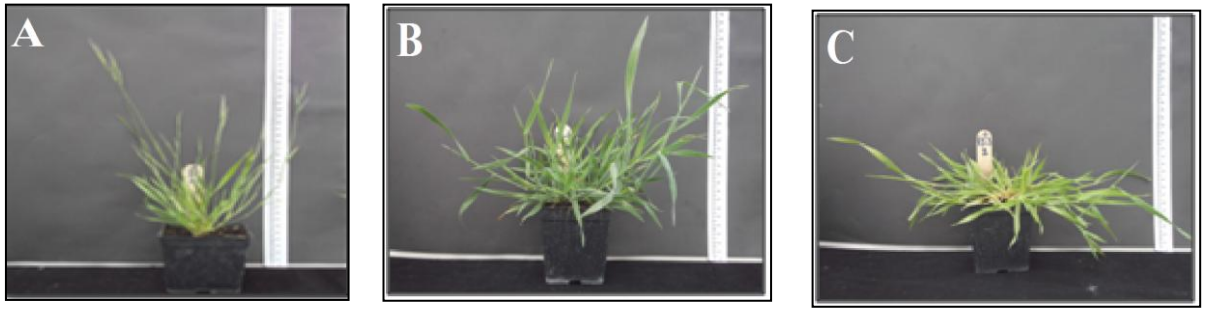
Bitkiler serada yetiştirildikleri süre boyunca gereklikçe sulanmış ve gübrenmiştir. Bitkiler için gerekli olan besin elementlerini sağlamak amacıyla N ve P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ( 300 g), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ( 60 g) ve KNO<sub>3</sub> ( 973 Bu maddeler 10 litre suda eritilerek karışım elde edilmiş ve karışım 1/200 oranında seyreltilerek iki gün aralıklarla bitkilere verilmiştir. Gübre verilirken önce sulama yapılmış, torfun kuru olmasına dikkat edilmiştir. Bitkilerin büyüüp gelişmesi

devam ederken, başaklanma ve çiçeklenme tarihleri (gün), genel görünüşleri (1-5), tüylülük (1-3), renkleri (1-3), bitki boyu ( cm), bayrak yaprak boy (cm) ve eni (mm) gibi morfolojik özellikleri gözlenmiştir (Şekil 3.8).



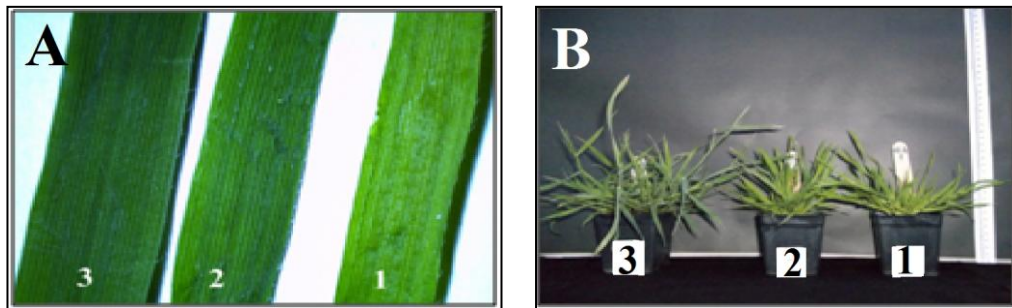
Şekil 3.8. Bitkilerin morfolojik özellikleri

Gelişmeleri devam eden bitkilerin genel görünüşleri (form) dik, yatık ve yarı dik olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Aksesyonlara ait bitki formları, A: Dik. B: Yarı Dik. C: Yatık

Yaprak rengi ve tüylülük isterio mikroskop (Olympus SZ61) kullanılarak incelenmiş ve mikroskoba bağlı olan digital kamera ile fotoğraf çekimi yapılmıştır (Şekil 3.10 ve 3.11). Bitkilerin renkleri açık yeşil (1), yeşil (2) ve koyu yeşil (3) olarak değerlendirilmiş olup, her renk için bir numara verilmiştir.



Şekil 3.10. A: Yaprak rengi tonları ve numaraları (3:Koyu yeşil, 2:Yeşil, 1:Açık yeşil), B: Farklı renge sahip bitki örnekleri

Yapılan inceleme sonunda bitkiler tüylülük özelliklerine göre az tüylü (1), tüylü (2) ve çok tüylü (3) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Bitkilerin tüylülük özellikleri. 1:Az tüylü, 2: Tüylü, 3: Çok tüylü

### 3.2.1.3.Bitkilerin hasat edilmesi:

Bitkiler hasat edilmeden önce (Şekil 3.12) her aksesyona ait örneklerin başaklı sap sayısı, başaksız sap sayısı ve başakçık sayısı belirlenmiştir. Bitkiler kök kısımlarından kesilerek saksılardan uzaklaştırılmış ve hassas terazi ile biyokütle (g) ölçümleri yapılmıştır. Hasat işlemi yapıldıktan sonra bitki başına tohum verimi (g), bitki başına tohum sayısı (adet) ve bin tane ağırlığı (g) belirlenmiştir. Her aksesyona ait tohumlar ayrı ayrı kağıt poşetlere konularak etiketlenmiştir. Paketlenen tohumlar genetik kaynak koleksiyonu olarak kullanılmak üzere  $-20\text{ C}^{\circ}$  deki dolapta koruma altına alınmıştır.



Şekil 3.12. Hasat edilecek bitki örnekleri



### 3.2.2.Moleküler karakterizasyon çalışmaları

#### 3.2.2.1. Flow sitometri ile çekirdek DNA analizi

Flow sitometri; kan hücrelerinin hızlı ve hassas bir şekilde sayımı ve analizi amacıyla geliştirilmiş bir metottür. Teknolojik ilerlemeler ve yeni floresan boya ların geliştirilmesi, flow sitometriyi biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan vazgeçilmez bir analiz yöntemi konumuna getirmiştir. Flow sitometrinin bitki hücre ve organellerinin analizinde kullanımı yaklaşık 20 yıl önce başlamış olup, günümüzde her geçen gün artmaktadır. Flow sitometri, bitkilerde geniş kullanım potansiyeline sahip olmasına rağmen, bugüne kadar en fazla çekirdek DNA (nuclear DNA content) analizinde kullanılmıştır (Dolezel ve Bartos 2005).

Çekirdek DNA içeriği hem bir bitkinin hücreleri arasında, hemde aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeden sabit kalmakta ve bu nedenle türlere özel olmaktadır (Bennett ve Leitch 1995). Türler arasında ise çekirdek DNA içeriği bakımından önemli düzeyde farklılıklar gözlenmektedir. Bu nedenle çekirdek DNA içeriği bilgisi taksonomik ve evrim çalışmaları için son derece yararlıdır (Rees ve Walter 1965, Southern 1967, Price ve Bachman 1975, Ohri 1998, Özkan ve ark. 2003). Murray (2005) yeni türlerin oluşumunda çekirdek DNA içeriğinin bitki morfolojisinden daha önce farklılaştığını bu yüzden de, eğer bir tür içerisinde çekirdek DNA içeriği farklılığı belirlenmişse bunun tür içinde taksonomik çeşitliliğin ve yeni bir tür oluşum sürecinin varlığını gösteren bir belirti olabileceğini açıklamıştır.

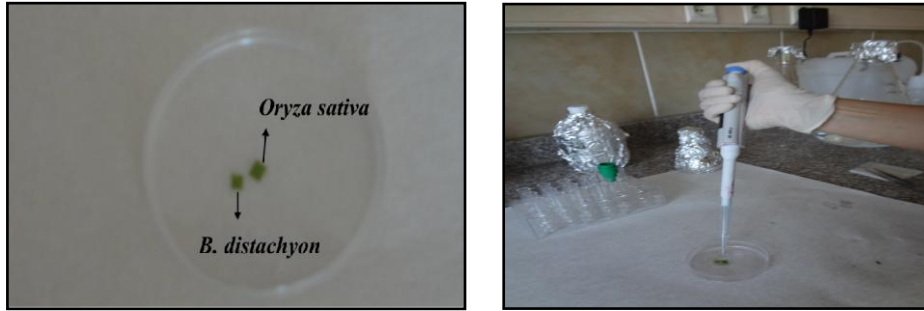
Bir bitkinin çekirdek DNA içeriği mutlak olarak belirlenmek istenirse, bu bitkinin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart ile kıyaslanır. Bu standart bitki belirlenirken analiz yapılacak örnek ile standardın piklerinin üst üste gelmemesine dikkat edilmelidir. Bu durumda standart bitkinin çekirdek DNA içeriği örnek bitkiden ya daha büyük ya da daha küçük olmalıdır. Ayrıca standart seçiminde dikkat edilecek diğer bir nokta ise, örnek ile seçilecek standardın çekirdek DNA içerikleri arasındaki farkın minimum düzeyde olmasıdır. Çünkü aralarındaki fark büyüdükçe hata oranı artmakta ve böylelikle analizin hassasiyeti azalmaktadır.

Standart olarak çekirdek DNA içeriği bilinen bir bitki kullanılacaksa, standart bitkinin dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla birlikte aynı anda hazırlanır. Bu çalışmada *B. distachyon* aksesyonları için standart olarak 0,99 pg/2C DNA'ya sahip *Oryza sativa* (çeltik) kullanılmıştır.

### 3.2.2.1.1. Çekirdek DNA analizi için örneklerin hazırlanması ve incelenmesi

Çalışmada çekirdek DNA analizi, sağlıklı ve genç fidelerden (her aksesyon için 10 bitki) elde edilen taze yaprak dokuları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma NKÜ, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır. Yapılan çekirdek DNA içeriği analizlerinde PARTEC firmasının hazır kitleri kullanılmıştır. Analizlerde *B. distachyon* aksesyonları için 0,99 pg/2C DNA'ya sahip *Oryza sativa* (çeltik) standart olarak kullanılmıştır. Çekirdek DNA analizi için öncelikle bitki dokularından çekirdekler izole edilmiştir. Çekirdek izolasyonu prosedürü aşağıdaki gibidir;

1-Yaklaşık olarak 0,5 cm<sup>2</sup> büyüklüğünde sağlıklı yaprak dokusu petri kabına konur ve üzerine 500 µl Extraction Buffer ilave edilir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Çekirdek izolasyonu için *B. distachyon* ve *O. sativa* 'dan örnek alınması

2- Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalamır. Bu şekilde hazırlanmış örnek petri kabı içerisinde 10-15 saniye çalkalanır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Çekirdek izolasyonu için bitki örneklerinin parçalanması

3-Çalkalama işleminden sonra 30-90 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek Partec marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Çekirdek izolasyonu için hazırlanan örneğin süzülmesi

4-Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml staining solüyon ilave edilerek ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. DNA izolasyonu için hazırlanan örneğin saklanması ve Flow sitometri cihazına yerleştirilmesi

**\*Staining Solüsyonun Hazırlanması:** Her örnek için; 2 ml Staining Buffer, 6  $\mu$ l RNase stok solüsyon, 12  $\mu$ l PI (Propidium Iodide) stok solüsyonu karıştırılarak staining solüsyonu hazırlanır (Şekil 3.17)

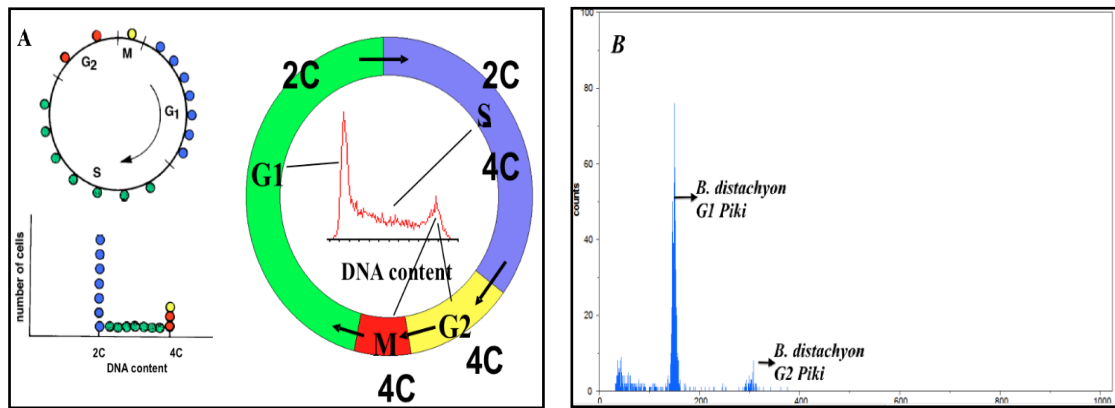


Şekil 3.17. Staining solüsyonun hazırlanması

Staining solüsyon ışıksız ortamda 4°C'de 1 gün saklanabilir. Eğer örnek hazırlanmış halde ise aynı şartlarda 12 saat kadar muhafaza edilebilir.

### 3.2.2.1.2. Flow sitometri ile DNA içeriğinin ölçülmesi

Örnek hazırlamada uygulanan prosedürdeki işlemler sonucunda bitki dokusundaki hücreler mekanik olarak parçalanır ve hücre çekirdekleri serbest hale geçer. Extraction Buffer içerisinde bulunan deterjan serbest kalan çekirdeklerin zarları üzerinde porlar oluşmasını sağlar. Bu porlardan staining solüsyonunun içinde bulunan PI (nükleik asitlere bağlanma özelliğine sahip florasan boya) çekirdek içerisine girer ve nükleik asitlere bağlanır. Porlardan geçen PI miktarı ile çekirdek DNA içeriği doğru orantılıdır. Yani çekirdek DNA içeriği ne kadar fazla ise çekirdeğin içerisine giren ve bağlanan PI'da bu orana bağlı olarak artış gösterir. Bu protokole göre hazırlanmış olan örnek flow sitometri cihazında analiz edilirken, cihazın yaydığı lazer ışık kaynağının önünden geçen hücreler genetik yapıya bağlanan PI miktarıyla orantılı olarak florasan ışık yayar. Yayılan florasanlar cihazın içerisinde bulunan ilgili bölümlerde bir dizi işlemde geçerek elektrik sinyallerine dönüşür ve bilgisayar monitörüne histogram olarak yansır. Histogramın dikey eksenini; analiz edilen hücre sayısını, yatay eksenini ise; analiz edilen örneklerin florasan yoğunluğunu göstermektedir. Yatay eksenin sağına doğru gittikçe çekirdek DNA içeriği artmaktadır (Tuna 2012). Ekranda oluşan histogramda eğer tek bitki analiz edilmiş ise; 2 tane pik oluşur. Histogramın bu şekilde oluşmasının nedeni; örneğin hazırlandığı dokuyu meydana getiren hücrelerin flow sitometri analizi sırasında, hücre döngüsünün değişik aşamalarında bulunmasıdır. Hücrelerin bir kısmı mitoz aşamasından yeni çıkmış iken (bölünme henüz gerçekleştiğinde çekirdeğin replike olmamış DNA içeriğine sahip olunan durum), bir kısmı da mitoz aşamasına girmek için son hazırlıklarını yapmaktadır (çekirdeğin replike olmuş DNA içeriğine sahip olunan durum). Hücrelerin geri kalan kısmı da bu iki aşamanın arasında bulunan DNA sentez (S fazı) aşamasında bulunmaktadır. Çekirdeğin DNA içeriği, hücre döngüsünün DNA sentez (S fazı) fazı başlangıcında artmaya başlar ve sonunda çekirdeğin DNA içeriği replike olur (Şekil 3.18).

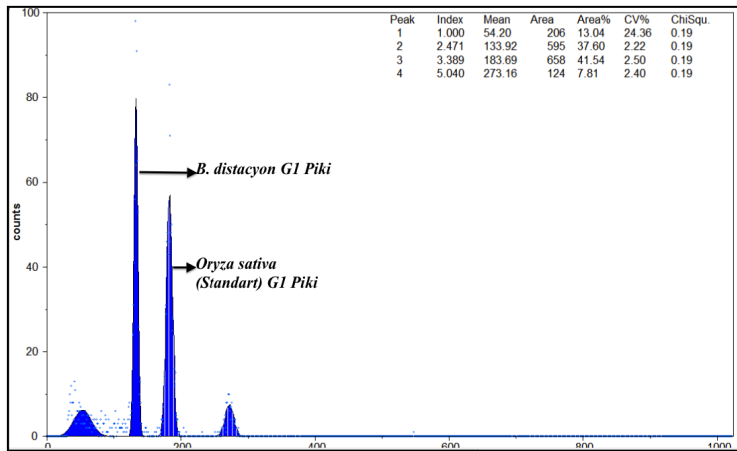


Şekil 3.18. A: Hücre döngüsü, B: *B. distachyon* (Bd21) G1 ve G2 pikleri

Çekirdek DNA içeriği genellikle “C” değeri olarak ölçülür. Bu terim ilk defa Swift (1950) tarafından kromozom sayısı ile meydana gelebilecek karışıklıkları önlemek için ortaya atılmıştır (Bennet ve Leitch 1995, 2005). Herhangi bir genotipin C değeri (1C değeri) genotipin sahip olduğu replike olmamış haploid kromozom takımının içerdiği DNA miktarını ifade etmektedir. Diğer bir deyişle bir çekirdeğin 1C DNA içeriği, polen mitozundan hemen sonra polen danelerinin sahip olduğu çekirdek (DNA’ sı replike olmamış, hücre döngüsünün G<sub>1</sub> fazı) DNA içeriğidir. Bir çekirdeğin 2C DNA içeriği, DNA’sı replike olmuş haploid çekirdeğin (polen mitozundan hemen önce çekirdeğin DNA içeriği, hücre döngüsünün G<sub>2</sub> fazı) veya DNA’sı henüz replike olmamış diploid çekirdeğin (2n kromozom sayısına sahip diploid bir bitkinin G<sub>1</sub> fazı) DNA içeriğidir. Histogramda G1 piki olarak ifade edilir. 4C DNA içeriği ise DNA’sı replike olmuş diploid çekirdeğin DNA içeriğidir. Histogramda G2 piki olarak ifade edilir.

Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizlerinde hassas bir analiz için histogram üzerinde bulunan piklerin mümkün olduğunca ince ve uzun olmalıdır. Ayrıca varyasyon katsayısına (CV) bakarak güvenli sonuçlar elde edilebilir. Hazırlanan örneğin kabul edilebilir olması için CV’nin %3 ve daha düşük olması istenir. Fakat bazı zor türlerde kabul edilebilirlik düzeyi %5’e kadar çıkar (Doležel ve Bartoš 2005). Bir örneğin mutlak DNA içeriği, örnek ile seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül (3.1) aracılığıyla pikogram (1pg = 10<sup>-12</sup> g) olarak hesaplanır (Şekil 3.19).

$$\begin{array}{|c|} \hline \text{Örnek Çekirdek DNA İçeriği} \\ \hline \end{array} = \begin{array}{|c|} \hline \text{Örneğin Floresan Yoğunluğu (G1 pikinin değeri)} \\ \hline \end{array} \times \begin{array}{|c|} \hline \text{Standardın Pikogram Olarak Bilinen DNA İçeriği} \\ \hline \end{array} \quad (3.1)$$



Şekil 3.19. *B. distachyon* (Bis) ve standart *O. sativa*'ya ait G1 pik değerleri

Yukarıda verilen formüle göre çekirdek DNA içeriği;  $(133,92/183,69) \times 0,99 = 0,722$  pg'dır.

### 3.2.2.2.SSR ( Mikrosatellit) analizi

Her biri ökaryotik DNA'daki özelliklere dayalı olarak tasarlanan ve kalıtsal olarak izlenebilen moleküler markörler günümüzde bitki moleküler biyolojisi alanında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markörlerin bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak bitki genom haritalanması, bir markör yardımıyla ıslah (markör-assisted breeding), gen klonlama ve tohum saflığı tayini verilebilir (Cömertpay 2008).

Moleküler markör, kalıtımı güvenilir şekilde belirlenebilen, bir protein ve DNA değişkenidir (Jones ve ark., 1997). Pedigri ve morfolojik bilgilerle kıyaslandığında, moleküler markörler ile yapılan çalışmalar, genotipler arasındaki farklılıkları, gen kaynaklarının korunması ve kullanımı için gerekli bilgileri DNA düzeyinde güvenilir ve etkili bir şekilde ortaya koymaktadır.

Bitki populasyonlarının karakterizasyonu için kullanılan birçok moleküler markör vardır. Bunlar; 1) Fenoller, alkaloidler ve protein olmayan aminoasitleri içerisine alan biyokimyasal bileşikler 2) Enzim ve depo proteinleri ve 3) DNA markörleridir (Pérez de la Vega, 1993).

Bitkilerde DNA markörleri kullanılarak yapılan polimorfizm analizleri; gen kaynakları ve genetik benzerlikleri araştırmak ve nitelendirmek için güçlü bir araçtır (Powell ve ark., 1996). Son 20 yıldan beri çok farklı moleküler markör tekniği geliştirilmiş olup bunlardan bazıları RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polimorphic DNAs), AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphisms), SSR (Simple Sequence Repeats) ve SNP (Single Nucleotide Polymorphism)'dır.

Basit tekrarlı diziler (SSR) olarak bilinen mikrosatellit DNA markörleri çoğunlukla ökaryotik türlerin genomlarında ard arda tekrarlanan ikili, üçlü, dördü ve beşli nükleotid küme dizileri halindeki DNA uzantıdır. Örneğin (AT)<sub>n</sub>, (GC)<sub>n</sub>, (CA)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub> ve (AGC)<sub>n</sub> gibi. Bu tekrarlar bireyden bireye farklılıklar gösterir ve tekrar sayısı "n"deki değişimler; aynı lokusta, genotipler arasında farklı uzunlukta PCR ürünlerine yol açar.

Mikrosatellitler, ko-dominant kalıtım özelliği göstermeleri, lokusa özgü olmaları, genom içinde düzgün yayılış göstermeleri ve genom hakkında diğer moleküler markörlere göre daha fazla bilgi vermeleri yanında PCR'a dayalı bir teknik olmasından dolayı çok arzu edilen ve bir çok bitki türünde kullanılan bir DNA markörüdür. Mikrosatellit DNA işaretleyici tekniği mısır, soya, kolza, çeltik, arpa ve buğday türlerinde başarıyla uygulanmıştır. Tüm bu bitkilerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki polimorfik düzeyi diğer DNA markörlerinden daha yüksektir (Cömertpay 2008). Bu nedenlerle çalışmada

Mikrosatellit DNA markörları tercih edilmiş ve çalışmanın bu aşaması John P. Vogel'in laboratuvarında (USDA-ARS, Western Regional Research Center, Albany, CA, USA) yapılmıştır. Çalışmada 32 *B. distachyon* aksesyonuna ait 142 genotip ve 11 SSR primeri kullanılmıştır. SSR analizinde şu aşamalar takip edilmiştir;

### 3.2.2.2.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu Phire Plant Direct PCR Kit (Thermo Scientific)'i kullanılarak, dillution protokolüne göre üretici firmanın belirttiği şekilde yapılmıştır. Kısaca DNA izolasyonu serada yetiştirilmekte olan 3 haftalık bitkilerden 2 µl'lik otomatik pipet ucu ile küçük bir yaprak dokusu alınarak içerisinde 30µl dillution buffer bulunan PCR tüplerine bırakılması ile gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonlarının hazırlanmasında her bir örnek için bu solusyondan 0.5 µl kullanılmıştır.

### 3.2.2.2.2. Kullanılan Mikrosatellit Primerler

Çizelge 3.3.SSR Primerleri ve baz dizilişleri

Primer Adı	Tekrarlanan Birim	Tekrar Sayısı	EST/ BES	Primer Sekansları (5'→3')	İleri Primerler
ALB001	CT	22	EST	TTCTCCACCAC ACTCCTTCC	CACGACGTTGTAACGACG ATCGTGTTCTCCCTTCA
ALB006	GT	15	EST	CCTCCTCCAAC AACCACAGT	CACGACGTTGTAACGACTA GTAGCCCCCAAGCCTTCT
ALB022	CT	11	EST	ATTTCTGCCA GCAAACACT	CACGACGTTGTAACGACG ACCTCCCCTGTCTCAGGT
ALB030	TTG	9	EST	GTAGTCCAGCC CCATCTTCC	CACGACGTTGTAACGACCG TCCGCAAGCTTGTTTT
ALB040	CTT	8	EST	AGTCCTCCTCT CGCTAAGG	CACGACGTTGTAACGACCC CTGCTCCCTCTCTCTCT
ALB050	GT	15	EST	GGAGGGAGAA AAATGCCTTC	CACGACGTTGTAACGACTA GTAGCCCCCAAGCCTTCT
ALB087	AGC	7	EST	GACTTGATGAA GCCCTGCTC	CACGACGTTGTAACGACAC AGGCAGCAGCAGGAAC
ALB139	AGA	7	EST	TGTACCGGAGG ATGAAGTCC	CACGACGTTGTAACGACGT GCCAAATCCAAGAAGGAA
ALB165	ATA	12	BES	ATTTGCCCCAC AAATGGTTA	CACGACGTTGTAACGACTT CGTGGTTCAACAACATGG
ALB181	AC	9	BES	GGGTTCCACCT GTCAGAAAA	CACGACGTTGTAACGACAT GCCAAATGGGACTGTTTC
ALB311	GA	6	BES	CGTCGTCTTCA GGTCTTCC	CACGACGTTGTAACGACCC TAACAGCTTCCGTCTCCA

Çalışmada, *B. distachyon* genomlarının mikrosatelit bölgelerinde bulunan varyasyonun belirlenmesi amacı ile Vogel ve ark.' dan (2009) seçilen ve DNA dizilimleri verilen 11 SSR primeri kullanılmıştır ( Çizelge 3.3).

### **3.2.2.2.3.SSR allel bölgelerinin PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile çoğaltılması**

SSR bölgelerinin çoğaltılmasında PCR reaksiyonu; 10 mM Tris-HCL (pH 9.0), 50mM KCl, 0.1% (v/v) Triton X-100, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% BSA, 1% PVP-40, 200 µM dNTPs, 0.5 U Taq DNA polimeraz enzimi, 11.25 ng genomic DNA, 0.5 µM markör spesifik ters (reverse) primer, 0.033 µM markör spesifik işaretlenmiş ileri (forward) primer ve 0.5 µM VIC, olmak üzere 9.5 µl'de gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı ise:

1. 95 °C' de 2 dk,
2. 95 °C' de 20 s
3. 54 °C' de 20 s
4. 72 °C' de 1 dk
5. 72 °C' de 30 dk

2-4. basamaklar 34 tekrar olmak üzere toplam 35 döngü olacak şekilde uygulanmıştır.

### **3.2.2.2.4.PEG (PolyEthylene Glycol) metodu ile PCR ürünlerinin çöktürülmesi**

Eşit hacimde (1 ml) TE buffer, NaCl (4M), ve %48 lik PEG 800, 15 ml falcon tüpü içerisinde vortekslenerek iyice karıştırıldıktan sonra tüpler içerisinde bulunan her bir PCR ürünü üzerine 30 µl ilave edilir. Plate kısaca spin edildikten sonra, önce 37 °C de 15 dakika ve daha sonra 4 °C de 15 dakika inkübe edilir. Daha sonra plate 3500 rpm de 30 dakika santrifuj edilir. Supernatant atılır ve platin gözenekleri soğuk etanol ile doldurulduktan sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifuj edilir. Etanol boşaltılır plate ters olarak çok kısa spin edilir. Etanol tamamen uzaklaştırıldıktan sonra plate kısa bir süre kurutulur. PCR ürünlerinin bulunduğu tüp içerisine 30 µl TE buffer ilave edilir, çözünmesi için oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyondan sonra hafifçe vortekslenir ardından da spin edilir.

### **3.2.2.2.5.Platelerin sekanslama cihazı için hazırlanması**

Her bir plate için bir tüp içerisine 1 ml formamide ve 3µl Lize (GS500LIZ moleküler markör) ilave ederek iyice karıştırılır ve solusyondan plate üzerinde bulunan her gözeneğe 9 µl ilave edilir. Her bir gözeneğe 1 µl de PCR ürünü ilave edildikten sonra plate çok kısa bir şekilde spin edilir. Örnekler analiz için sekanslama cihazına (ABI 3730xl ) yüklenir.



### 3.2.2.2.6. İstatistikî analizler

Çalışmamızda, her lokustan elde edilen allellerin sıklıkları (frekansları), heterozigotluk oranı, polimorfizm bilgi içeriği (PIC, Polymorphism Information Content) ve ayırtılma gücü (Power of discrimination, PD) hesaplanmıştır. Bu ölçütler bir genetik işaretleyicinin bireyin tanımlanmasında kullanılabilirliğini ölçmektedir (Özkan 2005). Bu parametrelerin hesaplanmasında Genetix 4.04 (Belkhir ve ark. 2001), GenAlEx 6, Cervus 3.0 ve PowerStatsV12 programları kullanılmıştır. Konu ile ilgili istatistik programlar internetten indirilmiş olup, kaynaklar kısmında internet adresleri ayrıntılı olarak verilmiştir.

#### 3.2.2.2.6.a. Allelik varyasyonun hesaplanması

Çalışılan aksesyonlar içerisinde bir lokus içinde allelik farklılıkların olması yani farklı uzunluklarda allellerin görülmesi bu aksesyonlarda genetik çeşitlilik olduğunu ifade etmektedir. Allel frekanslarının hesabı aşağıdaki eşitliğe (3.2) göre hesaplanmıştır (Nei, 1987).

$X_i = \frac{2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij}}{2n}$	$X_i$ = Ai allelindeki genin frekansı n= Populasyondaki toplam birey sayısı $n_{ii}$ = Ai allelindeki toplam homozigot birey sayısı $n_{ij}$ = Ai allelindeki toplam heterozigot birey sayısı
---	--

(3.2)

Allel frekansları bireyler ve bu bireylerin ait olduğu bölgeler arasında genotipik farklılık olup olmadığını belirlemek için kullanılacak bazı istatistikî parametrelerin hesaplanmasında da kullanılmıştır.

Genetik çeşitliliğin tanımlanmasında kullanılan bir diğer unsur ise; her bir lokus için allel sayılarının ortalamasının yani allelik zenginliğin ( $n_A$ ) belirlenmesidir. Lokus başına düşen ortalama allel sayısı ( $n_A$ ) populasyon büyüklüğünden etkilenmektedir. Bu değer aşağıdaki şekilde (3.3) hesaplanmaktadır (Nei, 1987).

$n_A = \frac{\sum n_{Ai}}{r}$	$n_A$ = her bir lokus için ortalama allel sayısı r= çalışmada kullanılan toplam lokus sayısı $\sum n_{Ai}$ = i.ci lokustaki toplam allel sayısıdır.
-------------------------------	---

(3.3)

### 3.2.2.2.6.b.Heterozigotluğun hesaplanması

Yaygın olarak kullanılan bir başka genetik çeşitlilik ölçütü ise populasyonların heterozigotluk düzeylerinin belirlenmesidir. Heterozigotluk düzeyi, incelenen lokuslar açısından populasyonlar içerisinde tespit edilen heterozigot bireylerin ortalama yüzdesini ifade etmektedir.

Çalışmada çok sayıda lokusla çalışılması dolayısıyla, tüm lokusların çalışılması sonucunda beklenen ve gözlenen heterozigotluklar için ortalama heterozigotluk hesaplanır. Her bölge örneği için önce lokuslar bazında, sonra tüm lokuslar için gözlenen alel sayıları, ortalama alel sayıları, gözlenen heterozigotluk ( $H_O$ ) ve beklenen heterozigotluk ( $H_E$ ) hesaplanarak genetik varyasyonlar saptanmıştır (3.4).

$$\text{Gözlenen Heterozigotluk} = \frac{\text{Bir lokustaki heterozigot sayısı}}{\text{Toplam birey sayısı}} \quad (3.4)$$

Beklenen heterozigotluk değerleri ( $2pq$ ) hesaplanırken, her bir lokus için ayrı ayrı hesaplandıktan sonra tüm lokusların ortalaması alınmıştır. Bu hesaplamaların yapılmasında GENETIX 4.02 (Belkhir ve ark., 2001) isimli istatistiksel paket programı kullanılmıştır.

### 3.2.2.2.6.c.F istatistikleri (F– fixation index) ve genetik uzaklığın hesaplanması

Wright'ın F istatistikleri populasyonların yapısının tanımlanmasında çok geniş olarak kullanılan parametrelerdendir (Naghlaki, 1998). Canlılarda kendi kendini dölleme veya akraba bireylerin melezlenmesi populasyonlardaki akrabalık oranını (inbreeding) arttırmaktadır. Bu populasyonlarda üzerinde çalışılan lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinden sapmalar görülmektedir. Bu sapmalara homozigotlaşma indeksi (F– fixation index) denilmektedir. Aynı türün farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliği incelemek ve populasyonlar arası farkı tanımlayabilmek için fiksasyon indeksleri kullanılabilir. Bu indeksler Wright (1965) tarafından geliştirilmiş olup sembolleri  $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  ve  $F_{ST}$  'dir. F istatistikleri genetik varyasyonu; toplam populasyonlar, alt populasyonlar ve bireyler bazında inceler.  $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  ve  $F_{ST}$  değerleri beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerine göre belirlenebilmektedir (Nei, 1987). Bu çalışmada  $F_{ST}$  değeri hesaplanmıştır.  $F_{ST}$ , alt populasyonlar arasında bulunan genetik farklılıkların ölçümü için belirlenen bir değerdir. Bir primer açısından populasyonları karşılaştırmada kullanılır. 0 ila 1 arasında bir değer alır.

Belirlenen değer 1'e ne kadar yakın ise alt populasyonlar müşterek atadan oldukça uzaktır, yani fazla miktarda genetik farklılaşma görölmektedir.  $F_{ST}$  değeri küçük olduğu zaman populasyonların arasındaki varyasyonun küçük olduğu söylenebilir. Yani iki populasyon birbirine genetik olarak benziyor demektir. Eğer  $F_{ST}$  değeri;

\*0 – 0,05 arasında bir değer alıyor ise küçük bir genetik farklılaşma;

\*0,05 – 0,15 arasında bir değer alıyor ise orta düzeyde farklılaşma;

\*0,15 – 0,25 arasında bir değer alıyor ise büyük bir genetik farklılaşma

\*0,25'ten büyük değerler alıyorsa çok büyük bir genetik farklılaşmanın mevcut olduğu söylenebilir (Özkan 2005). Kısaca  $F_{ST}$  ise populasyonlar arası farklılaşmayı belirlemede kullanılır.  $F_{ST}$  aşağıdaki formülle hesaplanır (3.5).

$F_{ST} = (H_0 - H_S) / H_T$	
$H_0$ = Alt populasyonlarda gözlenen heterozigotluk ortalaması,	<b>(3.5)</b>
$H_S$ = Alt populasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalaması,	
$H_T$ = Toplam populasyonlardaki heterozigotluk ortalaması ( Nei 1987)	

### 3.2.2.2.6.d. Populasyonlar arası genetik mesafenin hesaplanması

Genetik mesafe populasyonlar veya türler arasındaki gen farklılıklarının büyüklüğüdür. Bu değerler genellikle geometrik uzaklıklarla eştir, yani mesafe değerinin "0" olması farklılık olmadığına işarettir. Benzerlik (I) ve mesafe (D) değerleri birbirine komplementerdir (  $I+D = 1$  ).Bu metod aşağıdaki şekilde tanımlanır (3.6):

$D = - \ln I \text{ yada } D = - \log_e I$	<p>D= Standart Genetik Uzaklık</p> <p>I= Populasyonlar arasındaki genetik uzaklık</p> <p><math>XY J^* = X</math> ve <math>Y</math> populasyonlarındaki <math>A_i</math> allelinin frekanslarının toplamı</p> <p><math>X J^* = X</math> populasyonundaki <math>A_i</math> allelinin frekansı</p> <p><math>Y J^* = Y</math> populasyonundaki <math>A_i</math> allelinin frekansı</p>
$I = \frac{\hat{J}_{XY}}{\sqrt{\hat{J}_X \hat{J}_Y}}$	<b>(3.6)</b>

Populasyonlar arasındaki genetik uzaklığı ölçebilmek için kullanılan birdeğer olan I basit genetik özdeşlik (basit genetik aynılık- simple genetic identity) olarak isimlendirilir. I değeri 0 ile 1 arasında değerler aldığı zaman genetik uzaklık (D) 0 ve  $\infty$  arasında değer alır. (I) değeri 1'e eşit ise iki populasyonda tüm lokuslardaki genfrekansları bakımından aynıdır denilir. Eğer (I) değeri 0'a eşit ise populasyonlarda çalışılan mikrosatellit bölgelerinde hiç bir ortak allelin olmadığı söylenebilir.

### 3.2.2.2.6.e. PIC (Polimorfizm bilgi içeriği) ve PD (Ayrımlama gücü)

"Polimorfizm Bilgi İçeriği yada Poliformik bilgi kapsamı" bir toplumdaki allel sıklığı ile hesaplanır ve ortalama tekrar uzunluğu ile yakın ilişkidir. PIC degerleri, genetik haritalamada yararlı bir bilgi indeksi olup çalışılan lokusların allel sıklıklarına ve allel sayısına bağlı olarak değişmektedir. PIC degerinin, 0,75'e eşit veya üzerinde olması bilgilendirme açısından uygundur. PIC değeri aşağıdaki formülle (3.7) bulunur (Laborda ve ark. 2005);

$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$	<p>PIC<sub>i</sub> = i.'ci lokusun polimorfizm bilgi içeriği</p> <p>i ve j = allel sıklığı</p> <p>P<sub>ij</sub> = n sayısında allele sahip olan i. ci lokusun j' ci allel frekansı</p>	(3.7)
-------------------------------------	---	-------

Ayrımlama gücü (Power of Discrimination=PD) ise karşılaştırma olasılığının 1'den farkı alınarak hesaplanmaktadır. Çalışılan bireyler arasında aynı genotipte olmayan, farklı DNA profiline sahip olan bireylerin olasılığını ifade etmektedir. Birden fazla lokusun ayrımlama gücü için aşağıdaki eşitlik (3.8) kullanılmaktadır (Özkan 2005).

$P_{D-kombine} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_{Di}) - 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_{Mi})$	(3.8)
<p>Kombine ayrımlama gücü: formülünün açılımı: 1-(P<sub>1</sub>*P<sub>2</sub>*P<sub>3</sub>*.....P<sub>n</sub>)</p> <p>n= lokus sayısı</p>	

### 3.2.2.2.6.f. Allellerin paylaşım uzunluklarının ölçümü

Bireyler arası genetik uzaklığı saptarken allel paylaşım uzunluklarının (allelesharing distance) mikrosatellit verilerinin analizinde uygun bir ölçüt olduğu belirtilmektedir (Bowcock et al., 1994). Bu metod aynı türdeki popülasyonlarda yer alan tüm bireylerin içerisinde ortak olan allelleri temel olarak almaktadır. Bu türlerin daha önceki zamanlarda bazı alt popülasyonlara bölünmüş olması olasılığı gözönüne alınır ve bu nedenle temel popülasyonlarda allel frekansının bölünmüş olan popülasyonlardaki allel frekanslarından daha yüksek olması gerektiği varsayımı Kabul edilmektedir. Tüm allellerin popülasyonlara bölünmesi sırasında tamamı ile paylaşılmadığı baz alınarak hesaplamalar yapılır. Sonuç olarak allellerin paylaşım oranlarındaki artışın popülasyonlardaki genetik benzerliği arttırdığı düşünülmektedir (Chakrobarty ve ark., 1992, Bowcock ve ark., 1994). Bireyler arasındaki allel paylaşım uzunlukları (DSA<sub>i</sub>) aşağıdaki gibi hesaplanır (3.9).

DSA <sub>i</sub> = 1 - P <sub>s</sub>	$P_s = \frac{\sum S}{2r}$	S= Tüm lokuslardaki toplam paylaşılan allellerin sayısı r = Toplam lokus sayıdır.	(3.9)
---------------------------------------	---------------------------	--	-------

### 3.2.2.2.6.g. Faktöriyel birleştirici analiz

Faktöriyel birleştirici analiz (Factorial Correspondence Analysis), bireylerin birbirleriyle ilişkilerinin elde edilen veriler doğrultusunda çok boyutlu düzlemde incelenmesidir. Diğer bir deyişle bireyler arasındaki akrabalığı araştırma için yapılan bir analiz olup çoklu boyutta bireylerin birbirlerine yakınlığının görülmesini sağlayan bir analizdir. Bir bireyde bir lokusa ait belirli bir allelden ya hiç yoktur, yada bir veya en fazla 2 tane vardır. Bu veriler faktöriyel birleştirici analiz için “doğrusal dönüştürüm” (linear transformation) ile düzenlenir. Analiz sonucunda çoklu boyutta diagram çizilebilir her bir birey için her bir lokustaki allel sayılarına göre linear bir biçimde transformasyon yapılmaktadır. Genellikle 3 eksenli çizilen şekil bireyler arası farkı görselleştirmektedir (Byrne ve ark. 2001). Bu analiz için Genetix 4.02 (Belkhir ve ark., 2001) yazılım programı kullanılmıştır.

### 3.2.2.2.6.h. Genetik yapı analizi (model-based Bayesian Analizi)

*B. distachyon* aksesyonlarına ait örneklerin genetik yapılanmasını değerlendirmek ve farazi olarak karıştırılmış bireyleri belirlemek için model-based Bayesian analizi yapılmıştır. Bu analiz için STRUCTURE 2.3.4 yazılım analizi kullanılmıştır. Bu analiz bir popülasyonda veya çok sayıda popülasyonda genetik olarak farklı özellik gösteren bireylerin bulunmasını sağlar. Analiz örneklerin 'soy katkısı' ve 'alel frekansları' arasındaki ilişki parametreleri kullanılarak yapılmıştır. Analizde K (popülasyon sayısı) 1-12 arasında değer alır, 100.000 ısınma periyodu (burn in period), 100.000 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) tekrarlamalarını yakından takip eder ve her çalışma 10 kez tekrarlanır. Bizim veri kümemizde K'nın en uygun değeri alabilmesi için K posterior olasılıkları da hesaplanmıştır (Pritchard ve ark. 2000, Distefano ve ark. 2013).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Morfolojik Karakterizasyon Çalışmalarında Elde Edilen Sonuçlar

Ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan 48 *B. distachyon* aksesyonuna ait bitkilerin bitki boyu, bayrak yaprak ayası boyu, bayrak yaprak ayası eni ve biyokütlelerinin ölçümlerinden elde edilen verilerin maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Başaklı sap sayısı, başaksız sap sayısı, başakçık ve tohum sayısı ile ilgili veriler Çizelge 4.2’de yer almaktadır. Tohum ve bintane ağırlığı, çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme süreleri, bitki görünüşü, bitki rengi, tüylülük derecesi, bitki formu özellikleri ile ilgili olarak yapılan gözlem ve ölçümlerden elde edilen veriler de Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Yapılan ölçümler sonucunda aksesyonların bitki boylarının ortalama 24, 7 cm (11-43 cm) olduğu belirlenmiştir. 29,103 cm ile Bd111 en uzun boylu bitkilere sahip iken bu aksesyonu 28,800 cm ile Bd83, 28,759 cm ile Bd100, 28,375 cm ile Bd65 ve 28,250 cm ile Bd94 aksesyonları takip etmiştir. En kısa boylu bitkilere 19.133 cm ile Bd38 aksesyonunda rastlanmaktadır. 19,591 cm ile Bd67, 20,000 cm ile Bd41, 20,833 cm ile Bd11 ve 20,842 cm ile Bd69 kısa boylu bitkilere sahip diğer aksesyonlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda bitki boyunun yaklaşık 3-30 cm (Davis 1985), 20 cm (Draper ve ark. 2001), (18) 26 (35) cm (Catalan ve ark. 2011), 34 cm ( 21-52 cm) (Filiz ve ark. 2009a), 15 cm (Vogel ve Bragg 2009) ve 5-18 cm arasında değişen değerlere (Öney 2013) sahip olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen bitki boy uzunluğu literatürlerce desteklenmektedir.

*B. distachyon* aksesyonlarının bayrak yaprak ayası boylarının ortalama 5,6 cm (2- 11,5 cm) bayrak yaprağı eninin 4.5 mm (2-7 mm) olduğu belirlenmiştir. Bayrak yaprak aya boyunun en fazla olduğu aksesyonlar Adi (9,333 cm), Koz (9,063 cm), Bis (8,833 cm), Kah (8,253 cm) ve Gaz (8,124 cm) şeklinde sıralanmaktadır. Bd14 ve Bd68 ( 3.500 cm), Bd42 (3,625 cm), Bd105 (3,881 cm), Bd84 (4,000 cm) aksesyonlarının ise bayrak yaprak ayası boylarının kısa olduğu belirlenmiştir. Bayrak yaprak ayası eninin; Adi (6,400 mm), Gaz (6,286 mm), Kah (6,133 mm), Koz (6,063 mm) ve Bd92 (5,750 mm) aksesyonlarının bayrak yaprak ayası enlerinin geniş, Bd15 (3,000 mm), Bd68 (3,250 mm, Bd41 (3,286 mm), Bd12 (3,313 mm) ve Bd14 (3,333 mm) aksesyonlarının ise bayrak yaprak ayası enlerinin dar olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda bayrak yaprak ayası eni 1-6 mm (Davis 1985),  $2,8 \pm 0,3$  mm (Catalan ve ark. 2011) olarak açıklanmıştır.

Çizelge 4.1. Aksesyonların bitki boyu (cm), bayrak yaprak ayası boy (cm), bayrak yaprak ayası en ( mm), biyokütle (g) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri

Aksesyon No:	Bitki Boyu (cm)	Bitki Boyu Ort.	Bay. Yap. Boy (cm)	Bay. Y.A. Boy Ort.	Bay. Y. A. En (mm)	Bay. Yap. En Ort.	Biyokütle (g)	Biyokütle Ort.
Bd3	18 - 25	21,389	3 - 7	4,611	3 - 4	3,500	2,800 - 6,850	4,765
Bd4	16 - 30	22,680	4 - 6	4,740	3 - 5	3,800	2,640 - 6,480	4,297
Bd8	17 - 28	22,050	2,5 - 5	4,200	3 - 4	3,600	2,140 - 6,360	4,124
Bd11	13 - 36	20,833	4 - 4,5	4,167	3 - 4	3,500	3,05- 5,370	3,935
Bd12	16 - 28	22,063	3 - 5	4,094	2 - 4	3,313	2,510 - 6,260	3,993
Bd13	15 - 35	25,200	3 - 5	4,300	3 - 4	3,600	2,070- 4,960	3,586
Bd14	20 - 30	24,542	2,5 - 6	4,208	2 - 4	3,333	2,830- 6,370	4,485
Bd15	24 - 29	26,000	4 - 4	4,000	3 - 3	3,000	3,620 - 4,160	3,873
Bd16	16 - 28	24,000	3,5 - 5	4,300	3 - 4	3,400	2,150 - 4,590	3,298
Bd37	17 - 28	22,850	3 - 6	5,000	2 - 5	3,950	1,890 - 6,950	4,703
Bd38	12 - 25,5	19,133	3 - 5	4,200	3 - 4	3,533	1,550- 6,480	3,886
Bd41	14 - 26	20,000	2,5 - 5	3,500	3 - 4	3,286	2,140- 3,540	2,919
Bd42	20 - 22	21,125	2,5 - 4	3,625	3 - 5	3,750	2,640- 3,540	3,228
Bd62	12 - 36	25,760	4 - 7,5	5,340	3 - 6	4,680	1,540- 8,240	4,978
Bd63	22 - 28	24,167	5 - 7	5,667	4 - 5	4,167	2,570- 5,600	4,052
Bd65	24 - 37,5	28,375	5 - 8,5	6,000	3 - 5	4,167	3,150- 6,690	4,973
Bd66	22 - 31,5	26,300	4 - 7	4,967	3 - 5	4,400	1,820- 6,880	3,943
Bd67	12,5 29	19,591	2,5 - 5	3,864	2 - 6	3,636	2,540- 5,250	3,706
Bd68	18 - 25	21,250	3 - 4	3,500	3 - 4	3,250	3,830- 5,680	4,690
Bd69	11 - 33	20,842	4 - 8,8	5,726	3 - 5	4,000	1,470- 6,850	4,426
Bd81	20 - 36	27,563	5 - 7,5	6,438	4 - 5	4,375	3,310 - 7,110	5,014
Bd83	18 - 42	28,800	3,5 - 11,5	6,808	3 - 6	4,440	2,820 - 7,500	4,996
Bd84	14 - 41	23,333	2 - 6	4,000	3 - 5	3,619	2,230- 5,960	3,734
Bd85	18 - 28	24,569	3 - 7,5	4,414	4 - 5	4,448	2,810- 6,090	4,223
Bd86	14 - 29	20,935	3 - 9,5	5,348	2 - 6	4,261	1,480- 8,940	4,299
Bd88	15 - 30	23,269	3 - 7	4,808	3 - 5	4,115	1,610- 6,390	4,211
Bd89	19 - 34	24,340	3 - 7	4,640	3 - 5	3,840	2,720- 6,410	4,389
Bd90	17 - 26	22,321	4 - 9	5,464	3 - 6	4,286	1,660- 6,090	4,547
Bd91	19 - 26	23,250	3,5 - 9,5	6,464	4 - 5	4,500	3,000 - 5,610	4,437
Bd92	11 - 31	23,332	4,5 - 10	7,357	4 - 7	5,750	3,370- 8,910	5,323
Bd93	14 - 34	23,500	4,5 - 8,5	5,789	3 - 6	4,944	2,290- 7,510	4,767
Bd94	21,- 31	28,250	5 - 10,5	6,286	4 - 5	4,500	2,830- 7,950	4,696
Bd95	14 - 35	23,737	2,5 - 8	5,026	3 - 5	4,000	2,540- 6,540	4,207
Bd96	13 - 29	20,947	3,5 - 6	4,684	3 - 5	4,000	2,220- 6,610	4,344



Bd97	15 - 33,5	25,117	3 - 8,5	5,900	4 - 6	5,300	2,350- 7,530	4,986
Bd99	18 - 43	28,034	3,2 - 11,5	6,652	3 - 6	4,103	2,310 - 6,870	4,460
Bd100	15,5 34	28,759	3,5 - 10	6,093	4 - 6	5,000	2,800 - 7,440	5,252
Bd105	14 - 29	21,452	2,5 - 5	3,881	3 - 5	3,381	2,060 - 4,970	3,676
Bd108	12 - 35	23,431	3 - 10,6	5,962	4 - 6	4,621	2,190 - 6,120	4,219
Bd109	16,5 30,5	25,379	4 - 7,8	5,155	4 - 6	4,586	2,500 - 6,190	4,272
Bd111	21,5 34,5	29,103	3 - 9	5,224	3 - 6	4,724	2,970- 6,950	4,855
Bd112	19,5 37	27,603	3 - 9,5	4,897	3 - 6	4,483	1,180 - 7,590	4,871
Bd117	19 - 36	26,948	3 - 9,5	6,190	4 - 6	4,966	2,590 - 8,150	4,780
Bis.	22,5 25	23,500	8,5 - 9	8,833	5 - 6	5,333	2,440 5,470	3,990
Gaz.	20 - 31	27,000	4,5 - 10,5	8,124	5 - 7	6,286	2,570- 7,060	4,796
Koz.	20 - 33	25,919	5,5 - 11,5	9,063	4 - 7	6,063	1,650- 6,650	4,156
Kah.	16,5 37,5	26,613	4 - 10,8	8,253	5 - 7	6,133	2,820 - 7,690	4,899
Adi	17 - 36,7	27,320	6,5 - 10,8	9,333	5 - 7	6,400	2,550 - 7,160	4,878

Yapılan biyokütle ölçümleri (kök hariç) sonucunda aksesyonların ortalama 4,5 g (1,18- 8,94 g) biyokütleyle sahip oldukları görülmüştür. En fazla biyokütleyle 5,323 g ile Bd92 aksesyonunun sahip olduğu belirlenmiştir. Bu aksesyonu Bd100 (5,252 g), Bd81 (5,014 g), Bd83 (4,996 g) ve Bd97 (4,986 g) aksesyonları takip etmektedir. 2,919 g ile Bd41, 3,228 g ile Bd42, 3,676 g ile Bd105, 3,706 g Bd67 ve 3,734 g ile Bd84 aksesyonları ise en az biyokütleyle sahiptir. Ülkemizde daha önce yapılan bir çalışmada bitki biyokütlesinin 0,4-15,77 g/bitki arasında değiştiği (Filiz ve ark. 2009a) bildirilmektedir. Benjamin ve ark. (2011) 49. ve 72. günlerde yaptıkları ölçümlerde bitki ağırlığının 14,1 mg/gün olduğunu açıklamışlardır.

Çizelge 4.2. Aksesyonların başaklı sap sayısı (BSS, adet), başaksız sap sayısı (BSZSS, adet), başakçık sayısı (BÇS, adet), ve tohum sayısı (TS, tohum / bitki) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri

Akses. No:	BSS (adet)	BSS Ort.	BSZSS (adet)	BSZSS Ort.	BÇS ( adet)	BÇS Ort.	TS (tohum/ bitki)	TS Ort.
Bd3	9 - 85	47,722	4 - 25	10,722	30 - 212	118,167	233 - 562	370,833
Bd4	22 - 50	35,480	0 - 10	3,840	40 - 197	129,480	197 - 565	388,280
Bd8	4 - 65	31,600	0 - 15	6,400	11 - 125	62,600	223 - 476	354,800
Bd11	8 - 43	29,667	2 - 13	7,167	45 - 111	68,500	232 - 354	274,167
Bd12	17 - 75	39,750	0 - 15	5,563	41 - 167	94,438	192 - 617	307,563
Bd13	8 - 44	27,400	0 - 13	4,600	32 - 128	84,800	196 - 404	316,200
Bd14	24 - 70	47,917	3 - 8	5,417	28 - 135	90,083	243 - 417	328,083
Bd15	23 - 75	47,333	7 - 8	7,333	73 - 86	81,000	283 - 406	348,333
Bd16	17 - 55	34,000	0 - 8	4,000	62 - 127	96,400	284 - 356	327,400
Bd37	13 - 55	34,300	0 - 14	3,700	11 - 177	106,450	162 - 715	394,250
Bd38	12 - 70	37,133	0 - 12	4,867	19 - 188	118,333	86 - 510	358,600
Bd41	10 - 50	26,143	0 - 10	2,714	21 - 124	60,286	206 - 380	298,429
Bd42	19 - 32	27,250	0 - 8	4,000	71 - 107	88,750	245 - 413	312,250
Bd62	12 - 46	31,000	0 - 5	2,080	48 - 204	139,400	143 - 722	466,280
Bd63	19 - 45	32,833	2 - 8	4,167	65 - 175	116,500	256 - 485	388,500
Bd65	23 - 63	41,667	0 - 8	3,833	92 - 197	156,333	288 - 635	457,000
Bd66	12 - 46	28,000	0 - 8	2,867	27 - 186	99,467	195 - 503	329,067
Bd67	20 - 65	39,636	0 - 10	3,455	80 - 145	107,727	240 - 492	315,364
Bd68	30 - 42	34,750	4 - 7	5,250	102- 158	128,250	238 - 652	433,750
Bd69	9 - 60	35,316	2 - 20	7,158	18 - 210	126,263	196 - 695	425,263
Bd81	18 - 52	33,625	0 - 15	6,625	40 - 186	101,875	270 - 725	433,375
Bd83	21 - 58	34,360	0 - 12	3,560	49 - 158	101,880	242 - 653	414,000
Bd84	6 - 70	37,905	0 - 22	7,048	15 - 182	82,524	205 - 450	325,905
Bd85	14 - 75	32,000	0 - 8	2,897	55 - 195	118,966	205 - 502	357,379
Bd86	21 - 135	50,609	2 - 40	9,217	10 - 403	140,217	120 - 580	344,217
Bd88	8 - 59	35,885	0 - 65	9,038	27 - 263	112,077	170 - 510	344,385
Bd89	30 - 88	45,760	2 - 10	5,160	61 - 176	117,080	36 - 470	307,000
Bd90	15 - 43	31,357	0 - 7	2,286	16 - 150	109,286	174 - 570	376,786
Bd91	18 - 56	33,071	0 - 7	3,786	89 - 186	134,000	253 - 665	440,571
Bd92	6 - 80	41,607	0 - 60	6,857	92 - 256	152,500	272 - 853	446,750
Bd93	9 - 60	32,444	0 - 15	6,000	38 - 204	133,778	216 - 755	426,611
Bd94	18 - 49	29,286	0 - 5	1,429	58 - 172	102,357	296 - 525	376,857
Bd95	15 - 65	38,526	0 - 18	4,684	23 - 187	108,684	218 - 496	338,947
Bd96	10 - 61	35,211	2 - 10	4,105	50 - 158	109,579	210 - 603	401,579
Bd97	21 - 45	34,033	0 - 15	4,833	81 - 185	131,233	193 - 596	388,800
Bd99	14 - 43	31,517	0 - 8	3,862	37 - 141	87,966	167 - 610	361,897

Bd100	18 - 43	32,862	0 - 5	1,828	48 - 150	119,552	162 - 690	452,690
Bd105	22 - 78	42,238	0 - 12	4,524	36 - 148	84,571	162 - 497	304,524
Bd108	21 - 40	30,448	0 - 8	2,862	67 - 181	117,931	133 - 530	348,759
Bd109	20 - 43	29,724	0 - 8	2,621	84 - 155	114,241	108 - 496	347,414
Bd111	21 - 39	28,103	0 - 7	3,138	72 - 160	117,931	160 - 513	376,103
Bd112	15 - 42	30,172	0 - 7	3,931	23 - 171	110,414	140 - 526	357,034
Bd117	20 - 41	31,276	0 - 6	2,724	62 - 136	110,828	204 - 552	373,517
Bis.	16 - 25	21,667	0 - 3	1,667	49 - 121	89,333	343 - 434	377,667
Gaz.	18 - 35	25,571	0 - 7	3,095	58 - 120	85,381	102 - 615	351,905
Koz.	8 - 30	20,813	0 - 6	2,063	20 - 118	76,875	106 - 520	321,188
Kah.	15 - 37	23,267	1 - 8	3,000	59 - 138	91,800	173 - 562	350,333
Adi	12 - 43	25,600	0 - 6	2,300	49 - 142	93,967	197 - 515	373,167

Çalışma sonucunda aksesyonların sahip olduğu başaklı sap sayısının 34 (4-135) adet olduğu belirlenmiştir. Bd86 (50,609 adet), Bd14 (47,917 adet), Bd3 (47,722 adet), Bd15 (47,333 adet) ve Bd89 (45,760 adet) aksesyonları en fazla başaklı sap sayısına sahip iken Koz (20,813 adet), Bis (21,667 adet), Kah (23,267 adet), Gaz (25,571 adet) ve Adi (25,600 adet) aksesyonlarının sahip oldukları başaklı sap sayısı diğer aksesyonlardan daha azdır.

Başaksız sap sayısının 4 (0-65) adet olarak belirlendiği çalışmada Bd3 (10,722 adet), Bd86 (9,217), Bd88 (9,038 adet), Bd11 (7,167 adet) ve Bd69 (7,158 adet) aksesyonlarının fazla sayıda başaksız sapa sahip oldukları görülmüştür. Bd94 (1,429 adet), Bis (1,667 adet), Bd100 (1,828 adet), Bd62 (2,080 adet) ve Bd90 (2,286 adet) aksesyonlarının ise başaksız sap sayılarının az olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada bitki başına başakçık sayısının 111 (10- 403) adet olduğu belirlenmiştir. En fazla başakçık sayısına 156,333 adet ile Bd64 aksesyonu sahiptir. Bu aksesyonu Bd92 (152,500 adet), Bd86 (140,217 adet), Bd62 (139,400 adet) ve Bd91 (134,000 adet) aksesyonları takip etmektedir. Başakçık sayısı az olan aksesyonlar ise Bd41 (60.286 adet), Bd4 (62,600 adet), Bd11 (68,500 adet), Koz (76,875 adet) ve Bd15 (81,000 adet) olarak sıralanmaktadır.

Bitki başına tohum sayısının ortalama 372 (36- 853) tohum/ bitki olduğu görülmüştür. Tohum sayısı diğer aksesyonlardan daha fazla olan Bd62 (466,280), Bd65 (457,000), Bd100 (452,690), Bd92 (446,750) ve Bd91 (440,571) aksesyonlarıdır. Bd8 (274,167), Bd41 (298,429), Bd89 (307,000), Bd105 (304,524) ve Bd12 (307,563) aksesyonlarının ise bitki başına tohum sayısı ortalamanın çok altındadır. Draper ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada

bitki başına tohum sayısının 80- 200 tohum/ bitki, Filiz ve ark. (2009a) 4-193 tohum/ bitki, Brkljacic (2011) ise 100-1000 tohum/ bitki arasında değişmekte olduğunu açıklamışlardır.

Çizelge 4.3. Aksesyonların tohum ağırlığı (TA, g), bin tane ağırlığı (BTA, g), çimlenme süresi (ÇMS, gün), başaklanma süresi (BS, gün) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri

Aks. No:	TA (g)		TA Ort.	BTA (g)		BTA Ort.	ÇMS (gün)		ÇMS Ort.	BS (gün)		BS Ort.
Bd3	0,700	2,380	1,465	2,997	5,000	3,748	14	26	15,833	130 - 159	140,000	
Bd4	0,970	2,660	1,626	2,997	6,000	4,263	14	14	14,000	129 - 154	138,680	
Bd8	0,890	2,350	1,491	3,004	5,240	4,230	14	26	17,600	131 - 162	144,500	
Bd11	0,760	1,770	1,192	3,034	5,000	4,354	14	22	20,667	149 - 158	153,833	
Bd12	0,940	2,470	1,405	3,990	5,025	4,626	14	22	15,000	130 - 149	136,750	
Bd13	0,590	2,020	1,376	3,010	5,000	4,202	14	22	18,800	129 - 139	133,200	
Bd14	0,730	1,750	1,302	3,000	5,000	4,006	14	22	19,333	130 - 159	139,833	
Bd15	1,220	1,780	1,567	3,000	6,007	4,709	14	22	19,333	136 - 146	141,000	
Bd16	0,980	1,900	1,428	3,000	5,000	4,003	14	22	18,800	131 - 155	139,600	
Bd37	0,810	2,980	1,724	3,005	5,010	4,359	14	40	16,800	125 - 141	133,800	
Bd38	0,950	2,400	1,495	3,000	5,000	4,112	14	22	15,067	130 - 140	136,667	
Bd41	0,620	1,900	1,219	3,000	5,000	3,998	14	29	18,429	120 - 144	135,714	
Bd42	0,980	1,660	1,360	4,000	5,000	4,337	14	22	16,000	133 - 139	137,500	
Bd62	0,570	4,280	2,211	4,000	7,000	4,699	14	22	15,280	106 - 135	123,840	
Bd63	1,140	1,940	1,658	3,996	5,000	4,333	14	26	20,000	119 - 136	126,167	
Bd65	1,380	3,020	2,148	4,000	7,000	4,750	14	22	14,667	107 - 138	127,917	
Bd66	0,780	2,380	1,435	3,000	6,000	4,459	14	22	14,533	129 - 178	138,067	
Bd67	0,720	1,970	1,314	3,000	6,000	4,272	14	33	16,455	111 - 144	134,636	
Bd68	1,190	2,610	1,909	3,995	5,000	4,500	14	14	14,000	134 - 142	137,750	
Bd69	0,500	2,830	1,696	3,000	5,000	4,062	14	26	14,632	110 - 139	130,158	
Bd81	1,040	2,900	1,745	3,000	6,000	3,947	14	22	19,000	97 - 139	123,750	
Bd83	1,020	3,490	1,944	3,000	7,980	4,916	14	33	16,320	97 - 141	125,520	
Bd84	0,720	2,250	1,360	3,000	6,006	4,222	14	26	15,333	97 - 149	134,048	
Bd85	1,060	2,570	1,809	4,000	9,000	5,359	14	14	14,000	121 - 135	127,517	
Bd86	0,600	2,410	1,434	3,000	8,000	4,444	14	26	14,870	97 - 144	131,130	
Bd88	0,650	3,060	1,671	3,000	6,020	4,870	14	22	14,308	105 - 144	133,808	
Bd89	0,840	2,640	1,619	3,000	7,000	5,003	14	14	14,000	121 - 142	135,600	
Bd90	0,870	2,970	1,994	4,000	8,000	5,253	14	14	14,000	101 - 142	128,143	
Bd91	1,420	2,920	2,015	3,996	5,000	4,538	14	22	15,143	113 - 130	123,571	
Bd92	1,300	5,120	2,520	4,000	8,000	5,965	14	14	14,000	99 - 119	106,929	
Bd93	1,020	3,450	1,982	3,990	6,000	4,719	14	22	16,222	108 - 134	121,111	
Bd94	1,030	3,150	1,802	3,000	7,000	5,000	14	33	15,357	112 - 144	130,929	
Bd95	0,960	2,980	1,688	3,000	9,010	4,889	14	22	16,105	121 - 159	132,789	
Bd96	1,050	2,620	1,943	3,000	8,010	4,894	14	22	15,263	118 - 143	130,789	
Bd97	1,020	3,960	2,386	4,000	10,000	6,183	14	14	4,000	110 - 126	119,100	

Bd99	1,250	3,640	2,366	5,000	9,000	6,571	14	22	14,276	93 -	117	104,000
Bd100	0,970	3,550	2,569	4,000	7,000	5,700	14	14	14,000	114 -	128	122,172
Bd105	0,940	2,320	1,469	4,000	7,020	5,167	14	14	14,000	128 -	143	134,238
Bd108	0,940	3,150	2,045	3,990	8,120	5,929	14	14	14,000	113 -	136	122,862
Bd109	1,030	2,950	2,132	4,000	8,000	5,870	14	14	14,000	114 -	132	125,862
Bd111	1,120	3,480	2,367	4,000	9,010	6,202	14	14	14,000	112 -	131	124,724
Bd112	0,560	3,670	2,515	4,000	11,010	6,954	14	14	14,000	109 -	131	124,241
Bd117	1,020	4,230	2,196	4,000	8,000	5,763	14	14	14,000	112 -	131	122,379
Bis.	1,080	3,040	2,120	6,000	7,000	6,645	14	14	14,000	95 -	100	97,000
Gaz.	1,100	3,690	2,417	5,000	10,000	6,811	14	14	14,000	88 -	102	96,429
Koz.	0,740	3,280	2,090	5,000	7,000	6,167	14	14	14,000	93 -	112	102,438
Kah.	1,320	3,590	2,475	5,990	9,000	7,309	14	20	14,400	88 -	111	100,867
Adi	1,350	3,610	2,496	5,000	8,010	6,537	14	14	14,000	91 -	107	99,667

Bitkilerin sahip olduğu tohum ağırlığı 1,95 g (0,5 – 5,120) olup tohum ağırlığı en fazla olan aksesyon Bd100'dür (2,569g). Bd92 (2,520 g), Bd112 (2,515g), Adi (2,496 g) ve Kah (2,475 g) tohum ağırlığı fazla olan diğer aksesyonlardır. Sahip oldukları tohum ağırlıkları az olan aksesyonlar ise Bd11 (1,192 g), Bd41 (1,219 g), Bd14 (1,302 g), Bd67 (1,314 g) ve Bd42 (1,360 g) aksesyonlarıdır.

Aksesyonların sahip olduğu bin tane ağırlığının 5,12 g (2,62 – 11,01 g) olduğu belirlenmiştir. Bin tane ağırlığı bakımından dikkat çeken aksesyonlar Kah (7,309 g), Bd112 (6,954 g), Gaz (6,811 g), Bis (6,645 g) ve Bd99 (6,571 g) şeklinde sıralanmaktadır. Bd3 (3,748 g), Bd81 (3,947 g), Bd41 (3,988 g), Bd14 (4,006 g), Bd69 (4,062 g) aksesyonları ise ortalamanın oldukça altında bin tane ağırlığına sahip aksesyonlardır.

*B.distachyon* aksesyonlarına ait tohumlar ekildikten sonra yapılan gözlemler sonucunda tohumların 15 (14 - 40) günde çimlendikleri tespit edilmiştir. Bd11 (20,677 gün), Bd63 (20 gün), Bd14 ile Bd15 (19,333 gün) ve Bd81 (19 gün) aksesyonlarının çimlenme sürelerinin uzun, Bd4, Bd68, Bd85, Bd89, Bd90, Bd92, Bd97, Bd100, Bd105, Bd108, Bd109, Bd111, Bd112, Bd117, Bis, Koz, Gaz ve Adi aksesyonlarının 14 gün ile çimlenme sürelerinin kısa olduğu belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda da tohumların 2 hafta da çimlendiği açıklanmıştır (Draper ve ark. 2001). Ayrıca bitkilerin başak çıkarma süresi 125 (88 – 178) gündür. Bd11 (153,833 gün), Bd8 (144,500 gün), Bd15 (141 gün), Bd3 (140 gün) ve Bd16 (139,6 gün) aksesyonlarının başak çıkarma sürelerinin uzun olduğu, Gaz (96,429 gün), Bis (97 gün), Adi (99,667 ), Kah (100,867 gün) ve Koz (102,438 gün) aksesyonlarının ise daha kısa zamanda başak çıkardıkları belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Aksesyonların çiçeklenme süresi (ÇÇS, gün), bitki görünüşü (BG, 1-5), bitki rengi (BR, 1-3), tüylülük derecesi (BT, 1-3), bitki formu (BF, dik-yarı dik-yatık) özelliklerine ait max.- min ve ortalama değerleri

Akses. No:	ÇÇS (gün)	ÇÇS Ort.	BG (1-5)	BG Ort.	BR (1-3)	BR Ort.	BT (1-3)	BT Ort.	BF
Bd3	145 - 172	152,944	3 - 4	3,222	2 - 3	2,167	1 - 3	1,944	Yatık
Bd4	15 - 165	150,680	3 - 5	3,640	1 - 3	2,080	1 - 3	1,960	Dik/ Yarıdik
Bd8	145 - 187	159,300	3 - 4	3,300	2 - 3	2,400	1 - 3	2,000	Yatık/ Yarıdik
Bd11	159 - 172	164,833	2 - 5	3,167	2 - 2	2,000	1 - 2	1,500	Yatık/ Yarıdik
Bd12	142 - 152	147,625	3 - 5	3,563	2 - 3	2,063	2 - 3	2,125	Dik/ Yarıdik
Bd13	144 - 152	147,200	2 - 5	3,800	2 - 2	2,000	1 - 2	1,400	Yarı dik
Bd14	144 - 171	152,917	3 - 5	3,833	2 - 3	2,083	1 - 1	1,000	Yarı dik
Bd15	148 - 157	153,000	3 - 5	4,000	2 - 3	2,333	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd16	144 - 167	151,800	3 - 5	4,000	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Yatık/ Dik
Bd37	139 - 151	145,300	3 - 5	3,550	2 - 3	2,350	1 - 3	2,100	Dik/ Yarıdik
Bd38	144 - 152	148,467	2 - 4	3,067	2 - 3	2,600	2 - 3	2,400	Dik/ Yarıdik
Bd41	133 - 156	148,286	2 - 4	3,000	2 - 3	2,857	2 - 2	2,000	Dik/ Yatık
Bd42	145 - 151	149,250	3 - 3	3,000	3 - 3	3,000	2 - 2	2,000	Dik
Bd62	122 - 146	136,640	2 - 5	4,080	1 - 3	1,800	2 - 2	2,000	Dik
Bd63	134 - 148	140,000	4 - 5	4,167	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik
Bd65	119 - 148	139,750	4 - 5	4,417	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd66	141 - 148	145,467	3 - 5	4,267	1 - 3	1,933	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd67	124 - 154	145,000	3 - 5	3,273	1 - 3	2,545	2 - 3	2,273	Dik/ Yarıdik
Bd68	147 - 151	149,125	3 - 4	3,375	2 - 3	2,750	3 - 3	3,000	Dik
Bd69	123 - 151	140,895	2 - 5	3,421	2 - 3	2,211	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd81	107 - 148	133,625	3 - 5	4,250	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd83	109 - 150	136,440	3 - 5	4,320	2 - 3	2,120	2 - 2	2,000	Dik
Bd84	111 - 158	144,429	2 - 5	3,524	2 - 3	2,048	1 - 2	1,714	Dik/ Yarıdik
Bd85	135 - 145	139,966	3 - 5	3,931	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik
Bd86	112 - 155	142,087	2 - 5	3,130	2 - 3	2,304	2 - 3	2,435	Yarıdik/ Yatık
Bd88	118 - 153	144,308	2 - 5	3,654	1 - 3	2,038	2 - 3	2,231	Yarıdik/ Yatık
Bd89	133 - 151	146,160	3 - 5	3,880	2 - 2	2,000	1 - 2	1,880	Dik/ Yarıdik
Bd90	117 - 151	139,500	3 - 4	3,500	1 - 3	1,857	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd91	124 - 139	133,786	3 - 4	3,643	2 - 3	2,357	2 - 3	2,214	Yarıdik

Bd92	111 - 127	117,500	2 - 5	3,750	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Yarıdik
Bd93	119 - 143	131,389	2 - 5	3,833	1 - 3	2,278	2 - 3	2,278	Yarıdik/ Yatık
Bd94	125 - 152	141,643	3 - 5	4,571	1 - 2	1,214	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd95	131 - 155	141,895	3 - 5	3,842	2 - 3	2,053	1 - 2	1,421	Dik/ Yarıdik
Bd96	130 - 130	141,053	2 - 5	3,368	2 - 3	2,211	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd97	122 - 135	129,967	2 - 5	4,200	2 - 3	2,333	2 - 2	2,000	Dik
Bd99	107 - 125	115,690	2 - 5	4,241	2 - 3	2,138	1 - 2	1,414	Dik
Bd100	125 - 137	131,724	3 - 5	4,655	1 - 3	2,103	2 - 2	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd105	139 - 152	144,000	2 - 5	3,429	2 - 3	2,714	1 - 3	2,000	Dik/ Yarıdik
Bd108	124 - 145	132,552	2 - 5	4,034	2 - 3	2,310	1 - 3	2,207	Dik/ Yarıdik
Bd109	124 - 141	135,310	3 - 5	4,345	2 - 3	2,103	1 - 2	1,379	Dik
Bd111	125 - 141	136,000	4 - 5	4,655	2 - 3	2,310	2 - 2	2,000	Dik
Bd112	109 - 141	135,655	3 - 5	4,379	2 - 3	2,414	2 - 3	2,310	Dik
Bd117	124 - 139	132,310	3 - 5	4,345	2 - 2	2,000	1 - 2	1,897	Dik
Bis.	106 - 110	107,333	4 - 4	4,000	3 - 3	3,000	3 - 3	3,000	Dik
Gaz.	100 - 111	106,333	3 - 5	4,476	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik
Koz.	106 - 122	113,813	3 - 5	4,375	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik
Kah.	100 - 121	111,133	3 - 5	4,067	2 - 2	2,000	2 - 2	2,000	Dik
Adi	101 - 115	109,333	4 - 5	4,800	2 - 3	2,300	2 - 3	2,300	Dik

Bitkilerin çiçeklenme süresinin 136 gün (100-187 gün) olduğu gözlenmiştir. Çiçeklenme süresi uzun olan aksesyonlar Bd11 (164,833 gün), Bd8 (159,3 gün), Bd15 (153 gün), Bd3 (152,944 gün) ve Bd14 (152,917 gün) şeklinde sıralanmaktadır. Gaz (106.333gün), Bis (107,333 gün), Adi (109,333), Kah (111,133 gün) ve Koz (113,863 gün) aksesyonlarının ise kısa zamanda çiçeklenen aksesyonlardır. Filiz ve ark.( 2009a) yaptıkları çalışma sonucunda çiçeklenme zamanının 7-22 hafta, Catalan ve ark. (2011) ise  $3,2 \pm 1,1$  ay olarak açıklamışlardır.

Yapılan gözlemler sonucunda bitki görünüşünün ortalama 4 (2-5) değerinde olduğu belirlenmiştir. Adi (4.8), Bd100 ve Bd111 (4,655), Bd94 (4,571) ve Gaz (4,476) aksesyonlarının bitki görünüşü değerlerinin yüksek olduğu görülürken, Bd41 ve Bd42 (3), Bd38 (3,067), Bd86 (3,13) ve Bd3 (3,222) aksesyonlarının ise bitki görünüşü değerlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Bitki renginin ise 2 (1-3) değerinde olması aksesyonların genellikle yeşil renkte olduğunu açıklamaktadır. Ancak aksesyonlar içerisinde açık yeşilden (Bd94 (1.214), Bd90

(1.857), Bd66 (1.937) ) koyu yeşile ( Bis ve Bd42 (3), Bd41 ( 2.857), Bd68 ( 2.75) ) kadar bir renk değişimi söz konusudur. Filiz ve ark. (2009a) yaptıkları çalışmada bitki renginin açık yeşilden koyu yeşile kadar değiştiğini, Öney (2013) ise bitkilerin açık sarı renkte olduğunu bildirmiştir.

Bitkilerdeki tüylülük derecesinin 2 (1-3) yani bitkilerin genellikle tüylü olduğu tespit edilmiştir. Aksesyonlar arasında Bd14 (1) gibi tüysüz ve Bis ile Bd68 (3) gibi çok tüylü özelliğe sahip olanlar da bulunmaktadır. Davis (1985) bitkilerin tüysüz, Filiz ve ark. (2009a) bitkilerdeki tüylülük özelliğinin tüysüz (1) ile çok tüylü (5) arasında değiştiğini, Catalan ve ark. (2011) ise bitkilerin tüysüz veya az tüylü olduklarını açıklamışlardır.

Yapılan gözlemler sonucunda *B. distachyon* aksesyonlarının bitki görünüşünün genellikle dik formda olduğu, ancak bazı aksesyonların yatık ve yarı dik formlara sahip oldukları belirlenmiştir. Ülkemiz orijinli *B. distachyon* hatları ile yapılan çalışmalarda bitkilerin genellikle dik formda olduğu bildirilmektedir (Vogel ve Bragg 2009, Öney 2013). Filiz ve ark.(2009a) yaptıkları çalışmada bizim sonuçlarımız gibi bitki görünüşlerinin yatık, yarı dik ve dik formlarda değiştiğini açıklamışlardır.

Morfolojik özelliklerin gözlem ve ölçümlerinden elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde bazı aksesyonların belirli özellikler bakımından (biyokütle, tohum sayısı, tohum ve bin tane ağırlığı, vejetasyon süresinin kısa olması...) diğer aksesyonlara göre ön plana çıktığı görülmektedir. Diğer taraftan bazı aksesyonların bu özellikler bakımından sahip oldukları değerlerin ortalamasının oldukça altında olması da dikkat çekmektedir. Bu aksesyonlar ve sahip oldukları özellikler Çizelge 4.5'te verilmiştir.

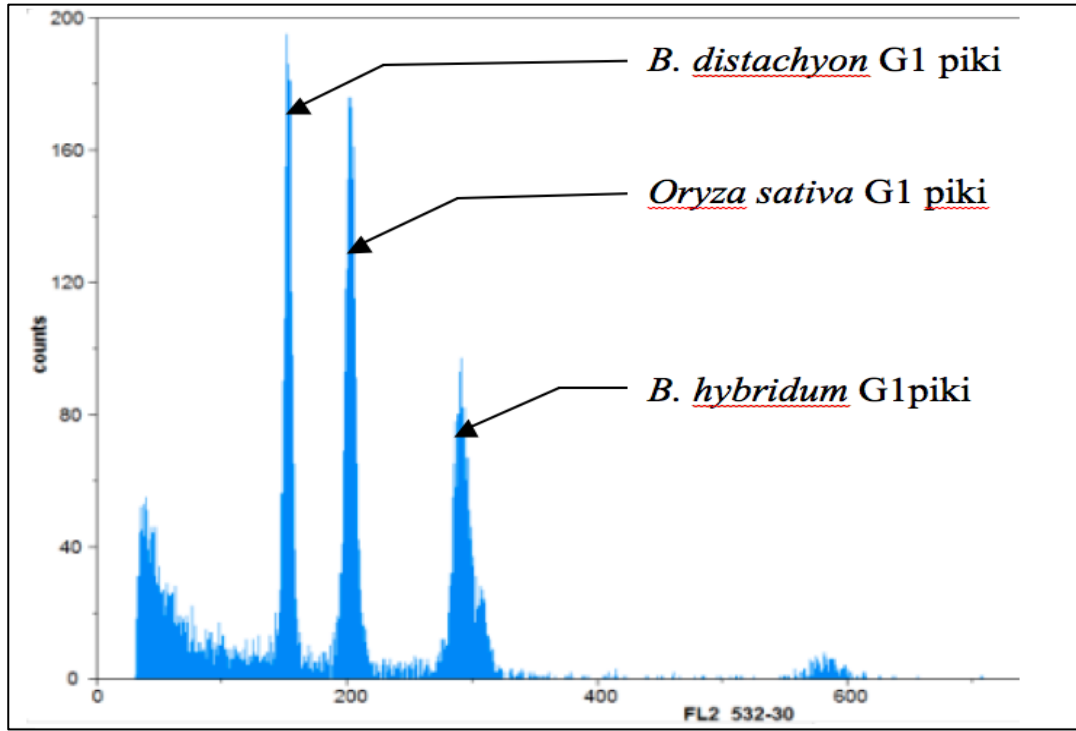


Çizelge 4.5. Morfolojik çalışmalar sonucu dikkat çeken aksesyonlar ve özellikleri

Ak. No	Lokasyon	Enlem-Boylam	Rakım	Çek, DNA içeriği	Özellikler
Bd92	Dursunbey-Balıkesir	N 39 <sup>0</sup> 36.515' E 028 <sup>0</sup> 37.931'	2215 feet	0,737	Bayrak yağrak eni geniş, biyokütle, başakçık ve tohum sayısı, tohum ağırlığı fazla, çimlenme süresi kısa, yarı dik.
Bd 100	Kütahya-Eskişehir arası	N 39 <sup>0</sup> 34.643' E 030 <sup>0</sup> 07.208'	3090 feet	0,738	Biyokütle, tohum sayısı ve tohum ağırlığı fazla, başaksız sap sayısı az, çimlenme süresi kısa ve bitki görünüşü değeri yüksek, dik.
Bis	Bismil-Diyarbakır	N 37 <sup>0</sup> 52' 35.6'' D 41 <sup>0</sup> 0' 54.3.''	529 feet	0,732	Bayrak yaprak boyu uzun, başaksız sap sayısı az, bintane ağırlığı yüksek, vejetasyon süresi kısa, koyu yeşil, çok tüylü, dik.
Gaz	Gaziantep	N 37 <sup>0</sup> 7' 39.8'' D 37 <sup>0</sup> 23' 26.9''	891 feet	0,739	Bayrak yaprak boy ve eni fazla, bintane ağırlığı yüksek, vejetasyon süresi kısa, bitki görünüş değeri yüksek, dik.
Kah	Kahta-Adıyaman	N 37 <sup>0</sup> 44' 2.3'' E 38 <sup>0</sup> 32' 0.2''	665 feet	0,735	Bayrak yaprak boy ve eni fazla, tohum ve bintane ağırlığı yüksek, vejetasyon süresi kısa, dik.
Bd41	İzzetiye	N 40 <sup>0</sup> 48.349' E 026 <sup>0</sup> D39.615'	329 feet	0,744	Bayrak yaprak boy ve eni az, biyokütle, başakçık sayısı, tohum ve bintane ağırlığı düşük, bitki görünüş değeri düşük, yarı dik- yatık.
Bd3	Çakmak-Edirne	N 41 <sup>0</sup> 23.438' E 026 <sup>0</sup> 39.637'	283 feet	0,747	Başaklı sap sayısı çok ancak tohum ve bintane ağırlığı az, vejetasyon süresi uzun, bitki görünüşü kötü, yatık.
Bd14	Kayı Köyü-Tekirdağ	N 41 <sup>0</sup> 02.537' E 027 <sup>0</sup> 30.374'	720 feet	0,747	Başaklı sap sayısı çok ancak tohum ve bintane ağırlığı az, bayrak yaprak eni dar, tüysüz. vejetasyon süresi uzun, yarı dik.
Bd11	Çeneköy-Hayrabolu	N 41 <sup>0</sup> 12.029' E 027 <sup>0</sup> 11.192'	275 feet	0,743	Bitki boyu kısa, başaksız sap sayısı fazla, tohum ağırlığı az, vejetasyon süresi uzun, tüy miktarı az, yatık - yarı dik.

## 4.2. Flow Sitometri ile Yapılan Çekirdek DNA Analizi Sonuçları

Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümündeki koleksiyonda bulunan ülkemizin farklı coğrafik bölgelerinden toplanmış 59 *Brachypodium* aksesyonu üzerinde yapılan çekirdek DNA analizleri sonuçlarına göre 48 aksesyonun *B. distachyon*, 11 aksesyonun ise *B. hybridum* olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Bu türlere ait aksesyonların ülkemizdeki yayılışı şekil 4.2 'de verilmiştir.



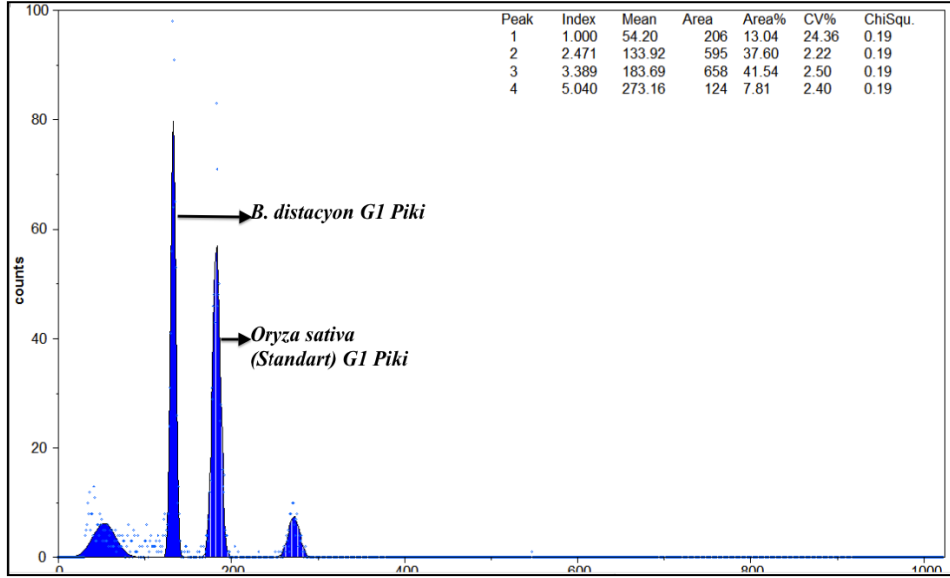
Şekil 4.1: Standart olarak kullanılan *Oryza sativa*, *B. distachyon* ve *B. hybridum* bitkiciklerine ait G1 pikleri



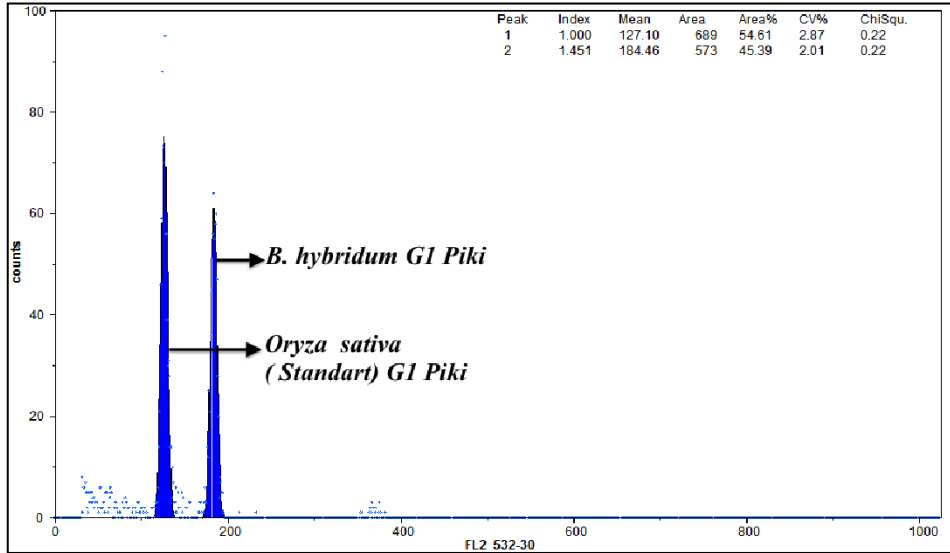
Sekil 4.2 : *B. distachyon* ve *B. hybridum* aksesyonlarının ülkemizdeki yayılış alanları

- *B. distachyon*
- *B. hybridum*

Yapılan hesaplamalar sonucunda *B. distachyon* aksesyonlarına ait bitkilerin (her aksesyondan 10 bitki) çekirdek DNA içeriklerinin ortalama 0,743 pg/2C (0,732 – 0,753 pg/2C) (Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2), *B. hybridum* aksesyonlarına ait bitkilerin ise ortalama 1,431 pg/2C (1,417- 1,451 pg/2C) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.6).



Şekil 4.3. Standart olarak kullanılan *Oryza sativa* ve *B. distachyon* (Bis-5) bitkiciklerinin G1 piklerine ait analiz değerleri



Şekil 4.4. Standart olarak kullanılan *Oryza sativa* ve *B. hybridum* (Bhyb 77) bitkiciklerinin G1 piklerine ait analiz değerleri

Çizelge 4.6. *B. distachyon* ve *B. hybridum* aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri

Sıra No:	Aksesyon No:	Takson	Lokasyon	Enlem Boylam	Yük Seklik (m)	Max. DNA (pg/2 C)	Min. DNA (pg/2C)	Ort. DNA (pg/2C)
1	Bd3	<i>B. distachyon</i>	Çakmak- Edirne	N 41° 23.438' E 026° 39.637'	85 m (283feet)	0,756	0,735	0,747
2	Bd4	<i>B. distachyon</i>	Çiftlik-Uzun köprü	N 41° 15.686' E 026° 37.298'	33m (111 feet)	0,774	0,732	0,748
3	Bd8	<i>B. distachyon</i>	Bıyıklı- Tekirdağ (2)	N 41° 02.028' E 027° 22.162'	145m (482 feet)	0,765	0,738	0,749
4	Bd 11	<i>B. distachyon</i>	Çeneköy. Hayra Bolu	N 41° 12.029' E 027° 11.192'	83m (275 feet)	0,756	0,733	0,743
5	Bd 12	<i>B. distachyon</i>	Buzağıcı- Hayra Bolu	N 41° 15.349' E 027° 08.400'	53 m (177 feet)	0,757	0,734	0,744
6	Bd 13	<i>B. distachyon</i>	BüyükKarıştıran-Kırklareli	N 41° 17.392' E 027° 32.824'	78m (260 feet)	0,769	0,734	0,753
7	Bd 14	<i>B. distachyon</i>	Kayı Köyü- Tekirdağ	N 41° 02.537' E 027° 30.374'	216 m (720 feet)	0,756	0,737	0,747
8	Bd 15	<i>B. distachyon</i>	Yeşilsirt Köyü- Muratlı			0,749	0,73	0,742
9	Bd 16	<i>B. distachyon</i>	Seymen- Çorlu	N 41° 05.786' E 027° 55.796'	107 m (357 feet)	0,746	0,721	0,738
10	Bd 37	<i>B. distachyon</i>	Barağı- Keşan	N 40° 43.187' E 026° 25.906'	18 m (60 feet)	0,761	0,741	0,750
11	Bd 38	<i>B. distachyon</i>	Kılıçköy- Keşan	N 40° 47.768' E 026° 34.282'	39 m (130 feet)	0,76	0,733	0,744
12	Bd 41	<i>B. distachyon</i>	İzzetiye	N 40° 48.349' E 026° D39.615'	99 m (329 feet)	0,756	0,732	0,744
13	Bd 42	<i>B. distachyon</i>	Hasköy- Enez	N 40° 38.717' E 026° 16.342'	37 m (124 feet)	0,756	0,741	0,747
14	Bd 62	<i>B. distachyon</i>	Hasköy- Enez	N 40° 38.717' E 026° 16.342'	37 m (124 feet)	0,768	0,734	0,748
15	Bd 63	<i>B. distachyon</i>	Yenice Balya arası	N 39° 48.006' E 027° 22.948'	350 m (1169 f)	0,754	0,732	0,745
16	Bd 65	<i>B. distachyon</i>	Balıkesir merkez II Kütahya çıkışı	N 39° 41.131' E 027° 58.782'	193 m (642 feet)	0,764	0,728	0,744
17	Bd 66	<i>B. distachyon</i>	Şehitlik II Çanakkale	N 40° 14.653' E 026° 17.708'	182 m (605 feet)	0,758	0,742	0,748
18	Bd 67	<i>B. distachyon</i>	Harmancık- Kütahya	N 39° 40.773' E 029° 08.846'	672 m (2240 f)	0,748	0,724	0,740
19	Bd 68	<i>B. distachyon</i>	İlgardere-Gelibolu	N 40° 15.889' E 026° 28.859'	18 m (60 feet)	0,758	0,726	0,743
20	Bd 69	<i>B. distachyon</i>	İlgardere-Gelibolu	N 40° 15.889' E 026° 28.859'	18 m (60 feet)	0,758	0,728	0,747
21	Bd 81	<i>B. distachyon</i>	Çanakkale şehitlik	N 40° 15.339' E 026° 18.774'	261 m (870 feet)	0,762	0,742	0,751
22	Bd 83	<i>B. distachyon</i>	TÜBİTAK MAM	N 40° 47.189' E 029° 27.601'	178 m (593 feet)	0,76	0,725	0,744
23	Bd 84	<i>B. distachyon</i>	Ağva Şile yolu II	N 41° 05.347' E 029° 45.249'	132 m (441 feet)	0,764	0,731	0,746
24	Bd 85	<i>B. distachyon</i>	Nevşehir'e 35 km'e Kala	N 38° 50.440' E 034° 33.266'	1174 m (3915 f)	0,743	0,723	0,736
25	Bd 86	<i>B. distachyon</i>	Avanos-Nevşehir	N 38° 44.470' E 034° 50.725'	1092 m (3640 f)	0,755	0,724	0,735
26	Bd 88	<i>B. distachyon</i>	Avanos III Nevşehir	N 38° 44.536' E 034° 50.289'	1139 m (3796 f)	0,754	0,725	0,738
27	Bd 89	<i>B. distachyon</i>	Avanos 4 Nevşehir	N 38° 43.864' E 034° 49.910'	967 m (3224 f)	0,751	0,726	0,735
28	Bd 90	<i>B. distachyon</i>	18 Mart Üniv. Kampus	N 40° 06.910' E 026° 25.482'	125 m (415 feet)	0,755	0,728	0,745
29	Bd 91	<i>B. distachyon</i>	Çanakkale Bursa Yolu Başlangıcı	N 38° 43.864' E 034° 49.910'	47 m (155 feet)	0,76	0,726	0,747
30	Bd 92	<i>B. distachyon</i>	Dursunbey- Balıkesir	N 39° 36.515' E 028° 37.931'	665 m (2215 f)	0,721	0,757	0,737
31	Bd 93	<i>B. distachyon</i>	Balya Yenice arası II	N 39° 46.888' E 027° 24.375'	522 m (1740 f)	0,773	0,726	0,750
32	Bd 94	<i>B. distachyon</i>	Balıkesir Merkez	N 39° 38.741' E 027° 46.100'	248 m (827 feet)	0,774	0,734	0,750
33	Bd 95	<i>B. distachyon</i>	Balyadan sonra Balıkesir'e 40 km kala	N 39° 42.073' E 027° 33.289'	357 m (1190 f)	0,765	0,732	0,745
34	Bd 96	<i>B. distachyon</i>	Pada Köyü Kepsut-	N 39° 44.669'	498 m	0,771	0,737	0,747

			Dursunbey arası Balıkesir	E 028 <sup>0</sup> 21.423'	(1660 f)			
35	Bd 97	<i>B. distachyon</i>	Kütahya yolu Dursunbey- Harmancık arası	N 39 <sup>0</sup> 39.306' E 029 <sup>0</sup> 01.933'	606 m (2020 f)	0,766	0,724	0,744
36	Bd 99	<i>B. distachyon</i>	Muğla	N 37 <sup>0</sup> 07.545' E 028 <sup>0</sup> 22.724'	624 m (2079 f)	0,752	0,733	0,743
37	Bd 100	<i>B. distachyon</i>	Kütahya-Eskişehir arası	N 39 <sup>0</sup> 34.643' E 030 <sup>0</sup> 07.208'	927 m (3090 f)	0,76	0,729	0,738
38	Bd 105	<i>B. distachyon</i>	Kütahya Tavşanlı çıkışı	N 39 <sup>0</sup> 32.222' E 029 <sup>0</sup> 38.014'	1011 m (3370 f)	0,762	0,746	0,752
39	Bd 108	<i>B. distachyon</i>	Alanya	N 36 <sup>0</sup> 36.539' E 031 <sup>0</sup> 48.333'	18 m (59 feet)	0,752	0,728	0,739
40	Bd 109	<i>B. distachyon</i>	Polatlı Haymana arası Polatlı çıkışı	N 39 <sup>0</sup> 32.597' E 032 <sup>0</sup> 13.909'	980 m (3265 f)	0,751	0,713	0,734
41	Bd 111	<i>B. distachyon</i>	Polatlı- Haymana arası	N 39 <sup>0</sup> 29.645' E 032 <sup>0</sup> 26.810'	974 m (3246 f)	0,764	0,724	0,735
42	Bd 112	<i>B. distachyon</i>	Kaymaz çıkışı Eskişehir	N 39 <sup>0</sup> 29.650' E 031 <sup>0</sup> 14.473'	1017 m (3390 f)	0,756	0,729	0,741
43	Bd 117	<i>B. distachyon</i>	Kütahya'ya 10 km kala	N 39 <sup>0</sup> 30.126' E 029 <sup>0</sup> 52.618'	1035 m (3450 f)	0,757	0,732	0,743
44	Bis	<i>B. distachyon</i>	Bismil- Diyarbakır	N 37 <sup>0</sup> 52' 35.6'' D 41 <sup>0</sup> 0' 54.3''	159 m (529 feet)	0,738	0,722	0,732
45	Gaz	<i>B. distachyon</i>	Gaziantep	N 37 <sup>0</sup> 7' 39.8'' D 37 <sup>0</sup> 23'26.9''	267 m (891 feet)	0,753	0,733	0,739
46	Koz	<i>B. distachyon</i>	Kozluk- Batman	K 38 ° 9'8.2.6 '' D 41 °36'34.8 ''	256 m (853 feet)	0,749	0,741	0,741
47	Kah	<i>B. distachyon</i>	Kahta- Adıyaman	N 37 <sup>0</sup> 44' 2.3'' E 38 <sup>0</sup> 32'0.2''	200 m (665 feet)	0,75	0,723	0,735
48	Adi	<i>B. distachyon</i>	Adıyaman	N 37 <sup>0</sup> 46' 14.5'' E 38 <sup>0</sup> 21'8.2''	153 m (510 feet)	0,747	0,739	0,738
49	Bhyb 73	<i>B. hybridum</i>	Milas-Muğla	N 37 <sup>0</sup> 21.674' E 027 <sup>0</sup> 41.217'	42 m (141 feet)	1,496	1,417	1,436
50	Bhyb 77	<i>B. hybridum</i>	Bozyazı-Mersin	N 36 <sup>0</sup> 05.815' E 032 <sup>0</sup> 56.128'	17 m (57 feet)	1,455	1,417	1,442
51	Bhyb 102	<i>B. hybridum</i>	Taşucu-Aydıncık arası Mersin	N 36 <sup>0</sup> 15.694' E 033 <sup>0</sup> 48.224'	211 m (702 feet)	1,436	1,404	1,423
52	Bhyb 103	<i>B. hybridum</i>	Anamur-Gazipaşa arası Meleş Köyü Mersin	N 36 <sup>0</sup> 02.464' E 032 <sup>0</sup> 42.066'	136 m (452 feet)	1,455	1,423	1,435
53	Bhyb 106	<i>B. hybridum</i>	Anamur-Gazipaşa arası Meleş Köyü Mersin	N 36 <sup>0</sup> 02.464' E 032 <sup>0</sup> 42.066'	136 m (452 feet)	1,454	1,415	1,432
54	Bhyb 107	<i>B. hybridum</i>	Alanya- Antalya	N 36 <sup>0</sup> 36.539' E 031 <sup>0</sup> 48.333'	18 m (59 feet)	1,476	1,393	1,427
55	Bhyb 110	<i>B. hybridum</i>	Antalya- Korkuteli yol başlangıcı	N 36 <sup>0</sup> 57.506' E 030 <sup>0</sup> 35.570'	300 m (1000 f)	1,44	1,401	1,421
56	Bhyb 113	<i>B. hybridum</i>	Ölüdeniz- Fethiye	N 36 <sup>0</sup> 33.013' E 029 <sup>0</sup> 07.542'	20 m (65 feet)	1,452	1,416	1,429
57	Bhyb 114	<i>B. hybridum</i>	Köyceğiz çıkışı Muğla	N 36 <sup>0</sup> 59.520' E 028 <sup>0</sup> 39.291'	33 m (111 feet)	1,54	1,414	1,451
58	Bhyb 122	<i>B. hybridum</i>	Kuşadası-Aydın	N 37 <sup>0</sup> 47.955' E 027 <sup>0</sup> 18.279'	134 m (447 feet)	1,437	1,408	1,451
59	Bhyb 124	<i>B. hybridum</i>	Aydıncık çıkışı Mersin	N 36 <sup>0</sup> 07.925' E 033 <sup>0</sup> 16.702'	69 m (230 feet)	1,44	1,392	1,417

Çizelge 4.6 incelendiğinde ülkemizin farklı lokasyonlarından toplanan 48 *B. distachyon* aksesyonları arasında en büyük çekirdek DNA içeriğine 0,753 pg/2C DNA ile Bd13 aksesyonunun sahip olduğu görülmektedir. Bu aksesyonu 0,752 pg/2C DNA genom boyutu ile Bd105 ve 0,751 pg/ 2C DNA ile Bd81 aksesyonları takip etmektedir.

0,732 pg/ 2C DNA değeri ile Bis aksesyonunun en küçük çekirdek DNA içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Çekirdek DNA içeriği küçük olan diğer aksesyonlar 0,734 pg/ 2C DNA ile Bd109, 0,735 pg/ 2C DNA ile Bd86, Bd89, Bd111 ve Kah aksesyonları şeklinde sıralanmaktadır.

*B. distachyon*'un total nüklear genom büyüklüğünü belirlemek için birçok çalışma yapılmış olup çalışmalar sonucunda farklı değerler (Shi ve ark. (1993) 0,60 pg/2C, Draper ve ark. (2001) 0,42 pg/2C, Garvin ve Stockinger (2005) 0,78 pg/2 C, Bennett ve Leitch (2005) 0,72 pg/2C, Wolny ve Hasterok (2009) 0,631 pg/2C) elde edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ülkemiz orijinli kendilenmiş hatların Filiz ve ark. (2009a) 0,69 pg/2C, Tuna ve ark. (2011) 0,70 pg /2C, Öney (2013) 0,74 pg/2C çekirdek DNA içeriğine sahip oldukları rapor edilmiştir. Çalışmada ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanan *B. distachyon* aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içerikleri 0,743 pg/2C olarak belirlenmiş olup, elde edilen değer literatürlerdeki değerlere oldukça yakındır. Aradaki farklılıkların kullanılan metot ve standart farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Catalan ve ark.(2011) tarafından tetraploid populasyonlar *B. hybridum* olarak adlandırıldığı için bazı çalışmalarda yer alan tetraploid genom değerleri *B. hybridum*'a aittir. Yapılan çalışmalarda *B. hybridum*'un Filiz ve ark. (2009b) 1,34 pg/2C, Wolny ve Hasterok (2009) 1,265 pg/2C, Tuna ve ark. (2011) 1,30 pg/2C, Öney ( 2013) 1,44 pg/2C olduğunu açıklamışlardır. Çalışmada ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanan *B.hybridum* aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriği 1,431 pg/2C olarak belirlenmiş olup literatürlerdeki verilere yakın bir değer hesaplanmıştır. Aradaki farklılıkların yine metod ve standartların aynı olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Elde edilen veriler incelendiğinde *B. distachyon* ve *B. hybridum*'un çekirdek DNA içeriklerinin sırasıyla 0,734 pg/2C ile 0,753 pg/2C ve 1,417pg/2C ile 1,451 pg/2C arasında değiştiği görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre bu tür içi varyasyon *B. distachyon*da istatistiki açıdan önemli iken *B. hybridum* da önemsiz olduğu saptanmıştır. İki *Brachypodium* türünün çekirdek DNA içerikleri kıyaslandığında ise *B. hybridum*'un *B. distachyon* dan yaklaşık iki kat daha fazla DNA ya sahip olduğu gözlenmektedir. Bu da *B. hybridum*'un poliploid olduğunu işaret etmektedir. Bu varyasyonların sebebini araştırmak için bir çok çalışma yapılmıştır. Türler arası genom boyutu farklılıklarının tekrarlı dizilerin sayısı ve retrotranspozonların birikiminden kaynaklandığı bildirilmiştir (Bennetzen 2000, 2007, Feuillet ve Keller 2002). Charles ve ark. (2008) ise yaptıkları çalışmada türler arası farklılığın ortak bir atadan ayrılmadan itibaren meydana gelen retroelement sayısındaki farklılıklardan kaynaklandığını, retroelement birikimi ve taşıma düzeyinin türler arasında zamanla değişebileceğini ancak yine de sabit olarak korunduğunu açıklamışlardır.

Tür içi genom boyutu farklılıklarının nasıl oluştuğu tam olarak açıklanamamış olup hala tartışılmaktadır. Bitkiler ile yapılan çalışmalarda bir çok türde belirlenen tür içi varyasyonun kromozom sayısı, kromozom boyutu (poliploidi, anaploidi, B kromozom, cinsiyet kromozomları) ve doğal olarak tespit edilememiş şifreli tür farklılıklarından kaynaklandığı açıklanmıştır (Greilhuber 1998, Gregory 2005). Ancak kromozom polimorfizmi ve şifreli taksonomik varyasyon dışındaki sebepler tür içi genom boyutu farklılıklarını açıklamak için nadir delillerdir ve tartışılmaları devam etmektedir. Cytofluorometry ile yapılan bazı çalışmalarda ise tür içinde görülen varyasyonların yoğunluktan kaynaklandığı bildirilmiştir. Fakat aynı bitkiler flow sitometri ile analiz edildiğinde cytofluorometry ile elde edilen sonuçların desteklenmediği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda tür içi varyasyonun nedenleri tam olarak belirlenemediği için tür içi varyasyon genellikle yanlış sınıflandırma, yetersiz standardizasyon gibi teknik sebepler ile açıklanmaktadır (Greilhuber 1998, 2005). Draper ve ark. (2001)'da aynı tür ile yapılan bir çok çalışmada çekirdek DNA içeriklerinin birbirine yakın ancak farklı değerler ile sonuçlanmasının farklı yöntem ve tekniklerin uygulanmasından ve karşılaşılan teknik sorunlardan kaynaklandığı bildirilmektedir. Dolezel ve Bartos (2005)'un çalışmaları da Greilhuber (1998, 2005) ve Draper (2001)'in açıklamalarını desteklemektedir. Çalışmaları sonunda farklı enstrümanlar ve teknikler (Fuelgen, FCM...) ile farklı standartların kullanılmasının % 5 oranında farklılıklara neden olabileceğini açıklamışlardır. Bu çalışmada da olduğu gibi günümüzde genom boyutlarının belirlenmesinde flow sitometri kullanılmaktadır. Flow sitometri ile yapılan çalışmalarda ise kalibrasyon önemlidir (Bennett ve ark. 2000). Bu nedenle flow sitometri çalışmalarında kalibrasyona özellikle dikkat edilmiştir.

Tür içinde genom boyutlarında görülen varyasyonlar önemli bir durumdur. Ancak yapılan çalışmalarda türe özgü olan genom boyutunun sabit olması desteklenmektedir. Genom buyutunun sabit kalması (genom sürekliliği) kavramı bireyler ve türler içindeki DNA içeriğinin korunması olarak ifade edilmektedir (Swift 1950). Tür içi genom boyutunun sabit kalması, fazla değişmemesi ve varyasyonun azaltılmasında kendi kendine tozlaşma, sınırlı rekombinasyon ve kontrollü retroelement faaliyetlerinin etkili olduğu bildirilmektedir (Eilam ve ark. 2007).

Aksesyonların sahip oldukları çekirdek DNA içerikleri ile toplandıkları coğrafi bölgeler arasındaki ilişkinin önemli olup olmadığını belirlemek için elde edilen verilerden Varyans Analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilmiştir.



Çizelge 4.7. Bölgelere göre çekirdek DNA ortalama ve standart sapma değerleri (\*Analizler sırasında Bis: 120, Gaz: 130, Koz: 140, Kah:150, Adi: 160 olarak numaralandırılmıştır)

Çekirdek DNA içeriği								
Örnek numarası	Örnek sayısı	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Güven sınırları		minimum	maksimum
					En alt sınır	En üst sınır		
3	10	0,7472	0,006197	0,001960	0,7428	0,7516	0,735	0,756
4	10	0,7477	0,013442	0,004251	0,7381	0,7573	0,732	0,774
8	10	0,7493	0,008028	0,002539	0,7436	0,7550	0,738	0,765
11	10	0,7430	0,007483	0,002366	0,7376	0,7484	0,733	0,756
12	10	0,7443	0,007454	0,002357	0,7390	0,7496	0,734	0,757
13	10	0,7529	0,009818	0,003105	0,7458	0,7598	0,734	0,769
14	10	0,7473	0,005889	0,001862	0,7431	0,7515	0,737	0,756
15	10	0,7420	0,006154	0,001946	0,7375	0,7463	0,730	0,749
16	10	0,7381	0,008517	0,002693	0,7320	0,7442	0,721	0,746
37	10	0,7497	0,006290	0,001989	0,7452	0,7542	0,741	0,761
38	10	0,9441	0,009515	0,003009	0,7373	0,7509	0,733	0,760
41	10	0,7444	0,008168	0,002583	0,7386	0,7502	0,732	0,756
42	10	0,7446	0,006257	0,001979	0,7421	0,7511	0,738	0,756
62	10	0,7483	0,011167	0,003531	0,7303	0,7563	0,734	0,768
63	10	0,7450	0,007659	0,002422	0,7395	0,7505	0,732	0,754
65	10	0,7442	0,013464	0,004258	0,7346	0,7538	0,728	0,764
66	10	0,7479	0,005195	0,001643	0,7442	0,7516	0,742	0,758
67	10	0,7401	0,008749	0,002767	0,7338	0,7464	0,724	0,748
68	10	0,7432	0,009283	0,002936	0,7366	0,7498	0,726	0,758
69	10	0,7474	0,010287	0,003253	0,7400	0,7547	0,728	0,759
81	10	0,7509	0,007031	0,002223	0,7459	0,7559	0,742	0,762
83	10	0,7439	0,010049	0,003178	0,7367	0,7511	0,725	0,760
84	10	0,7456	0,010906	0,003449	0,7378	0,7534	0,731	0,764
85	10	0,7356	0,006363	0,002012	0,7310	0,7401	0,723	0,743
86	10	0,7346	0,009107	0,002880	0,7281	0,7411	0,724	0,755
88	10	0,7380	0,009189	0,002906	0,7314	0,7446	0,725	0,754
89	10	0,7350	0,007601	0,002404	0,7296	0,7404	0,726	0,751
90	10	0,7445	0,008127	0,002570	0,7387	0,7503	0,728	0,755
91	10	0,7465	0,010565	0,003341	0,7389	0,7541	0,726	0,760
92	10	0,7367	0,011795	0,003730	0,7283	0,7551	0,721	0,757
93	10	0,7498	0,013423	0,004245	0,7402	0,7594	0,726	0,773
94	10	0,7504	0,011568	0,003658	0,7421	0,7587	0,734	0,774
95	10	0,7447	0,009821	0,003106	0,7377	0,7517	0,732	0,765
96	10	0,7472	0,010293	0,003255	0,7398	0,7546	0,737	0,771
97	10	0,7444	0,014128	0,004468	0,7344	0,7545	0,724	0,766
99	10	0,7433	0,005716	0,001808	0,7392	0,7474	0,733	0,752
100	10	0,7380	0,009626	0,003044	0,7311	0,7449	0,728	0,760
105	10	0,7522	0,006512	0,002059	0,7475	0,7568	0,742	0,762
108	10	0,7387	0,007917	0,002504	0,7330	0,7444	0,728	0,752
109	10	0,7341	0,010482	0,003315	0,7266	0,7416	0,713	0,751
111	10	0,7351	0,010734	0,003394	0,7274	0,7428	0,724	0,764
112	10	0,7410	0,007703	0,002436	0,7355	0,7465	0,729	0,756
117	10	0,7434	0,006835	0,002161	0,7385	0,7483	0,732	0,757
120	10	0,7317	0,004855	0,001535	0,7282	0,7352	0,722	0,738
130	10	0,7386	0,008512	0,002692	0,7325	0,7447	0,728	0,753
140	10	0,7416	0,04575	0,001447	0,7383	0,7448	0,734	0,749
150	10	0,7350	0,07746	0,002449	0,7295	0,7405	0,723	0,750
160	10	0,7398	0,003765	0,001191	0,7371	0,7425	0,734	0,747
Toplam		0,7431	0,010003	0,000457	0,7423	0,7441	0,713	0,774

Çizelge 4.8. Varyans analiz sonuçları

Varyans Analizi					
Homojenlik testi	Serbestlik Derecesi 1	Serbestlik Derecesi 2	Önemlilik Derecesi		
1,365	47	432	0,061		
	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi 1	Kareler Ortalaması	F hesap	Önemlilik Derecesi
Gruplar arası	0,013	47	0,000277	3,511	<b>0,000</b>
Grup içi	0,035	432	,000081		
Toplam	0,048	479			

Yapılan Varyans Analizi sonucunda aksesyonların sahip oldukları çekirdek DNA içerikleri ile toplandıkları coğrafi bölgeler arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Varyasyonların hangi bölgeler arasında olduğunu anlayabilmek için Duncan Önemlilik Testi yapılmıştır. Önemlilik testinden elde edilen sonuçlar ve değerlendirilmeleri Çizelge 4.9 ve Şekil 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.9. Duncan önemlilik testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Aks. No:	Çek. DNA	Grup	Aks. No:	Çek. DNA	Grup	Aks. No:	Çek. DNA	Grup
Bis,	0,732	a	Koz	0,741	b-i	Bd 91	0,747	e-k
Bd109	0,734	ab	Bd 15	0,742	b-i	Bd 42	0,747	e-k
Bd 86	0,735	abc	Bd 11	0,743	b-k	Bd 3	0,747	f-k
Bd 89	0,735	a-d	Bd 68	0,743	b-k	Bd 96	0,747	f-k
Kah,	0,735	a-d	Bd 99	0,743	b-k	Bd 14	0,747	f-k
Bd 111	0,735	a-d	Bd 117	0,743	b-k	Bd 69	0,747	f-k
Bd 85	0,736	a-d	Bd 83	0,744	b-k	Bd 4	0,748	f-k
Bd 92	0,737	a-e	Bd 38	0,744	c-k	Bd 66	0,748	f-k
Bd 100	0,738	a-f	Bd 65	0,744	c-k	Bd 62	0,748	g-k
Bd 88	0,738	a-f	Bd 12	0,744	c-k	Bd 8	0,749	hik
Bd 16	0,738	a-f	Bd 41	0,744	c-k	Bd 37	0,750	hik
Gaz	0,739	a-g	Bd 97	0,744	c-k	Bd 93	0,750	hik
Bd 108	0,739	a-g	Bd 90	0,745	c-k	Bd 94	0,750	ik
Adi	0,738	a-h	Bd 95	0,745	c-k	Bd 81	0,751	ik
Bd 67	0,740	a-h	Bd 63	0,745	d-k	Bd 105	0,752	k
Bd 112	0,741	a-i	Bd 84	0,746	e-k	Bd 13	0,753	k
HKO= 0,00081								

Duncan testi sonuçları incelendiğinde, Bis ile Bd112 arasındaki aksesyolların aynı istatistiki grupta yer aldıkları görülmektedir. Bu aksesyolların sahip oldukları çekirdek DNA içerikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ancak bu farklılıklar istatistiki açıdan önemli değildir. Özellikle Bis aksesyonu diğer aksesyollardan ayrılmaktadır.

Bd109 ve Bd83 ile bunlar arasındaki aksesyolların çekirdek DNA içeriklerinin farklı değerlerde olduğu görülmektedir. Ancak bu farklılık istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur. Yani diğer bir deyişle bu aksesyollar aynı grupta yer almaktadır.

Bd86 ile Bd90 arasındaki aksesyolların aynı istatistiki grupta yer aldıkları görülmektedir. Bu aksesyolların sahip oldukları çekirdek DNA içerikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ancak bu farklılıklar istatistiki açıdan önemli değildir.

Bd89 ile Bd63 arasındaki aksesyolların çekirdek DNA içerikleri farklı olmasına rağmen bu farklılık istatistiki açıdan önemli olmadığı için aksesyolların aynı grupta yer aldıkları belirlenmiştir.

Bd92 ve Bd42 ile bunlar arasındaki aksesyolların çekirdek DNA içeriklerinin farklı değerlerde olduğu görülmektedir. Ancak bu farklılık istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur. Yani diğer bir deyişle bu aksesyollar aynı grupta yer almaktadır.

Bd100 ile Bd66 arasındaki aksesyolların çekirdek DNA içerikleri farklı olmasına rağmen bu farklılık istatistiki açıdan önemli olmadığı için bu aksesyolların aynı grupta yer aldıkları belirlenmiştir. Bu durum Gaz ve Bd62 arasında bulunan aksesyollarda da görülmektedir.

Adi ile Bd93 arasındaki aksesyolların aynı istatistiki grupta yer aldıkları görülmektedir. Bu aksesyolların sahip oldukları çekirdek DNA içerikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ancak bu farklılıklar istatistiki açıdan önemli değildir. Bd112 ve Bd81 ile bu aksesyollar arasında yer alan aksesyollar için de çekirdek DNA içerikleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunduğu için aynı grupta yer alma söz konusudur.

Bd11 ve Bd13 aksesyolları arasında bulunan aksesyolların aynı grupta yer aldıkları görülmektedir. Bu aksesyolların çekirdek DNA içerikleri farklı değerler almaktadır. Ancak bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Bd105 ve Bd13 aksesyolları diğer aksesyollardan ayrılmaktadır.



Şekil 4.5. Duncan önemlilik testi sonuçlarına göre aksesyonların gruplandırılması

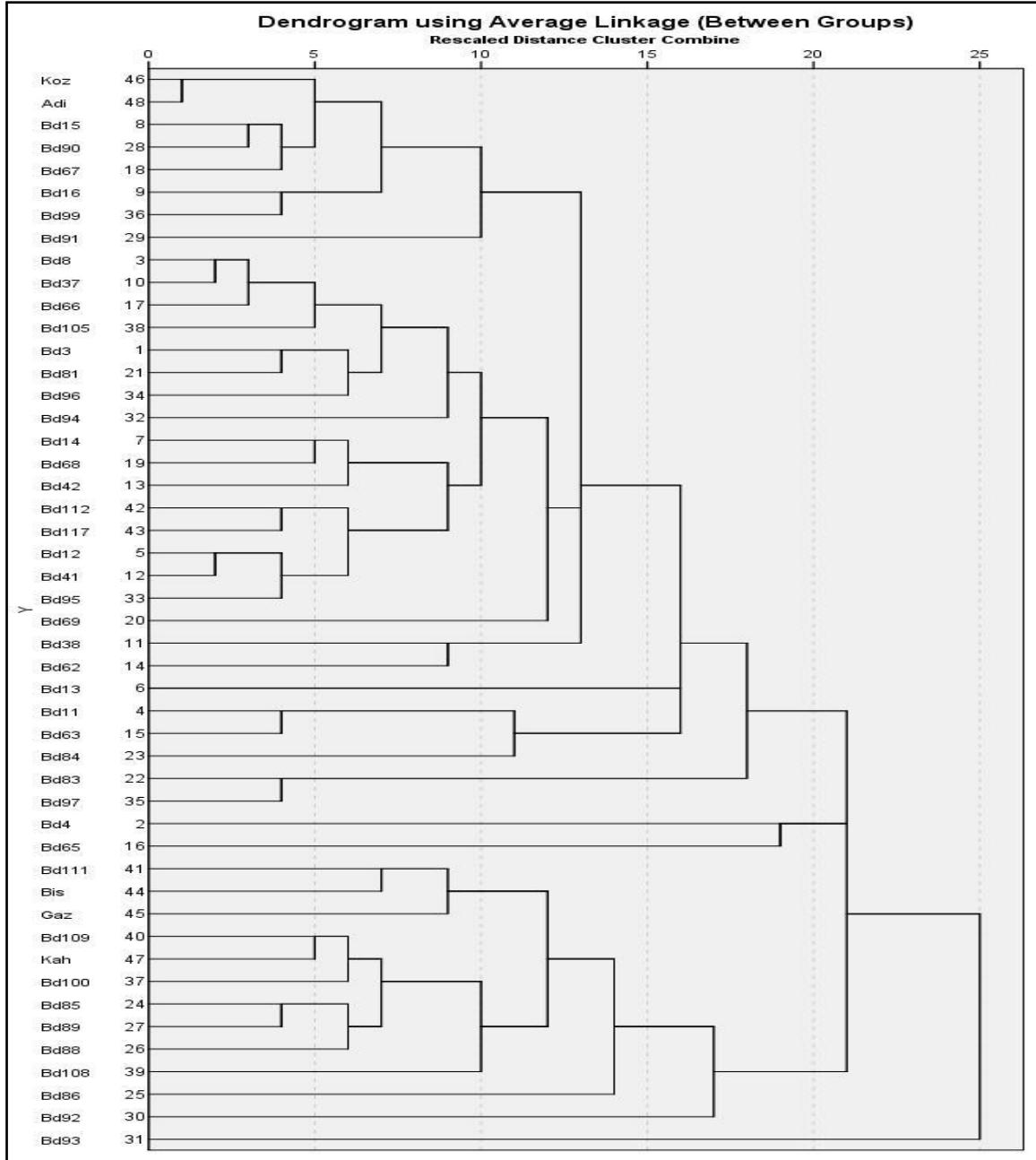
Bu güne kadar bitkinin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik veya genom boyutu arasındaki ilişkiyi araştırmak için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu ilişki tür içi ve türler arası olarak değerlendirilmiş olup çalışmalar devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda bitkinin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasındaki ilişki farklı sonuçlar ortaya koymaktadır. Bennett (1987) türler arası genetik çeşitlilikte coğrafi bölgenin etkili olduğunu bildirmektedir. Özkan ve ark. (2010) da yaptıkları çalışmada tetraploid ve diploid buğdaylarda türlerarası genom boyutlarında görülen yüksek düzeydeki varyasyonun oluşmasında coğrafi ve iklim faktörlerinin önemli etkisinin olduğunu açıklamışlardır. *B. distachyon*'un model bitki olarak temsil ettiği Poaceae familyasına ait çok sayıda tür ile yapılan çalışmalarda (*Poa annua* ( Grime 1983), *Milium effusum* ( Bennett ve Bennett 1992), *Dactylis glomerata* ( Reeves ve ark. 1998), *Dasypyrum villosum* ( Cáceres ve ark. 1998 ), *Hordeum spontaneum* (Kalendar ve ark. 2000)) tür içi genom boyutu farklılıklarının bitkilerin toplandığı coğrafi bölgeler ile yakından ilişkili olduğu açıklanmıştır. Diğer taraftan *H. spontaneum* (Kankanpaa ve ark.1996 ) ile tetraploid (*T. dicoccoides*) ve diploid (*T. boeoticum*) buğdaylarda (Özkan ve ark.2010) yapılan çalışmalarda düşük oranda tür içi genom boyutu farklılığı görüldüğü, bu sınırlı varyasyonun coğrafi ve iklim faktörleri ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir.

*B. distachyon* aksesyonlarının toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların bir kısmında; farklı coğrafik bölgelerden toplanan aksesyonların farklı genetik özelliklerinin olduğu ancak türün kendi kendine tozlaşmasından dolayı aksesyonlar arasında genetik çeşitliliğin çok düşük oranda, küçük farklılıklar şeklinde ortaya çıktığı (Kisha ve ark. 2009), coğrafik dağılımın, organel veya çekirdek genom çeşitliliği ile önemli bir bağlantısının olmadığı bildirilmiştir (Filiz ve ark. 2009a, b). Diğer çalışmalarda ise genotipik çeşitlilik ile geniş coğrafi bölgeler arasında bazı korelasyonlar olduğu ve o bölgelerdeki farklı lokasyonlarda yüksek düzeyde genotipik çeşitlilik görüldüğü açıklanmıştır (Vogel ve ark. 2009, Mur ve ark. 2011b).

Coğrafi bölgelerin bulunduğu enlemlerde farklı olduğu için enlemlerinde Çekirdek DNA içeriği üzerine etkisi araştırılmıştır. *Zea mays* (Rayburn ve ark. 1989), *Festuca arundinacea* (Ceccarelli ve ark. 1992), *Arabidopsis thaliana* (Schmuths ve ark. 2004 ) türleri ile yapılan çalışmalarda enlem ile çekirdek DNA içeriği arasında negatif bir korelasyon bulunduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan *Picea glauca* (Teoh ve Rees 1976), *Vicia faba* (Ceccarelli ve ark. 1992) ve *D. glomerata* (Creber ve ark . 1994) ile yapılan çalışmalarda enlem değişikliği ve nükleer DNA içeriği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı rapor edilmiştir.

Çalışmada yapılan Varyans Analizi ve Duncan Önemlilik Testi sonucunda aksesyonların sahip olduğu çekirdek DNA içeriğinin bitkilerin toplandığı coğrafi bölgeden etkilendiği belirlenmiştir. Bu sonuç yukarıda açıklanan literatür örnekleri ile de desteklenmektedir.

Aksesyonların sahip oldukları çekirdek DNA içeriklerine göre birbirleri ile olan yakınlıkları aşağıdaki Dendogramda verilmiştir.



Şekil 4.6. *B. distachyon* aksesyonları çekirdek DNA içeriği dendogramı

Her aksesyona ait 10 bitki üzerinde yapılan çekirdek DNA içerikleri dikkate alınarak hazırlanan dendogram incelendiğinde aksesyonların 2 gruba ayrıldığı görülmektedir.

Birinci grupta sadece Bd93 aksesyonu yer almaktadır. Aksesyonların neredeyse hepsini içine alan ikinci grup kendi içerisinde 3 kola ayrılmaktadır.

İkinci gruba ait ilk kolda kendi içerisinde iki gruba ayrılmakta olup, ilk grupta Bd92 aksesyonu yer almaktadır. İkinci grup çok sayıda alt grup ve 11 aksesyondan oluşmaktadır. İkinci gruptaki aksesyonlar incelendiğinde Bd86 ile Bd108'in tek tek ayrı alt gruplarda yer aldığı, Bd88, Bd89, Bd85'in bir alt grup oluşturduğu, Bd100, Kah ve Bd109'un ayrı bir alt grupta yer aldığı, Gaz, Bis ve Bd111 aksesyonlarının ise son alt grubu oluşturduğu belirlenmiştir. Aksesyonların morfolojik özellikleri ile dendogramda oluşturdukları gruplar karşılaştırıldığında genel olarak verim açısından istenilen özelliklere sahip (bitki boyu, bayrak yaprak boyunun uzun eninin geniş olması, biyokütle, başakçık ve tohum sayısı, tohum ağırlığı ve bin tane ağırlığının fazla, erken çimlenen, bitki görünüşü ve tüylülük derecesi yüksek) olan aksesyonların 2. gruba ait ilk kolda yer aldıkları belirlenmiştir.

İkinci gruba ait ikinci kolda Bd65 ve Bd4 aksesyonları yer almaktadır. İkinci grubun üçüncü kolu aksesyonların çoğunluğunu içermektedir ve kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmaktadır. İlk alt grupta Bd97 ve Bd83 aksesyonları yer almaktadır. Bu grupta yer alan aksesyonların bitki boyunun uzun ve biyokütlelerinin fazla olduğu dikkat çekmektedir. İkinci alt grubun 3 alt kola ayrıldığı görülmektedir. İlk alt kolda Bd84, Bd63, Bd11, ikinci alt kolda ise Bd13 aksesyonları yer almaktadır. Bu iki alt kolda yer alan aksesyonların yukarıda belirtilen istenilen özellikleri taşımadıkları ve özellikle vejetasyon sürelerinin uzun olduğu tespit edilmiştir.

İkinci alt grubun üçüncü alt kolu 27 aksesyon ile en kalabalık gruptur ve kendi arasında 3 kola ayrılmaktadır. İlk kolda Bd62 ve Bd38 aksesyonları yer alırken Bd69, Bd95, Bd41, Bd12, Bd117, Bd112, Bd42, Bd68, Bd14, Bd94, Bd96, Bd81, Bd3, Bd105, Bd66, Bd37 ve Bd8 aksesyonları kendi içerisinde çok sayıda alt grup oluşturan ikinci kolda yer almaktadır. Üçüncü kolun ilk grubunu Bd91 aksesyonu oluştururken, Bd99, Bd16, Bd67, Bd90, Bd15, Adi ve Koz aksesyonları ikinci grubu oluşturmaktadır. Birinci ve üçüncü kollarında yer alan bazı aksesyonlar (Bd62, Adi, Koz) hariç bu kalabalık gruptaki aksesyonların da istenilen özellikleri taşımadıkları görülmüştür. Bu grupta özellikle ikinci kolda bulunan aksesyonların genel olarak bayrak yaprağı kısa ve dar, başakçık ve tohum sayısı az, bitki başına tohum ağırlığı düşük, vejetasyon süresi uzun, bitki görünüşü ve tüylülük derecelerinin düşük olduğu dikkat çekmektedir.

### 4.3. SSR Çalışmalarından Elde Edilen Sonuçlar ve Değerlendirilmeleri

Çalışmada 32 *B. distachyon* aksesyonuna ait 142 birey ve 11 SSR Markör kullanılmıştır. Aksesyonlar 1. Bölge (Edirne, Çanakkale, İstanbul, Balıkesir) ve 2. Bölge (Eskişehir, Ankara, Kütahya, Nevşehir, Alanya, Adıyaman, Standart) olarak gruplandırılmış ve istatistiki hesaplamalar buna göre yapılmıştır. İlk olarak illere göre gruplandırma planlanmıştır. Ancak bazı illere ait örnek sayısı az olduğu için istatistiki değerlendirmelerin güvenilir olması açısından aksesyonların iki gruba ayrılmasına karar verilmiştir. Bd1 olarak isimlendirilen aksesyon ( Bd 18-1) standart olarak kullanılmıştır.

#### 4.3.1. Populasyonlar içi allelik varyasyonlar ve heterozigotluk analizi

Çizelge 4.10. Gözlenen allel sayılarının primerler ve bölgeler bazında dağılımı, primer ve bölge başına gözlenen allel sayıları ve ortalamaları, primerlere ait allelik zenginlik ( $n_a$ )

Primer	1. Bölge	2. Bölge	Toplam	Allel boyu (bç)	Ortalama/ Primer	( $n_A$ )/Tüm Primerler
N	92	50	142			
ALB001	7	9	11	182-212	8,0	7,083
ALB006	7	7	9	360-385	7,0	6,764
ALB022	11	10	14	287-376	11,5	8,562
ALB030	5	3	6	150-164	4	3,935
ALB040	7	4	7	164-188	5,5	4,831
ALB050	12	11	15	198-247	11,5	9,377
ALB087	3	3	3	194-203	3	3,000
ALB139	11	6	12	307-343	8,5	8,316
ALB165	11	6	13	166-199	8,5	9,734
ALB181	5	4	5	234-244	4,5	4,282
ALB311	3	3	4	242-246	3	3,444
<b>TOPLAM</b>	82	66	99			
<b>Ort./Bölge</b>	13,67	11				6,302

N= Birey sayısı, 1. Bölge ( Edirne, Çanakkale, İstanbul, Balıkesir), 2. Bölge ( Eskişehir, Ankara, Kütahya, Nevşehir, Alanya, Adıyaman, Standart)



Aksesyonlardaki genetik varyasyonları ölçmek için ilk olarak elde edilen genotip verilerinden yararlanılarak allel frekansları hesaplanmıştır. Yapılan çalışmada toplam 99 allel belirlenmiştir. Bu allelerin 11'i ALB001, 9'u ALB006, 14'ü ALB022, 6'sı ALB030, 7'si ALB040, 15'i ALB050, 3'ü ALB087, 12'si ALB139, 13'ü ALB165, 5'i ALB0181 ve 4'ü ALB311 adlı mikrosatellit bölgelerinde gözlemlenmiştir. Aksesyonlarda tespit edilen primer (SSR markör= mikrosatellit bölgesi= lokus) başına düşen ortalama allel sayıları ve bölgeler bazında allel sayıları, allel boyutları ve primerlerin allel zenginlikleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Her bir primer için gözlenen allel sayılarının bölgelere göre dağılımı, her bir bölge için gözlenen primer başına düşen ortalama allel sayıları, çalışılan primerler açısından elde edilen ortalama allel sayıları, çalışılan bölgeler açısından elde edilen ortalama allel sayıları ve her primere ait allel zenginliği bu tabloda özetlenmiştir.

Çalışmada en çok allelin ALB050 primerinde (15 allel) ve en az allelin ise ALB087 primerinde (3 allel) olduğu belirlenmiştir. Bölgelere göre tespit edilen ortalama allel sayılarının 1. Bölge'de 13,67 allel/ bölge, 2. Bölge'de ise 11 allel/ bölge olduğu belirlenmiştir. Buna göre 1. Bölge'de bulunan aksesyonlardaki ortalama allel sayısı 2. Bölge'de tespit edilen ortalama allel sayısından daha fazladır.

Vogel ve ark. (2009) 43 primer ile ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan 187 hat üzerinde yaptıkları çalışmada markör başına allel sayısının 3-24 arasında değiştiğini ve ortalama allel sayısının 10,25 olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim kullandığımız primerler ile ilgili verilere bakıldığında, en fazla sayıda allele (18 allel) ALB165' te, en az sayıda allele ( 6 allel) ise ALB087 ve ALB181'de tespit etmişlerdir. ALB050 primerinde 11 allel olduğunu gözlemlenmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu verilere paralel sonuçlar elde edilmiştir. ALB165'in allel sayısı en fazla olan ikinci primer olduğu ve ALB181'in allel sayısının oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Zhao ve ark (2011) yaptıkları çalışmada *M. sinensis*' in genetik çeşitliliğini belirlemek için 49 *B. distachyon* SSR Primeri kullanmışlardır. 21 *M. sinensis* genotipinde 162 allel belirlemişlerdir. Giraldo ve ark. (2012) 193 diploid ve allotetraploid bireyin genotiplerini 15 Primer (SSR) ile belirledikleri çalışmalarında 94 allel tespit etmişlerdir. Lokuslarda allel sayısının 1-24 arasında değiştiğini ve her lokusta ortalama 6,26 allel bulunduğunu bildirmişlerdir. Mo ve ark. (2013) 5 farklı popülasyona ait 110 *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* bireyi ve 37 SSR primeri kullandıkları çalışmalarında, ortalama allel sayısının 13,29 (5 -24) olduğunu açıklamışlardır.

Filiz ve ark. (2009a), 116 Bd saf hattı ve 5 AFLP Primeri ile yapmış oldukları çalışmada 273 band tespit etmişlerdir. Filiz (2012), 24 *B. distachyon*'ın, cpDNA ve mtDNA'ları ile 8 primer-enzim kombinasyonu kullanarak yapmış olduğu PCR-AFLP çalışmasında 224 DNA (kloroplast 93, mitokondri 151) bandı elde etmiştir. Zhang ve ark. (2012) doğal (Pop 1, 66 bitki) ve mutant (Pop 2, 43 bitki) populasyonlar üzerinde AFLP markörleri ile yaptıkları çalışmada, Pop 1'de 2,128 band (ort.=193,5 band), Pop 2'de ise 425 allel (ort.= 38.6) belirlemişlerdir.

Çalışmada belirlenen allellerin tümü (99 allel) polimorfik özellikte olduğu için polimorfizm oranı %100 olarak belirlenmiştir. Vogel ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada 43 SSR marköründen etkili polimorfizm değerlerinin elde edildiğini bildirmişlerdir. Filiz ve ark. (2009a), belirledikleri 373 bandın 266 tanesinin polimorfik (% 70), Filiz (2012) cpDNA ve mtDNA'larında tespit ettiği 224 bandtan 54 ( kloroplast 9, mitokondri 45) tanesinin (% 22) polimorfik, Jaroszewicz ve ark. (2012) RADP yöntemi ile inceledikleri 18 *B. distachyon* aksesyonunda batların %96'sının polimorfik, Zhang ve ark. (2012) Pop 1'de 1.315 fragmentin polimorfik (% 59,4), Pop 2'de ise 342 allelin polimorfik (%79,4), Zhao ve ark ( 2011), *B. distachyon* SSR Primerlerini kullandıkları çalışmalarında *M. sinensis*'te belirledikleri 162 bandtan 158'inin (%97,53) polimorfik olduğunu, Mo ve ark. (2013) *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* ve SSR primerleri ile yaptıkları çalışmalarında polimorfizm oranının % 97.14 ( % 85,71 - %100) olarak hesaplandığını açıklamışlardır.

Çalışmada elde edilen polimorfizm oranının yüksek olması, yapılan diğer çalışmalara paralel olarak Bd türünün genotipik varyasyon derecesinin yüksek olduğunu desteklemektedir.

Allelik zenginliğin ortalama 6,302 olduğu belirlenmiştir. Allelik zenginlik ( $N_A$ ) açısından primeler karşılaştırıldığında; 9,734 allel ile ALB165 primerinin en zengin yapıya sahip olduğu görülmektedir. Bu primeri 9,377 allel ile ALB050, 8,562 allel ile ALB022 ve 8,316 allel ile ALB139 primeri takip etmektedir. En düşük miktarda allel zenginliği 3,000 allel ile ALB087 primerinde tespit edilmiştir. ALB311 (3,444 allel) ve ALB030 (3,935 allel) primerleri allel zenginliği düşük olan diğer primerlerdir. Allelik zenginlik genetik çeşitliliği belirleyen bir faktör olduğu için allelik zenginlik ne kadar fazla ise genetik çeşitlilikte fazladır. Mo ve ark. (2013) 5 farklı populasyona ait 110 *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* bireyi ve 37 SSR primeri kullandıkları çalışmalarında, allelik zenginliği ortalama 3,14 (2,86-3,43) olarak hesaplamışlardır.

Çizelge 4.1'de verilen allellerin boyutları (bant büyüklükleri) incelendiğinde; ALB030 primerinin 150 bç ile en düşük, ALB006 primerinin ise 385 bç ile en yüksek band uzunluğuna

sahip oldukları görülmüştür. Vogel ve ark. (2009)'nın çalışmasında bizim kullandığımız primerlerin boyutları incelendiğinde, ALB030 primerinin 151 bç ile küçük, ALB006 primerinin 376 bç ile en büyük boyuta sahip olduğu görülmüştür. Diğer bandlara ait değerlerde incelendiğinde verilerin birbirine yakın oldukları belirlenmiştir.

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde en önemli ölçütlerden olan aksesyonlarda görülen gen çeşitliliğidir. Gen çeşitliliğini belirlemek için yapılan işlemlerden elde edilen veriler Çizelge 4.11 'te verilmiştir.

Çizelge 4.11.Primerler ve aksesyonlarda belirlenen gen çeşitliliği değerleri

Primer	1. Bölge	2. Bölge
ALB001	0,700	0,804
ALB006	0,667	0,727
ALB022	0,851	0,520
ALB030	0,413	0,505
ALB040	0,655	0,522
ALB050	0,674	0,832
ALB087	0,615	0,609
ALB139	0,835	0,637
ALB165	0,870	0,614
ALB181	0,615	0,568
ALB311	0,415	0,542
Ortalama	0,645	

Çalışmada kullanılan 11 mikrosatellit bölgesindeki gen çeşitliliğinin 1. Bölge'ye ait aksesyonlarda 0,413 ile 0,870 arasında değiştiği belirlenmiştir. En fazla gen çeşitliliği ALB165 primerinde görülmüştür. Bu primeri 0,851 ile ALB022 ve 0,835 ile ALB139 primerleri takip etmektedir. Gen çeşitliliği bakımından en düşük oranlar 0,413 ile ALB030 ve 0,415 ile ALB311 primerlerinde görülmüştür.

2. Bölge'de gen çeşitliliğinin 0,505 ile 0,832 arasında değiştiği görülmektedir. Yüksek gen çeşitliliğine sahip primerler ALB050 (0,832), ALB001 (0,804) ve ALB006 (0,727) şeklinde sıralanmaktadır. 0,505 değeri ile ALB030, 0,520 ile ALB022 ve 0,522 ile ALB040

gen çeşitliliği düşük olan primerlerdir. Her iki bölgede de ALB030 primerinin gen çeşitliliğinin düşük olduğu görülmektedir. Vogel ve ark. (2009) ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan 187 hat üzerinde SSR primerleri ile yaptıkları çalışmada da bizim kullandığımız primerlerden ALB030'da gen çeşitliliğinin düşük olduğu (0,325) belirlenmiştir. Çalışmada en düşük gen çeşitliliğine 0,263 değeri ile ALB087 primerinde, en yüksek gen çeşitliliğine 0,800 ile ALB001 primerinin sahip olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da ALB001 primerinin 2. Bölge grubunda gen çeşitlilik düzeyinin yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca Giraldo ve ark. (2012), yapmış olduğu çalışmada da ALB165 (0,8672) ve ALB311 (0,4878) primerlerinde gen çeşitliliğinin bizim elde ettiğimiz değerler ile çok yakın olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 11 primerin ortalama gen çeşitliliği 0,645 olarak belirlenmiştir. Vogel ve ark. (2009) çalışmalarında kullandıkları 43 primerde ortalama gen çeşitliliğini 0,543 olarak hesaplamışlardır. Filiz (2012), cpDNA ve mtDNA'ları ile yaptığı çalışmada gen çeşitliliğini 0,130 olarak rapor etmiştir. Zhao ve ark (2011), *B. distachyon* SSR Primerlerini kullandıkları çalışmalarında *M. sinensis*' ta gen çeşitlilik değerini 0,320 olarak hesaplamışlardır. Jaroszewicz ve ark. (2012) RADP yöntemi ile inceledikleri 18 *B. distachyon* aksesyonunda gen çeşitliliğini her primer için 0,220 olarak hesaplamışlardır.

Genetik çeşitliliğin ölçütlerinden biri olan popülasyonların heterozigotluk düzeyleri hesaplanmıştır. Heterozigotluk düzeyi incelenen primerler açısından, popülasyonlar içerisinde tespit edilen heterozigot bireylerin ortalama yüzdesini ifade etmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Bölgelerde primerlere ait heterozigotluk düzeylerine bakıldığında ortalama gözlenen ( $H_0$ ) ve beklenen ( $H_e$ ) heterozigotluk düzeylerinin sırası ile 0,0116 ile 0,0366 ve 0,4111 ile 0,8645 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk düzeylerinin ortalama değerleri ise 1. Bölge için 0,0044 ve 0,6607, 2. Bölge için 0,0018 ve 0,6177 şeklindedir. 1. Bölge'de gözlenen ortalama heterozigotluk düzeyinin (0,0044) 2. Bölge'den (0,0018) yüksek olduğu görülmektedir. Gözlenen en yüksek (0,0366) ve en düşük (0,0116) heterozigotluk düzeyleri 1. Bölge'de saptanmıştır. Çalışılan 11 primerden sadece 3 primerde heterozigotluk tespit edilmiştir. En fazla allele sahip ALB050 primerinde heterozigotluk tespit edilirken en az allele sahip ALB087 primerinde heterozigotluk görülmemiştir. Çalışılan primerler bazında saptanan ortalama heterozigotluk değerleri ele alındığında en çok sayıda allel tespit edilen ALB050 (15 allel) primerinin 0,0116 ile en düşük

heterozigotluk, az sayıda allele sahip ALB030 (6 allel) primerinin 0,0366 ile en yüksek heterozigotluk değerine sahip oldukları görülmüştür.

Çizelge 4.12. Çalışmada gözlenen ( $h_o$ ) ve beklenen ( $h_e$ ) heterozigotluk değerlerinin her bir primer için bölgelere dağılımı ve ortalama değerler

Primer	Gözlenen Heterozigotluk ( $H_o$ )		Beklenen Heterozigotluk ( $H_E$ )	
	1. Bölge	2. Bölge	1. Bölge	2. Bölge
ALB001	0,0000	<b>0,0200</b>	0,6957	0,7958
ALB006	0,0000	0,0000	0,6634	0,7193
ALB022	0,0000	0,0000	0,8460	0,5149
ALB030	<b>0,0366</b>	0,0000	0,4111	0,4982
ALB040	0,0000	0,0000	0,6513	0,5172
ALB050	<b>0,0116</b>	0,0000	0,6701	0,8227
ALB087	0,0000	0,0000	0,6115	0,6026
ALB139	0,0000	0,0000	0,8304	0,6303
ALB165	0,0000	0,0000	0,8645	0,6072
ALB181	0,0000	0,0000	0,6113	0,5619
ALB311	0,0000	0,0000	0,4123	0,5242
Ort.	0,0044	0,0018	0,6607	0,6177

Bölgelere göre beklenen heterozigotluk değerleri incelendiğinde, 1. Bölge’de beklenen heterozigotluk değerinin 0,6607 ile 2. Bölge’den (0,6177) fazla olduğu görülmektedir. Beklenen heterozigotluk değerleri primerler bazında incelendiğinde 0,8645 ile en yüksek ortalamaya ALB165 primerinin, en düşük ortalamaya ise 0,4111 ile ALB030 primerinin sahip olduğu görülmüştür. ALB165 primeri fazla sayıda allele (13 allel) sahip iken , ALB030 primeri az sayıda allele (6 allel) sahiptir. Ancak gözlenen heterozigotluk düzeyi en fazla ALB030 primerinde belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda heterozigotluk değerlerinin çok düşük olduğu, gözlenen ve beklenen heterozigotluk düzeyleri arasında fazla miktarda farklılık olduğu ve sadece 3 primerde (ALB030, ALB050, ALB001) heterozigot bireylerin bulunduğu görülmektedir. Vogel ve ark.'da (2009) yaptıkları çalışmada heterozigotluk düzeyinin oldukça düşük (0,0005) olduğunu, Giraldo ve ark. (2012)'da İspanya'nın farklı bölgelerinden toplanan 64 *B. distachyon* ve 5 SSR primeri (ALB165, ALB311, BdSSR207, BdSSR330, R2-3) ile yaptıkları çalışmada heterozigotluk değerini 0 olarak açıklamışlardır. Bu durumun *B. distachyon*'un kendi kendini dölleyen bir bitki olmasından ve yabancı bitkilerin ezici bir homozigot özelliğine sahip olmalarından kaynaklandığı açıklanmıştır (Vogel ve ark. 2009). Diğer *Brachypodium* türleri ile yapılan çalışmalarda heterozigotluk değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin, Mo ve ark. (2013) *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* ve SSR primerleri ile yaptıkları çalışmalarında gözlenen heterozigotluk değerini 0,0105 (0,029 – 0,220), beklenen heterozigotluk değerini ise 0,488 (0,439 – 0,561) olarak açıklamışlardır.

#### 4.3.2. zgn genlerin belirlenmesi analizi

Bu çalışmada toplam 50 özgün allel (private allele) belirlenmiştir. ALB165 primerinde 9, ALB022, ALB050 ve ALB139 primerlerinde 7'şer, ALB001 primerinde 6, ALB006 ve ALB030 primerlerinde 4'er, ALB040 primerinde 3, ALB311 primerinde 2 ve ALB181 primerinde 1 özgün allelin bulunduğu, ALB087 primerinde ise hiçbir özgün allelin bulunmadığı tespit edilmiştir (izelge 4.6).

Bölgeler bazında bakıldığında 1. Bölge'nin 33, 2. Bölge'nin ise 17 özgün allele sahip oldukları görülmüştür. Gözlenen zgn allellerin frekanslarının 0,0058 ile 0,1333 arasında değişim grterdiği belirlenmiştir. zgn allellerin belirleyici özellikte olması frekanslarının 0,05 ve üzeri değerlerde olmasına bağlıdır. Bu durumda belirlenen 50 özgün allelin 16'sı bölgelerin belirlenmesinde belirteç (ayırta) olarak kullanılabilir. Bu belirteç özgün allellerin 9'u 1. Bölge'ye, 7'si 2. Bölge'ye özgüdür (izelge 4.13).

Çizelge 4.13. Çalışmada gözlenen özgün allellerin primerler ile bölgeler açısından dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları

ALB001														
Populasyon	182	184	186	196	200	202	204	206	208	210	212			
1. Bölge	0,4778	0,2333	<b>0,1333</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	0,0111	<b>0,0000</b>	0,0444	0,0667	<b>0,0333</b>			
2. Bölge	0,1100	0,3400	<b>0,0000</b>	<b>0,0200</b>	<b>0,0200</b>	<b>0,0200</b>	0,0200	<b>0,0800</b>	0,1800	0,2100	<b>0,0000</b>			
ALB006														
Populasyon	360	370	372	373	375	377	379	381	385					
1. Bölge	0,5444	<b>0,0000</b>	0,1222	0,1333	0,0778	<b>0,0000</b>	<b>0,0444</b>	<b>0,0333</b>	0,0444					
2. Bölge	0,0851	<b>0,0213</b>	0,0426	0,4255	0,2979	<b>0,0851</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	0,0426					
ALB022														
Populasyon	287	289	291	293	294	295	297	299	301	359	361	365	370	376
1. Bölge	<b>0,0000</b>	0,0217	0,2609	0,0978	0,0109	<b>0,0109</b>	0,0978	0,1848	<b>0,0217</b>	0,1630	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0870</b>	<b>0,0435</b>
2. Bölge	<b>0,0208</b>	0,0208	0,0208	0,1042	0,0208	<b>0,0000</b>	0,0625	0,0208	<b>0,0000</b>	0,6875	<b>0,0208</b>	<b>0,0208</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>
ALB030														
Populasyon	150	151	153	154	157	164								
1. Bölge	<b>0,0854</b>	0,7500	<b>0,0122</b>	0,1463	<b>0,0000</b>	<b>0,0061</b>								
2. Bölge	<b>0,0000</b>	0,2308	<b>0,0000</b>	0,6667	<b>0,1026</b>	<b>0,0000</b>								
ALB040														
Populasyon	164	176	177	179	183	185	188							
1. Bölge	<b>0,0111</b>	0,5333	<b>0,0333</b>	0,0111	0,1667	0,1889	<b>0,0556</b>							

2. Bölge	<b>0,0000</b>	0,1400	<b>0,0000</b>	0,0200	0,6600	0,1800	<b>0,0000</b>								
	ALB050														
Populasyon	198	220	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	243	247
1. Bölge	<b>0,0058</b>	0,5581	<b>0,0000</b>	0,0465	0,0640	0,0814	0,0465	0,0465	0,0349	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0116</b>	<b>0,0349</b>	<b>0,0349</b>	0,0349
2. Bölge	<b>0,0000</b>	0,0851	<b>0,0213</b>	0,0213	0,0213	0,2128	0,1915	0,0213	0,2979	<b>0,0638</b>	<b>0,0213</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	0,0426
	ALB087														
Populasyon	194	200	203												
1. Bölge	0,3778	0,4778	0,1444												
2. Bölge	0,1458	0,3333	0,5208												
	ALB139														
Populasyon	307	310	313	316	319	322	325	328	334	337	340	343			
1. Bölge	0,0326	0,1522	<b>0,0326</b>	<b>0,0326</b>	0,3261	<b>0,0543</b>	0,0978	<b>0,0326</b>	<b>0,0000</b>	0,1522	<b>0,0652</b>	<b>0,0217</b>			
2. Bölge	0,0408	0,5714	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	0,1020	<b>0,0000</b>	0,1633	<b>0,0000</b>	<b>0,0204</b>	0,1020	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>			
	ALB165														
Populasyon	166	169	171	172	175	178	181	183	184	187	190	193	199		
1. Bölge	<b>0,0000</b>	<b>0,0843</b>	<b>0,0120</b>	<b>0,0000</b>	0,1205	0,1205	0,0843	<b>0,0241</b>	<b>0,1325</b>	0,2651	<b>0,0723</b>	<b>0,0482</b>	<b>0,0361</b>		
2. Bölge	<b>0,0667</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,1333</b>	0,6000	0,0222	0,0667	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	0,1111	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>		
	ALB181														
Populasyon	234	236	240	242	244										
1. Bölge	0,0690	0,5517	0,2759	<b>0,0230</b>	0,0805										



2. Bölge	0,0435	0,0435	0,3478	<b>0,0000</b>	0,5652										
	ALB311														
Populasyon	242	243	244	246											
1. Bölge	0,7286	0,2429	<b>0,0286</b>	<b>0,0000</b>											
2. Bölge	0,6250	0,0625	<b>0,0000</b>	<b>0,3125</b>											

Çizelge 4.14. Çalışmada gözlenen özgün allellerin primerler ile bölgeler açısından dağılımı ve gözlenen özgün allellerin frekansları

Primer	Allel Uzunluğu(bp)	Frekans	Bölge ismi
ALB001	186	<b>0,1333</b>	1. Bölge
	196	0,0200	2. Bölge
	200	0,0200	2. Bölge
	202	0,0200	2. Bölge
	206	<b>0,0800</b>	2. Bölge
	212	0,0333	1. Bölge
ALB006	370	0,0213	2. Bölge
	377	<b>0,0851</b>	2. Bölge
	379	0,0444	1. Bölge
	381	0,0333	1. Bölge
ALB022	287	0,0208	2. Bölge
	295	0,0109	1. Bölge
	301	0,0217	1. Bölge
	361	0,0208	2. Bölge
	365	0,0208	2. Bölge
	370	<b>0,0870</b>	1. Bölge
	376	0,0435	1. Bölge
ALB030	150	<b>0,0854</b>	1. Bölge
	153	0,0122	1. Bölge
	157	<b>0,1026</b>	2. Bölge
	164	0,0061	1. Bölge
ALB040	164	0,0111	1. Bölge
	177	0,0333	1. Bölge
	188	<b>0,0556</b>	1. Bölge

ALB050	198	0,0058	1. Bølge
	231	0,0213	2. Bølge
	238	<b>0,0638</b>	2. Bølge
	239	0,0213	2. Bølge
	240	0,0116	1. Bølge
	241	0,0349	1. Bølge
	243	0,0349	1. Bølge
ALB139	313	0,0326	1. Bølge
	316	0,0326	1. Bølge
	322	<b>0,0543</b>	1. Bølge
	328	0,0326	1. Bølge
	334	0,0204	2. Bølge
	340	<b>0,0652</b>	1. Bølge
	343	0,0217	1. Bølge
ALB165	166	<b>0,0667</b>	2. Bølge
	169	<b>0,0843</b>	1. Bølge
	171	0,0120	1. Bølge
	172	<b>0,1333</b>	2. Bølge
	183	0,0241	1. Bølge
	184	<b>0,1325</b>	1. Bølge
	190	<b>0,0723</b>	1. Bølge
	193	0,0482	1. Bølge
	199	0,0361	1. Bølge
ALB181	242	0,0230	1. Bølge
ALB311	244	0,0286	1. Bølge
	246	<b>0,3125</b>	2. Bølge

Çalışmada en yüksek sayıda (9 allel) özgün allel ALB165 primerinde görülmekte olup bu özgün allellerin 5' i (3'ü 1. Bölge, 1'i 2. Bölge) belirteç özelliğine sahiptir (Çizelge 4.14). ALB165 primeri en fazla allele sahip üçüncü primerdir. En fazla allele sahip ALB050 primeri 7 özgün allele sahip olup bunlardan sadece biri 2. Bölge'ye özgüdür. 14 allel ile allel sayısı bakımından ikinci sırada yer alan ALB022 primerinin sahip olduğu 7 özgün allelden sadece biri 1. Bölge'ye özgüdür. ALB001 primeri 2 (1 tane 2. Bölge, 1 tane 1. Bölge), ALB006 primeri 1 tane 2. Bölge'ye, ALB030 primeri 2 (1 tane 2. Bölge, 1 tane 1. Bölge), ALB040 primeri 1 tane 1. Bölge'ye, ALB139 primeri 2 tane 1. Bölge'ye ve ALB311 primeri 1 tane 2. Bölge'ye özgü allellere sahiptir. ALB181 deki özgün allelin frekansı düşük olduğu için belirleyici bir özelliği yoktur.

#### 4.3.3. Genetik farklılık ( $F_{ST}$ ) ve genetik uzaklık analizi

Bölgeler arası genetik farklılığın önemli olup olmadığını görmek için  $F_{ST}$  değerleri hesaplanmış ve önemlilik testleri yapılmıştır. Bölgeler için hesaplanan genel  $F_{ST}$  değeri olarak 0,19324 bulunmuş olup (Çizelge 4.15.), bu değer istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0,001$ ).

Çalışmada elde edilen  $F_{ST}$  (0,19324) değerinin 0,15- 0,25 arasında olması bölgelerde büyük bir genetik farklılaşma olduğunu ifade eder. Filiz ve ark. (2009a) ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan *Bd* saf hatları ile yapmış oldukları çalışmada,  $F_{ST}$  değerinin 0'dan farklı olduğunu ve bu sonucun bölgeler arası karşılaştırmalarda önemli olduğunu rapor etmişlerdir. Bölgeler içinde yapılan değerlendirme de ise Eskişehir bölgesinden elde edilen sonuç 0'dan farklı olmadığı için anlamlı bulunmamıştır. Mo ve ark. (2013) *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* ve SSR primerleri ile yaptıkları çalışmalarında  $F_{ST}$  değerini 0,331 (0,136 -0,671) olarak hesaplamışlardır.

Çizelge 4.15. Aksesyonların yer aldığı gruplara ait  $F_{ST}$  değerleri

	1. Bölge	2. Bölge
1. Bölge	0,000	0,19324***
2. Bölge		0,000

Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre hesaplanan genetik uzaklıklar (D) incelendiğinde, bölgeler arasındaki genetik uzaklığın oldukça önemli olduğu görülmüştür. Elde edilen 0,590 değerinin, 0 ile 1 arasında olması genetik uzaklığın (D) 0 ve  $\infty$  arasında değerler aldığı ifade eder (Çizelge 4.16). Buna göre bölgelerde yer alan aksesyonlarda görülen genetik varyasyon bölgeler arasındaki genetik uzaklığın artmasına neden olmaktadır. Bu değer benzerlik matrisi olarak da kullanılabilir. Bu durumda iki gruba ait genetik benzerlik 0,590 şeklinde yorumlanabilir. Gruplar arasında genetik benzerlik oranı yüksek bir değer değildir.

Çizelge 4.16. Standart genetik uzaklık değerleri (Nei 1972)

	1. Bölge	2. Bölge
1. Bölge	0,000	0,590***
2. Bölge		0,000

Filiz ve ark. (2009a), Bd saf hatları ve AFLP Primerleri ile yapmış oldukları çalışmada genetik uzaklığın 0,67 (0,05 – 0,78), diğer çalışmalarında ise 0,03 ile 0,62 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir (Filiz ve ark. 2009b). Giraldo ve ark. (2011) 193 diploid ve allotetraploid (Bd) de ve 15 SSR Markör ile yaptıkları çalışmalarında genetik uzaklığın 0,514 olduğunu bildirmişlerdir. Filiz (2012), Türkiye'nin farklı biyocoğrafik bölgelerinden toplanmış 24 *B. distachyon*'ın cpDNA ve mtDNA'ları ile yaptığı çalışmada genetik uzaklığın 0,62 olduğunu açıklamıştır. Zhang ve ark. (2012) doğal (Pop 1, 66 bitki) ve mutant (Pop 2, 43 bitki) populasyonlar üzerinde AFLP markörleri ile yaptıkları çalışmada populasyonlar arası genetik uzaklığın Pop 2'de 0,03'ten 0,49'a, Pop 2'de ise 0,029'dan 0,214'e kadar değiştiğini bildirmişlerdir.

#### 4. 3.4. PIC (Polimorfizm bilgi içeriği) ve PD (Ayrımlama gücü) analizi

Populasyonlardaki allel sıklığı ile hesaplanan Çizelge 4.17'deki değerler incelendiğinde polimorfizm oranlarının 0,35 ile 0,84 arasında değiştiği, ortalama polimorfizm oranının ise 0,60 olduğu görülmektedir. En düşük polimorfizm oranı 1. Bölge grubunda 0,35 ile ALB311 primerinde belirlenmiştir. Bu primeri 1. Bölge'de 0,39 değeri ile ALB030 ve 2. Bölge'de 0,43 değeri ile ALB311 primerinin takip ettiği görülmüştür.

Polimorfizm oranı bakımından dikkat çeken primerler 1. Bölge’de ALB165 (0,84) ve ALB022 (A0,83) primerleridir. Polimorfizm oranı yüksek olan diğer primerler 0,81 değeri ile ALB139 ve 0,80 değeri ile ALB050 primerleridir. En yüksek ve en düşük polimorfizm oranlarının 1. Bölge’de görüldüğü belirlenmiştir.

PIC degerinin, 0,75'e eşit veya üzerinde olması bilgilendirme açısından uygun olduğu açıklanmıştır (Laborda ve ark. 2005). Bu nedenle ALB001, ALB022, ALB050, ALB139 ve ALB165 primerlerinde görülen polimorfizm oranları önemli olup diğer primerlerde polimorfizm oranının düşük olduğu görülmektedir.

Vogel ve ark. (2009) 43 primer ile ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan 187 hat üzerinde yaptıkları çalışmada PIC degerinin 0,204 – 0,804 (Ort=0,5586) arasında olduğunu bildirmişlerdir. Zhao ve ark (2011), *B. distachyon* SSR Primerlerini kullandıkları çalışmalarında *M. sinensis*’ in PIC degerinin 0,073 ile 0,375 (ort=0,263) arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Zhang ve ark. (2012) doğal (Pop 1, 66 bitki) ve mutant (Pop 2, 43 bitki) populasyonlar üzerinde AFLP markörleri ile yaptıkları çalışmada, Pop 2’de PIC degerinin 0,118- 0,224 (ort= 0,162) arasında , Pop1’de ise 0,053’ten 0,200’e (ort=0,113) kadar değiştiğini açıklamışlardır.

Çizelge 4.17. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) ve ayırtılamagücü (PD) ile ilgili sonuçlar

Primer	PIC		PD	
	1. Bölge	2. Bölge	1, Bölge	2. Bölge
ALB001	0,65	0,76	0,69	0,79
ALB006	0,64	0,67	0,66	0,71
ALB022	0,83	0,49	0,84	0,51
ALB030	0,39	0,46	0,44	0,52
ALB040	0,62	0,49	0,66	0,54
ALB050	0,67	0,80	0,68	0,83
ALB087	0,54	0,55	0,62	0,62
ALB139	0,81	0,61	0,83	0,65
ALB165	0,84	0,58	0,86	0,61
ALB181	0,55	0,48	0,61	0,56
ALB311	0,35	0,43	0,41	0,51
	Ort=0,60			

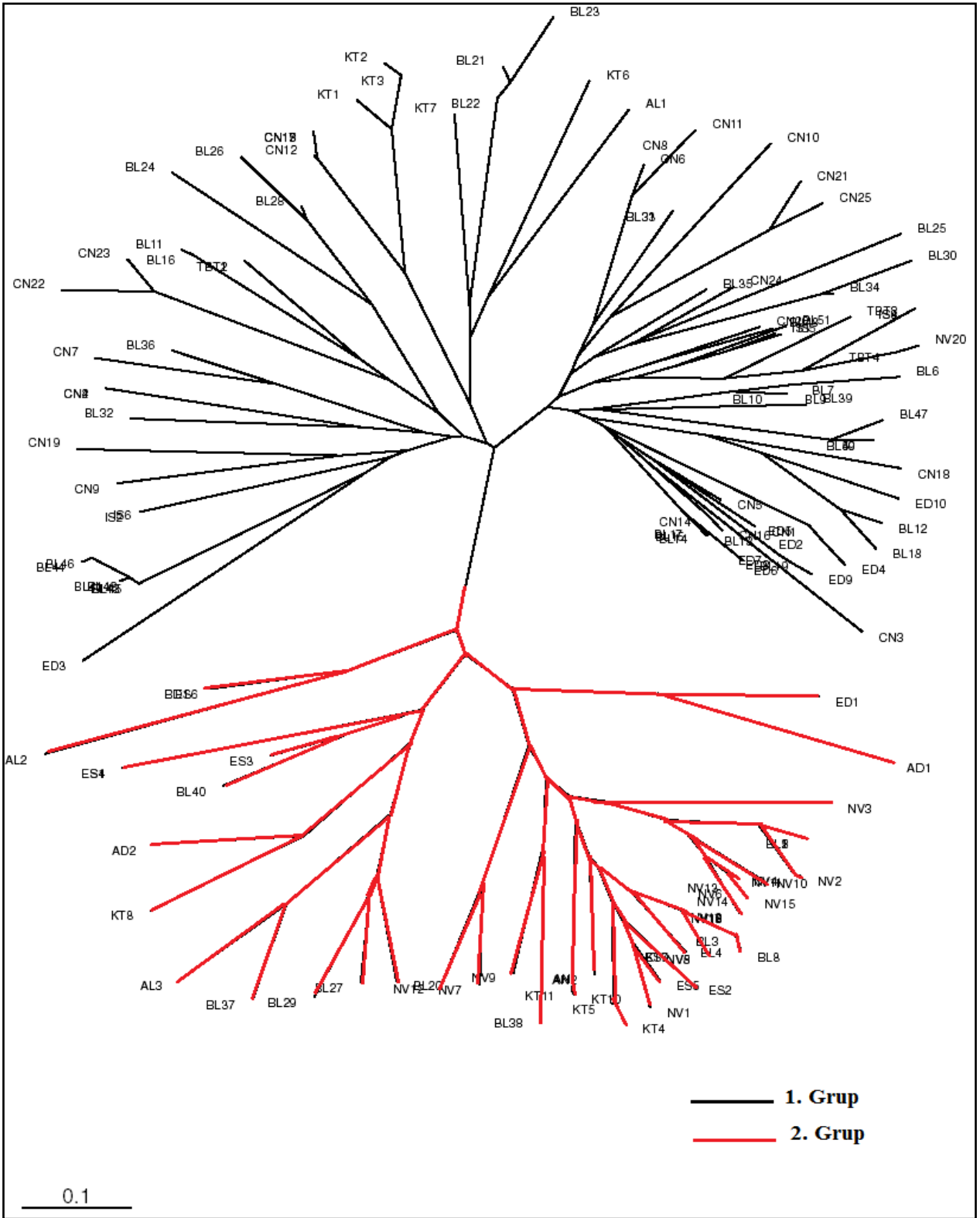
PIC değeri incelenen genotipler arasındaki allel frekansı ve çeşitliliğinin de bir yansımasıdır. Bu nedenle genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde önemli bir belirteçtir. Ortalama PIC değerinin 0,60 olması aksesyonlara arasında genetik çeşitlilik olduğunu göstermektedir.

Her bir primer için hesaplanan ayırlama gücü (PD) değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.17), en düşük değerin 0,41 (ALB311 ), en yüksek değerinde 0,86 (ALB165) olduğu belirlenmiştir. PD değeri yüksek olan diğer primerler 0,84 değeri ile ALB022, 0,83 değeri ile ALB050 ve ALB139, 0,79 değeri ile ALB001 primerleridir. PD değeri farklı genotipe sahip bireylerin belirlenmesinde kullanıldığı için PD değeri yüksek olan primerlerde bireyler arasındaki genetik varyasyonun yüksek olduğu söylenebilir. Bireyler bu primerlere ait farklı alleller taşımaktadır.

Genel olarak allel sayısı fazla olan (Çizelge 4.10) primerlerin PD değerinin yüksek, allel sayısı az olan primerlerin ise PD değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir.

#### **4.3.5. Allellerin paylaşım uzunluklarının ölçümü**

Farklı *B. distachyon* aksesyonlarına ait bireylerin çalışılan 11 primer açısından genetik olarak birbirlerine ne derece benzediklerini, bazı aksesyonlara ait bireylerin daha farklı ayrılıp ayrılmadığını araştırmak için allel paylaşım uzaklığı metodu ölçüt olarak alınmış (Bowcock ve ark. 1994) ve komşu birleştirme ağacı (NJ analizi) ile bireylerin ilişkileri sergilenmiştir (Şekil 4.1). Çizilen şekilde aksesyon adlarının daha anlaşılır bir şekilde görüntülenmesi için aksesyonlara ait bireylerin her biri kısa olarak simgelenmiştir (Çizelge 4.11).



Şekil 4.7. Bireyler arası paylaşım uzaklıkları (ASD) kullanılarak komşu birleştirme (NJT) metodu ile çizilen dendrogram.



Çizelge 4.18. Komşu birleştirme ağacında yeralan aksesyonlar ve simgeleri

Aks. No	Simge	Aks. No	Simge	Aks. No	Simge	Aks. No	Simge	Aks. No	Simge
1. Bölge		90-5	CN19	94-7	BL17	63-9	BL46	85-5	NV3
3-1	ED1	90-6	CN20	94-8	BL18	65-1	BL47	85-6	NV4
62-1	ED2	90-9	CN21	94-9	BL19	65-3	BL48	86-1	NV5
62-2	ED3	91-1	CN22	95-3	BL20	65-6	BL49	86-6	NV6
62-3	ED4	91-4	CN23	95-4	BL21	65-7	BL50	86-7	NV7
62-4	ED5	91-7	CN24	95-5	BL22	66-9	BL51	86-8	NV8
62-5	ED6	91-9	CN25	95-6	BL23	2. Bölge		88-1	NV9
62-6	ED7	84-1	IS1	95-7	BL24	112-1	ES1	88-3	NV10
62-7	ED8	84-2	IS2	95-7	BL25	112-2	ES2	88-5	NV11
62-8	ED9	84-5	IS3	95-8	BL26	112-3	ES3	88-7	NV12
62-9	ED10	84-6	IS4	95-8	BL27	112-4	ES4	88-8	NV13
68-3	CN1	84-8	IS5	95-9	BL28	112-6	ES5	88-9	NV14
68-2	CN2	84-9	IS6	95-9	BL29	112-7	ES6	89-2	NV15
68-7	CN3	92-1	BL1	96-2	BL30	112-9	ES7	89-5	NV16
68-8	CN4	92-2	BL2	96-3	BL31	111-8	AN1	89-6	NV17
68-9	CN5	92-4	BL3	96-4	BL32	111-9	AN2	89-7	NV18
69-1	CN6	92-5	BL4	96-5	BL33	67-4	KT1	89-8	NV19
69-4	CN7	92-6	BL5	96-7	BL34	67-6	KT2	89-9	NV20
69-5	CN8	92-7	BL6	96-8	BL35	67-9	KT3	108-2	AL1
69-7	CN9	92-8	BL7	96-9	BL36	100-2	KT4	108-5	AL2
69-8	CN10	92-9	BL8	97-3	BL37	100-9	KT5	108-8	AL3
69-9	CN11	93-1	BL9	97-5	BL38	105-2	KT6	83-5	TBT1
81-1	CN12	93-6	BL10	97-8	BL39	105-8	KT7	83-7	TBT2
81-2	CN13	94-1	BL11	97-9	BL40	117-1	KT8	83-8	TBT3
81-3	CN14	94-2	BL12	63-1	BL41	117-2	KT9	83-9	TBT4
81-4	CN15	94-3	BL13	63-3	BL42	117-4	KT10	Kah-3	AD1
81-8	CN16	94-4	BL14	63-5	BL43	117-9	KT11	Adi-3	AD2
81-9	CN17	94-5	BL15	63-7	BL44	85-2	NV1	Bd18-1	BD1
90-2	CN18	94-6	BL16	63-8	BL45	85-3	NV2		

Nei'nin genetik uzaklık sonuçlarına göre hazırlanan dendogram incelendiğinde genetik çeşitlilik bakımından 2 grup oluştuğu görülmektedir (Şekil 4.6.). İncelenen örnekler genetik benzerliklerine göre aynı grupta yer almaktadır.

Birinci grup kendi içerisinde iki kola ayrılmaktadır. Birinci kolda kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmaktadır. Birinci alt grupta yer alan aksesyonlar genetik benzerliklerine göre küçük alt gruplar oluşturmaktadır. Birinci alt kolda yer alan Bd94 (BL13, BL14, BL15, BL17 ve BL19),

Bd68 (CN3), Bd81 (CN14, CN16), Bd62 (ED6, ED7, ED8,ED9), Bd69 (CN1, CN5) bireylerinin, Bd62 (ED2, ED4 ve ED5)'ye ait 3 bireyin ve Bd94 (BL12, BL18), Bd62 (ED10), Bd90 (CN18) bireylerinin genetik yapılarındaki benzerliğe (akrabalık) kendi içerisinde kümeleşerek alt bir grup oluşturdukları belirlenmiştir. Farklı alanlardan toplanan örneklerin aynı grupta yer aldıkları görülmektedir. Diğer küçük alt grubu ise Bd97 (BL39), Bd65 (BL47, BL49 ve BL50), Bd92 (BL6, BL7) ve Bd93 (BL9, BL10) bireyleri oluşturmaktadır. İkinci alt kolda ise iki küçük grup yer almaktadır. Birinci küçük grupta Bd83 (TBT3, TBT4), Bd86 (NV8) , Bd84 (IS1, IS3, IS4, IS5), Bd65 (BL48), Bd66 (BL51), Bd90 (CN20) bireyleri yer alırken, ikinci küçük grupta Bd95 (BL25), Bd96 (BL30, BL31, BL33, BL34, BL35), Bd90 (CN21), Bd91 (CN24, CN25) ve Bd69 (CN6, CN8, CN10, CN11) aksesyonlarına ait bireyler yer almaktadır.

Birinci grubun ikinci koluda kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt gruplarda kendi içerisinde tekrar kollara ayrılarak çok sayıda daha küçük gruplar oluşturmaktadır. Birinci alt grubun ilk küçük grubunu Bd108 (AL1), Bd105 (KT6, KT7) ve Bd95 (BL21, BL22, BL23) bireyleri oluşturmaktadır. Bu gruba ait örnekler coğrafi olarak birbirine uzak alanlardan toplanmış olup genetik benzerliklerinden dolayı aynı grupta yer almışlardır. İkinci küçük grubu ise Bd67 (KT1, KT2, KT3) ve Bd81 (CN12, CN13, CN15, CN17) bireyleri oluşturmaktadır. Kütahya ve Çanakkale'den toplanan bireylerin aynı grupta yer aldıkları görülmektedir. İkinci alt grup 3 tane küçük gruptan oluşmaktadır. İlk küçük grupta dört farklı alandan toplanan bireyler birlikte yer almaktadır. Bu bireylerin ait olduğu aksesyonlar Bd95 (BL24, BL26, BL28), Bd83 (TBT 1, TBT2), Bd94 (BL11, BL16) ve Bd91 (CN22, CN23) şeklinde sıralanmaktadır. İkinci ve üçüncü küçük gruplarda 9 farklı alandan toplanan 16 birey yer almaktadır. İkinci küçük grupta Bd96 (BL36), Bd69 (CN7), Bd68 (CN4, CN2), Bd96 (BL32) bireyleri yer alırken, üçüncü küçük grupta Bd90 (CN19), Bd69 (CN9), Bd84 (IS6, IS2), Bd63 (BL41, BL42, BL43, BL44, BL45, BL46) ve Bd62 (ED3) bireyleri bulunmaktadır.

İkinci grupta kendi içerisinde iki kola ayrılmaktadır. İlk kolda standart olarak kullanılan Bd18 (BD1), Bd108 (AL2) ve Bd112 (ES6) olmak üzere 3 örnek yer almaktadır. İkinci kol ise kendi içerisinde iki alt grup oluşturmaktadır. İlk alt grupta yer alan Bd112 (ES1, ES3, ES4) ile Bd97 (BL40) bireylerinin, Adi (AD2) ile Bd117 (KT8) bireylerinin, Bd108 (AL3), Bd95 (BL20, BL27, BL29) ile Bd97 (BL37) bireylerinin birbirlerine yakın akraba oldukları görülmektedir. İkinci alt kolda yer alan Bd3 (ED1) ve Kah.(AD1) bireylerinin diğer örneklerden ayrılarak kendi gruplarını oluşturdukları belirlenmiştir. Diğer örneklerde kendi genetik benzerlik değerlerine göre

küçük gruplar oluşturmuşlardır. İlk küçük grubu Bd86 (NV7) ve Bd88 (NV12) bireyleri oluşturmaktadır. İkinci küçük grupta Bd88 (NV9) ve Bd97 (BL38) bireyleri yer almaktadır. Üçüncü küçük grupta, Bd117 (KT9, KT10, KT11), Bd100 (KT4, KT5), Bd85 (NV1), Bd86 (NV5, NV8), Bd112 (ES2, ES5, ES7) ve Bd92 (BL3, BL4, BL8) bireyleri yer almaktadır. Dördüncü küçük grupta ise Bd89 (NV15, NV16, NV17, NV18, NV19), Bd88 (NV10, NV11, NV13, NV14), Bd86 (NV6), Bd85 (NV2, NV3, NV4) ve Bd92 (BL1, BL2, BL5) bireyleri bulunmaktadır.

Yapılan çalışmada en fazla aksesyon içi genetik çeşitliliğin Bd62’de olduğu belirlenmiştir. Bu aksesyona ait bireylerin çok sayıda alt grupta yer alması genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Dendogramda farklı alt gruplarda kendine ait bireyler bulunduran Bd69, Bd90, Bd95, Bd97, Bd108 ve Bd112 aksesyonları da genetik çeşitliliği fazla olan diğer aksesyonlardır. Bd3, Bd63, Bd66, Bd67, Bd85, Bd88, Bd93, Bd105, Bd111, Kah ve Adi aksesyonlarına ait bireylerin ise bir veya birkaç alt grupta yer aldıkları, başka gruplarda bireylerinin bulunmadığı belirlenmiştir. Bu durum aksesyon içinde genetik çeşitliliğin fazla olmadığını göstermektedir.

Dendogramadan elde edilen sonuçlara göre en uzak akraba olan bireyler BL14, BL13, BL15, BL17, BL19 ile ED1 ve AD1 bireyleridir. Bu bireylerin ait olduğu aksesyonlara bakıldığında Bd94 ile Bd3 ve Kah Aksesyonlarının genetik açıdan birbirine uzak, Bd3 ile Kah aksesyonlarının birbirine yakın akraba olduğu görülmektedir. Akrabalık açısından uzak olan diğer örnekler ise NV3 (Bd85) ile Bd68 (CN3) ve Bd81 (CN14, CN16) şeklinde sıralanabilir.

Vogel ve ark. (2009) ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan 187 hat üzerinde SSR primerleri ile yaptıkları çalışmada dendogramın iki ana gruba ayrıldığını, bir grubun Tekirdağ, BD1-1, BdTR7 ve BdTR8’den oluştuğunu, ikinci grubun çok Türkiye ve Irak’tan toplanan aksesyonları karışık olarak içerdiğini ve grubun kendi içinde çok sayıda kollara ayrıldığını açıklamışlardır. Filiz ve ark. (2009a) Bd saf hatları ve AFLP Primerleri kullanarak yaptıkları çalışmada dendogram 5 gruptan oluşmaktadır. Zhao ve ark (2011), *B. distachyon* SSR Primerlerini kullandıkları çalışmalarında *M. sinensis*’in dendogramda 3 gruba ayrıldığını tespit ettiklerini, bu dağılımın 1. ve 2. grup ait genotiplerin Güney Çin’den, 3. Gruba ait olanların ise Kuzey Çin’den toplandıklarını bildirmişlerdir. Filiz (2012), Türkiye’nin farklı biyocoğrafik bölgelerinden toplanmış 24 *B. distachyon*’ın cpDNA ve mtDNA’ları ile yaptığı çalışmada oluşturulan dendogram incelendiğinde 4 farklı kümenin ve genetik çeşitlilik açısından çok geniş bir spektrumun oluştuğunu saptamıştır. Zhang ve ark. (2012) çalışmalarında hazırladıkları

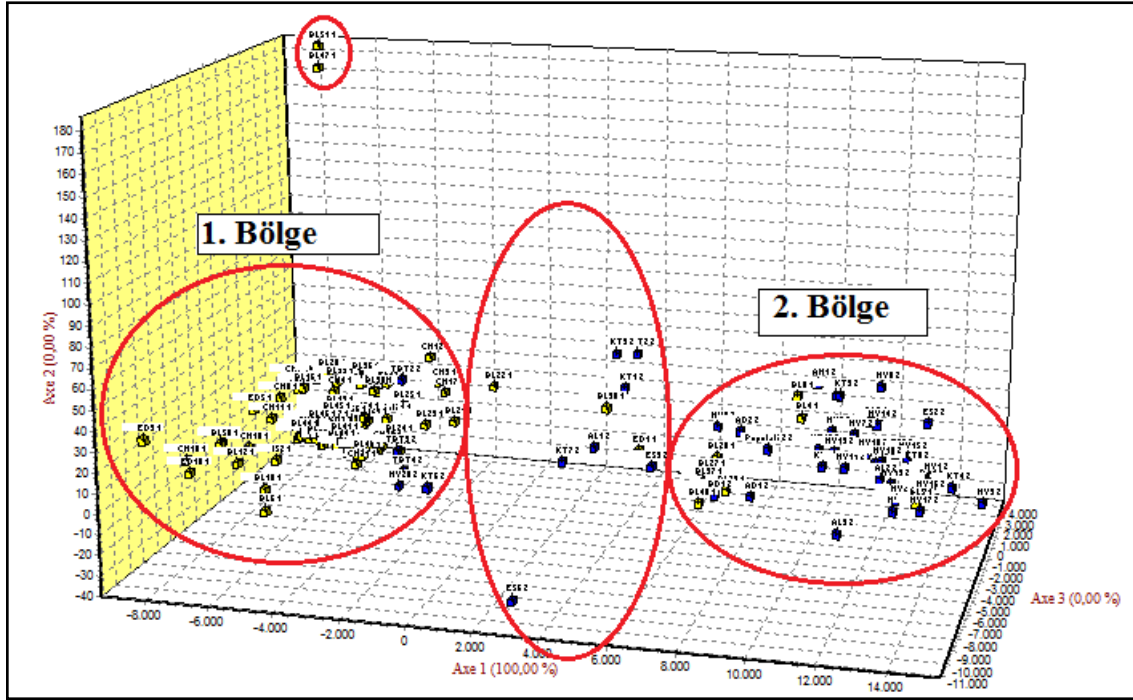
dendogramda Pop 2'nin iki gruba, Pop 1'in üç gruba ayrıldığını açıklamışlardır. Mo ve ark. (2013) *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* ve SSR primerleri ile yaptıkları çalışmalarında 3 grup tespit etmişlerdir.

Gruplar incelendiğinde aynı aksesyona ait yani aynı coğrafik bölgeden toplanan örneklerin farklı gruplarda yer aldığı, farklı bölgelerden toplanan örneklerin aynı grupta yer alabildiği görülmektedir. Bu durum aksesyonlar arasında ve aksesyon içinde genetik çeşitlilik olduğunu, görülen genetik çeşitlilik ile örneklerin toplandığı coğrafi bölge arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda genetik çeşitlilik ile coğrafik konum arasındaki ilişkinin anlamlı olup olmadığına dair farklı sonuçlar elde edilmiştir. Vogel ve ark. (2009) SSR genotipleri ve geniş coğrafi bölgeler arasında bazı korelasyonlar bulunduğunu, ancak tek bir nokta da bile genotipik çeşitliliğin yüksek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Filiz ve ark. (2009), Filiz (2012), Jaroszewicz ve ark. (2012) aynı biyocoğrafik bölge bireylerinin farklı gruplarda kümelendiği, farklı coğrafik bölge genotiplerinin ise aynı gruplarda toplandığını, Giraldo ve ark. (2012) genetik ve ekoklimatik çeşitlilik arasında bir ilişki bulunmadığını açıklamışlardır. Zhao ve ark (2011) ise flogenetik sınıflandırma ile coğrafik dağılım ve ekotipik özelliklerin birbirini desteklediğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada elde edilen sonuç literatürler tarafından da desteklenmektedir.

Dendogramda oluşan gruplar ile fenotipik özellikler arasındaki bağlantıda önemlidir. Vogel ve ark. (2009), fenotipik özelliklerine göre oluşturulan gruplar ve SSR profilleri arasında anlamlı korelasyon belirlediklerini, Jaroszewicz ve ark. (2012)'da RADP bantları ile morfolojik özellikler arasında belirgin bir bağlantı olduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmada dendogramdaki gruplar ile morfolojik özellikler arasında herhangi bir bağlantı tespit edilmemiştir.

#### **4.3.6. Faktöriyel benzerlik analizi (factorial correspondence analysis-FCA)**

Faktöriyel benzerlik analizi bireyler arasındaki akrabalığı araştırmak için yapılan bir analiz olup çoklu boyutta bireylerin birbirine yakınlığının görülebilmesini sağlamaktadır. Bireylerin genetik varyasyonunun belirlenmesi, verilerin birbirleri ile ilişkilerinin çeşitli bağımsız ve bileşik değişken faktörler açısından üç boyutlu düzlemsel ortamda görselleştirmek amacı ile faktöriyel benzerlik analizi grafiği çizilmiştir (Şekil 4.2). Üç boyutlu düzlemde faktöriyel benzerlik analizi grafiklerinin çiziminde Genetix paket programı kullanılmıştır.



Şekil 4.8. Çalışılan tüm aksesyonlara ait bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren faktöriyel benzerlik analiz grafiği

Faktöriyel Benzerlik Analiz Grafiği incelendiğinde, aksesyonların iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir. Ancak bu ayırım tam olarak kesin sınırlarla belirli değildir, arada her iki gruba ait bireylerden oluşan bir ara grup ve bunlardan uzaklaşmış 2 bireyden oluşan küçük bir grup daha bulunmaktadır. Ara grupta 1. Bölge'ye dahil olan ED1 (Bd3, Çakmak – Edirne), BL22 (Bd95, Balyadan sonra Balıkesir'e 40 km kala) ve BL38 (Bd97, Kütahya yolu Dursunbey-Harmancık arası) bireyleri ile 2. Bölge'de yer alan KT1, KT2, KT3 (Bd67, Harmancık- Kütahya), KT7 (Bd105, Kütahya Tavşanlı çıkışı), ES3 ,ES6 (Bd112, Kaymaz çıkışı Eskişehir) ve AL1 (Bd108, Alanya) olmak üzere 10 bireyin yer aldığı görülmektedir.

Ayrıca 1. Bölge'de 2. Bölge'ye dahil olan KT6 (Bd105, Kütahya Tavşanlı çıkışı), NV20 (Bd89, Avanos 4 Nevşehir), TBT2, TBT3 ve TBT4 (Bd83, TÜBİTAK Gen Merkezi) 5 birey bulunmaktadır. 2. Bölge'de ise 1. Bölge'ye ait olan BL3, BL4, BL5, BL8 (Bd92, Dursunbey-Balıkesir), BL20, BL27, BL29 (Bd95, Balyadan sonra Balıkesir'e 40 km kala), BL37 ve BL40 (Bd97, Kütahya yolu Dursunbey-Harmancık arası) olmak üzere 9 birey yer almaktadır. Arada kalan, diğer gruplarda yer alan ve küçük grubu oluşturan bireylerin ait olduğu aksesyonlar sırası ile incelendiğinde;

Bd3 (ED1): Çalışmada bu aksesyondan bir birey incelenmiş olup coğrafi konum olarak 1. Bölge grubu içerisinde yer alması gerekirken ara grupta bulunmaktadır.

Bd65 (BL47, BL48, BL49, BL50): Aksesyona ait 4 birey incelenmiş bir bireyin BL51 ile diğer örneklerden uzakta birarada bulunduğu, diğer örneklerin ise 1. Bölge grubunda yer aldığı görülmektedir.

Bd66 (BL51): Çalışmada bu aksesyondan bir birey incelenmiş olup coğrafi konum olarak 1. Bölge grubu içerisinde yer alması gerekirken, BL47 ile diğer birlikte diğer örneklerden uzaklaşmıştır.

Bd67 (KT1, KT2, KT3): Aksesyona ait 3 birey incelenmiş olup tüm bireylerin 2. Bölge grubunda değilde ara grupta yer aldıkları görülmektedir.

Bd83 (TBT1.....TBT4): TUBİTAK gen merkezinden alınan aksesyona ait bireylerin 3 tanesi 1. Bölge, 1 tanesi 2. Bölge grubunda yer almıştır.

Bd89 (NV15.....NV20): Bu aksesyona ait olan 6 bireyden, 1 tanesi 1. Bölge diğerleri 2. Bölge grubunda yer almaktadır.

Bd92 (BL1.....BL8): Bu aksesyonda yer alan 9 bireyden 4 tanesi 2. Bölge, 5 tanesi 1. Bölge grubunda yer almaktadır.

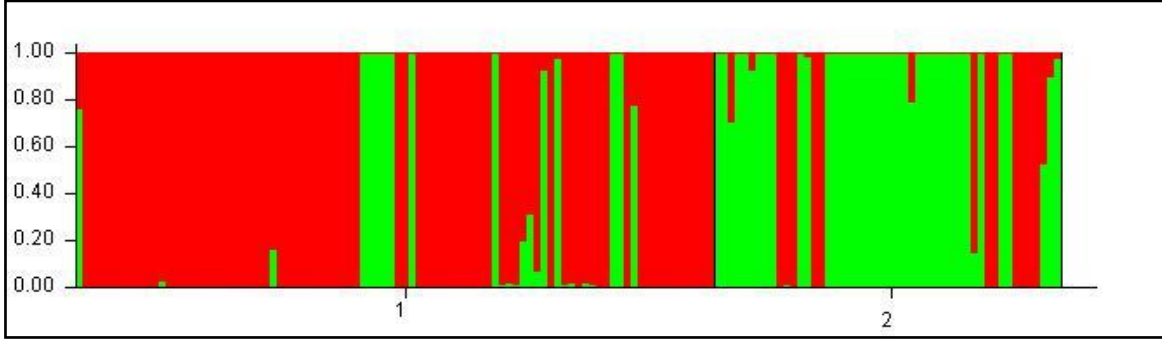
Bd95 (BL20.....BL29): Bu aksesyona ait olan 10 bireyden, 1 tanesi ara grupta, 3 tanesi 2. Bölge grubunda, 6 tanesi ise 1. Bölge grubunda yer almaktadır.

Bd97 (BL37.....BL40): Bu aksesyona ait 4 bireyin 1'i ara grupta, 2 tanesi 2. Bölge grubunda, 1 tanesi ise coğrafi olarak en fazla bireyin bulunması gereken 1. Bölge grubunda yer almaktadır.

Bd105 (KT6 ve KT7): Bu aksesyona ait 2 bireyden 1 tanesi 1. Bölge, diğeri ise ara grupta yer almaktadır.

Bd108 (AL1, AL2, AL3): Bu aksesyona ait 3 bireyden 1 tanesi ara grupta, diğerleri 2. Bölge grubunda yer almaktadır.

### 4.3.7.Genetik yapı analizi



Şekil 4.9. populusyonlar bazında genetik yapı grafiği (Herbir renk= Bir K)

Genotiplerin kökeni ve soy hakkında önceden bilgi vermeden populusyon (K=grup) içinde genotiplerin ayrılmasını sağlayan analiz sonucunda K değeri 2 olarak belirlenmiştir. K değerinin 2 olması, 142 Bd bireyinin genetik yapı bakımından iki populusyonda (grup) toplandığını ifade etmektedir (Şekil 4.9). Birinci gruptaki birey sayısının ikinci gruba göre fazla



olduğu görülmektedir (Şekil 4.10).

Şekil 4.10. Bireyler bazında genetik yapı grafiği

Grafikler incelendiğinde oluşan iki grubun birbirinden net olarak ayrılmadığı, her iki grup içine diğer gruptan yabancı katılımlar olduğu, bazı genotiplerin ise her iki gruba ait genetik özellikler taşıdığı görülmektedir.1(Bd3-Edirne), 29 (Bd90- Çanakkale), 65,66,67,68 (Bd95-Balıkesir), 81 (Bd97- Balıkesir), 95 ve 98 (Bd112- Eskişehir), 121 (Bd88-Nevşehir), 130 (Bd89-Nevşehir), 140 (Kah- Adıyaman) ve 141 (Adi- Adıyaman) genotiplerinin her iki gruba ait genetik

yapı taşıdıkları belirlenmiştir. 42, 43, 44, 45, 46 ve 49 (Bd92- Balıkesir), 61 ve 70 (Bd95- Balıkesir), 78 ve 79 (Bd97- Balıkesir) numaralı genotiplerin coğrafik olarak birinci grup içinde yer almalarına rağmen ikinci grubun genetik yapısına sahip oldukları belirlenmiştir. İkinci grupta incelendiğinde coğrafi olarak birinci gruba uzak olan genotiplerin, birinci grubun genetik yapısına sahip olduğu görülmüştür. Bu genotipler 102, 103, 104 (Bd67- Kütahya), 107 ve 108 (Bd105- Kütahya), 132 (Bd89- Nevşehir), 133 (Bd108- Alanya), 136, 137, 138 ve 139 (Bd83-TBTK gen merkezi) şeklinde sıralanmaktadır.

Genotipler ve toplandıkları bölgelere bakıldığında birbirinden uzak alanlarda yaşayanların ortak genetik yapıya sahip oldukları görülmektedir. Bu sonuca en güzel örnek NJ dendogramında da görüldüğü gibi Bd3 (Edirne) ve Kah (Adıyaman) aksesyonlarının ortak genler taşıdıkları için birbirine en yakın akraba olması verilebilir. Bir diğer önemli nokta ise aynı coğrafi bölgeye ait genotipler farklı gruplarda yer alabilir veya her iki gruba ait genetik özellikler taşıyabilir. Örneğin Balıkesirden toplanan Bd 97 aksesyonuna ait genotipler birinci, ikinci grup ve her iki gruba ait genetik özellikler taşımaktadır. Bu durum coğrafik bölge içerisinde genetik çeşitlilik olduğunu gösterir. Distefano ve ark. (2013) Sicilya, Apulia, Akdeniz çevresi, Amerika ve Avustralya'ya ait 113 badem aksesyonu ile yaptıkları çalışmada K değerini 10 olarak belirlemişlerdir. Bazı gruplara fazla miktarda yabancı katılım olduğu için bu grupların coğrafi köken hakkında bir bilgi vermediğini açıklamışlardır. Çalışmalarında bizim de belirlediğimiz gibi her coğrafi bölge içerisinde önemli derecede genetik çeşitlilik görüldüğünü açıklamışlardır.

Sonuç olarak Faktöriyel Benzerlik Analizi, NJ dendogramı ve model-based Bayesian analizi ile elde edilen veriler birbirini desteklemektedir. Buna göre aynı coğrafi bölgeden toplanan örnekler genetik benzerlik bakımından farklı gruplarda yer alabileceği, örneklerin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda coğrafi bölge içerisinde de genetik çeşitliliğin önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Vogel ve ark. (2009) ile Mur ve ark.'nin (2011b) yapmış olduğu çalışmalar da elde edilen veriler sonuçlarımızı desteklemektedir. Distefano ve ark. (2013) bu durumun gen havuzları arasında gerçekleşen gen alış verişinden ( insan, hava şartları veya diğer faktörler sayesinde tohumların taşınması, dölllenme....) kaynaklandığını bildirmektedir.



#### 4.4. Korelasyon Analizi

Çekirdek DNA miktarı, rakım ve morfolojik özellikler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla Korelasyon Analizi yapılmıştır (Çizelge 4.19).

Yapılan korelasyon analizine göre rakımdaki değişiklik ile çekirdek DNA içeriği (-0,453\*\*) ve çimlenme süresi (-0,363\*\*) arasında negatif korelasyon, bin tane ağırlığı (0,388\*\*) ve bitki görünümü (0,322\*) arasında ise pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Rakım arttıkça bitkilerde boy ve bin tane ağırlığı önemli derecede yükselmektedir. Buna karşılık rakım değeri arttıkça DNA içeriği ve çimlenme süresi azalmaktadır.

Rakım ile çekirdek DNA içeriği/genetik çeşitlilik arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla *B. distachyon* ve diğer türler üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. *Picea glauca* (Teoh ve Rees 1976) ve *Vicia faba* (Ceccarelli ve ark. 1992) ile yapılan çalışmalarda yükseklik ile çekirdek DNA içeriği arasında önemli bir ilişki olmadığı açıklanmıştır. *Dactylis glomerata* ile çalışan Creber ve ark. (1994) C-DNA değeri ile yükseklik arasında anlamlı bir negatif korelasyon bulunduğunu, Öney (2013) ise *Brachypodium distachyon* aksesyonlarında 0-300 m'ye kadar genom büyüklüğü ile yükseklik arasında pozitif korelasyon olduğunu ancak 300m'den sonra negatif korelasyon görüldüğünü rapor etmişlerdir. Korelasyon analizi ile belirlenen yükseklik ile çekirdek DNA miktarı arasındaki negatif korelasyon literatür ile desteklenmektedir. Ancak bitkinin toplandığı lokasyonun sahip olduğu yükseklik ve iklim koşullarının genom hacmi üzerine olan etkisi bugün hala tartışılmaktadır (Bennett ve Leitch 1995, Greilhuber 1998, Bennett ve ark. 2000, Greilhuber 2005).

Öney (2013) yaptığı çalışmada yükseklik artışı ile bitki boyu arasında hem negatif hem de pozitif bir korelasyon olduğunu, 0-600 m arasında bitki boyu artarken, 600-900 m arasında yükseklik arttıkça bitki boyunun azaldığını, 900 m'den sonra bitki boylarının tekrar arttığını açıklamıştır. Ayrıca yükseklik ile başak ve başakçık sayısı arasında negatif korelasyon bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmada yükseklikteki değişiklikler ile bitki boyu başakçık sayısı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

	Rakım	DNA	BB	BYB	BYE	BA	BSS	BSZSS	BÇS	TS	TA	BTA	ÇMS	BS	ÇÇS	BG	BR
DNA	-,453**																
BB	,198	-,161															
BYB	-,039	-,349**	-,349*														
BYE	,149	-,402**	-,402**	,887**													
BA	,192	-,66	-,066	,524**	,546**												
BSS	,201	,096	,096	-,481**	-,574**	-,023											
BSZSS	,072	,146	,146	-,312*	-,380**	-,028	,599*										
BÇS	,227	-,108	-,108	,076	,158	,551**	,244	,122									
TS	-,094	,137	,137	-,351*	,308*	,688**	-,052	-,070	,674**								
TA	,265	-,381**	-,381**	,724**	,803**	,718**	-,426**	-,429**	,344*	,545**							
BTA	,388**	-,480**	-,480**	,642**	,750**	,457**	-,460**	-,465**	-,002	,044	,847**						
ÇMS	-,363**	,384**	,384**	-,348*	-,467**	-,315*	,218	,262	-,370**	-,191	-,561**	-,562**					
BS	-,120	,401**	,401**	-,906**	-,879**	-,455**	,497**	,357*	,076	-,303*	-,802**	-,762**	,483**				
ÇÇS	-,0145	,410**	-,481**	-,903**	-,883**	-,468**	,492**	,361*	,092	-,302*	-,816**	-,782**	,504**	,997**			
BG	,322*	-,334**	,879**	,541**	,576**	,529**	-,322**	-,475**	,137	,243	,642**	,638**	-,222	-,518**	-,526**		
BR	-,044	-,105	-,499**	-,201	-,198	-,399**	,012	,064	-,178	-,149	-,154	-,085	-,083	,047	,047	-,512**	
BT	-,29	-,257	-,223	,194	,180	,070	-,129	-,031	,267	,285*	,186	,075	-,397**	-,223	-,236	-,103	,467**

\*: P<0,05      \*\*: P<0,01

Çizelge 4.19. DNA, rakım ve morfolojik özellikler arasındaki korelasyon. Rakım (m), DNA (pg/2C), BB:Bitki boyu (cm), BYB: Bayrak yaprak ayası boy(cm), BYE: Bayrak yaprak ayası en (mm), BA: Bitki Ağırlığı (biomas) (g), BSS:Başaklı sap sayısı (tane), BSZSS: Başaksız sap sayısı (tane), BÇS: Başakçık sayısı (tane), TS:Tohum sayısı (tane), TA: Tohum ağırlığı (g), BTA:Bin tane ağırlığı (g), ÇMS:Çimlenme süresi (gün), BS: Başaklanma süresi (gün), ÇÇS:Çiçeklenme süresi (gün), BG:Bitki görünüşü (1-5), BR: Bitki rengi (1-3), BT:Bitkideki tüylülük derecesi (1-3)

Çok sayıda araştırmacı yükseklik artışı ile tohum üretimi ve biomas arasında negatif korelasyon bulunduğunu rapor etmiştir (Moles ve Westoby 2003, Bu ve ark. 2007, Hui ve ark. 2012). Diğer taraftan Pluess ve ark. (2005) yapılan çalışmalar sonucunda tür içinde ve türler arasında yükseklik artışına paralel olarak tohum veriminin de arttığını vurgulamaktadırlar. Bazı çalışmalarda ise yükseklik artışı ile tohum verimi arasında hiçbir varyasyonun bulunmadığı belirtilmektedir (Guo ve ark 2010, Öney 2013). Çalışmada tespit edilen yükseklik ile bin tane ağırlığı arasındaki pozitif korelasyon literatürler ile desteklenmekte ve yükseklik arttıkça tohum veriminin arttığını ifade etmektedir.

Çekirdek DNA içeriğinin bayrak yaprak ayası boyu (-0,349\*\*), bayrak yaprak ayası eni (-0,402\*\*), bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı ( -0,381\*\*), bin tane ağırlığı (-0,480\*\*) ve bitki görünüşü (-0,334\*\*) özellikleri ile negatif, çimlenme süresi (0,384\*\*), başaklanma süresi (0,401\*\*) ve çiçeklenme süresi (0,410\*\*) ile pozitif korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum bitkinin sahip olduğu çekirdek DNA miktarı artarken, bayrak yaprağı ayası boyu, bayrak yaprak ayası eni, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü değerlerinde azalmalar olduğunu ifade etmektedir. Bu özelliklerin negatif etkilenmesi direk olarak bitki verimini de olumsuz etkilemektedir. Çevre faktörleri ve genotipin verimin oluşumundaki paylarının tespit edilmesi ıslah çalışmalarında büyük önem taşımaktadır. Ayrıca çekirdek DNA içeriği ile negatif korelasyona sahip olan özelliklere bakıldığında DNA miktarı arttıkça vejetasyon süresinin uzadığı anlaşılmaktadır.

Genetik çeşitlilik ile morfolojik özellikler arasındaki ilişkiyi araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda genetik çeşitliliğin çiçeklenme zamanı, tohum büyüklüğü, başakçık çıkarma tarihi, kök başına internod sayısı, yaprak uzunlukları, bitkinin şekli (form), toplam dal sayısı, kuru madde miktarı, tohum verimi, başak ve başakçık sayısı gibi ürün özelliklerinde önemli doğal varyasyonlara neden olduğu bildirilmektedir (Opanowicz ve ark 2008, Filiz ve ark. 2009, Vogel ve ark. 2009, Vogel ve Bragg 2009, Hilde ve ark. 2011, Neji ve ark.2011). Jaroszewich ve ark. (2012) yaptığı çalışmada bu çalışmada olduğu gibi genetik yapı ile bitkilerin vejetasyon süreleri ve özellikle çiçeklenme periyotları arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu, tespit edilen varyasyonların türe doğal seleksiyon sırasında avantaj sağladığını belirtmişlerdir.

Korelasyon analizine göre bitki boyu ile bayrak yaprak ayası boyu (-0,349\*), bayrak yaprak ayası eni (-0,402\*\*), tohum ağırlığı (-0,381\*\*), bin tane ağırlığı (-0,480\*\*), çimlenme süresi (0,384\*\*), başaklanma süresi (0,401\*\*), çiçeklenme süresi (-0,481\*\*), bitki görünüşü (0,879\*\*) ve bitki rengi (-0,499\*\*) özellikleri arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Bitki boyu arttıkça, bayrak yaprak ayası boyu, bayrak yaprak ayası eni, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığının azalması bitki verimini ve hayvanlar için besin değerini azaltmaktadır. Tohum ve yapraklar hayvanların beslenmesinde, biyolojik yakıt elde edilmesinde önemli bir yere sahip olduğu için bu amaçla yapılacak çalışmalarda kısa boylu populasyonlar tercih edilmelidir. Bitki boyu ile çiçeklenme süresi arasındaki negatif korelasyon kısa boylu bitkilerin daha kısa zamanda çiçeklenmeye başladığını. bu bitkilerin erkenci özellikte olduğunu göstermektedir. Bitki boyu arttıkça, çimlenme süresinin (0,384\*\*), başaklanma süresinin (0,401\*\*) ve bitki görünüşü değerlerinin de (0,879\*\*) arttığı görülmektedir. Çimlenme süresinin ve başaklanma süresinin artması vejetasyon süresini uzatacağından istenmeyen bir özelliktir.

Bayrak yaprak ayası boyu ile bayrak yaprak ayası eni (0,887\*\*), bitki ağırlığı (biyomas) (0,524\*\*), başaklı sap sayısı (-0,481\*\*), başaksız sap sayısı (-0,312\*), tohum sayısı (-0,351\*), tohum ağırlığı (0,724\*\*), bin tane ağırlığı (0,642\*\*), çimlenme süresi (-0,348\*), başaklanma süresi (-0,906\*\*), çiçeklenme süresi (-0,903\*\*) ve bitki görünüşü (0,541\*\*) özellikleri arasında önemli bir ilişki bulunduğu tespit edilmiştir. Bayrak yaprak ayası boyu artarken, bayrak yaprak ayası eni, bitki ağırlığı, tohum ağırlığı ve bin tane ağırlığının artması, başaksız sap sayısı, çimlenme, çiçeklenme ve başaklanma sürelerinin azalması tohum ve besin üretimi ile biyolojik yakıt elde edilmesi için aranılan özelliklerdir. Ancak bayrak yaprak ayası boyu arttıkça başaklı sap sayısı ile tohum sayısının olumsuz etkilenmesi istenmeyen özelliklerdir. Neji ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada yaprak boyunun lokasyona göre değiştiğini bildirmişlerdir.

Bayrak yaprak ayası enindeki değişiklikler ile bitki ağırlığı (0,546\*\*), başaklı sap sayısı (-0,574\*\*), başaksız sap sayısı (-0,380\*\*), tohum sayısı (0,308\*), tohum ağırlığı (0,803\*\*), bin tane ağırlığı (0,750\*\*), çimlenme süresi (-0,467\*\*), başaklanma süresi (-0,879\*\*), çiçeklenme süresi (-0,883\*\*) ve bitki görünüşü (0,576\*\*) özellikleri arasında önemli bir ilişki bulunmakta olup negatif ve pozitif korelasyonlar görülmektedir. Bayrak yaprak ayası eninin bu özellikler üzerine etkisi, bayrak yaprak ayası boyunun etkisi ile hemen hemen aynıdır. Aradaki tek fark

bayrak yaprak ayası boyu artarken tohum sayısı azalmakta, fakat bayrak yaprak ayası eni artarken tohum sayısı da artmaktadır. Bu durum bitki verimi açısından önemli olup istenilen bir özelliktir.

Bitki ağırlığının (biomas), başakçık sayısı (0,551\*\*), tohum sayısı (0,688\*\*), tohum ağırlığı (0,718\*\*), bin tane ağırlığı (0,457\*\*) ve bitki görünüşü (0,529\*\*) özellikleri arasında pozitif korelasyon görülürken; çimlenme süresi (-0,315\*), başaklanma süresi (-0,455\*\*), çiçeklenme süresi (-0,468\*\*) ve bitki rengi (-0,399\*\*) özellikleri ile ise negatif korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Bitki ağırlığının artmasına bağlı olarak başakçık sayısının, tohum sayısının, tohum ağırlığı ve bin tane ağırlığının artması, çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme süresinin azalması kısa zamanda verimli bitkiler elde etmek için istenilen özelliklerdir. Tohum verimi yüksek, bitki görünüşü iyi, kısa zamanda yetiştirilebilecek popülasyonlar aranıyorsa, bitki ağırlığı yüksek olan popülasyonlar tercih edilmelidir.

Başaklı sap sayısı ile başaksız sap sayısı (0,599\*), tohum ağırlığı (-0,426\*\*), bin tane ağırlığı (-0,460\*\*), başaklanma süresi (0,497\*\*), çiçeklenme süresi (0,492\*\*), bitki görünüşü (-0,322\*\*) özellikleri arasında önemli bir ilişki olduğu saptanmıştır. Başaklı sap sayısı arttıkça başaksız sap sayısı, başaklanma süresi ve çiçeklenme süresinin arttığı, tohum ağırlığı ve bin tane ağırlığının ise azaldığı görülmektedir. Bir bitkide başaklı sap sayısı arttıkça tohum verimin düşmesi ve vejetasyon süresinin artması ıslahçılar tarafından pek tercih edilmeyen bir durumdur. Başaklı sap sayısının fazla olması istenir, ancak önemli olan başaklardaki tanelerin gelişmesi ve olgunlaşmasıdır.

Başaksız sap sayısının da başaklı sap sayısı gibi tohum ağırlığı (-0,429\*\*), bin tane ağırlığı (-0,465\*\*) ve bitki görünüşü (-0,475\*\*) özellikleri ile arasında negatif, başaklanma süresi (0,357\*) ve çiçeklenme süresi (0,361\*) özellikleri ile ise pozitif korelasyon olduğu görülmektedir. Başaksız sap sayısının fazla olması istenmeyen bir özelliktir. Bitki tohum oluşturmak, başakçıkların gelişmesini sağlamak, kısaca bitki verimini arttırmak için kullanacağı enerji ve maddeleri bu sapsar kullanmakta ve bitkiyi olumsuz etkilemektedir.

Başakçık sayısı ile tohum sayısı (0,674\*\*) ve tohum ağırlığı (0,344\*) özellikleri arasında pozitif korelasyon bulunurken, çimlenme süresi (-0,370\*\*) ile negatif korelasyon görülmektedir. Bu negatif korelasyon bitki için avantaj bir özelliktir. Kısa sürede çimlenen ve bol miktarda

başakçık oluşturan bitkiler ıslahçılar tarafından tercih edilir. Islah çalışmalarında başakçık sayısı fazla olan aksesyonlar seçilmelidir.

Tohum sayısının tohum ağırlığı (0,545\*\*) ve bitkideki tüylülük derecesi (0,285\*) özellikleri ile pozitif korelasyona sahip iken başaklanma süresi (-0,303\*) ve çiçeklenme süresi (-0,302\*) özellikleri ile negatif korelasyona sahiptir. Tohum sayısı fazla olan bitkilerin tohum ağırlıklarının diğer aksesyonlardan fazla olması gayet doğaldır. Diğer özelliklerin pek etkisi bulunmadığı bitkideki tüy miktarı ile tohum sayısının ilişkili olması dikkat çekmektedir. Tüy miktarı diğer aksesyonlara göre fazla olan bitkiler daha fazla sayıda tohum oluşturmaktadır. Tohum sayısı fazla olan aksesyonların başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin kısa olması önemli bir avantajdır.

Yapılan korelasyon analizinde bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı arttıkça bin tane ağırlığının (0,847\*\*) arttığı ve bitki görünüşünün de (0,642\*\*) olumlu yönde etkilendiği görülmektedir. Tohum ağırlığı arttıkça çimlenme süresi (-0,561\*\*), başaklanma süresi (0-.802\*\*) ve çiçeklenme süresinin (-0,816\*\*) kısalması vejetasyon süresini kısaltacağı için istenilen özelliklerdir. Vogel ve ark.(2009) yaptıkları çalışmada bitkilerin sahip olduğu tohum ağırlığının lokasyona göre de değiştiğini bildirmektedirler.

Korelasyon analiz tablosuna bakıldığında bin tane ağırlığının sadece bitki görünüşü (0,638\*\*) ile pozitif korelasyona, çimlenme süresi (-0,562\*\*), başaklanma süresi (-0,762\*\*) ve çiçeklenme süresi (-0,782\*\*) özellikleri ile negatif korelasyona sahip olduğu görülmektedir. Bin tane ağırlığı fazla olan aksesyonlar diğerlerine göre daha dikkat çekicidir. Ayrıca bin tane ağırlığı fazla olan aksesyonların diğer aksesyonlara göre daha kısa sürede çimlenip başaklanması ve çiçek oluşması kısa zamanda bol ürün elde edilebilmesi için yapılan çalışmalarda aranılan özelliklerdir.

Çimlenme süresi uzun olan aksesyonlara ait bitkilerin tüy miktarlarının az (-.397\*\*), başaklanma süresi (0,483\*\*) ve çiçeklenme sürelerinin (0,504\*\*) uzun olduğu görülmektedir. Tohum sayısı fazla. çimlenme zamanı kısa olan bitkiler geliştirilmek isteniyorsa tüylülük derecesine bakılabilir ve tüy oranı fazla olan aksesyonlar tercih edilebilir.

Başaklanma süresi ile çiçeklenme süresi (0,997\*\*) arasında pozitif, bitki görünüşü (0-.518\*\*) ile negatif korelasyon görülmektedir. Yukarıdaki değerlendirmelerde de görülmektedir ki

çimlenme süresi uzun olan aksesyonların genellikle başaklanma ve çiçeklenme süreleri de uzun olmaktadır. Bu özelliklere sahip olan aksesyonlar ıslah çalışmaları için pek uygun değildir. Çalışmalarda sonuca kısa zamanda ulaşabilmek için aksesyonların yaşam döngüleri kısa olmalıdır. Neji ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada başakçık oluşturma süresinin lokasyona göre de değiştiğini bildirmektedirler.

Çiçeklenme süresi ile bitki görünüşü (0,526\*\*) arasındaki negatif korelasyon çiçeklenme süresi uzun olan aksesyonların tam istenilen özellikte gelişemediğini göstermektedir.

Bitki görünüşü ile bitki rengi (0,512\*\*) arasındaki negatif korelasyon açık yeşil renkli aksesyonların koyu yeşil renge sahip aksesyonlara göre daha güzel geliştiklerini bildirmektedir. Yapılan çalışmalarda bitkinin görünümünün aksesyonun toplandığı coğrafik bölgeye göre değişiklik gösterdiği bildirmektedirler (Neji ve ark. (2011)).

Yapılan analizler bitki rengi açık yeşilden koyu yeşile doğru gittikçe bitkinin sahip olduğu tüy miktarının arttığını (0,467\*\*) göstermektedir.

#### 4.5. Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi

Çekirdek DNA içeriği ile rakımın morfolojik özellikler üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Çoklu doğrusal regresyon analizi sonuçları

Morfolojik Özellik	Model (Regresyon)	Standart Olmayan Katsayılar		Standart Katsayılar	t	Önemlilik Derecesi (p<0,01 / p<0,05)
		B	Standart Hata	Beta		
Bitki Boy (cm)	Rakım	,000	,000	,158	,957	,344
	DNA	-45,450	85,826	-,088	-,530	,599
Bayrak Yap, Boy (cm)	Rakım	,000	,000	-,254	-1,657	,105
	DNA	-129,455	41,910	-,473	-3,089	,003
Bayrak Yap, En (mm)	Rakım	-3,372E-005	,000	-,053	-,346	,731
	DNA	-67,827	23,311	-,446	-2,910	,006
Bitki Ağırlığı (g)	Rakım	8,483E-005	,000	,201	1,211	,232
	DNA	2,031	16,728	,020	,121	,904
Başaklı Sap Sayısı (adet)	Rakım	,002	,001	,324	2,015	,050
	DNA	330,688	195,685	,271	1,690	,098
Başaksız Sap Sayısı (adet)	Rakım	,000	,000	,178	1,078	,287
	DNA	99,260	69,866	,234	1,421	,162
Başakçık Sayısı (adet)	Rakım	,004	,003	,220	1,338	,188
	DNA	-62,464	673,479	-,015	-,093	,927
Tohum Sayısı (adet)	Rakım	-,001	,006	-,041	-,244	,808
	DNA	988,479	1423,360	,116	,694	,491
Tohum Ağırlığı (g)	Rakım	3,576E-005	,000	,113	,731	,469
	DNA	-25,214	11,689	-,335	-2,157	,036
Bin Tane Ağırlığı (g)	Rakım	,000	,000	,213	1,476	,147
	DNA	-64,831	24,352	-,385	-2,662	,011
Çimlenme süresi (gün)	Rakım	,000	,000	-,222	-1,474	,148
	DNA	107,922	52,154	,311	2,069	,044
Başaklanma süresi (gün)	Rakım	,001	,002	,083	,540	,592
	DNA	1090,403	373,270	,449	2,921	,005
Çiçeklenme süresi (gün)	Rakım	,001	,002	,058	,377	,708
	DNA	1125,262	385,680	,447	2,918	,006
Bitki Görünüşü (1-5)	Rakım	9,196E-005	,000	,216	1,380	,174
	DNA	-23,998	15,914	-,235	-1,508	,139
Bitki Renk (1-3)	Rakım	-2,992E-005	,000	-,115	-,686	,496
	DNA	-9,659	10,422	-,155	-,927	,359
Bitki Tüy (1-3)	Rakım	-5,114E-005	,000	-,183	-1,135	,263
	DNA	-22,716	10,765	-,340	-2,110	,041

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın bitki boyu üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın bayrak yaprak boyu üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çoklu doğrusal regresyon analizinde rakımın bayrak yaprak ayası boyu



üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Çekirdek DNA içeriğinin ise bayrak yaprak ayası boyu üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu ve DNA miktarı arttıkça bayrak yaprak ayası boyunun azaldığı saptanmıştır.

Rakımın bayrak yaprak ayası eni üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriğinin ise bayrak yaprak ayası eni üzerindeki etkisi istatistiki olarak önemlidir. Çekirdek DNA içeriği arttıkça bayrak yaprak ayası eni azalmaktadır.

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın bitki ağırlığı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Rakımın başaklı sap sayısı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Rakım arttıkça başaklı sap sayısı da artmaktadır. Çekirdek DNA içeriğinin başaklı sap sayısı üzerine etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın başaksız sap sayısı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın başakçık sayısı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Aksesyonların sahip olduğu tohum sayısı üzerine rakım ve çekirdek DNA içeriğinin etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Yüksek tane verimi ve kalite özelliği büyük ölçüde hava koşullarından etkilenmektedir. Farklı coğrafik bölgelerden toplanan hatların aynı genom büyüklüğüne sahip bireylerinde dahi farklı morfolojik yapı göstermeleri tohumların, iklim, bağıl nem, yükseklik, enlem- boylam, bulunduğu ortamın flora ve fauna yapısına bağlı olarak ortama adaptasyonundan kaynaklanmaktadır

Rakımın bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriğinin tohum ağırlığı üzerine etkisi ise istatistiki olarak önemlidir. Çekirdek DNA içeriği arttıkça bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı azalmaktadır.

Çekirdek DNA içeriğinin bin tane ağırlığı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriği arttıkça bin tane ağırlığı azalmaktadır. Rakımın bin tane ağırlığı üzerine olan etkinin istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Rakımın tohumların çimlenme süresi üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriğinin çimlenme süresi üzerine etkisi ise istatistiki olarak önemlidir. Çekirdek DNA içeriği arttıkça çimlenme süreside artmaktadır.

Çekirdek DNA içeriğinin başaklanma süresi üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriği arttıkça başaklanma süresi de artmaktadır. Rakımın başaklanma süresi üzerine olan etkinin istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Çekirdek DNA içeriğinin çiçeklenme süresi üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriği arttıkça çiçeklenme süresi de artmaktadır. Rakımın çiçeklenme süresi üzerine olan etkinin istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Çekirdek DNA içeriği ve rakımın bitki görünüşü ile bitki rengi özellikleri üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çekirdek DNA içeriğinin bitkideki tüylülük derecesi üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çekirdek DNA içeriği arttıkça bitkideki tüylülük derecesi azalmaktadır. Rakımın bitkinin tüylülük özelliği üzerine olan etkisinin ise istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.



## 5. SONUÇ

Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümündeki koleksiyonda bulunan ülkemizin farklı coğrafik bölgelerinden toplanmış 59 *Brachypodium* aksesyonunun Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda 48 aksesyonun *B. distachyon*, 11 aksesyonun ise *B. hybridum* olduğu belirlenmiştir. *B. distachyon* aksesyonlarında genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Morfolojik incelemeler ile moleküler incelemelerden elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Aksesyon içi genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 17 morfolojik özellik incelenmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda aksesyonların bitki boylarının 24,7 cm (11-43 cm) olduğu belirlenmiştir. *B. distachyon* aksesyonlarının bayrak yaprak ayası boylarının 5,6 cm (2- 11,5 cm), bayrak yaprak ayası eninin ise 4,5 mm (2-7 mm) olduğu hesaplanmıştır. Aksesyonlar olgunlaştıktan sonra yapılan ölçümlerde (kök hariç) biyokütlenin 4,5 g (1,18- 8,94 g) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada aksesyonların sahip olduğu başaklı sap sayısının 34 (4-135) adet, başaksız sap sayısının 4 (0-65) adet, bitki başına başakçık sayısının 111 (10-403 ) adet , bitki başına tohum sayısının ortalama 372 (36- 853) tohum/ bitki olduğu görülmüştür. Bitkilerin sahip olduğu tohum ağırlığının 1,95 g (0,5- 2,569), bin tane ağırlığının ise 5,12 g (2,62 – 11,01 g) olduğu belirlenmiştir.

*B. distachyon* aksesyonlarına ait tohumlar ekildikten sonra yapılan gözlemler sonucunda tohumların 15 (14-40) günde çimlendikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bitkilerin başak çıkarma süresi 125 (88–178) gündür. Bitkilerin çiçeklenme süresinin 136 gün (100-187) olduğu belirlenmiştir.

Yapılan gözlemler sonucunda bitki görünüşünün ortalama 4 (2-5) değerinde olduğu görülmüştür. Bitki renginin ise 2 (1-3) değerinde olması aksesyonların genellikle yeşil renkte olduğunu ifade etmektedir. Bitkilerdeki tüylülük derecesi 2 (1- 3) olarak belirlenmiş olup bitkilerin genellikle tüylü olduğu tespit edilmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda *B. distachyon* aksesyonlarının bitki görünüşünün genellikle dik formda olduğu, ancak bazı aksesyonların yatık ve yarı dik formlara sahip oldukları belirlenmiştir

Morfolojik özelliklerin gözlem ve ölçümlerinden elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde bazı aksesyonların (Bd92, Bd100, Bis, Gaz, Kah) belirli özellikler bakımından (biyokütle, tohum sayısı, tohum ve bin tane ağırlığı, vejetasyon süresinin kısa olması...) diğer aksesyonlara göre ön plana çıktığı görülmektedir. Diğer taraftan bazı

aksesyonların (Bd41, Bd3, Bd4, Bd11) bu özellikler bakımından sahip oldukları değerlerin ortalamasının oldukça altında olması da dikkat çekmektedir.

Moleküler analizler iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak her aksesyondan 10 bitki alınarak Flow sitometri ile çekirdek DNA analizleri yapılmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucunda *B. distachyon* aksesyonlarına ait bitkilerin çekirdek DNA içeriklerinin 0,743 pg/2C (0,734–0,753 pg/ 2C), *B. hybridum* aksesyonlarına ait bitkilerin ise 1,431 pg/2C (1,417-1,451 pg/2C) olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde genom boyutlarında *B. distachyon*'da tür içi (0,734–0,753 pg/2C), *B. distachyon* (0,743 pg/2C) ve *B. hybridum* (1,431 pg/2C) arasında türler arası varyasyonlar tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda aksesyonların çekirdek DNA içeriklerinde görülen varyasyonlar ile toplandıkları coğrafi bölgeler arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

Aksesyonların belirlenen çekirdek DNA içerikleri dikkate alınarak dendogram hazırlanmıştır. Hazırlanan dendogram incelendiğinde aksesyonların 2 gruba ayrıldığı görülmüştür. Gruplar incelendiğinde aynı alt gruplarda yer alan aksesyonların birçok morfolojik özelliklerinin ortak olduğu belirlenmiştir. Morfolojik özelliklerin incelenmesinden sonra olumlu özellikleri ile dikkat çeken aksesyonların aynı grupta ve olumsuz özellikleri ile dikkat çeken aksesyonların da birbirleri ile aynı grupta yer aldıkları görülmüştür.

Moleküler analizlerin ikinci aşamasında 32 *B. distachyon* aksesyonuna ait 142 birey ile 11 SSR primeri kullanılmış ve 99 allel saptanmıştır. Primer başına allel sayısının 3-15 arasında değiştiği, belirlenen bölgelere göre ortalama allel sayısının 1. Bölge'da 13,67 allel/ bölge , 2. Bölge'da ise 11 allel/ bölge olduğu görülmüştür. En çok allelin ALB050 primerinde (15 allel) ve en az allelin ise ALB087 primerinde (3 allel) görüldüğü tespit edilmiştir. Çalışmada belirlenen allellerin tümü (95 allel) polimorfik özellikte olduğu için polimorfizm oranı %100, allelik zenginlik ( $N_A$ ) ise 6,302 (3,00–9,734 ) olarak hesaplanmıştır. Kullanılan SSR'larda yaklaşık allel uzunluğu 150 bç ile 385 bç arasında değişmiş olup allel büyüklüğü bakımından en uzun allel 385 bç ile ALB006 primerinden, en kısa ise 150 bç uzunluğu ile ALB030 primerinden elde edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 11 mikrosatellit bölgesindeki gen çeşitliliğinin 0,645 (0,413–0,870), gözlenen ( $H_0$ ) ve beklenen ( $H_e$ ) heterozigotluk düzeylerinin sırası ile 0,0116 ile 0,0366 ve 0,4111 ile 0,8645 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Heterozigotluk değerlerinin çok düşük olması, sadece 3 primerde (ALB030, ALB050, ALB001) heterozigot bireylerin görülmesi,

gözlenen ve beklenen heterozigotluk düzeyleri arasında fazla miktarda farklılık bulunması daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi *B. distachyon*'un kendi kendini döllemesinden ve doğal aksesyonlarda homozigot özelliğın yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada ayrıca 50 özgün allel belirlenmiştir. Ancak belirlenen standartlara göre 50 özgün allelin 16'sı bölgelerin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılabilir. Bu belirteç özgün allellerin 9'u 1. Bölge'ye, 7'si 2. Bölge'ye özgüdür.

Bölgeler için hesaplanan genetik farklılık ( $F_{ST}$ ) değeri (0,19324) istatistiki olarak önemli ( $P < 0,001$ ) olup, 0,15- 0,25 arasında yer aldığı için bölgeler arasında büyük bir genetik farklılaşma olduğunu göstermektedir.

Ortalama PIC değeri 0,60 olup, en düşük 0,35 ile ALB311 primerinde (1. Bölge grubu), en yüksek ise 0,84 ile ALB165 primerinde (1. Bölge grubu) elde edilmiştir. Genetik çeşitliliğın değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olan PIC değerinin 0,60 olması aksesyonlar arasında genetik çeşitlilik olduğunu göstermektedir.

Aksesyon içinde farklı genotipe sahip bireylerin belirlenmesinde ayırtılma gücü (PD) değeri kullanılmaktadır. Her bir primer için hesaplanan PD değerlerinin 0,41 (ALB311 primeri) ile 0,86 (ALB165 primeri ) arasında değiştiği görülmüştür.

Nei'nin standart genetik uzaklık metoduna göre genetik uzaklık 0,590 olarak hesaplanmıştır. Genetik uzaklık sonuçlarına göre hazırlanan dendogramda örneklerin genetik çeşitlilik bakımından 2 grup oluşturduğu görülmüştür. İncelenen örnekler genetik benzerliklerine göre dendogramda aynı grupta yer almaktadır. Buna göre BL14, BL13, BL15, BL17, BL19 ile ED1 ve AD1 bireyleri en uzak akrabadır. Bu bireylerin ait olduğu aksesyonlara bakıldığında Bd94 ile Bd3 ve Kah. Aksesyonlarının genetik açıdan birbirine uzak, Bd3 ile Kah aksesyonlarının birbirine yakın akraba olduğu görülmektedir. Akrabalık açısından uzak olan diğer örnekler ise NV3 (Bd85) ile Bd68 (CN3) ve Bd81 (CN14, CN16) şeklinde sıralanabilir.

Gruplar incelendiğinde aynı aksesyona ait yani aynı coğrafi bölgeden toplanan örneklerin farklı gruplarda yer aldığı, farklı bölgelerden toplanan örneklerin aynı grupta yer alabildiği görülmektedir. Bu durum aksesyonlar arasında ve aksesyon içinde genetik çeşitlilik olduğunu, görülen genetik çeşitlilik ile örneklerin toplandığı coğrafi bölge arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir.

Çalışmada bireyler arasındaki akrabalığı araştırmak ve çok boyutlu ortamda bireylerin birbirine yakınlığını görebilmek için hazırlanan Faktöriyel Benzerlik Analizi Grafiği incelendiğinde, aksasyonların iki ana gruba ayrıldığı, ancak gruplar arasında tam olarak kesin bir sınırın bulunmadığı, arada her iki gruba ait bireylerden oluşan bir ara grup ve diğer örneklerden uzaklaşmış iki bireyden oluşan küçük bir grup bulunduğu görülmüştür. Bu durum örneklerin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını desteklemektedir.

Genetik yapıyı incelemek ve farklı genetik yapıdaki bireyleri tespit etmek amacıyla yapılan model-based Bayesian analizinde de genotipler 2 gruba ayrılmış, ancak diğer gruba katılım yapan ve her iki grubun özelliğini taşıyan genotipler belirlenmiştir. Buna göre aynı coğrafi bölgeden toplanan örnekler genetik benzerlik bakımından farklı gruplarda yer alabileceği, örneklerin toplandığı coğrafi bölge ile genetik çeşitlilik arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda coğrafi bölge içerisinde de genetik çeşitliliğin önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun gen havuzları arasında gerçekleşen gen alışverişinden (insan, hava şartları veya diğer faktörler sayesinde tohumların taşınması, döllenme....) kaynaklandığı ifade edilebilir.

Rakım ile çekirdek DNA içeriği ve çimlenme süresi arasında negatif korelasyon, bin tane ağırlığı ve bitki görünümü arasında ise pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Çekirdek DNA içeriğinin bayrak yaprak ayası boyu, bayrak yaprağı ayası eni, bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü özellikleri ile negatif, çimlenme süresi, başaklanma süresi ve çiçeklenme süresi ile pozitif korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Bitki boyu arttıkça bayrak yaprak ayası boyu, bayrak yaprak ayası eni, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, çiçeklenme süresi ve bitki rengi değerleri azalmakta, çimlenme süresi, başaklanma süresi ve bitki görünüşü değerleri ise artmaktadır.

Bayrak yaprak ayası boyu ile bayrak yaprak ayası eni, bitki ağırlığı, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü özellikleri arasında pozitif, başaklı sap sayısı, başaksız sap sayısı, tohum sayısı, çimlenme süresi, başaklanma süresi ve çiçeklenme süresi özellikleri arasında ise negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Bayrak yaprak ayası enindeki artışlar bitki ağırlığı, tohum sayısı, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşünü olumlu yönde etkilerken, başaklı sap sayısı, başaksız sap sayısı, çimlenme süresi, başaklanma süresi ve çiçeklenme süresini olumsuz yönde etkilemektedir.

Bitki ağırlığı ile başakçık sayısı, tohum sayısı, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü özellikleri arasında pozitif korelasyon görülürken; çimlenme süresi, başaklanma süresi, çiçeklenme süresi ve bitki rengi özellikleri ile negatif korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Başaklı ve başaksız sap sayısının artması, başaklı/ başaksız sap sayısının, başaklanma ve çiçeklenme süresinin artmasına neden olurken, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü özelliklerine ait değerlerde azalmaya neden olmaktadır.

Başakçık sayısı ile tohum sayısı ve tohum ağırlığı özellikleri arasında pozitif korelasyon bulunurken, çimlenme süresi ile negatif korelasyon görülmektedir.

Tohum sayısı, tohum ağırlığı ve bitkideki tüylülük derecesi özellikleri ile pozitif korelasyona sahip iken başaklanma süresi ve çiçeklenme süresi özellikleri ile negatif korelasyona sahiptir.

Bitkinin sahip olduğu tohum ağırlığı arttıkça bin tane ağırlığı ve bitki görünüşü değerlerinin arttığı, çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin ise kısaldığı görülmektedir.

Bin tane ağırlığının sadece bitki görünüşü ile pozitif korelasyona, çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme süreleri ile negatif korelasyona sahip olduğu görülmektedir.

Çimlenme süresi uzun olan aksesyonlara ait bitkilerin tüy miktarlarının az, başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin uzun olduğu belirlenmiştir. Ayrıca başaklanma süresi ile çiçeklenme süresi arasında pozitif, bitki görünüşü ile ise negatif korelasyon görülmektedir. Çiçeklenme süresi ile bitki görünüşü arasındaki negatif korelasyon çiçeklenme süresi uzun olan aksesyonların tam istenilen özellikte gelişemediğini göstermektedir. Bitki görünüşü ile bitki rengi arasındaki negatif korelasyon açık yeşil renkli aksesyonların koyu yeşil renge sahip aksesyonlara göre daha güzel geliştiklerini bildirmektedir.

Çekirdek DNA içeriğinin bayrak yaprak ayası boyu, bayrak yaprak ayası eni, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, çimlenme, bitkideki tüylülük derecesi, başaklanma ve çiçeklenme



süreleri üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. DNA miktarı arttıkça bayrak yaprak ayası eni ve boyu, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, bitkideki tüylülük derecesi azalırken; çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin arttığı görülmüştür.

Rakımın başaklı sap sayısı üzerine etkisi çoklu doğrusal regrasyon analizi ile incelendiğinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Rakım arttıkça başaklı sap sayısı da artmaktadır.

Ayrıca rakımın çekirdek DNA içeriği üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu ve rakım arttıkça çekirdek DNA içeriğinin azaldığı görülmüştür.

Çalışmada, ülkemizin farklı coğrafik bölgelerinden toplanmış *B. distachyon* aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. Ayrıca bu aksesyonlara ait genotiplerde SSR markörleri kullanılarak genetik çeşitlilik değerlendirilmiş olup, lokasyon ile rakımın morfolojik ve genetik çeşitlilik ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ülkemizin farklı coğrafik bölgelerinden toplanarak oluşturulmuş olan *Brachypodium distachyon* genetik kaynak koleksiyonunun büyük bir morfolojik ve genetik varyasyona sahip olduğu saptanmıştır. Ancak yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre bu varyasyon ile bitkilerin toplandığı coğrafik bölge arasında anlamlı bir bağlantının olmadığı görülmüştür. Bu durum kendine döllen bir tür olan *B. distachyon* tohumlarının Türkiye içerisine oldukça iyi bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Bununla birlikte yapılan analizlerde rakım ile çekirdek DNA içeriği arasında negatif bir korelasyonun olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *B. distachyon* genetik kaynak koleksiyonunun sahip olduğu varyasyonu temsil edecek 100 hat seçilerek ileride yapılacak olan çalışmalarda kullanmak amacıyla bir core koleksiyon oluşturulacaktır. Core koleksiyon ülkemizde kültürü yapılan en önemli bitki gurubunu oluşturan tahıllar ile buğdaygil yem bitkilerinin önemli bazı karakterlerinin (hastalık ve zararlılara dayanıklılık, verim ve kalite gibi) incelenmesi, bu karakterleri kontrol eden gen bölgelerinin haritalanması, moleküler markörlerin geliştirilmesi ve genlerin klonlanması gibi çalışmalarda son derece yararlı olacaktır. Oluşturulan *B. distachyon* kolleksiyonunun buğdayın orijinlendiği coğrafi bölgeden olması koleksiyonun önemini daha da arttırmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Babla P, Draper J, Davey MR, Lynch PT (1995) . Plant regeneration and micropropagation of *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 42: 97–107
- Barbieri M, Marcel TCM, Nicks RE (2011a). Host status of false brome grass (*Brachypodium*) to the leaf rust fungus *Puccinia brachypodii* and the stripe rust fungus *P. striiformis*. *Plant Disease*: In Press.
- Barbieri M, Marcel TC, Nicks RE, Francia E, Pasquariello M, Mazzamurro V, Garvin DF, Pecchioni N (2011b). QTLs for resistance to the leaf rust *Puccinia brachypodii* in the model grass *Brachypodium distachyon*. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Goudet J, Bonhomme F (2001). GENETIX 4.00 Windows™ software for sample genetics. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France (Université Montpellier II//www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm//December 2004).
- Benjamin D, Pierre D, Aurélie G, Marie-Laure F, Patrick J (2011). Describing and modelling root and shoot growth and development in *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Bennett MD(1987). Variation in genomic form in plants and its ecological implications. *New Phytologist* ;106:177-200. doi:10.1111/j.1469-8137.1987.tb04689.x. Web of Science.
- Bennett ST, Bennett MD (1992). Variation in nuclear DNA amount between wild and cultivated populations of *Millium effusum* (2n = 28). *Genome*;35:1050-1053. Search Google Scholar
- Bennett MD, Leitch IJ (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann. Bot.*, ( London)76: 113-176
- Bennett MD, Bhandol P, Leitch IJ (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses: 807 new estimates. *Ann Bot* 86: 859–909
- Bennett MD, Johnston JS, Hodnett GL, Price HJ (2000). *Allium cepa* L. cultivars from four continents compared by flow cytometry show nuclear DNA constancy. *Annals of Botany*, 85:351-357. doi:10.1006/anbo.1999.1071.
- Bennett MD, Leitch IJ (2005). Plant Genome Size Research: A Field in Focus. *Annals of Botany*, 95, 1-6.
- Bennetzen JL, San Miguel P, Chen M, Tikhonow A, Francki M, Avramova Z (1998). Grass Genomes, *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 1975-1978,
- Bennetzen JL (2000). Transposable element contributions to plant gene and genome evolution.

Plant Molecular Biology, 42:251-269. doi:10.1023/A:1006344508454.  
CrossRefMedlineWeb of Science

- Bennetzen JL (2007). Patterns in grass genome evolution. *Current Opinion in Plant Biology*, 10:176-181. doi:10.1016/j.pbi.2007.01.010. CrossRefMedlineWeb of Science
- Bevan MW, Garvin DF, Vogel JP (2010). *Brachypodium distachyon* genomics for sustainable food and fuel production. *Curr Opin Biotechnol*. Apr;21(2):211-7.
- Beyene Y, Botha AM, Myburg AA (2005). A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize, *African Journal of Biotechnology*4(7), 586-595,
- Bluemke A, Voigt CA (2011). *Brachypodium distachyon*: an excellent model for *Fusarium graminearum* infection in wheat. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Bolot S, Abrouk M, Masooid-Quraishi U, Stein N, Messing J, Feuillet C, Salse J (2009). The 'Inner Circle of the Cereal Genomes. *Currebt Opinion in Plnt Biology*, 12, 119-125.
- Bowcock A M, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL (1994). High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368: 455-457.
- Breiman A, Distelfeld A, Ezrati S, Eilam T, Sela H, Avni R (2011). Characterization of the diploid and tetraploid *Brachypodium distachyon* populations in Israel. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Brkljacic J, Grotewold E, Scholl R, Mockler T, Garvin DF, Vain P, Brutnell T, Sibout R, BevanM, Budak H, Caicedo AL, Gao C, Gu Y, Hazen SP, Holt III BF, Hong SY, Jordan M, Manzaneda AJ, Mitchell-Olds T, Mochida K, Mur LAJ, Park CM, Sedbrook J, Watt M, Zheng SJ, Vogel JP (2011). *Brachypodium* as a Model for the Grasses: Today and the Future. *American Society of Plant Biologists*. 157(1),3-13.
- Bu H, Chen X, Xu X, Lui K, Jia P, Du G (2007). Seed Mass and Germination in An Alpine Meadow on The Eastern Tsinghai-Tibet Plateau. *Plant Ecology*, 191, 127-149.
- Byrne K, Chikhi L, Townsend SJ, Cruicksnhank RH, Alderson GLH, Bruford MW (2001). Extreme genetic diversity within and among European sheep types and its impecations for breed conservation. *Molecular Ecology*.
- Caceres ME, De Pace C, Scarscia Mugnozza GT, Kotsonis P, Ceccarelli M, Cionini PG (1998). Genome size variations within *Dasypyrum villosum*: correlations with chromosomal traits, environmental factors and plant phenotypic characteristics and behaviour in reproduction. *Theoretical and Applied Genetics*; 96:559-567. doi:10.1007/s001220050774. Cross Ref Web of Science
- Catala´n P, Shi Y, Armstrong L, Draper J, Stace CA (1995). Molecular phyl- ogeny of the grass genus *Brachypodium* P. Beauv. based on RFLP and RAPD analysis. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 263–280.

- Catalán P, Kellogg EA, Olmstead RG (1997). Phylogeny of Poaceae subfamily Pooideae based on chloroplast ndhF gene sequencing. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8: 1–18.
- Catalán P, Müller J, Hasterok R, Jenkins G, Mur LAJ, Langdon T, Betekhtin A, Siwinska D, Pimentel M, López-Alvarez D (2011). Evolution and taxonomic split of the model grass *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. *Annals of Botany*, 109( 2), 385-405.
- Ceccarelli M, Falisfocco E, Cionini PG (1992). Variation in genome size and organisation within hexaploid *Festuca arundinacea*. *Theoretical and Applied Genetics* ;83:273-278.
- Chakraborty R, Deka R, Jin L, Ferrell RE (1992). Allele sharing at six VNTR loci and genetic distances among three ethnically defined human populations. *American Journal of Human Biology*, 4:387-397.
- Charles M, Belcram H, Just J, Huneau C, Viollet A, Couloux A, Segurens B, Carter M, Huteau V, Coriton O, Appels R, Samain S, Chalhou B (2008). Dynamics and differential proliferation of transposable elements during the evolution of the B and A genomes of wheat. *Genetics*, 180:1071-1086. doi:10.1534/genetics.108.092304.
- Christensen U, Alonso-Simon A, Scheller HV, Willats WG, Harholt J ( 2010). Characterization of the primary cell walls of seedlings of *Brachypodium distachyon*--a potential model plant for temperate grasses. *Phytochemistry*. Jan;71(1):62-9
- Christiansen P, Andersen CH, Didion T, Folling, M, Nielsen KK (2005). A rapid and efficient transformation protocol for the grass *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell Reports*, Volume 23, Issue 10-11, pp 751-758
- Creber HMC, Davies MS, Francis D, Walker HD (1994). Variation in DNA C value in natural populations of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist* ;128:555-561. doi:10.1111/j.1469-8137.1994.tb03001.
- Cömertpay G (2008). Yerel Mısır Populasyonlarının Morfolojik ve DNA Moleküler İşaretleyicilerinden SSR Tekniği ile Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Davis PH (1985). *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Volume:9, Edinburgh.
- Devos KM, Beales J, Nagamura Y, Sasaki T (1999). Arabidopsis-Rice: Will Colinearity Allow Gene Prediction Across the Eudicot-Monocot Divide? *Genome Res.* 9: 825-829,
- Demircan T, Akkaya MS (2010). Virus induced gene silencing in *Brachypodium distachyon*, a model organism for cereals. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, Volume 100, Issue 1, pp 91-96
- Distefano G, Carusob M, La Malfaa S, Ferrante T, Del Signorec B, Gentilea A, Sottile F (2013). Genetic diversity and relationships among Italian and foreign almond germplasm as revealed by microsatellite markers. *Scientia Horticulturae*, 162; 305-312.

- Dolezel J, Bartos J (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*,95:99-110. doi:10.1093/aob/mci005.
- Draper J, Mur LAJ, Jenkins G, Ghosh-Biswas GC, Bablak P, Hasterok R, Routledge APM (2001). *Brachypodium distachyon*. A New Model System for Functional Genomics in Grasses1. *Plant Physiology*, December, Vol. 127, pp. 1539–1555.
- Dufresne M, Pasquet JC, Macadré C, Deguercy X, Saindrenan P (2011). Use of the pathosystem *Brachypodium distachyon* / *Fusarium graminearum* to investigate the detoxification mechanisms of mycotoxins by plants. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Eilam T, Anikster Y, Millet E, Manisterski J, Sagi-Assif O, Feldman M (2007). Nuclear DNA amount in diploid Triticeae species. *Genome* ;50:1029-1037. doi:10.1139/G07-083. Medline
- Febrer M, Goicoechea JL, Wright J, McKenzie N, Song X, Lin J, Collura K, Wissotski M, Yu Y, Ammiraju JSS, Wolny E, Idziak D, Betekhtin A, Kudrna D, Hasterok R, Wing RA, Bevan MW (2010). An Integrated Physical, Genetic and Cytogenetic Map of *Brachypodium distachyon*, A Model System for Grass Research. *PLoS ONE* 5( 10): e 13461. Doi:10. 1371/journal.pone.0013461.
- Feuillet C, Keller B (2002). Comparative genomics in the grass family: Molecular characterization of grass genome structure and evolution. *Annl Bot*, 89:3-10.
- Filiz E, Ozdemir BS, Budak F, Vogel JP, Tuna M, Budak H (2009a). Molecular, morphological, and cytological analysis of diverse *Brachypodium distachyon* saf lines . Published by NRC Research Press, *Genome* 52: 876–890 .
- Filiz E, Ozdemir BS, Tuna M, Budak H (2009b). Diploid *Brachypodium distachyon* of Turkey: molecular and morphologic analysis. In *The Proceedings of the 5th International Symposium on the Molecular Breeding of Forage and Turf*, Edited by T. Yamada and G. Spangenberg, Springer, 83–89.
- Filiz E (2012). Türkiye’de Dağılım Gösteren *Brachypodium distachyon* Genotiplerinde Genetik Çeşitliliğin Kloroplast ve Mitokondri Markörleriyle Değerlendirilmesi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi* 17 (1): 1-12, ISSN 1300-9362
- Gale MD, Devos KM (1998).Plant comparative genetics after 10 years. *Science*, 282:656-659.
- Garvin DF, Stockinger EJ (2005). Development of a U.S. *Brachypodium distachyon* Collection and The Evaluation of Microsynteny with Cool- Season Grass Crops. *Plant and Animal Genome XIII Conference*, San Diego.
- Garvin DF, Gu YQ, Hasterok R (2008). Development of genetic and genomic research resources for *Brachypodium distachyon*, a new model system for grass crop research. *Crop Science – The Plant Genome* 48: S69 – S84.
- Garvin DF, McKenzie N, Vogel JP, Mockler TC, Blankenheim ZJ, Wright J, Cheema JJS, Hou N, Hayden DM, Gu Y, Tobias C, Chang CH, Chu A, Trick M, Michael TP, Bevan MW,

- Snape JW (2010). An SSR- Based Genetic Linkage Map of the Model Grass *Brachypodium distachyon*. *Genome*, 53, 1-13.
- Garvin DF (2011). *Brachypodium* as a model for unraveling stem rust resistance. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Gaut BS (2002). Evolutionary dynamics of grass genomes. *New Phytol*, 154:15-28.
- GiraldoP, Rodríguez-QuijanoM, VázquezJF, Carrillo JM, Benavente E (2012). Validation of microsatellite markörs for cytotypediscrimination in the model grass *Brachypodiumdistachyon*. *Genome* Downloaded from [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com) by memorial univ of newfoundland on For personal use only.
- Gomez LD, Bristow JK, Statham ER, McQueen-Mason SJ (2008). Analysis of saccharification in *Brachypodium distachyon* stems under mild conditions of hydrolysis. *Biotechnology for Biofuels*, 1:15.
- GPWG (2001). Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 373–457.
- Greilhuber J (1998). Intraspecific variation in genome size in angiosperms: a critical reassessment. *Annals of Botany*, 82:27-35. doi:10.1006/anbo.1998.0725.
- Greilhuber J (2005). Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany*, 95:91-98. doi:10.1093/aob/mci004.
- Gregory TR (2005). The C-value enigma in plants and animals: a review of parallels and an appeal for partnership. *Annals of Botany*, 95:133-146. doi:10.1093/aob/mci009.
- Grime P (1983). Prediction of weed and crop response to climate based on measurement of DNA content. *Aspects of Applied Biology*; 4:87-98.
- Guillon F, Bouchet B, JammeFP, Qué'mener B, Barron C, Larre C, Dumas P, Saulnier L (2010). *Brachypodium distachyon* grain: characterization of endosperm cell walls. *Journal of Experimental Botany*, Page 1 of 15 doi:10.1093/jxb/erq332
- Guillon F, Larré C, Petipas F, Berger A, Moussawi J, Rogniaux H, Santoni A, Saulnier L, Jamme F, Miquel M, Lepiniec L, Dubreucq B (2012). A comprehensive overview of grain development in *Brachypodium distachyon* variety Bd21. *J Exp Bot*. January; 63(2): 739–755.
- Guo H, Mazer SJ, Du G (2010). Geographic Variation in Primary Sex Allocation Per flower Within and Among 12 species of *Pedicularis*: Prportional Male Investment Increases With Elevation. *American Journal of Boyany*, 97 (8), 1334-1341.
- Handakumbura P, Trabucco GM, Veling VM, Matos DA, Osmont KS, Lee SJ, Hazen SP (2011). Functional characterization of candidate cell wall genes in *B. Distachyon*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.

- Hands P, Opanowicz M, Betts D, Parker ML, Toole GA, Mills ENC, Doonan JH, Drea S (2011). Endosperm development in *Brachypodium*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Harrington M, Noria N, Sibout R, Mouille G, Lapierre C, Gierlinger N, Höfte H (2011). Characterization of secondary wall deposition in *Brachypodium* stems towards the goal of fiber cell engineering for biomass feedstocks. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Hasterok R, Draper J, Jenkins G (2004). Laying the cytotaxonomic foundations of a new model grass, *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. *Chromosome Research* 12: 397–403.
- Hasterok R, Marasek A, Donnison IS (2006). Alignment of the genomes of *Brachypodium distachyon* and temperate cereals and grasses using bacterial artificial chromosome landing with fluorescence in situ hybridization. *Genetics* 173: 349–362.
- Hernando-Amado S, González-Calle V, Carbonero P, Barrero-Sicilia C (2012). The family of DOF transcription factors in *Brachypodium distachyon*: phylogenetic comparison with rice and barley DOFs and expression profiling. *BMC Plant Biol.* Nov 5;12:202. doi: 10.1186/1471-2229-12-202.
- Hilde M, Steven VH, Isabel RR (2011). Phenotyping of yield components and saccharification efficiency in Bd21, Bd21-3 and 4 wild accessions of diploid *Brachypodium distachyon*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Hui D, Wang J, Le X, Shen W, Ren H (2012). Influences of Biotic and Abiotic Factors on The Relationship Between Tree Productivity and Biomass in China. *Forest Ecology and Management*, 264, 72-80.
- Huo N, Lazo GR, Vogel JP, You FM, Ma Y, Hayden DM, Coleman-Derr D, Hill TA, Dvorak J, Anderson OD, Luo MC, Gu YQ (2008). The nuclear genome of *Brachypodium distachyon*: analysis of BAC end sequences. *Funct Integr Genomics*, 8:135-147.
- Huo N, Garvin DF, You MF, McMahon S, Luo MC, Gu YQ, Lazo GR, Vogel JP (2011). Comparison of a high-density genetic linkage map to genome features in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theoretical and Applied Genetics*, Volume 123, Issue 3, pp 455-464
- Idziak D, Betekhtin A, Wolny E (2011). Painting the chromosomes of *Brachypodium* current status and future prospects. *Chromosoma*, 120: 469–479.
- Jamet E, Douche T, Roujol D, San Clemente H, Valot B, Zivy M, Pont-Lezica R (2011). Cell wall proteomics of *Brachypodium distachyon*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Jaroszewich AM, Kosina R, Stankiewicz PR (2012). RAPD, Karyology and Selected Morphological Variation in A Model Grass, *Brachypodium distachyon*. *Weed Research*, 52, 204- 216.

- Jenkins G, Mur LAJ, Bablak P, Hasterok R, Draper J (2005). Prospects for Functional Genomics in a New Model Grass. P. 305-325. In D. Leister(ed.) Plant Functional Genomics. Haworth Press, Binghamton,
- Jones N, Ougham H, Thomas H (1997). Markörs and mapping: we are all geneticists now. *New Phytologist* 137: 165-177.
- Kalendar R, Tanskanen J, Irnmonen S, Nevo E, Schulman AH (2000). Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by BARE-1 retrotransposon dynamics in response to sharp microclimate divergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*;97:6603-6607. doi:10.1073/pnas.110587497.
- Kankanpaa J, Mannonen L, Schulman AH (1996). The genome sizes of *Hordeum* species show considerable variation. *Genome* 1996;39:730-735. doi:10.1139/g96-092.
- Keller B, Feuillet C (2000). Colinearity and gene density in grass genomes. *Trends Plant Sci* 5: 246–251
- Kellogg EA (2001). Evolutionary History of the Grasses. *Plant Physiology*, 125, 1198-1205.
- Kisha TJ, Bradley VL, Taylor LD, Hu J (2009). Genetic Diversity of the USDA Brachypodium distachyon Collection Assesed by AFLP and TRAP Markörs. Plant and Animal Genomes XVII Conference, w308, San Diego, CA.
- Kumar S, MohanA, Balyan HS, Gupta PK (2009). Orthology between genomes of *Brachypodium*, wheat and rice. *BMC Research Notes*, 2:93 doi:10.1186/1756-0500-2-93
- Kumlehn J, Melzer B, Guse T, Kastner C, Plasun K, Berger C, Kapusi E, Hensel G, Marthe C, Hoffmeister P (2011). Novel tools for Brachypodium research: Genetic transformation using shoot segments and immature pollen-derived generation of instantly homozygous lines. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Laborda PR, Oliveira KM, Garcia AAF, Paterniani, MEAGZ, Souza AP ( 2005). Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theoretical and Applied Genetics*, v.111, p.1288-1299.
- Legay S, Oudihat M, Darracq O, Antelme S, Whitehead C, Gomez L, Mouille G, Lapierre C, Jouanin L, Sibout R (2011). Impact of cell wall variability on saccharification yield in natural *Brachypodium distachyon* accessions. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Li C, Rudi H, Stockinger EJ, Cheng H, Cao M, Fox SE, Mockler TC, Westereng B, Fjellheim S, Rognli OA, Sandve SR (2012). Comparative analyses reveal potential uses of *Brachypodium distachyon* as a model for cold stress responses in temperate grasses. *BMC Plant Biology*, 12: 65 DOI: 10.1186/1471-2229-12-65
- Luo N, Liu J, Yu X, Jiang Y (2011). Natural Variation of Drought Response in *Brachypodium distachyon*. *Physiologia Plantarum*, 141, 19-29.



- Marriott PE, Gomez LD, Whitehead C, McQueen-Mason SJ (2011). Investigating biomass digestibility in *Brachypodium distachyon*. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Marcel TC, Niks RE, Wang JC, Antelme S, Morel JB, Dufresne M, Langin T, Fernandez D, Bellafiore S, Chen J, Brugidou C, Sibout R (2011). *Brachypodium distachyon*, a model grass to study plant-pathogen interactions. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Meineke T, Manisseri C, Voigt CA (2011). *Brachypodium distachyon* as a model plant for lignocellulosic ethanol production. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- MoX, Gao J, Gao L (2013). Characterization of Microsatellite Markers and Their Application to Genetic Diversity Analysis of *Brachypodium sylvaticum* var. *breviglume* from Yunnan, China. *American Journal of Plant Sciences*, Vol. 4 No. 7, pp. 1427-1434. doi: 10.4236/ajps.2013.47174.
- Mochida K, Uehara Y., Takahashi F, Yoshida T, Sakurai T, Shinozaki K (2011). Functional annotation of a full-length *Brachypodium* cDNA resource. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Moles ET, Westoby M (2003). Latitude, Seed Predation and Seed Mass. *Journal of Biogeography*, 30, 105-128.
- Moser LE, Hoveland CS (1996). Cool-Season Grass Overview. American Society of Agronomy, 841 p, Madison.
- Mur LA, Allainguillaume J, Catalan P, Hasterok, R., Jenkins, G., Lesniewska, K., Thomas, I., Vogel, J (2011a). Exploiting the *Brachypodium* Tool Box in cereal and grass research. *New Phytologist* ;191:334-347.
- Mur LAJ, Allaingullianme J, Gough J, Uman R, ThomasI, Allwood JW, SmithJV, Shelley G, Routledge APM, BreimanA, Benavente E, Calatan P (2011b). Exploiting *Brachypodium distachyon* biodiversity to establish sources of resistance to abiotic and biotic stress. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Murray BG (2005). When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany*, 95(1):119-125.
- Naghlaki T (1998). Fixation Indices In Subdivided Populations. *Genetics* Vol :148 1325/1332
- Ne, M (1972). Genetic distance between populations, *American Naturalist*, 106,283-292.
- Nei M (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Neji M, Geuna F, Taamalli W, Chiozzotto R, Ibrahim Y, Saaoudi W, Badri M, Abdelly C, Gandour M (2011). Morpho-phenologic diversity among Tunisian populations of *Brachypodium Distachyon*. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th

- O' Driscoll A, Doohan F, Mullins E (2011). The *Mycosphaerella graminicola-Brachypodium distachyon* interaction: a new model pathosystem to study Septoria tritici blotch disease of wheat. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Ohri D (1998). Genome size variation and plant systematics. *Ann. Bot.*, 82 ( Suppl.A.):750-812.
- Olsen P, Lenk L, Jensen CS, Petersen K, Andersen CH, Didion T, Nielsen KK (2006). Analysis of two heterologous flowering genes in *Brachypodium distachyon* demonstrates its potential as a grass model plant. *Plant Science*, Volume 170, Issue 5, May, Pages 1020–1025
- Opanowicz M, Vain P, Draper J, Parker D, Doonan JH (2008). *Brachypodium distachyon*: making hay with a wild grass. *Trends in Plant Science* Vol.xxx No.x, TRPLSC-567; No of Pages 6.
- Opanowicz M, Hands P, Betts D, Parker ML, Toole GA (2011). Endosperm development in *Brachypodium distachyon*. *J Exp Bot* 62: 735-748.
- Osmont KS, Hazen S, Baskin TI (2011). Cellulose biosynthesis and growth anisotropy in *Brachypodium distachyon*. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Ozdemir BS, Hernande P, Filiz E, Budak H (2008). *Brachypodium* Genomics. *Int J Plant Genomics*. 536104.
- Öney S (2013). Türkiye’de yayılış gösteren *Brachypodium distachyon* ( L.)P. Beauv. ( Poaceae) popülasyonlarının moleküler ve morfolojik karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta.
- Özkan E (2005). Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi. *Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*.
- Özkan H, Tuna M, Arumuganathan K (2003). Non-Additive Changes in genome size during allopolyploidization in the wheat ( *Aegilops- Triticum*) group. *Journal of Heredity*, 94 (3):260-264.
- Özkan H, Tuna M, Kilian B, Mori N, Ohta S (2010). Genome size variation in diploid and tetraploid wild wheats, *Oxford Journals, Life Sciences, AoB PLANTS*, 10.1093/aobpla/plq015
- Pacheco-Villalobos D, Sankar M, Hardtke CS (2011). Deciphering the function and evolution of *BRX*-like genes in *Brachypodium distachyon*. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Pacurar DI, Thordal-Christensen H, Nielsen KK, Lenk I (2007). A high-throughput *Agrobacterium*-mediated transformation system for the grass model species *Brachypodium distachyon* L. *Transgenic Research*, 17(5):965-975. PubMed Abstract | Publisher Full Text

- Paterson AH, Bowers JE, Chapman BA (2004). Ancient polyploidization predating divergence of cereals, and its consequences for comparative genomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101:9903-9908.
- Perez De La Vega M (1993). Biochemical Characterization of Populations. *Plant Breeding: Principles and prospects*. Edited by M.D. Hayward, N.O. Bøsemark and I. Romagosa. Published in 1993 by Chapman & Hall, London, ISBN 0 412 43390 7.
- Peraldi A, Steed A, Burt C, Nicholson P (2011a). Using *Brachypodium distachyon* for model to crop translation of disease resistance in cereals. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Peraldi A, Beccari G, Steed A, Nicholson P (2011b). *Brachypodium distachyon*: a new pathosystem to study Fusarium head blight and other Fusarium diseases of wheat. *BMC Plant Biology*: In Press.
- Poiré R, Chochois V, Callarec S, Sirault X, Vogel J, Watt M, Furbank R (2011). Phenotyping the shoot and root diversity of *Brachypodium distachyon* to accelerate plant biofuel breeding. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis, *Molecular Breeding*, 2, 225-238.
- Price HJ, Bachman K (1975). DNA content and evolution in the Microseridinae. *Am. J. Bot.*, 62: 262-267.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Pluess AR, Schutz W, Stöcklin J (2005). Seed Weight Increases with Altitude in the Swiss Alps Between Related Species But Not Among Populations of Individual Species. *Oecologia*, 144, 55-61.
- Rayburn AL, Auger JA, Benzinger EA, Hepburn AG (1989). Detection of intraspecific DNA variation in *Zea mays* L. by flow cytometry. *Journal of Experimental Botany*; 40:1179-1185. doi:10.1093/jxb/40.11.1179.
- Redei GP (1970). *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh: a review of the genetics and biology. *Biblio Genet* 20: 1–153
- Rees H, Walter MR (1965). Nuclear DNA and the evolution of wheat. *Heredity*, 20: 73-82.
- Reeves G, Francis D, Davies MS, Rogers HJ, Hodkinson TR (1998). Genome size is negatively correlated with altitude in natural populations of *Dactylis polygama*. *Annals of Botany* 1998;82:99-105. doi:10.1006/anbo.1998.0751.
- Robertson IH (1981). Chromosome numbers in *Brachypodium* Beauv. (Gramineae). *Genetica* 56: 55–60.

- Sablok G, Gupta PK, Baek JM, Vazquez F, Min XJ (2011). Genome-wide survey of alternative splicing in the grass *Brachypodium distachyon*: a emerging model biosystem for plant functional genomics. *Biotechnol Lett.* Mar;33(3):629-36. doi: 10.1007/s10529-010-0475-6. Epub 2010 Nov 25.
- Schippmann U (1991). Revision der europa' ischen Arten der Gattung *Brachypodium* Palisot de Beauvois (Poaceae). *Boissiera* 45: 1–250. Schippmann U, Jarvis CE. 1988. Typification of three Linnean names associated with the genus *Brachypodium* (Poaceae). *Taxon* 37: 158–164.
- Schmuths H, Meister A, Horres R, Bachmann K (2004). Genome size variation among accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*; 93:317-321. doi:10.1093/aob/mch037.
- Schweiger W, Boddu J, Shin S, Poppenberger B, Berthiller F, Lemmens M, Muehlbauer GJ, Adam G (2010). Validation of a candidate deoxynivalenol-inactivating UDP-glucosyltransferase from barley by heterologous expression in yeast. *Mol. Plant Microbe Interact.* 23: 962-76.
- Schweiger W, Adam G, Kovalski MP, Acosta JAT, Lemmens M, Budak H, Berthiller F, Nussbaumer T, Mayer K (2011). Functional characterization of *Brachypodium* UDP-glucosyltransferases. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Shi Y (1991). *Molecular Studies of the evolutionary Relationships of Brachypodium ( Poaceae)*, University of Leicester, 186, Leicester.
- Shi Y, Draper J, Stace C (1993). Ribosomal DNA Variation and Its Phylogenetic Implication in the Genus *Brachypodium ( Poaceae)*. *Plant Systematics and Evolution*, 188, 125.
- Southern DI (1967). Species relationships in the genus *Tulipa*. *Chromosoma*, 23:80-94.
- Swift HH (1950). The desoxyribose nucleic acid content of animal nuclei. *Physiological Zoology*, 23:169-198. Medline.
- Talavera S (1978). Aportacio´n al estudio cariolo´gico de las gram´ineas espa˜nolas. *Lagascalia* 7: 132–143. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596–1599.
- Teoh SB, Rees H (1976). Nuclear DNA amounts in populations of *Picea* and *Pinus* species. *Heredity*; 36:123-137. doi:10.1038/hdy.1976.12.
- The International *Brachypodium* Initiative (IBI) (2010). "Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*". *Nature* 463 (7282): 763–768. doi:10.1038/nature08747. PMID 20148030.
- Tanackovic V, Svensson JT, Glaring MA, Carciofi M, Jensen SL, Blennow A (2011). Starch bioengineering in *Brachypodium distachyon*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- The Plant Database (2006).( Erişim tarihi: 05.05.2013)

- Tuna M, Nizam İ, Oney S, Savaş G, Teykin EE (2011). DNA Content and Ploidy Determination of *Brachypodium distachyon* Populations Collected from Diverse Geographical Regions of Turkey by Flow Cytometer. In proceeding of: 9. The Plant Genomics European Meeting (Plant GEM), At Istanbul/Turkiye.
- Tuna M (2012). 1. Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanımı Eğitim Programı.
- Unver T, Budak H (2009). Conserved microRNAs and their targets in model grass species *Brachypodium distachyon*. *Planta*. Sep;230(4):659-69. doi: 10.1007/s00425-009-0974-7. Epub 2009 Jul 8.
- Xu Y, McCouch SR, Zhang Q (2005). How can we use genomics to improve cereals with rice as a reference genome? *Plant Mol Biol*, 59:7-26.
- Vain P, Worland B, Thole V, McKenzie N, Alves SC, Opanowicz M, Fish LJ, Bevan MW, Snape JW (2008). *Agrobacterium*-mediated transformation of the temperate grass *Brachypodium distachyon* (genotype Bd21) for T-DNA insertional mutagenesis. *Plant Biotechnology Journal* 2008, 6:236-245.
- Vai P, Thole V, Worland B, Opanowicz M, Bush MS (2011). A T-DNA mutation in the RNA helicase eIF4A confers a dose-dependent dwarfing phenotype in *Brachypodium distachyon*. *Plant J* 66: 929–940.
- Vain P, Thole V (2011). T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. First European *Brachypodium* Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Vogel JP, Garvin DF, Leong MO, Hayden MD (2006a). *Agrobacterium*-mediated transformation and saf line development in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84: 199–211 Ó Springer DOI 10.1007/s11240-005-9023-9
- Vogel JP, Gu YQ, Twigg P, Lazo GR, Laudencia-Chingcuanco D, Hayden DM, Donze TJ, Vivian LA, Stamova B, Coleman-Derr D (2006b). EST sequencing and phylogenetic analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theor Appl Genet*. Jul;113(2):186-95.
- Vogel J, Hill T (2008). High-efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brachypodium distachyon* saf line Bd21-3. *Plant Cell Rep*, 27:471–478 DOI 10.1007/s00299-007-0472-y
- Vogel JP, Bragg JN (2009). *Brachypodium distachyon* A New Model for the Grasses. *Genetics and Genomics of the Triticeae*, 427-449.
- Vogel JP, Tuna M, Budak H, Huo N, Gu YQ, Steinwand MA (2009). Development of SSR markörs and analysis of diversity in Turkish populations of *Brachypodium distachyon*. *BMC Plant Biol*. Jul 13;9:88. doi: 10.1186/1471-2229-9-88
- Vogel J, Garvin D, Mockler TC, Schmutz J, Rokhsar D (2010). Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Nature* 463, 763-768 doi:10.1038

- Vogel JP (2011). Natural diversity from genomics to phenomics. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Wannes V, Richard S, Abdelahafid B, Nicolas O, Isabel RR, Hild M, Dirk I (2011). Enhancement of biomass production and cell wall degradability by *AtGA20ox1* overexpression and *Bd4CLI* downregulation. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- Watson L, Dallwitz M (1992). "The grass genera of the world: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references," <http://delta-intkey.com>.
- Watt M, Schneebeli K, Dong P, Wilson IW (2009). The shoot and root growth of *Brachypodium* and its potential as a model for wheat and other cereal crops. *Functional Plant Biology*, 36, 960–969
- Wolny E, Hasterok R (2009). Comparative cytogenetic analysis of the genomes of the model grass *Brachypodium distachyon* and its close relatives. *Ann Bot.* October; 104(5): 873–881. PMID: PMC2749528
- Wolny E, Lesniewska K, Hasterok R, Langdon T (2011). Compact genomes and complex evolution in the genus *Brachypodium*. *Chromosoma*. 2011 Apr;120(2):199-212. doi: 10.1007/s00412-010-0303-8.
- Wright S (1965). The interpretation of sample structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 95-420.
- Zhang L, Jeon Y-J, Kang S-Y, Lee G-J (2012). Genetic Diversity of Natural and Artificial Populations of Model Grass *Brachypodium* Species Evaluated by AFLP Markers. *Hort. Environ. Biotechnol.* 53(2):143-150. 2012. DOI 10.1007/s13580-012-0104-5
- Zhao H, Yu J, You FM, Luo M, Peng J (2011). Transferability of Microsatellite Markers from *Brachypodium distachyon* to *Miscanthus sinensis*, a Potential Biomass Crop. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53 (3): 232–245
- Zubair H, Beckmann M, Taillart K, Draper J (2011). Metabolic reprogramming in pre-symptomatic phases of *Magnaporthe grisea* infection of susceptible and resistant *Brachypodium distachyon* plants. First European Brachypodium Workshop October, 19th 20th & 21th.
- <http://bti.cornell.edu/home> ( Erişim tarihi: 06.09.2013)
- <http://www.promega.com/geneticidtools/powerstats/default.htm> ( Erişim tarihi: 06.09.2013)
- <http://www.univmontp2.fr/~genetix/genetix.htm> ( Erişim tarihi: 06.09.2013)

## ÖZGEÇMİŞ

Edirne’ de doğan Gülsemin SAVAŞ TUNA, sırasıyla Tayakadın Köyü İlköğretim Okulu, Edirne Atatürk Ortaokulu ve Edirne Lisesini bitirdikten sonra 19 Mayıs Üniversitesi Amasya Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünde eğitimine devam etti. 1997 yılında Fakülte Birincisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2002 yılında Devlet Lisan Okulunda 9 ay Almanca Dil Kursu almaya hak kazandı. Çilimli Çok Programlı Lisesi, Düzce Arsal Anadolu Lisesi, Havsa Melahat Kilimci Lisesi, Bolu Fen Lisesi Biyoloji Öğretmeni olarak çalıştı. Tekirdağ Ebru Nayim Fen Lisesi’nde Biyoloji Öğretmenliğine devam etmektedir. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Bölümünde ikinci Yüksek Lisansını tamamladıktan sonra aynı bölümde Doktora yapmaya başlamıştır.