

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI KILÇIKSIZ BROM (*Bromus inermis* L.) AKSESYONLARININ
ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Rukiye GÜLCÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN. Doç. Dr. İLKER NİZAM

TEKİRDAĞ – 2016

Her hakkı saklıdır

Bu tez TÜBİTAK tarafından 111O654 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Doç Dr. İlker NİZAM danışmanlığında, Rukiye GÜLCÜ, tarafından hazırlanan “Bazı Kılçiksız Brom (*Bromus İnermis* L.) Aksesyonlarının Çekirdek Dna İçeriklerinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı	Doç. Dr. Evren CABİ	<i>İmza:</i>
Üye	Yrd. Doç. Dr. Necmettin GÜLER	<i>İmza:</i>
Üye	Doç. Dr. İlker NİZAM (Danışman)	<i>İmza:</i>

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI KILÇIKSIZ BROM (*Bromus inermis* L.) AKSESYONLARININ ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Rukiye GÜLCÜ

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İlker NİZAM

Bu araştırmanın amacı, bazı kılçiksiz brom (*Bromus inermis* L.) aksesyonlarının, flow sitometri yöntemi kullanılarak çekirdek DNA içerikleri, ploidi seviyesi ve kromozom sayılarını belirlemektir. Elde edilen sonuçlara göre; çekirdek DNA içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli ($P<0.01$) farkların olduğu belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan kılçiksiz brom aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriği 11.43 pg/2C ile 26.62 pg/2C arasında değişmektedir. En yüksek çekirdek DNA içeriği 26.62 ve 26.43 pg ile PI 655131 ve PI 628278 nolu aksesyonlarda belirlenirken, en düşük çekirdek DNA içeriği ise aynı önemlilik gurubunda yer alan PI 598583, PI 636580 ve PI 632560 nolu aksesyonlarda sırasıyla 11.43, 11.44 ve 11.45 pg olmuştur. Sonuç olarak, 48 kılçiksiz brom aksesyondan 33 aksesyonun tetraploid, 10 aksesyonun octaploid ve 5 aksesyonun ise decaploid olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kılçiksiz brom, *Bromus inermis* L., çekirdek DNA içeriği, flow sitometri, kromozom sayısı

2016, 34 Sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION OF NUCLEAR DNA CONTENT OF SOME BROMEGRASS (*Bromus inermis* L.) ACCESSIONS

Rukiye GÜLCÜ

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor Doç. Dr. İlker NİZAM

The objective of this study was to determinate of nuclear DNA content using flow cytometry, and ploidi levels and chromosome number of some smooth bromegrass. According to the obtained results; it was statistically significant differences ($P < 0.01$) between nuclear DNA contents of smooth bromegrass accessions. Average nuclear DNA contents of smooth bromegrass accessions used in the study varied between 11.43 pg/2C with 26.62 pg/2C. Highest nuclear DNA content was detected as 26.62 pg/2C and 26.43 pg/2C in accessions numbered PI 655131 and PI 628278, respectively. Lowest nuclear DNA content was detected as 11.43, 11.44 and 11.45 pg/2C in accessions numbered PI 598583, PI 636580 and PI 632560, respectively. Consequently, 48 smooth bromegrass accessions were identified as 33 tetraploid, 10 octaploid and 5 decaploid smooth bromegrass.

Keywords: Bromegrass, *Bromus inermis* L., nuclear DNA content, flow cytometry, chromosome number

2016, 34 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TEŞEKKÜR	viii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Materyal.....	10
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. Tohumların Çimlendirilmesi ve Fidelerin Elde Edilmesi	12
3.2.2. Çekirdek DNA Analizi	12
3.2.2.1 Staning solüsyonunun hazırlanması.....	13
3.2.2.2 Çekirdek DNA içeriği tespiti için bitki örneğinin hazırlanması.....	13
3.2.2.3 Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanması.....	15
3.2.2.4 İstatistiksel Analiz.....	15
3.2.3. Kromozomların Sayımı.....	15
3.2.3.1 Bitki kök uçlarının elde edilmesi.....	15
3.2.3.2 Kök uçlarının tespiti.....	16
3.2.3.3 Hidroliz.....	16
3.2.3.4 Feulgen boyaması.....	16
3.2.3.5 Feulgen boyasının hazırlanması.....	16

3.2.3.6	Preparatların hazırlanması.....	17
3.2.3.7	Kromozomların fotoğraflanması ve incelenmesi.....	17
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	18
4.1.	Kılıksız Brom Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçerikleri ve Ploidi Seviyeleri....	18
4.2.	Kılıksız Brom Aksesyonlarının Kromozom Sayısının Tespit Edilmesi	25
4.3.	Kılıksız Brom Aksesyonlarının Ploidi Seviyeleri	28
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
6.	KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ.....		34

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.1 : Araştırmada kullanılan <i>Bromus inermis</i> ssp. <i>inermis</i> aksesyonlarının menşei..	9
Çizelge 4.1.1 : Bazı kılçiksız brom aksesyonlarına ait varyans analizi tablosu.....	17
Çizelge 4.1.2 : Bazı kılçiksız brom aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri (pg).....	18
Çizelge 4.3.1 : Kılçiksız brom aksesyonlarının ploidi seviyeleri.....	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1.1 : Arpa ve tetraploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	21
Şekil 4.1.2 : Arpa ve tetraploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	21
Şekil 4.1.3 : Arpa ve octaploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	22
Şekil 4.1.4 : Arpa ve octaploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	22
Şekil 4.1.5 : Arpa ve decaploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	23
Şekil 4.1.6 : Arpa ve decaploid <i>Brom</i> G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları.....	23
Resim 4.2.1 : Tetraploid ($2n=4x=28$) <i>Bromus inermis</i> L. ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	57
Resim 4.2.2 : Octaploid ($2n=8x=56$) <i>B. inermis</i> L. ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	60
Resim 4.2.3 : Decaploid ($2n=10x=70$) <i>B. inermis</i> L. ait mitoz kromozomlarının görünüşü...	62

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler:

°C	: Celcius sıcaklık derecesi
cm	: Santimetre
cm ³	: Santimetreküp
dk	: Dakika
g	: Gram
lt	: Litre
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
N	: Normal çözelti
pg	: Pikogram

Kısaltmalar:

DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
HCL	: Hidroklorik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNAse	: Ribo Nükleaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
P<0.01	: Yüzde birlik önem seviyesine göre

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Doç. Dr. İlker NİZAM başta olmak üzere, “*Dactylis L. ve Bromus L. Aksesyonlarının Moleküler Sitogenetik Metotlar ile Karakterizasyonu ve Trakya Bölgesi Şartlarına Uygun Genetik Kaynak ve Çeşitlerin Geliştirilmesinde Kullanımı*” adlı yürütülen TÜBİTAK projesinden Yüksek Lisans Tezi olarak bana verilen “Bazı Kılçıksız Brom (*Bromus inermis L.*) Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçeriklerinin Belirlenmesi” ile katkıda bulunmamı sağlayan, çalışmanın yürütülmesinde yol gösteren ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Metin TUNA’ya, tez çalışmamın değişik aşamalarında bana yardımcı olan Araş. Gör. Eyüp Erdem TEYKİN’e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Hayatım boyunca maddi, manevi fedakârlıklar yaparak bugünlere gelmemi sağlayan anne ve babama, çalışmalarım esnasında bana her zaman yardımcı ve destek olan sevgili eşim Mehmet GÜLCÜ’ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2016

Rukiye GÜLCÜ
Biyoloji Öğretmeni

1. GİRİŞ

Ülkemizde toplam çayır mera alanları 1950 yılında 37.8 milyon hektar iken, son istatistiklere göre 12.4 milyon hektar olarak bildirilmektedir. Bilindiği üzere ülke hayvanlarının kaba yem ihtiyacı doğal çayır, mera ve yayla alanlarından karşılanmaktadır. Bu kaynaklardan sağlanan verim ise mevcut hayvan varlığımızı yeterince besleme olanağını yeterince karşılayamamaktadır. Geçmiş yıllarda yapılan yanlış uygulamalar sonucu hayvanların severek yediği yüksek verimli, besleme değeri fazla bitki türlerine sahip olan çayır meralarımızın büyük bölümü yok olmuş, yerlerini verimi düşük, besleme değeri az veya hiç olmayan yabancı otlar almıştır. Bu nedenle hayvanlarımızı beslemek için gerekli yem gereksinimi karşılanamamakta ve hayvansal verim ile toplam hayvansal üretim düşük olmaktadır. Günümüzde; dünya nüfusu ve ülke nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak besin maddelerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu artan besin maddesi ihtiyaçlarının da karşılanması ise hayvansal ve bitkisel ürünlerin arttırılması ile gerçekleştirilmektedir. Tarımsal alanların genişletilmesinin zor hatta imkânsız olduğu günümüzde, birim alandan daha fazla ürün elde etmek, maliyeti düşürmek, verimi arttırmak, besleme değerini ve kaliteyi yükseltmek, insan beslenmesi yönünden büyük önem taşımaktadır.

Bromus L. cinsi serin mevsim buğdaygillerinden olup Dünyanın serin ve ılıman bölgelerine dağılmış 160 kadar brom türü bulunmaktadır. Brom türlerinin çoğunun anavatanı Asya, Avrupa ve pek azının ise Amerika'dır. Kılçıksız brom bol yapraklı, rizom meydana getiren, çok yıllık bir serin mevsim yem bitkisidir. Çiçeklenmiş bitkilerde gövde 80-120 cm kadar uzayabilir. Yaprak kını kapalı ve tüysüzdür. Yaprak ayası düz, ucu sivri 4-12 mm genişliğinde, 15-40 cm uzunluğunda, ayanın orta kısmında W şeklinde işaret vardır. Kulakçık yoktur veya nadiren küçülmüş olarak mevcuttur. Çok yıllıklardan kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) tarımsal açıdan önemli olup, yem değerleri orta veya iyi seviyededir. (Gould and Shaw 1983; Serin ve Tan, 2009).

Yem bitkilerine ihtiyacın büyük olduğu ülkemizde kılçıksız brom gibi uzun ömürlü, kurağa, sıcağa ve soğuğa dayanıklı bitkiler çok ümit var görülmektedir. Soğuklara çok toleranslı olup yalnız yetiştirildiğinde ise ülkemizin her yerinde hem ilkbaharda, hem de sonbaharda ekilebilmektedir. Ot verimi yüksek ve besin maddeleri yönünden otunun zengin olması nedeniyle, iyi bir kuru ot ve silaj bitkisidir. Gelişme döneminin erken ve geç devrelerinde bol yeşil ot ürettiği için böylelikle yeşil yem devresini genişletir. Köksaplı

olması nedeniyle çığnemeye ve koparmaya toleranslı olup iyi bir mera ve toprak koruma bitkisi olmaktadır. Bozulmuş meraların yenilenmesi ve tarla arazilerinde suni çayır kurulması için büyük önem taşıyan bir bitkidir.

Değişik bölge şartlarına uyabilecek yeni çeşitlerin geliştirilmesi, ülkemizde yem bitkileri ekim alanlarının genişletilebilmesi için yapılacak en önemli çalışmalardan birisidir. İstenilen özelliklere sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesinde bitki ıslah çalışma yöntemleri büyük önem taşır. Oluşturulan ıslah programları daha sağlıklı, kısa sürede, daha verimli ve daha etkin olarak hedeflenen amaçlara ulaşma şansını daha da arttırmış olacaktır.

Çekirdek DNA içeriği, hücre çekirdeğinin içerisinde bulunan toplam DNA miktarını ifade eder ve genellikle "C" değeri olarak ölçülür. Çekirdek DNA içeriği bilgisi taksonomik ve ıslah çalışmaları için son derece yararlıdır. Taksonomi, bitki ıslahı, bitki koruma ve moleküler biyoloji olmak üzere pek çok farklı alanlarda kullanılan önemli bir karakterdir. Farklı bitki türlerinde yapılan araştırmalar göstermiştir ki her genomun DNA içeriği genellikle sabit ve her tür için karakteristiktir. Bitki nukleuslarındaki DNA miktarlarının değişmezliği organizmalarda anahtar rol oynamaktadır.

Çekirdek DNA içeriği terimi ilk defa Swift (1950) tarafından kromozom sayısı ile meydana gelebilecek karışıklıkları önlemek için ortaya atılmıştır. Herhangi bir genotipin 'C' değeri (1C değeri), DNA sını henüz replike olmamış haploid çekirdeğin (n kromozom sayısına sahip) DNA içeriğidir (Bennett ve Leitch 1995; Tuna 2009).

Başlangıçta Çekirdek DNA içeriği kimyasal analiz ve mikrodensitometri metodları ile belirlenmekteyken, günümüzde flow sitometri yüksek hızı ve hassasiyeti nedeniyle çekirdek DNA analizlerinde tercih edilen metod olmuştur (Bennett and Smith, 1976). Bu yöntem sayesinde bilginin hızlı, güvenilir ve duyarlı bir şekilde elde edilmesi sağlanmış olur.

Flow Sitometrinin temel yaklaşımı, hücrelerin boyut, şekil, DNA ve RNA içeriği, sitoplazmik granüleritesi açısından değerlendirilmesidir (Demirel 1995). Bu amaçla hedeflenen yapı ya da hücre önce fluoresan madde ile işaretli bir antikör veya özel bir boya (nükleik asitlere özel propidium iodide) kullanılarak işaretlenir (Collier 2000).

Flow sitometri analizi hedeflenen yapı ve hücrelerinin sayısını türünü çok kısa sürede, ucuz ve etkin bir şekilde belirleyebilir (Karaboz ve ark. 2008). On binlerce hücrenin ya da partikülün (virus, spor, vb) kısa zaman içinde analiz edilmesi, istatistiksel bilginin çok çabuk

elde edilmesi, elde edilen bilginin esnek olması flow sitometriyi iyi bir analiz aracı olarak öne çıkarmaktadır.

Gen plazm koleksiyonlarında karakterizasyon ve korumada iyi oluşturulmuş araştırma ve ıslah programlarında ploidi değerlendirilmesi çok önemli bir etkidir (Tuna ve ark. 2001). Ploidi belirlenmesi geleneksel olarak boyanmış kök uçlarından yapılmaktadır (Karp 1991). Fakat bu metot zahmetli ve çok bitki üzerinde çalışılması zordur. Son yıllarda ploidi seviyelerinin belirlenmesinde flow sitometri çok kullanılan bir teknik olmuştur (Bennet ve ark. 2000). Flow sitometrinin sağladığı bu avantajlar sebebiyle son yıllarda çekirdek DNA analizinin bitki ıslahı ve genetiğinde kullanımını giderek yaygınlaşmaktadır.

Bu araştırmanın amacı, bitki ıslahı çalışmalarında kullanılmak üzere yurt dışı gen bankalarından temin edilen bazı kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) aksesyonlarının, ıslah çalışmalarında kullanılmadan önce ön araştırma kapsamında flow sitometri yöntemi kullanılarak çekirdek DNA içeriklerini ve ploidi düzeylerini belirlemektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bromus L. cinsi serin mevsim buğdaygillerindedir ve 100'den fazla tür içerir (Gould ve Shaw 1983).

Kılçıksız brom, Kuzey ve Orta Avrupa ile Çin'e kadar uzanan Asya'nın ılıman bölgelerinin yerli bitkisidir. 1934-1936 yıllarında yaşanan şiddetli kuraklıktan sonra araştırmacıların dikkatini çekmiş ve üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır. Sıcak, soğuk ve kurağa dayanıklı bir yem bitkisidir. Adaptasyon yeteneği yüksektir ve ekstrem sıcaklık şartlarında canlılığını devam ettirir. Kılçıksız bromun çayır (kuzey ve step (güney) olmak üzere 2 önemli tipi vardır. Çayır tipi, daha çok nemli vadi tabanlarında, step tipleri ise kurak yerlerde yetişir (Serin ve Tan, 2009).

Hill ve Myners (1948), 193 kılçıksız brom bitkisinin 192'sinin $2n=8x=56$ kromozoma (oktaploid) veya yaklaşık 56 kromozoma sahip olduğunu bildirmiştir.

Sigurbjörnsson ve ark. (1957), 222 kuzey ve güney tipi kılçıksız brom bitkisinde somatik kromozom sayısı belirlenmiştir. Kılçıksız brom bitkileri içinde somatik kromozom sayısı 54, 55, 57 ve 58 olan aneuploid bitkiler bulunmuştur. Bir bitkide ise 49 kromozom belirlenmiştir. Kuzey ve güney tiplerinin belirli varyeteleri arasında sitolojik farklar olduğu bildirilmiştir. Kuzey tiplerde 56'dan daha fazla kromozoma sahip bitki oranı daha fazladır. Güney tipi kılçıksız bromlarda ise 56'dan daha düşük kromozom sayısına sahip bitkilerin oranı daha fazla olarak saptanmıştır.

Bromus, cinse ait sınırların tartışıldığı büyük bir buğdaygil cinsidir. *Bromus*'un 100 ile 400 tür arasında dağılım gösterdiğini bildirilmektedir. Çoğu tropik dağlık bölgelerdeki ilave türler ile eski ve yenedünyanın ılıman bölgelerinde yayılır (Verloove, 2012).

Bromus türleri yıllık veya çok yıllıktır ve *B. inermis*, *B. anomalus*, *B. pumpellianus*, *B. catharticus*, *B. mollis* ve *B. rigidus* gibi bazı önemli mera ve yem bitkilerini de içeren adaptasyonu ve kullanımını genel olarak değişken olan serin mevsim buğdaygil bitkileridir. Temel kromozom sayısı $x=7$ 'dir ve kromozom sayısı $2n=17$ den $2n=84$ 'e kadar değişmekle birlikte, türlerin çoğu diploid ($2n=2x=14$) veya tetraploid ($2n=4x=28$)'dir (Sheidai ve ark. 2008).

Armstrong (1987) Rusya'dan toplanan kılçıksız brom aksesyonlarında tetraploid ($2n=4x=28$) ve oktaploid ($2n=8x=56$) formların olduğunu, bir aksesyonda ise bir diploid ($2n=14$) formun bulunduğunu belirtmiştir.

Kılçıksız brom oktaploid ($2n=8x=56$) bir türdür. Hekzaploid kılçıksız brom oktaploid ve tetraploidler arasındaki resiprokal melezlerden elde edilir (Armstrong, 1992).

Mirzaie-Nodoushan ve ark. (2006) 7 brom türünün (*B. tomentellus*, *B. hankegnus*, *B. sterilis*, *B. inermis*, *B. cappadocicus*, *B. persicus* ve *B. biebersteinii*) 12 popülasyonunda karyotip analizleri yapmışlardır. Popülasyonların kromozom sayıları $2n=14$ ile $2n=84$ arasında değişmiştir. Araştırmada kullanılan *Bromus inermis* L. popülasyonlarında $2n=56$ kromozom olarak belirlenmiştir.

Bir C3 bitkisi olan *Bromus* L.'nin yaklaşık olarak 150 türe sahip bir cinstir. Bu cins Asya, Avrupa, Afrika ve Amerika'da geniş bir dağılıma sahiptir. Kılçıksız brom çok yıllık buğdaygil türlerinin en çok soğuğa dayanıklı olanlarından biridir. Önemli soğuğa dayanıklılık genlerinin izolasyonu için önemli genetik kaynak olduğu kadar soğuğa dayanıklılığın genetiği için araştırma konusudur. Türlerinin $2x$ den $12x$ e kadar yüksek bir poliploidi meydana getirme özelliği vardır. *Bromus* 7 seksiyon içinde sınıflandırılır. Bunlar içindeki önemli tarımsal seksiyonlar *Pnigma* (*B. inermis* Leyss.) ve *Ceratochloa* (*B. catharticus* Vahl., *B. sitchensis* Trin. in Bong)'dır. Bromların temel kromozom sayısı $x=7$ 'dir. *B. inermis* ve *B. biebersteinii* R & S. ($2n=56$), *B. riparius* Rehm. ($2n=70$) ve *B. erectus* Huds. ($2n=28$) kromozoma sahiptir (Williams ve ark. (2011)).

Tuna ve ark. (2001), dört *Bromus* türünün 322 aksesyonun ploidy düzeylerini karakterize etmek için yaptıkları çalışmada, her bir aksesyondan 10 bitkinin DNA içeriğini belirlemek için Flow sitometri yöntemini kullanmışlardır. Seçilen aksesyonlarda ortalama DNA içeriklerinin ploidy seviyeleri ile ilişkili olduğu, bu aksesyonların DNA içeriklerinin farklı ploidy seviyelerini temsil ettiklerini gösterdiğini bildirmişlerdir. Tetraploid, oktaploid ve decaploid aksesyonların nükleer DNA içeriğinin diploid aksesyonlardan yaklaşık olarak 2, 4 ve 5 defa daha büyük olduğunu belirtmişlerdir. Tetraploid *B. inermis* L. için $11.74 \text{ pg } 2C^{-1}$ ($2n=4x=28$) ve oktaploid *B. inermis* L. için $22.28 \text{ pg } 2C^{-1}$ ($2n=8x=56$) olarak belirlenmiştir.

Teykin (2011), flow sitometri yöntemiyle 83 *Bromus catharticus* Vahl. aksesyonunun çekirdek DNA içeriklerini belirlediği araştırmasında, 81 aksesyonun 11.79 pg $2C^{-1}$ ile 13.72 pg $2C^{-1}$ arasında değiştiğini ve hekzaploid olduklarını bildirmiştir. Çekirdek DNA içeriği bariz olarak çok yüksek olan (19.66 ve 19.41 pg $2C^{-1}$) iki aksesyonun ise başka türe ait olduğunu belirtmiştir.

Armstrong (1987), araştırmasında kullandığı *Bromus inermis* aksesyonlarının kromozom sayısının büyük çoğunluğunun $2n=8x=56$ ile oktaploid olduğunu, Chimkent'ten toplanan 4 aksesyonun ise tetraploid ($2n=4x=28$) olduğunu belirlemiştir. Ayrıca bir diploid formunda ($2n=2x=14$) bulunduğunu bildirmiştir. *B. riparius* aksesyonları kromozom sayıları ise $2n=10x=70$ 'tir. Araştırmacı, *B. inermis*'in diploid, tetraploid ve oktaploid sitotiplerinin *B. riparius*'un evriminden içerildiğini bildirmiştir. Bu iki türün doğal melezlenmesi oldukça kolay ve hibritleri fertil olmaktadır. Tetraploid aksesyonların *B. inermis* çeşitlerinin geliştirilmesi için faydalı olacağını da belirtmiştir.

Tuna ve ark. (2004), C- bantlama prosedürleri, kromozom uzunluğu ve kromozom kol uzunluğu oranları ile birlikte tetraploid ve oktaploid *B. inermis* genomlarının kromozomlarını tek tek belirlemek ve daha önce mevcut olanlardan daha ayrıntılı karyotiplerini geliştirmek ve tetraploid ve oktaploid *B. inermis*'in genomik ilişkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, dört tetraploid ve üç oktaploid aksesyonları kök uçlarını sitogenetik analizler için, kromozom squash hazırlıklarını üretmekte kullanmışlar, dört kromozom dışında tetraploid formunun kromozomlarının hepsi, C-bant desenler, kromozom uzunluğu ve kol uzunluğu oranı ile tanımlanmışlardır. Oktaploid *B. inermis* genomun, uzun yada kısa kol üzerinde C-bantları olmayan dört kromozom, iki telomerik bantları ile ≈ 14 kromozomları ve yalnızca tek telomerik bant ile ≈ 38 kromozomları içerdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, dördü hariç tüm kromozomları tanımlanabilir çiftlere ayrılabilirdiği için tetraploid *B. inermis*'in bir allotetraploid olduğunu, belirli C-bant desenleri ile kromozomların ve uydu kromozomların beklenen ve gerçek sayıları arasındaki farklılıklar nedeniyle oktaploid *B. inermis*'in muhtemelen tetraploid *B. inermis*'in ikiye katlanmış formu olmadığını bildirmişlerdir.

Çekirdek DNA içeriğinin tarımsal araştırmalarda kullanım alanları 1. ploidy analizi 2. ploidy düzeyi stabilitesinin kontrolü, 3. haploid ve double haploid hatların üretimi, 4. yeni ploidy düzeylerinin belirlenmesi, 5. aneuploid bitkilerin belirlenmesi, 6. erken gelişme

dönemlerinde cinsiyet belirlenmesi, 7. türler arası melezleme, 8. somatik melezleme, 9. hücre döngüsü analizi olarak sıralayabiliriz (Tuna 2009).

Buğdaygiller familyası içerisinde yer alan cinsler birbirine benzeyen, farklı ploidi düzeylerine sahip olan ve karışımlar halinde birlikte yetişmekte olan çok sayıda türü içerdiklerinden türlerin teşhisi zor olup, taksonomileri karmaşıktır. Bundan dolayı, ploidi analizi buğdaygil türlerinin teşhisi ve taksonomisinde kullanılan önemli bir yöntemdir (Huff ve Palazzo 1998).

Geleneksel olarak bitkilerin ploidy düzeyi feulgen veya asetokarmin ile boyanmış kök uçlarından hazırlanmış preparatlar üzerinde bulunan mitoz kromozomlarını ışık mikroskobu yardımıyla sayarak belirlenmektedir (Karp 1991). Ancak yavaş ve çok fazla iş gücüne gereksinim duyan bu yöntem, bitki genetik kaynaklarının karakterize edilmesi örneğinde olduğu gibi çok sayıda örnekte ploidy düzeyinin belirlenmesinde kullanılabilir pratik ve kullanışlı bir yöntem değildir. Ayrıca, kromozomları küçük ve ploidy düzeyi yüksek olan türlerde kromozom sayarak ploidy belirlemesi oldukça zordur ve çoğunlukla da genetik kaynakların yanlış sınıflandırılmasına neden olmaktadır (Brummer ve ark. 1999).

Bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğu için, çekirdek DNA miktarları ploidy düzeyinin ifadesi olarak kullanılabilir (Lu ve ark. 1998). Önceleri bitki çekirdek DNA miktarları feulgen mikrospektrofotometri ile belirlenmekteydi (Bennett ve Smith 1976). Son yıllarda, kolaylığı, hızı ve güvenilirliğinden dolayı flow sitometri ploidi belirlenmesinde tercih edilen metot olmuş (Rayburn ve ark. 1989; Heslop-Harrison 1995) ve *Panicum virgatum* L. (Hultquist ve ark. 1997; Lu ve ark. 1998), Manda otu (*Buchloe dactyloides*) (Johnson ve ark. 1998; Johnson ve ark. 2001) yonca (*Medicago sativa* L.) (Brummer ve ark. 1999), bazı yeşil alan türleri (Arumuganathan ve ark. 1999), kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) (Tuna ve ark. 2001), ve domuz ayrığı (*Dactylis* L.) (Tuna ve ark. 2007) cinslerinde başarıyla kullanılmıştır.

Genom başına çekirdek DNA miktarı hem tek bir bitkinin hücreleri arasında hem de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeyerek sabit kalmakta ve bu yüzden de türlere özel olmaktadır (Bennett ve Leitch 1995). Bir bitki hücresindeki DNA miktarı C harfi ile pikogram cinsinden belirtilir. C değeri haploid genom; 2C değeri ise diploid somatik genomun DNA miktarını ifade etmektedir. Angiospermelerin çekirdek DNA larına ait C değerleri 0.1 pg ile

125 pg arasında değişmektedir (Bennett ve ark. 2000). Çekirdek DNA miktarlarının türlere özel olması, çekirdek DNA'sı değerlerini taksonomi, evrim ve moleküler genetik çalışmaları için vazgeçilmez temel bilgi yapmaktadır (Bennett and Leitch 1995).

Rees ve Walters, (1965) feulgen metodu ile belirlenmiş çekirdek DNA miktarlarından yola çıkarak hekzaploid olan ekmeklik buğdayın kökeni olan yabani buğday türlerini belirlemiş ve evrimini incelemiştir.

Çekirdek DNA miktarları *Vicia* (Chooi 1971), *Brassicae* (Verma ve Rees 1974), *Solanaceae* (Narayan 1987) *Papaver* (Srivastava ve Lavania 1991), *Festuca* (Ceccarelli ve ark. 1992) *Hydrangea* (Cerbah ve ark. 2001) ve *Bromus* (Tuna ve ark. 2001) cinslerinde de kullanılarak türlerin genomik karakterizasyonu ve evrimlerinin incelenmesinde başarıyla kullanılmıştır.

Ohri (1998) bir cins içerisinde aynı kromozom sayısına sahip çok sayıda türün bulunduğu durumlarda varsa türler arasındaki çekirdek DNA içeriği farklılıklarının türlerin teşhisi ve sınıflandırılmalarında çok etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Joachimiak ve ark. (2001), 6 *Bromus* türünün (*B. arvensis*, *B. hordeaceus*, *B. carinatus*, *B. willdenowii*, *B. erectus* ve *B. inermis*) C-banding ve çekirdek DNA miktarlarını inceledikleri çalışmada, üç türün (*B. carinatus*, *B. erectus* and *B. inermis*) kök ucu meristem içindeki kromozom sayılarının farklılık gösterdiğini, bu yüksek polyploid türlerin kök ucu hücrelerinin ($2n=8x=56$) önemli DNA değişkenliği gösterdiğini bildirmişlerdir. İncelenen türlerin 2C DNA içeriklerini; *B. arvensis*'te 11.63 pg, *B. hordeaceus*'ta 23.03 pg, *B. carinatus*'ta 22.94 pg, *B. willdenowii*'de 12.99 pg, *B. erectus*'ta 24.65 pg ve *B. inermis*'te 24.54 pg olarak tahmin eden araştırmacılar, DNA miktarlarına göre analiz edilen taksonların, 2C DNA yaklaşık 12 mikrogram değerindeki (*B. arvensis* ve *B. willdenowii*) ve yaklaşık 24 mikrogram değerindeki (*B. hordeaceus*, *B. carinatus*, *B. erectus* ve *B. inermis*) olmak üzere iki ayrı grup oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Tuna (2000), *Bromus* cinsine ait türlerin (*Bromus inermis ssp. inermis*, *Bromus riparius*, *Bromus biebersteinii* ve *Bromus inermis ssp. pumpellianus*) aksesyonlarının ploidy seviyelerinin belirlenmesi ve farklı ploidy düzeylerinin her birinin türler arasındaki bazı genomik konuları çözmek, moleküler sitogenetik tekniği (C-banding) kullanarak daha

bilgilendirici karyotipler geliştirmek amacıyla yürüttüğü doktora çalışmasında; DNA içeriği ($\text{pg } 2C^{-1}$) ve doğrulanmış kromozom sayılarına dayanarak, *Bromus* cinsine ait türlerin ekirdek DNA içeriği ve kromozom sayılarını; octaploid *B. biebersteinii* ($2n = 56$) için $22.62 \text{ pg } 2C^{-1}$, decaploid *B. biebersteinii* ($2n = 70$) için $26.07 \text{ pg } 2C^{-1}$, tetraploid *B. inermis* ssp. *inermis* ($2n = 28$) için $11.74 \text{ pg } 2C^{-1}$, octaploid *B. inermis* ssp. *inermis* ($2n = 56$) için $22.28 \text{ pg } 2C^{-1}$, octaploid *B. inermis* ssp. *pumpellianus* ($2n = 56$) için $22.72 \text{ pg } 2C^{-1}$, decaploid *B. inermis* ssp. *pumpellianus* ($2n = 70$) için $26.5 \text{ pg } 2C^{-1}$, diploid *B. riparius* ($2n = 14$) için $6.14 \text{ pg } 2C^{-1}$, octaploid *B. riparius* ($2n = 56$) için $22.15 \text{ pg } 2C^{-1}$ ve decaploid *B. riparius* ($2n = 70$) için $26.64 \text{ pg } 2C^{-1}$ olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı, *Bromus* L. cinsi için temel kromozom sayısının $x=7$ olduğunu ve *Bromus inermis* L. için bildirilen kromozom sayılarının $2n= 28, 42$ ve 56 olduğunu belirtmiştir. Kılçıksız bromun genel olarak yetiştiriciliği yapılan formlarından tetraploidlerin ($2n=4x=28$) bir allotetraploid iken, $2n=8x=56$ kromozom sayısına sahip olanların bir autoallooctaploid olduğunu bildirmiştir.

Armstrong (1991), çalıştığı bitkiler içinde en geniş genom hacminin *Bromus* türleri arasında olduğunu belirtmiştir. *B. oxyodon*'un haploid genomunda 1.92 pg DNA 'dan (Her haploid genomun DNA'sının $1C$ değeri) *B. secalinus*'ta 3.5 pg DNA 'ya kadar geniş bir varyasyona sahip olduğunu bildirmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada yurt dışı kaynaklı çeşitli gen bankalarından temin edilen 48 kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) aksesyonu materyal olarak kullanılmıştır. Bu aksesyonlar Çin Halk Cumhuriyeti, Amerika Birleşik Devletleri, Rusya, Moğolistan ve Kazakistan menşelidir. Aksesyonların tam listesi Çizelge 3.1.1' dir.

Çizelge 3.1.1. Araştırmada kullanılan *B. inermis* ssp. *inermis* aksesyonlarının menşei

	Aksesyon No	Toplandığı Yer
1	PI 18223	Moğolistan
2	PI 598588	Kazakistan
3	PI 598583	Kazakistan
4	PI 598585	Kazakistan
5	PI 598579	Kazakistan
6	PI 598586	Kazakistan
7	PI 25093	Kazakistan
8	PI 21403	Moğolistan
9	PI 598581	Kazakistan
10	PI 655222	Amerika Birleşik Devletleri
11	PI 655218	Amerika Birleşik Devletleri
12	PI 584449	Amerika Birleşik Devletleri
13	PI 636615	Moğolistan
14	PI 655121	Moğolistan
15	PI 610855	Moğolistan
16	PI 598592	Kazakistan
17	PI 642844	Amerika Birleşik Devletleri
18	PI 642845	Amerika Birleşik Devletleri
19	PI 619004	Menşei bilinmiyor.
20	PI 610847	Moğolistan
21	PI 610865	Moğolistan
22	PI 610882	Moğolistan

23	PI 610869	Moğolistan
24	PI 619019	Moğolistan
25	PI 636614	Moğolistan
26	PI 636576	Moğolistan
27	PI 18154	Moğolistan
28	PI 19648	Moğolistan
29	PI 618991	Çin Halk Cumhuriyeti
30	PI 636583	Çin Halk Cumhuriyeti
31	PI 636579	Çin Halk Cumhuriyeti
32	PI 632560	Çin Halk Cumhuriyeti
33	PI 636580	Çin Halk Cumhuriyeti
34	PI 632460	Çin Halk Cumhuriyeti
35	PI 636578	Menşei bilinmiyor.
36	PI 655131	Moğolistan
37	PI 618974	Moğolistan
38	PI 598556	Çin Halk Cumhuriyeti
39	PI 598572	Rusya
40	PI 598538	Çin Halk Cumhuriyeti
41	PI 598570	Rusya
42	PI 19685	Moğolistan
43	PI 13111	Çin Halk Cumhuriyeti
44	PI 13055	Çin Halk Cumhuriyeti
45	PI 12972	Çin Halk Cumhuriyeti
46	PI 598577	Rusya
47	PI 12936	Çin Halk Cumhuriyeti
48	PI 628278	Menşei bilinmiyor.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohumların Çimlendirilmesi ve Fidelerin Elde Edilmesi

Tohumlar içerisinde çimlendirme kağıdı bulunan çapı 90 mm olan petri kapları içerisine yerleştirilmiş ve üzerlerine tekrar çimlendirme kağıdı konulmak suretiyle örtülmüştür. Tohumlarda mantar enfeksiyonunu önlemek amacıyla Captain solüsyonu (Captain WP 50%, 250 g/100 lt) kullanılmıştır. Çimlendirme işlemi 20°C'ye ayarlanmış bir çimlendirme kabininde gerçekleştirilmiştir. Petri kapları çimlendirme işlemi süresince belli aralıklarla kontrol edilmiş ve ihtiyaç halinde su takviyesi yapılmıştır.

Her aksiyon için, çimlenmiş tohumlardan sağlıklı ve iyi gelişmiş olan 10 fide viyollere şaşırtılmıştır. Viyollerde kullanılacak toprak materyalinde 3 birim bahçe toprağı, 1 birim dere kumu ve 1 birim torf bulunmaktadır. Kılçıksız brom bitkileri analiz edilene kadar sera içerisinde yetiştirilmiştir.

3.2.2. Çekirdek DNA Analizi

Çekirdek DNA analizleri, Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarında yapılmıştır. Çekirdek DNA analizinde her aksiyon için yetiştirilmiş 3 fideden elde edilen taze yaprak dokuları kullanılmıştır. İzole edilmiş çekirdekler, aynı laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Daha sonra bu 3 fidenin çekirdek DNA içerikleri miktarlarının ortalaması alınarak her aksiyon için çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Çekirdek DNA içeriği belirlenmesinde DNA içeriği bilinen bir standart bitki ile kıyaslama yapılır. Bu nedenle, standart bitkinin dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla birlikte aynı anda hazırlanır. Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanmasında standart olarak arpa (*Horedum vulgare* L.) bitkisinin Sladoran çeşiti kullanılmıştır.

Analizlerde PARTEC firmasının hazır kitleri kullanılmış ve üretici firmanın protokolü takip edilmiştir. Çekirdek DNA izolasyonu için kullanılan PARTEC protokolü aşağıda sunulmuştur (Tuna, 2014).

3.2.2.1. Staining Solüsyonun Hazırlanması:

PARTEC firmasının hazır kitleri içerisinde izolasyon bufferi, boyama solüsyonu, propidium iodide ve RNase bulunmaktadır. İzolasyon bufferi kullanılmaya hazırdır. Her örnek için; 2 ml Staining Buffer, 6 µl RNase stok solüsyon, 12 µl PI (Propidium Iodide) stok solüsyonu karıştırılarak staining solüsyonu hazırlanır.

3.2.2.2. Çekirdek DNA içeriği tespiti için bitki örneğin hazırlanması:

- 1-** Genç bitkilerin (3-4 haftalık) taze yapraklarından yaklaşık olarak 40 mg kılçıksız brom yaprak dokusu ve standart olarak kullanılan bitkinin 20 mg yaprak dokusu petri kapına konur ve üzerine 500 µl Extraction Buffer ilave edilir (Resim 3.2.1).
- 2-** Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanır. Bu şekilde hazırlanmış örnek petri kabı içerisinde hafifçe 10-15 saniye kadar çalkalanır (Resim 3.2.2).
- 3-** Çalkalama işleminden sonra 40 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek PARTEC marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir (Resim 3.2.3).
- 4-** Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2 ml staining solüsyonu ilave edilerek hazırlanan örnek (Resim 3.2.4) ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir (Resim 3.2.5). Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir (Resim 3.2.6).



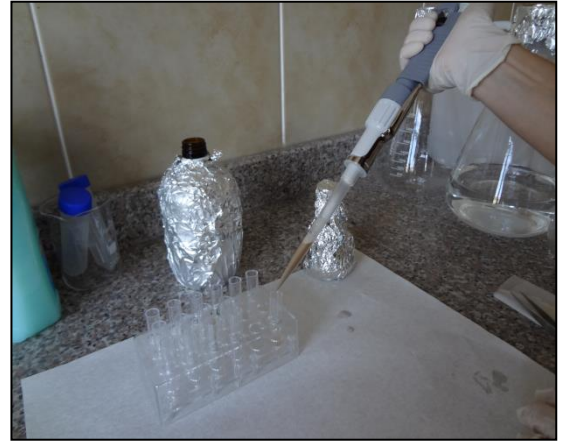
Resim 3.2.1.Dokulara buffer ilavesi



Resim 3.2.2. Dokuların parçalanması



Resim 3.2.3. Süzme işlemi



Resim 3.2.4. Staining solüsyonu ilavesi



Resim 3.2.5. İnkübasyon



Resim 3.2.6. Örneklerin cihaz ile analizi

3.2.2.3. Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanması:

Çekirdek DNA içeriği belirlenmek istendiğinde, örneğin çekirdek DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart bitki ile kıyaslanır. Bir örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği, örnek ile seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül aracılığıyla pikogram (pg) olarak hesaplanır.

$$\text{DNA miktarı} = \frac{\text{Örnek Bitkinin Floresans Yoğunluğu}}{\text{Standart Bitkinin Floresans Yoğunluğu}} \times \text{Standart Bitkinin DNA Miktarı}$$

3.2.2.4. İstatistiksel Analiz

Kılçıksız brom aksesyonlarına ait çekirdek DNA içeriklerinin istatistik analizi 3 tekrarlamalı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre SPSS istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılık ile önemliliğin belirlenmesinde duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

3.2.3. Kromozomların Sayımı

Çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren *Bromus inermis* L. aksesyonlarından seçilen birkaç bitki üzerinde kromozom sayımı yapılmıştır. Kromozom sayımı bitki kök uçlarında bulunan ve hızlı bölünme gösteren meristematik hücrelere sahip dokular kullanılarak ezme yöntemiyle hazırlanmış slaytlar üzerinde iyi dağılmış mitoz kromozomlarının sayılmasıyla Feulgen metoduna göre yapılmıştır. Daha sonra elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek sayılmıştır.

3.2.3.1. Bitki Kök Uçlarının Elde Edilmesi

Bitki kök uçları saksılarda yetiştirilen bitkilerden bahar aylarında sabah erken saatlerde oluşan sürgünlerden elde edilmiştir. Kök ucu hasadı sabah 8.00-10.00 arasında gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen kök uçları ilk olarak 24 saat soğuk su (+4 °C) ile muamele edilmiştir.

3.2.3.2. Kök Uçlarının Tespiti

Şişe içindeki su boşaltılarak yerine yeni hazırlanmış Farmer çözeltisi (3 kısım %99 luk etanol + 1 kısım glasiyal asetik asit) doldurularak kök uçları tespit edilmiştir. Kullanılana kadar saklanmak üzere -20 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.3. Hidroliz

Hidroliz, dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp onların daha iyi gözlenmesi bakımından önemlidir. Bu yüzden bitki dokularını boyamadan önce hidroliz yapılması gereklidir. 3:1 alkol:asetik asit çözeltisinden çıkarılan kök uçları, yıkanıp kurulandıktan sonra 1N HCl içerisine alınmış ve 60 °C'de 14 dk süreyle banyoda bekletilmek suretiyle hidroliz işlemi tamamlanmıştır (Elçi, 1982).

3.2.3.4. Feulgen Boyaması

Uygun şekilde hidrolizi yapılan kök uçları HCl kalıntısının giderilmesi için tekrar su ile yıkanarak kurulanmıştır. Feulgen içerisinde 1 saat süre ile bekletilerek boyanmıştır. Böylece kökler preparat yapımına hazır hale getirilmiştir (Elçi, 1982). Boyama sonunda kök uçlarının 1-2 mm'lik meristem bölgelerinin koyu viyole rengine boyandığı görülmüştür.

3.2.3.5. Feulgen Boyasının Hazırlanması:

Feulgen boyasının hazırlanması için 1g kristal halinde fuksin bazik (parafuksin) alınır. Bu fuksin bazik, küçük bir havanda veya 8-10 cm çapında bir saat camı içinde ezilir. 500 cm³'lük bir erlenmayerin dip kısmına, kabın etrafına bulaştırmadan bu ezilmiş, toz haline getirilmiş fuksin bazik konulur. Bir başka erlenmayerde 200 cm³'lük damıtık su kaynatılır. Toz halindeki fuksin bazik üzerine bu kaynamış damıtık su, yavaş yavaş dökülür. Bir yandan da cam çubuk ile boya devamlı olarak karıştırılır. Boyayı 50 °C'a kadar soğuyuncaya kadar karıştırmaya devam edilir. Sonra 20 cm³ N HCl ilave edilir. Oluşan karışım süzülür. 2 g potasyum metabisülfid (K₂S₂O₅) ilave edilir. Boya ağzı iyice kapatılmış bir şişeye koyulur. En az bir gece olmak üzere 24 saat kadar, karanlık bir yerde dolapta bekletilir. Böylece vişne çürüğü rengindeki boya, açık çay rengini alır. Boya 4°C'da buzdolabında muhafaza edilir (Elçi, 1982).

3.2.3.6. Preparatların Hazırlanması

Kök uçlarının koyu viole rengine boyanan 1–2 mm’lik büyüme meristemleri, keskin bir jilet ile kesilerek lam üzerine damlatılan %45’lik asetik asit içerisinde jiletle iyice parçalanmıştır. Üzerine lamel kapatılıp, kurutma kâğıdı ile asetik asitin fazlası alındıktan sonra bir kurşun kalemin arkası ile lamele önce hafif, sonra biraz sert darbeler indirilmiş, kurutma kâğıdı arasına alınan preparata bir elin başparmağı ile kuvvetle bastırılmış ve daha sonra lam ve lamel arasındaki hava kabarcıklarının giderilmesi için lamelin kenarına bir damla %45’lik asetik asit damlatılmıştır. Bu damla lamelin kenarında dolaştırılarak kabarcıkları giderilmiştir. Fazla asit kurutma kağıdı ile çekilmiştir. Parçacıkların tek bir hücre tabakası haline gelmesi için, preparat kurutma kağıdı arasına konularak başparmak ile lamelin her tarafına aynı şiddetle bastırılmıştır. Kromozomların iyi dağıldığı ve morfolojilerinin görülebildiği uygun preparatlar mikroskop ile incelemeye hazır hale getirilmiştir (Elçi, 1982).

3.2.3.7. Kromozomların fotoğraflanması ve incelenmesi

Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 marka mikroskop ile gözlenmiştir. Morfolojisi düzgün, sayılabilen ve kromozom sayısı tam olan hücrelerin kromozomları sayılmış ve fotoğrafları Dijital fotoğraf makinesi ile 100 lük objektifte büyütülerek çekilmiş ve bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Yurt dışı gen bankalarından temin edilen 48 kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) aksesyonunun, flow sitometri yöntemi kullanılarak çekirdek DNA içeriklerinin ve ploidi düzeyleri ile kromozom sayılarının belirlenmesi amaçlanan bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

4.1. Kılçıksız Brom Aksesyonlarının Çekirdek DNA İçerikleri ve Ploidi Seviyeleri

Bazı kılçıksız brom aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1.1. Bazı kılçıksız brom aksesyonlarına ait varyans analizi tablosu

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Aksesyon	4397,655	47	93,567	2846,930	P<0.01
Hata	3,155	96	0,033		
Genel	4400,810	143			

Flow sitometri analizi sonucunda araştırmada kullanılan kılçıksız brom aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli ($P<0.01$) farkların olduğu belirlenmiştir. Ortaya çıkan bu farkların standart sapma değerleri ve önemlilik gurupları Çizelge 4.1.2'de sunulmuştur

Çizelge 4.1.2. Bazı kılçıksız brom aksesyonlarının çekirdek DNA içerikleri (pg) ve önemlilik grupları

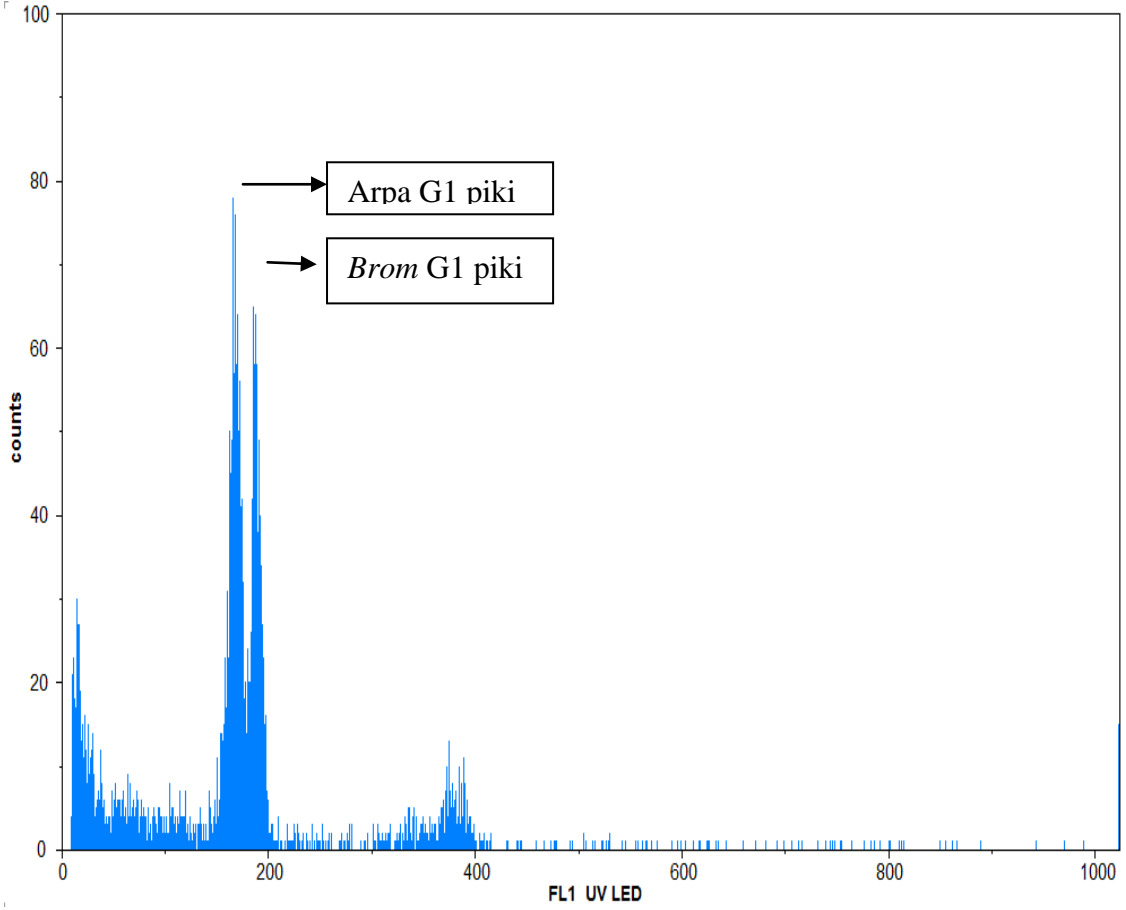
Aksesyon No	Çekirdek DNA içeriği (pg)	Standart Sapma	Önemlilik Gurubu
PI 18223	11.88	0.025	j-n
PI 598588	11.55	0.070	mno
PI 598583	11.43	0.015	o
PI 598585	11.66	0.115	l-o
PI 598579	11.63	0.060	l-o
PI 598586	11.71	0.015	k-o
PI 25093	22.08	0.460	fg
PI 21403	22.29	0.530	ef
PI 598581	11.82	0.035	k-n
PI 655222	21.45	0.485	h
PI 655218	21.91	0.185	g
PI 584449	22.05	0.405	fg
PI 636615	11.79	0.175	k-o
PI 655721	11.97	0.145	jkl
PI 610855	11.86	0.200	j-n
PI 598592	11.96	0.065	jkl
PI 642844	22.53	0.110	de
PI 642845	22.77	0.075	d
PI 619004	21.61	0.300	h
PI 610847	11.56	0.025	mno
PI 610865	11.60	0.100	mno
PI 610882	11.52	0.010	no
PI 610869	12.04	0.040	jk
PI 619019	26.06	0.055	b
PI 636614	11.88	0.035	j-n
PI 636576	11.63	0.040	l-o
PI 18154	11.90	0.050	j-m
PI 19648	11.79	0.065	ko

PI 618991	11.52	0.121	no
PI 636583	11.88	0.060	j-n
PI 636579	22.61	0.205	d
PI 632560	11.45	0.000	o
PI 636580	11.44	0.075	o
PI 632460	11.86	0.020	j-n
PI 636578	11.63	0.060	l-o
PI 655131	26.62	0.250	a
PI 618974	11.70	0.125	k-o
PI 598556	11.73	0.080	k-o
PI 598572	25.96	0.040	b
PI 598538	11.57	0.230	mno
PI 598570	22.07	0.195	fg
PI 19685	12.65	0.050	ı
PI 13111	11.97	0.205	jkl
PI 13055	12.19	0.190	j
PI 12972	11.90	0.075	j-m
PI 598577	25.48	0.235	c
PI 12936	11.86	0.064	j-n
PI 628278	26.43	0.080	a

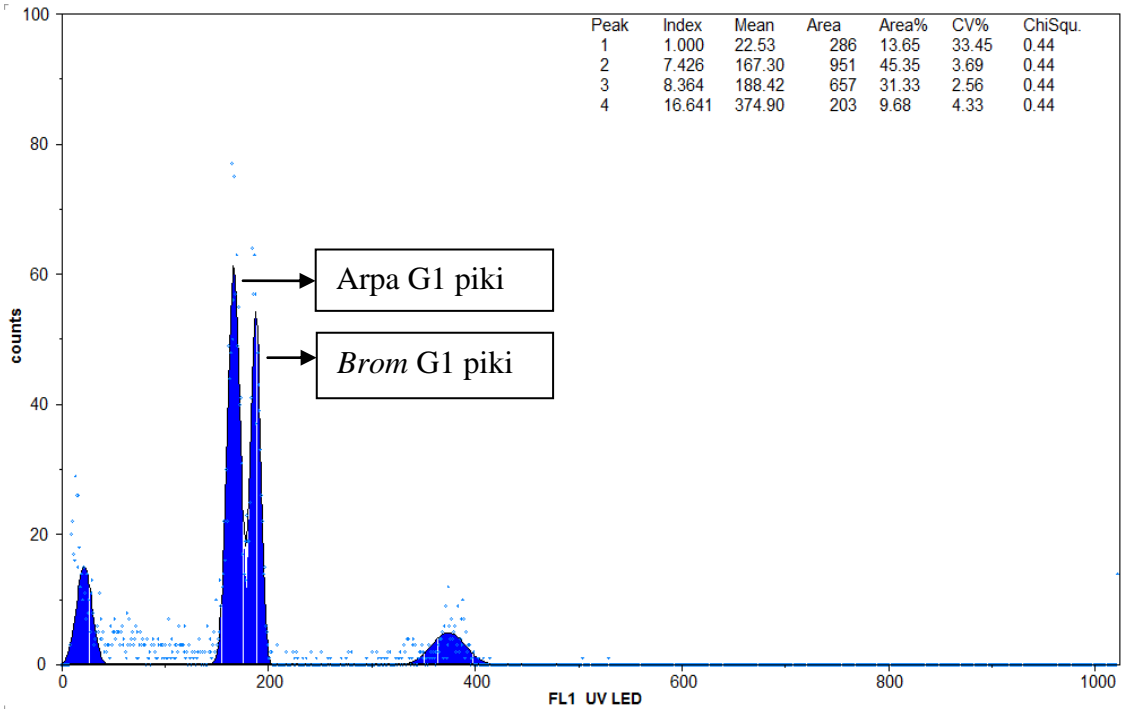
Çizelge 4.1.2'nin incelenmesinden anlaşılacağı gibi kullanılan kılçıksız brom aksesyonları arasında çekirdek DNA içeriği bakımından oluşan farklarda *Bromus inermis* L. aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriği 11.43 pg/2C ile 26.62 pg/2C arasında değişmektedir. En yüksek değer 26.62 ve 26.43 pg ile PI 655131 ve PI 628278 nolu aksesyonlarda belirlenirken, bu aksesyonu 26.06, 25.96 ve 25.48 pg ile sırasıyla PI 619019, PI 598572 ve PI 598577 nolu aksesyonlar takip etmiştir.

Araştırmada kılçıksız brom aksesyonları içinde en düşük çekirdek DNA içeriği ise aynı önemlilik gurubunda yer alan PI 598583, PI 636580 ve PI 632560 nolu aksesyonlarda sırasıyla 11.43, 11.44 ve 11.45 pg olarak saptanmıştır. Bu aksesyonları 11.52 pg ile PI 610882 ve PI 618991 nolu aksesyonlar ile PI 598588, PI 610847 ve PI 610865 (sırasıyla 11.55, 11.56 ve 11.60 pg) nolu aksesyonlar takip etmiştir.

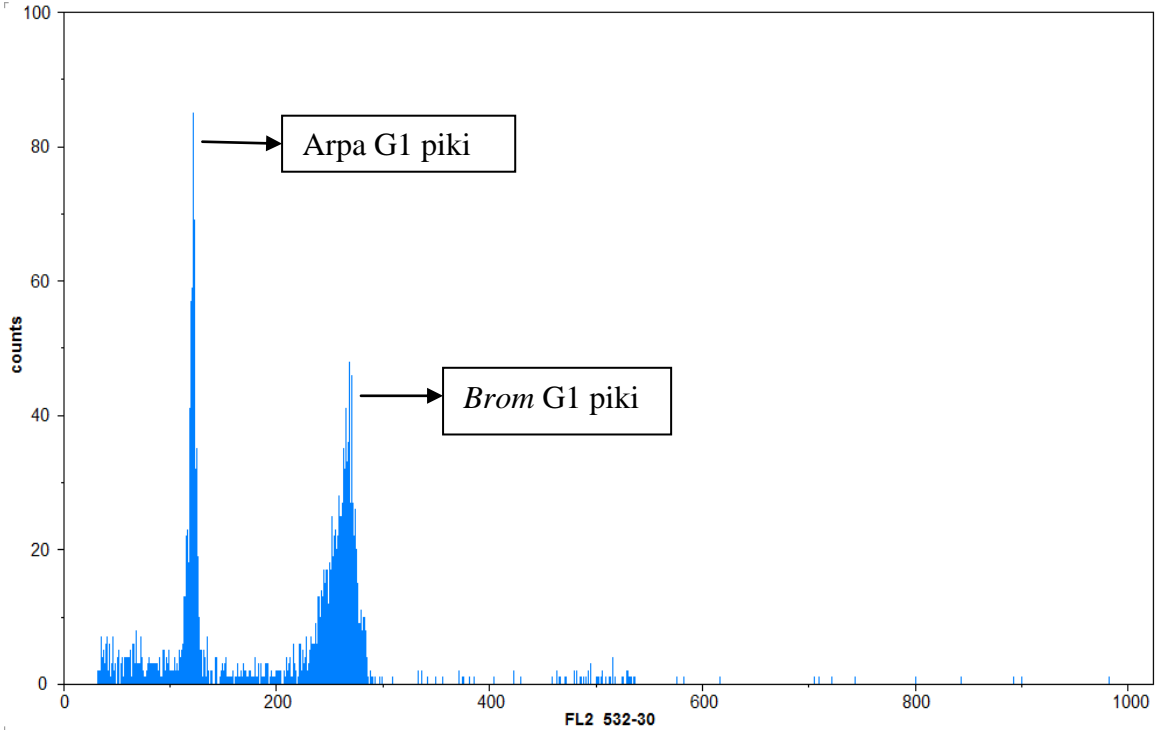
Bromus inermis L. aksesyonları çekirdek DNA içeriği bakımından çok bariz şekilde göze çarpan 3 ayrı grup oluşturmaktadır. Ortalama çekirdek DNA içeriği en düşük olan aksesyonların ortalama çekirdek DNA içeriği 11.43-12.65 pg/2C arasında değişirken, en yüksek grupta yer alan aksesyonların ortalama çekirdek DNA içeriği 25.48-26.62 pg/2C arasında değişmektedir. Orta grupta yer alan aksesyonların çekirdek DNA içeriği ise 21.45-22.77 pg/2C arasında değişmektedir. Her gruptan bir bitkiye ait flow histogramları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.1.1; 4.1.2; 4.1.3; 4.1.4; 4.1.5 ve 4.1.6).



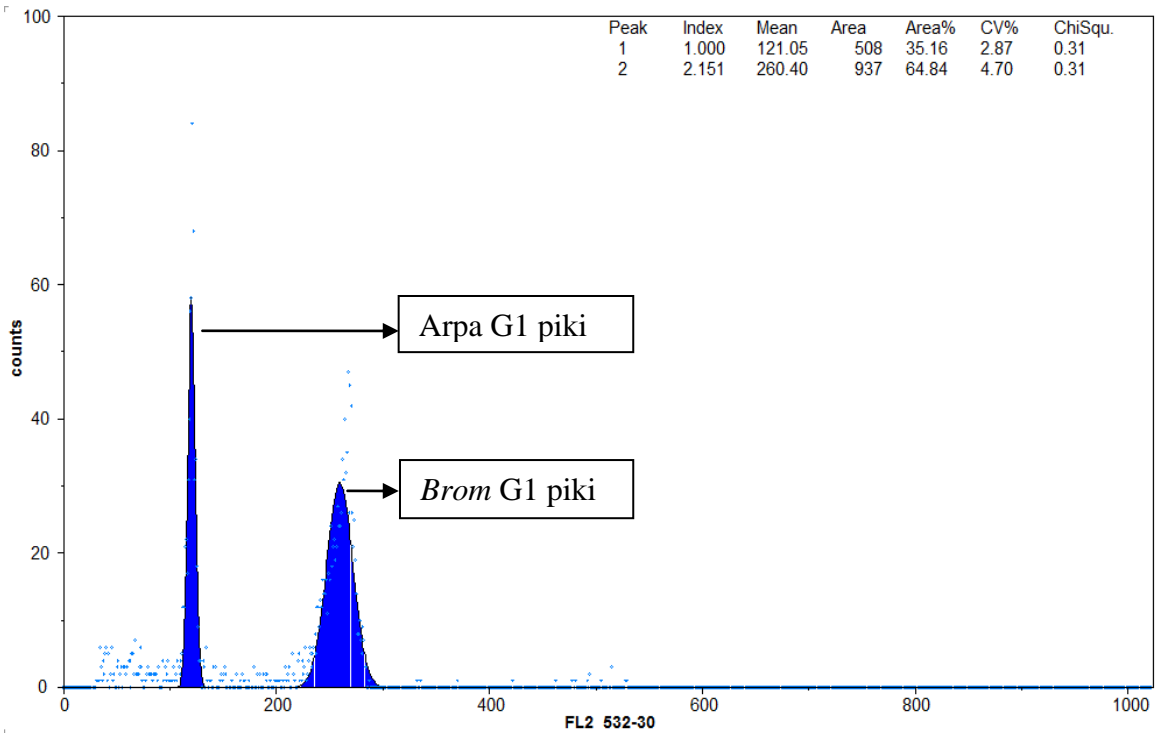
Şekil 4.1.1. Arpa ve tetraploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları



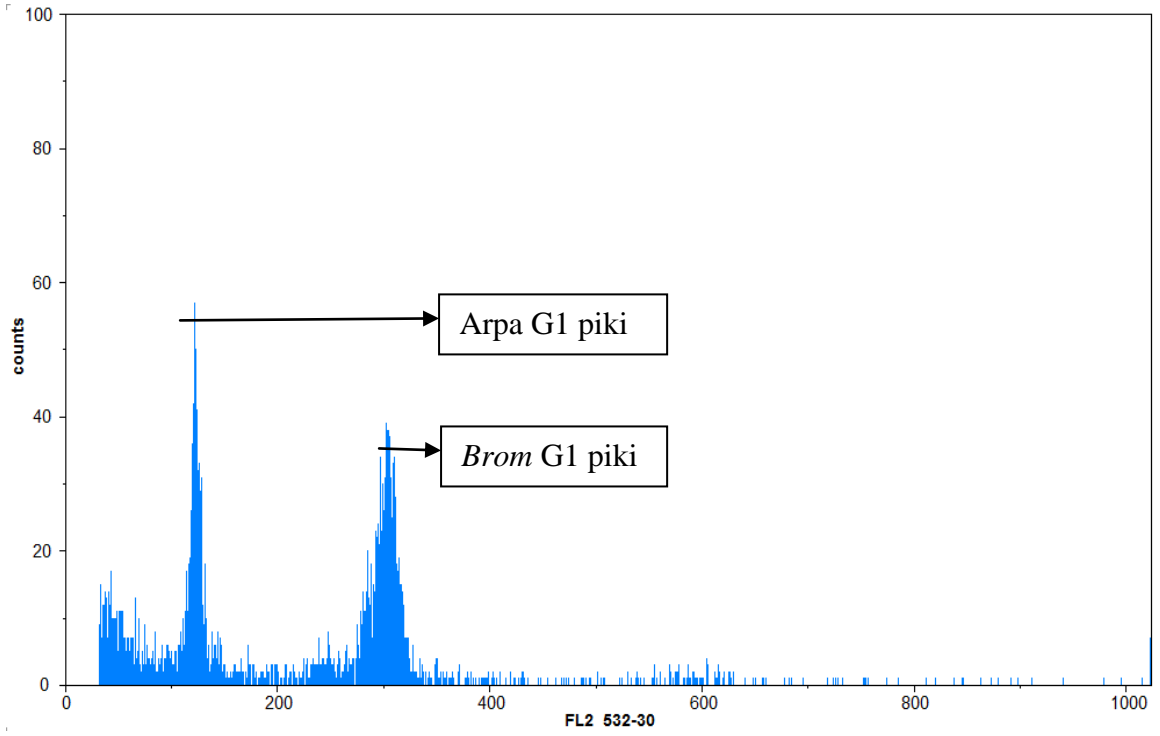
Şekil 4.1.2. Arpa ve tetraploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları



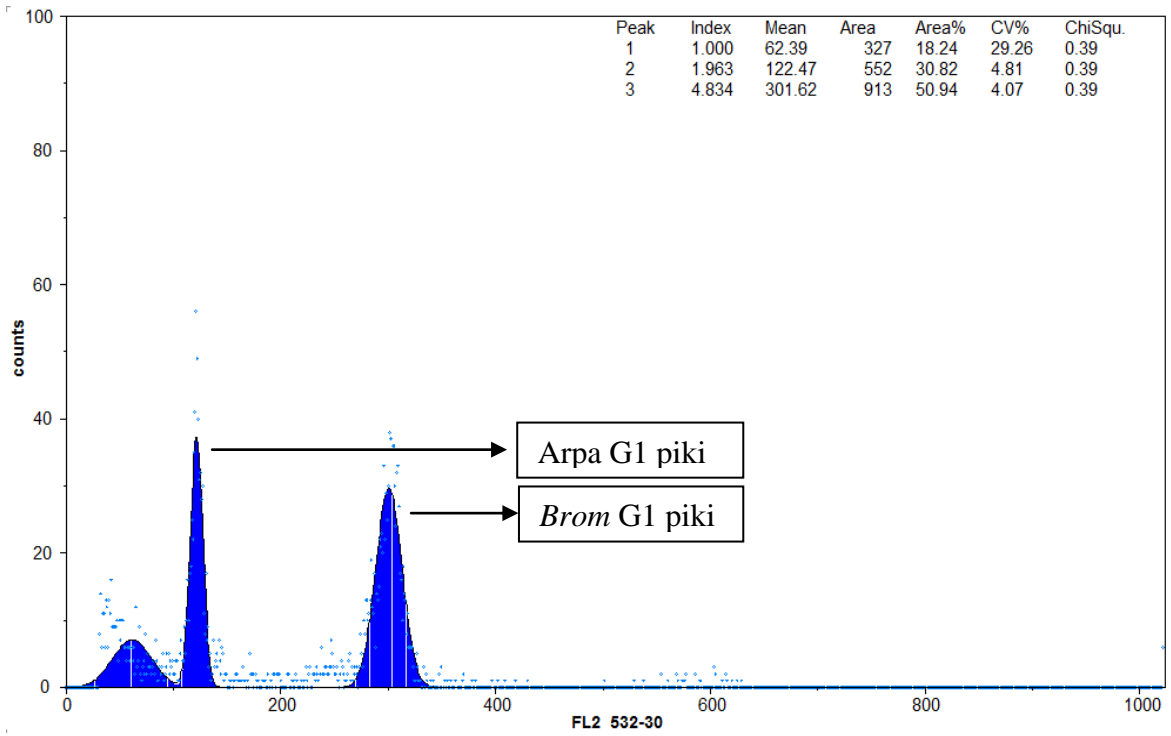
Şekil 4.1.3. Arpa ve octaploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları



Şekil 4.1.4. Arpa ve octaploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları



Şekil 4.1.5. Arpa ve decaploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları



Şekil 4.1.6. Arpa ve decaploid *Brom* G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları

Tuna (2000) ve Tuna ve ark. (2001) tetraploid *B. inermis* ssp. *inermis* ($2n=28$) için 11.74 pg $2C^{-1}$, octaploid *B. inermis* ssp. *inermis* ($2n=56$) için 22.28 pg $2C^{-1}$ değeri saptamıştır. Armstrong (1991), bitkiler içinde en geniş genom hacminin *Bromus* türleri arasında olduğunu belirterek, *B. oxyodon*'un haploid genomunda 1.92 pg DNA'dan (Her haploid genomun DNA'sının 1C değeri) *B. secalinus*'ta 3.5 pg DNA'ya kadar geniş bir varyasyona sahip olduğunu bildirmiştir.

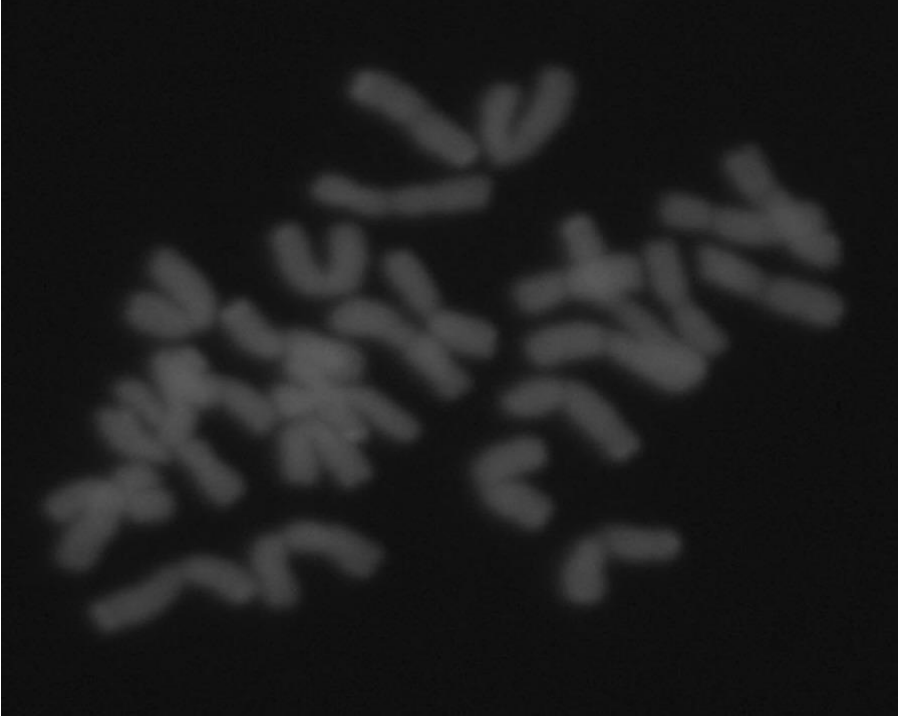
Teykin (2011), *Bromus catharticus* Vahl. aksesyonunun çekirdek DNA içeriklerini 11.79 pg $2C^{-1}$ ile 13.72 pg $2C^{-1}$ arasında değiştiğini ve heksaploid olduklarını bildirmiştir.

4.2. Kılçıksız Brom Aksesyonlarının Kromozom Sayısının Tespit Edilmesi

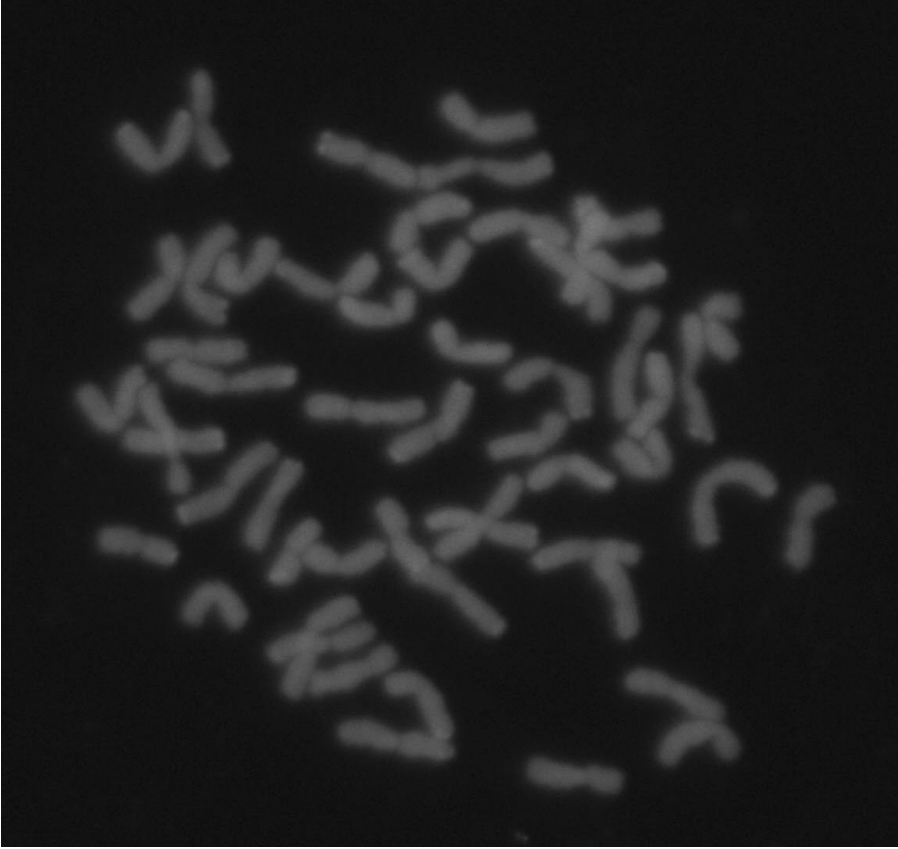
Aksesyonların çekirdek DNA içeriklerini ploidy düzeyleri ile ilişkilendirmek için her gruptan iki bitkinin mitoz kromozomları sayılmış ve ortalama çekirdek DNA içeriği bakımında en düşük, orta ve en yüksek olan grupların kromozom sayılarının sırasıyla $2n=28$, $2n=56$, ve $2n=70$ olarak belirlenmiştir (Resim 4.2.1; 4.2.2 ve 4.2.3). Daha sonra ortalama çekirdek DNA içeriği 11.43-12.65 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayısının $2n=28$, 21.45-22.77 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayılarının $2n=56$, 25.48-26.62 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayılarının $2n=70$ olduğu kabul edilmiştir.

Bromlarda temel kromozom sayısının $X=7$ olmasından dolayı, $2n=4x=28$ kromozomlu aksesyonların tetraploid, $2n=8x=56$ kromozomlu aksesyonların octaploid, $2n=10x=70$ kromozomlu aksesyonların ise decaploid olduğu kabul edilmiştir (Tuna 2000; Williams ve ark. 2011).

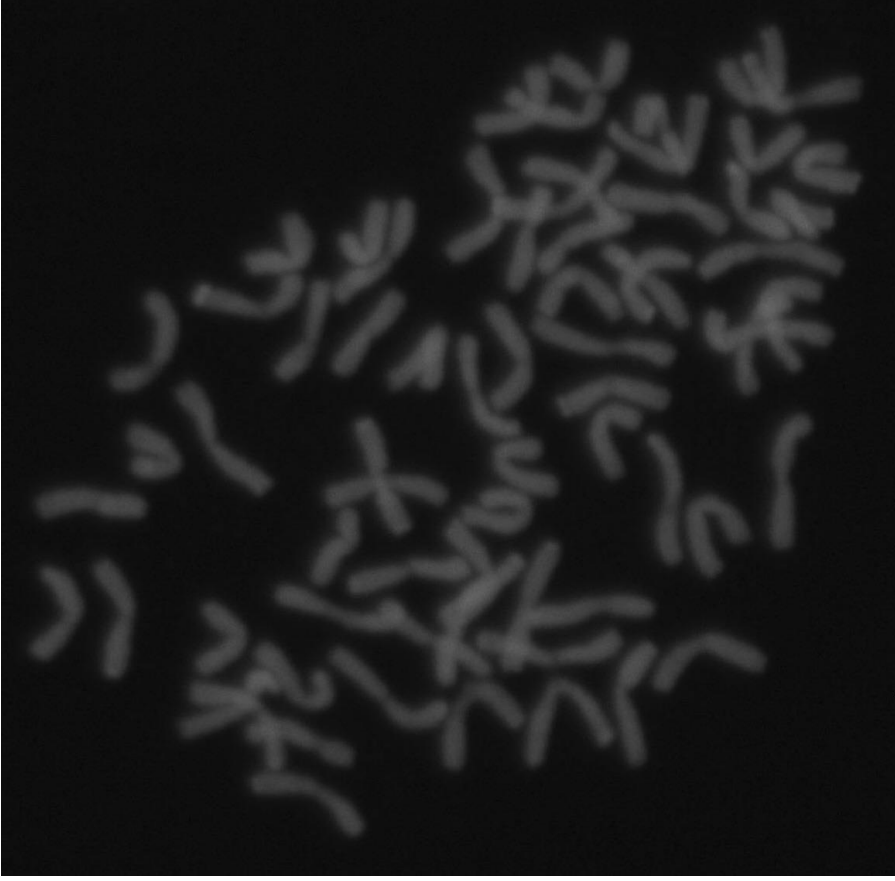
Araştırmada kullanılan kılçıksız brom aksesyonlarının tetraploid, oktaploid ve decaploid kromozom sayılarına ait resimler aşağıda sunulmuştur.



Resim 4.2.1. Tetraploid ($2n=4x=28$) *Bromus inermis L.* ait mitoz kromozomlarının görünüşü



Resim 4.2.2. Octaploid ($2n=8x=56$) *B. inermis L.* ait mitoz kromozomlarının görünüşü



Resim 4.2.3. Decaploid ($2n=10x=70$) *Bromus inermis* L. ait mitoz kromozomlarının görünüşü

Yapılan analiz sonuçlarına göre; aşağıdaki tablodan da görüleceği üzere 48 *B.inermis* L. aksesyondan 33 aksesyondun tetraploid (Resim 4.2.1), 10 aksesyondunun octaploid (Resim 4.2.2) ve 5 aksesyondunun ise decaploid (Resim 4.2.3) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar daha önce Tuna ve ark. (2001) flow sitometri ile *Brom* aksesyondlarının ploidisini belirlediği çalışmalarında elde edilen sonuçlar ile büyük bir benzerlik göstermektedir. Aynı şekilde, Hill ve Myners (1948) araştırmasında kullandığı 193 kılçıksız brom bitkisinin 192'sinin $2n=8x=56$ kromozoma (oktaploid) sahip olduğunu bildirmektedir. Sigurbjörnsson ve ark. (1957) kılçıksız brom aksesyondlarının biri hariç (49 kromozom) kromozom sayılarının 54, 55, 57 ve 58 olduğunu, kuzey tiplerinin 56'dan büyük, güney tiplerinin ise 56'dan küçük kromozom sayısına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Mirzaie-Nodoushan ve ark. (2006)'da farklı brom türleri ile yaptıkları araştırmalarında kılçıksız brom popülasyonlarının $2n=56$ kromozoma sahip olduğunu saptanmışlardır. Tuna (2000), *Bromus* cinsindeki türlerin kromozom sayılarını belirlediği çalışmasında, kılçıksız brom için tetraploid

($2n=4x=28$) ve oktaploid ($2n=8x=56$) kromozom sayıları bildirdiği araştırması bulgularımızı destekler durumdadır.

4.3. Kılçıksız Brom Aksesyonlarının Ploidi Seviyeleri

Elde edilen çekirdek DNA içeriği verilerinin değerlendirilmesi ve yapılan kromozom sayımı sonucunda kılçıksız brom aksesyonlarının ploidi seviyeleri Çizelge 4.3.1'de gösterildiği biçimde belirlenmiştir.

Çizelge 4.3.1. Kılçıksız brom aksesyonlarının ploidi seviyeleri

Aksesyon No	Ploidi Seviyesi
PI 18223	Tetraploid
PI 598588	Tetraploid
PI 598583	Tetraploid
PI 598585	Tetraploid
PI 598579	Tetraploid
PI 598586	Tetraploid
PI 25093	Octaploid
PI 21403	Octaploid
PI 598581	Tetraploid
PI 655222	Octaploid
PI 655218	Octaploid
PI 584449	Octaploid
PI 636615	Tetraploid
PI 655721	Tetraploid
PI 610855	Tetraploid
PI 598592	Tetraploid
PI 642844	Octaploid
PI 642845	Octaploid
PI 619004	Octaploid
PI 610847	Tetraploid
PI 610865	Tetraploid

PI 610882	Tetraploid
PI 610869	Tetraploid
PI 619019	Decaploid
PI 636614	Tetraploid
PI 636576	Tetraploid
PI 18154	Tetraploid
PI 19648	Tetraploid
PI 618991	Tetraploid
PI 636583	Tetraploid
PI 636579	Octaploid
PI 632560	Tetraploid
PI 636580	Tetraploid
PI 632460	Tetraploid
PI 636578	Tetraploid
PI 655131	Decaploid
PI 618974	Tetraploid
PI 598556	Tetraploid
PI 598572	Decaploid
PI 598538	Tetraploid
PI 598570	Octaploid
PI 19685	Tetraploid
PI 13111	Tetraploid
PI 13055	Tetraploid
PI 12972	Tetraploid
PI 598577	Decaploid
PI 12936	Tetraploid
PI 628278	Decaploid

Tuna ve ark. (2001), DNA içeriklerinin farklı ploidy seviyelerini temsil ettiklerini gösterdiğini bildirmişlerdir. Tetraploid, octaploid ve decaploid aksesyonların nükleer DNA içeriğinin diploid aksesyonlardan yaklaşık olarak 2, 4 ve 5 defa daha büyük olduğunu belirtmişlerdir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tezde, 48 kılçıksız brom (*Bromus inermis* L.) aksesyonunun, flow sitometri yöntemi kullanılarak çekirdek DNA içeriklerinin, ploidi seviyelerinin ve kromozom sayılarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yapılan flow sitometri analizleri sonucunda, çekirdek DNA içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli ($P<0.01$) farkların olduğu belirlenmiştir. *Bromus inermis* L. aksesyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriği 11.43 pg/2C ile 26.62 pg/2C arasında değişmektedir. En yüksek çekirdek DNA içeriği 26.62 ve 26.43 pg ile PI 655131 ve PI 628278 nolu aksesyonlarda belirlenirken, en düşük çekirdek DNA içeriği ise aynı önemlilik gurubunda yer alan PI 598583, PI 636580 ve PI 632560 nolu aksesyonlarda sırasıyla 11.43, 11.44 ve 11.45 pg olmuştur.

Çekirdek DNA içeriği 11.43-12.65 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayısının $2n=28$, 21.45-22.77 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayılarının $2n=56$, 25.48-26.62 pg/2C arasında değişen tüm aksesyonların kromozom sayılarının $2n=70$ olduğu kabul edilmiştir. Bu kromozom sayıları mikroskopta gözlemlenerek doğrulanmaktadır.

Sonuç olarak, kromozom sayısı bilinmeyen 48 kılçıksız brom aksesyonundan 33 aksesyonun tetraploid ($2n=4x=28$), 10 aksesyonun octaploid ($2n=8x=56$) ve 5 aksesyonun ise decaploid ($2n=10x=70$) olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, araştırmada kullanılan 48 kılçıksız brom aksesyonu ile yapılacak ıslah çalışmalarında araştırmacılara zaman ve emek açısından kolaylıklar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Armstrong KC (1987). Chromosome number of perennial *Bromus* species collected in the USSR. Canadian Journal of Plant Science, 67: 267-269.
- Armstrong KC (1991). Chromosome evolution in *Bromus*. p: 363-317. In T. Tsuchiya, and T.K. Gupta (eds.) Chromosome Engineering in Plants: Genetics, breeding, evolution. Part B. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands.
- Armstrong KC (1992). Introgression of Germplasm from 8 x to 4 x Smooth Bromegrass. Canadian Journal of Plant Science, 72: 1255-1258.
- Arumuganathan K, Tallury SP, Fraser ML, Bruneau AH, Qu R (1999). Nuclear DNA content of Thirteen turfgrass species by flow cytometry. Crop sci. 39:1518-1521.
- Bennett MD, Smith JB (1976). Nuclear DNA amounts in angiosperms. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 274:227-276.
- 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. (London) 86:859-909.
- Brummer EC, Cazcarro PM, Luth D, (1999). Ploidy determination of alfalfa germplasm accessions using flow cytometry. Crop sci. 39:1202-1207.
- Ceccarelli M, Falistocco E, Cionini PG (1992). Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. Theor Appl Genet. 83:273-278.
- Cerbah M, Mortreau E, Brown S, Sijak-Yakovlev S, Bertrand H, Lambert C (2001). Genome size variation and species relationships in the genus *Hydrangea*. Theor Appl Genet. 103:45-51.
- Chooi WY (1971). Variation in nuclear DNA content in the genus *Vicia*. Genetics. 68:195-211.
- Collier, J.,L. (2000). Flow Cytometry and The single cell in Phycology, Journal of Phycology, 36: 628-644. doi:10.1046/j.1529-8817.2000.99215.x.
- Demirel, D. (1995). Flow Stimetrik DNA analizinin Temel Prensipleri, Türk patoloji Dergisi, 11(2): 64-65.
- Gould FW, Shaw RB (1983). Grass Systematics. 2nd ed. Texas A&M Univ. Press, College Station, TX.
- Elçi Ş (1982). Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, 165 s, Elazığ.
- Hill HD, Myers WM (1948). Chromosome number in *Bromus inermis* Leyss. Journal of The American Society of Agronomy, January 27, p: 466-469.

- Heslop-Harrison JS (1995). Flow cytometry and genome analysis. *Probe* 5:14-17.
- Huff DR, Palazzo AJ (1998). Fine fescue species determination by laser flow cytometer. *Crop Sci.* 38: 2, p. 445-45.
- Hultquist SJ, Vogel KP, Lee DJ, Arumuganathan K, Kaepler S (1997). DNA content and chloroplast DNA polymorphisms among accessions of switchgrass from remnant Midwestern prairies. *Crop Sci.* 37:595-98.
- Johnson PG, Riordan TP, Arumuganathan K (1998). Ploidy level determinations in buffalograss clones and populations. *Crop Science*, 38:478-482.
- Johnson PG, Kenworthy KE, Auld DL, Riordan TP (2001). Distribution of buffalograss polyploid variation in the southern great plains. *Crop sci.* 41:909-913.
- Joachimiak A, Kula A, Sliwinska E, Sobieszczanska A (2001). C-banding and nuclear DNA amount in six *Bromus* species. *Acta Biol Cracov Ser Bot*, 43, 105-115.
- Karaboz, İ., Kayar., E., Akar, S. (2008). Flow Sitometri ve Kullanım Alanları, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* (Eski adı: OrLab OnLine Mikrobiyoloji Dergisi) 06(2): 01-18 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080201.pdf.
- Karp A (1991). Cytological techniques. P. C4:1-13. In K. Lindsey (ed.) *Plant tissue culture manual*. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands.
- Lu K, Kaepler SM, Vogel KP, Arumuganathan K, Lee DJ (1998). Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass. *Great Plains Research* 8 (Fall 1998): 269-80.
- Mirzaie-Nodoushan H, Dehghanshoar M, Maddah-Arefi H, Asadi-Corom F (2006). Karyotip characteristics of several *Bromus* species. *International Journal of Agriculture & Biology*, 8 (6): 717-720.
- Narayan RKJ (1987). Nuclear DNA changes, genome differentiation and evolution in *Nicotiana (Solanaceae)*. *Pl. Syst. Evol.* 157:161-180.
- Rayburn AL, Auger JA, Benzinger EA, Hepburn AG (1989). Detection of intraspecific DNA content variation in *Zea mays* L. By flow cytometry. *J. Exp. Bot.* 40:1179-1183.
- Rees H, Walter MR (1965). Nuclear DNA and the evolution of wheat. *Heredity.* 20:73-82. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, İzmir.
- Serin Y, Tan M (2009). Brom (*Bromus sp* L.). Yembitkileri (Buğdaygil ve Diğer Familyalardan Yembitkileri) Cilt III. s:593-610,
- Sigurbjörnsson B, Mochizuki A, Truscott JD (1957). Studies on the ctology of bromegrass, *Bromus inermis* Leyss. *Canadian Journal of Plant Science*, 38 (January), p: 111-117.
- Sheidai M, Saeidi S, Nourozi M, Fadaei F (2008). Karyotype Analysis in Fourteen Species and Varieties of the Genus *Bromus* L. (Poaceae). *Cytologia* 73(4): 453-461.

- Srivastava S, Lavania UC (1991). Evolutionary DNA variation in *Papaver*. *Genome*. 34:763-768.
- Swift H (1950). The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 36 (11): 643-654.
- Teykin EE (2011). Flow sitometri ile *Bromus catharticus* Vahl. aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerinin belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 30 sayfa, Tekirdağ.
- Tuna M (2000). Molecular cytogenetic characterization of bromegrasses. *ETD collection for University of Nebraska - Lincoln*. Paper AAI9962069. <http://digitalcommons.unl.edu/dissertations/AAI9962069>
- Tuna M, Vogel KP, Arumuganathan K, Gill KS (2001). DNA content and ploidy determination of bromegrass germplasm accessions by flow cytometry. *Crop Science*, Vol. 41, p: 1629-1634, September–October.
- Tuna M, Vogel KP, Gill KS, Arumuganathan K (2004). C-Banding Analyses of *Bromus inermis* Genomes. *Crop Science*, Vol. 44, p:31-37, January–February.
- Tuna M, Teykin E, Buyukbasar A (2007). Nuclear DNA content and ploidy determination of *Dactylis* germplasm accessions using flow cytometer” Eucarpia Conference, Proceedings of XIXth Congress of Fodder Crops and Amenity Grasses, Kopenhag, Denmark.
- Tuna M (2009). Bitkilerde Çekirdek DNA İçeriğinin Flow Sitometri İle Belirlenmesi ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanım Alanları. Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt I, Sunulu Bildiriler, 683-687, 19-22 Ekim, Hatay.
- Tuna M (2014). Flow sitometri ve tarımsal araştırmalarda kullanımı. II. Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda kullanımı Eğitim Programı. Tekirdağ.
- Verloove F (2012). A revision of *Bromus* section *Ceratochloa* (pooideae, Poaceae) in Belgium. *Dumortiera*, 100: 30-45.
- Verma SC, Rees H (1974). Nuclear DNA and the evolution of allotetraploid *Brassica*. *Heredity*. 33:61-68.
- Williams WM, Stewart AV, Williamson ML (2011). *Bromus* (Chapter 2). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Millets and Grasses*. Kole, C. (Ed.), XXIV, 318p. 59 illus., Hardcover. ISBN: 978-3-642-14254-3. <http://springer.com/978-3-642-14254-3>.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Tavşanlı/Kütahya’da doğdu. İlkokulu Balıköy beldesinde, lise ve orta öğrenimini Tavşanlı İmam Hatip Lisesinde tamamladı. 2001-2005 yıllarında Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2005-2006 yıllarında Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Tezsiz Yüksek Lisansını bitirdi. 2006-2009 yıllarında Dershane Öğretmenliği görevinde bulundu. 2013 yılında Çalışma ve İş Kurumu Tekirdağ İl Müdürlüğü’ne atandı. Halen aynı Kurumda Memur olarak görev yapmaktadır.

Rukiye GÜLCÜ