

**BAZI DİPLOİD *DACTYLIS L.*  
TAXONLARININ SİTOLOJİK OLARAK  
KARAKTERİZASYONU**

**Aslı BÜYÜKBAŞAR**

**Yüksek Lisans Tezi  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Metin Tuna**

**2010**

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI DİPLOİD *DACTYLIS AL.* TAXONLARININ SİTOLOJİK  
OLARAK KARAKTERİZASYONU**

**Aslı BÜYÜKBAŞAR**

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Metin TUNA**

**TEKİRDAĞ-2010**

**Her hakkı saklıdır**

Doç. Dr. Metin TUNA danışmanlığında, Aslı BÜYÜKBAŞAR tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından. Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. İsmet BAŞER *İmza :*

Üye : Doç.Dr. Metin TUNA *İmza :*

Üye : Yard. Doç. Dr. İlker NİZAM *İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 03/12/2010 tarih ve 43/07 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fatih KONUKCU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### **BAZI DİPLOİD *DACTYLIS L.* TAXONLARININ SİTOLOJİK OLARAK KARAKTERİZASYONU**

Aslı BÜYÜKBAŞAR

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Doç.Dr. Metin TUNA

Bu araştırmanın amacı, *Dactylis L.* cinsi içerisinde yer alan diploid taksonların genomlarını sitogenetik metotlar ile karakterize etmektir. Bu amaçla çalışmada kullanılmak üzere cins içerisinde yer alan hemen hemen tüm diploid taksonların en az 2 aksesyon ile temsil edildiği bir *Dactylis* genetik kaynak koleksiyonu oluşturulmuştur. Oluşturulan bu koleksiyon içerisinde yer alan tüm aksesyonların çekirdek DNA içerikleri flow sitometri metodu ile ilk defa bu çalışmada belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar aksesyonların ploidy düzeylerinin teyit edilmesi ve taksonların genomlarını karakterize etmek amacıyla kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; analiz edilen *Dactylis* aksesyonları arasında 2C çekirdek DNA içeriği 5.12 pg (*D. glomerata subs woronovi*, PI 310393) ile 3.65 pg (*D. masai*) arasında değişim göstermiştir. Yapılan sitogenetik incelemelere göre *Dactylis* kromozomları morfolojik olarak median ile submedian arasında değişirken, taksonların satellite kromozom sayısının ise 1 ile 3 arasında değiştiği saptanmıştır. Ancak kromozomların morfolojik olarak benzer olmalarından dolayı klasik yöntemler (Feulgen ve asetokarmın metodu) ile *Dactylis* kromozomlarının teşhis edilerek taksonların genom yapı ve ilişkilerinin incelenmesinde yararlı olabilecek karyotiplerin eldesi mümkün olamamıştır. Bu sebeple *Dactylis* mitoz kromozomlarının teşhisinde kromozom bantlama ve in situ hibridizasyon gibi tekniklerden yararlanma gereği vardır.

Yürütülen bu tez çalışması kapsamında yapılan çekirdek DNA içeriği analizi sonuçları bakımından *Dactylis* taksonları arasında büyük bir varyasyonun gözlenmesi (1.47 pg) cinsin içerisinde farklılaşmanın (speciation) başladığını ancak varyasyonun süreklilik (continuous type) gösteren bir varyasyon olması ve kromozom düzeyinde belirgin farklılıkların henüz

süreç olduğunu söylemek mümkündür. Diğer taraftan bu süreklilik gösteren varyasyon cinsin içerisindeki taksonların birbirleri ile hala kolayca melezlenebilmelerinden dolayı aralarında fazla miktarda genetik materyal değişimi yaptıklarını da işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çekirdek DNA Analizi, *Dactylis*, Flow Sitometri, Karyotip

**2010, 63 Sayfa**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### THE CYTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SOME DIPLOID *DACTYLIS L.* TAXONS

Aslı BÜYÜKBAŞAR

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Main Science Division of Fields Crops

Supervisor : Assoc. Prof. Metin TUNA

The objective of this study is to characterize genomes of the diploid taxons included in the genus *Dactylis* using cytogenetic techniques. In the beginning of the project, a large collection of *Dactylis* was established including at least two accessions for each diploid taxons. Nuclear DNA content of each *Dactylis* accessions was determined using flow cytometry for the first time in this study. The information was used to determine ploidy of the accessions and to understand their genome structure. Based on the results of nuclear DNA content analysis, 2C nuclear DNA content of the accessions varied between 5.12 pg (*D. glomerata subs woronovi*, PI 310393) and 3.65 pg (*D. masai*). Karyotypic investigations also were carried out on some *Dactylis* taxons using classical methods (Feulgen or acetocarmine method). Based on those results, *Dactylis* chromosomes varied from median to submedian while the number of satellite chromosomes varied between 1 and 3 pairs. Due to morphological similarities of the chromosomes, it was not possible to identify each chromosomes using classical methods and pair them with their homologs to make informative karyotypes. However, more informative *Dactylis* karyotypes can be produced by using chromosome banding and floresan in situ hybridization techniques.

In conclusion, the results of nuclear DNA content study indicates that differentiation (speciation) within the genus *Dactylis* already started due to large variation (1.47 pg) in nuclear DNA content amount among the taxons used in the study. In addition to this, the results also indicate that the speciation process is not complete yet and therefore, they can still

content variation among *Dactylis* taxons is a continuous type of variation. The absence of clear differences in karyotypes of the taxons also support the teory.

**Key Words:** *Dactylis*, Flow Cytometry, Karyotype, Nuclear DNA Content Analysis

**2010, 63 Pages**

## SİMGELER DİZİNİ

pg	Pikogram
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ml	Mililitre
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum Sülfat
mg	Miligram
PI	Propidium iyodit
μ	Mikron
μm	Mikrometre



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. (a,b,c)	Diploid <i>Dactylis</i> taxonlarının G1 pikleri ile <i>Vicia sativa</i> (standart) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	13
Şekil 4.2. (a,b,c)	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp judaica</i> (ABY-Bc 4800-1980U, 1 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	21
Şekil 4.3.	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp marei</i> (ABY-Bc 6106-1975U, 2 nolu populasyon) mitoz kromozom ve karyotipi	22
Şekil 4.4.	<i>Dactylis glomerata</i> L. forma <i>galicia</i> (ABY-Bc 6977-1979U, 4 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi	23
Şekil 4.5. (a,b)	<i>Dactylis glomerata</i> subsp <i>woronowii</i> (ABY-Bc 4355-1983U, 8 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	24
Şekil 4.6.	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp himalayensis</i> (20 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi	25
Şekil 4.7. (a,b)	<i>Dactylis glomerata subsp lusitanica</i> (26 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	26
Şekil 4.8. (a,b,c)	<i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (PI 314081, 46 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	29
Şekil 4.9. (a,b,c)	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (PI 310393, 47 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	31
Şekil 4.10. (a,b,c)	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp lobata</i> (PI 283242, 58 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	33
Şekil 4.11. (a,b,c,d)	<i>Dactylis glomerata subsp himalayensis</i> (PI 295271, 64 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	35
Şekil 4.12. (a,b,c,d)	Diploid <i>Dactylis glomerata subsp juncinella</i> (PI 418678, 66 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	38
Şekil 4.13. (a,b)	<i>Dactylis glomerata subsp juncinella</i> (PI 237601, 67 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	40
Şekil 4.14. (a,b,c,d)	<i>Dactylis glomerata</i> (GR 10643/97, 70 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	42
Şekil 4.15. (a,b)	<i>Dactylis glomerata</i> (GR 10666, 79 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	44

Şekil 4.16.	<i>Dactylis glomerata</i> subsp woronowii (GR 11803/81, 80 nolu	45
(a,b)	populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri	
Şekil 4.17.	<i>Dactylis glomerata</i> (GRA 712/81, 84 nolu populasyon) mitoz	47
(a,b)	kromozomları ve karyotipleri	
Şekil 4.18.	Diploid <i>Dactylis glomerata</i> subsp woronowii (GRA 1/81, 85 nolu	48
	populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi	

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Çalışma için oluşturulan <i>Dactylis</i> genetik kaynak koleksiyonunda yer alan <i>Dactylis</i> taxonlarının adı ve ploidy düzeyleri	7
Çizelge 4.1.	Çekirdek DNA analizinde kullanılan diploid <i>Dactylis</i> aksesyonlarının pikogram olarak 2C çekirdek DNA içerikleri.	14
Çizelge 4.2.	Diploid <i>Dactylis</i> aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerine ait varyans analiz tablosu	17
Çizelge 4.3.	Diploid <i>Dactylis</i> aksesyonlarının Çekirdek DNA içeriklerine göre gruplandırılması	18

# İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
SİMGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b>	2
<b>3. MATERYAL VE METOT</b>	7
3.1. Materyal	7
3.2. Metot	7
3.2.1. Tohumların çimlendirilmesi ve fidelerin elde edilmesi	7
3.2.2. Çekirdek DNA analizi	8
3.2.3. Karyotip analizleri	9
3.2.3.1. Bitki kök uçlarının elde edilmesi ve muamelesi	9
3.2.3.2. Tespit	10
3.2.3.3. Preparatların hazırlanması	10
3.2.3.4. Kromozom boy ve kol uzunluklarının ölçülmesi	11
3.2.3.5. Kromozom teşhisi ve karyotip yapımı	11
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b>	12
4.1. Flow Sitometri Bulguları	12
4.2. Karyotip Analizi Bulguları	19
4.2.1. <i>Dactylis glomerata subsp judaica</i> (ABY-Bc 4800-1980U, 1 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	19
4.2.2. <i>Dactylis glomerata subsp marei</i> (ABY-Bc 6106-1975U, 2 nolu populasyon) mitoz kromozom ve karyotipi.	21
4.2.3. <i>Dactylis glomerata L. forma galicia</i> (ABY-Bc 6977-1979U, 4 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.	22
4.2.4. <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (ABY-Bc 4355-1983U, 8 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve	23

karyotipleri.	
4.2.5. Diploid <i>Dactylis glomerata subsp himalayensis</i> (20 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.	25
4.2.6. <i>Dactylis glomerata subsp lusitanica</i> (26 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	25
4.2.7. <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (PI 314081, 46 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	27
4.2.8. <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (PI 310393, 47 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	29
4.2.9. <i>Dactylis glomerata subsp lobata</i> (PI 283242, 58 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	31
4.2.10. <i>Dactylis glomerata subsp himalayensis</i> (PI 295271, 64 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	33
4.2.11. Diploid <i>Dactylis glomerata subsp juncinella</i> (PI 418678, 66 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	36
4.2.12. <i>Dactylis glomerata subsp juncinella</i> (PI 237601, 67 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	39
4.2.13. <i>Dactylis glomerata</i> (GR 10643/97, 70 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	40
4.2.14. <i>Dactylis glomerata</i> (GR 10666, 79 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	43
4.2.15. <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (GR 11803/81, 80 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	44
4.2.16. <i>Dactylis glomerata</i> (GRA 712/81, 84 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.	46
4.2.17. Diploid <i>Dactylis glomerata subsp woronowii</i> (GRA 1/81, 85 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.	47
<b>5. SONUÇ</b>	49
<b>6. KAYNAKLAR</b>	50
<b>7. TEŞEKKÜR</b>	53

## 1.GİRİŞ

Oldukça zor ve zaman alan çeşit geliştirme çalışmalarının başarıya ulaşabilmesi, ıslah edilecek türün biyoloji, taksonomi, genetik ve evrimi hakkında doğru ve yeterli bir bilgi birikimini gerektirmektedir. Bu tür bilgi birikiminin olmadığı durumlarda bitki türleri ile ilgili ıslah yönteminin seçimi ve uygulanmasında birçok sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Bu durum ıslahçı ve araştırmacıların zaten kıt olan kaynaklarının (maddi kaynak, zaman ve emek) ziyan olmasına sebep olabilmektedir. Yem bitkileri ıslahının diğer kültür bitkilerine oranla daha geride olmasının bir sebebi de yem bitkisi türlerine ait temel bilgi birikiminin (genetik, genom yapıları, genom ilişkileri, evrim, fizyoloji, ekoloji, agronomi ve benzeri) ihtiyaç duyulan düzeye henüz ulaşamamış olmasıdır.

Ülkemiz doğal mera alanlarının dominant bir bitkisi olan domuz ayrığı (*Dactylis* L.) taksonları (alt tür) ülkemiz ile birlikte Avrupa, Yakın Doğu ve Akdeniz çevresinin doğal bitkileridir. Cinsin önemli bir türü olan *Dactylis glomerata* L. sahip olduğu özellikler nedeniyle, dünyanın birçok bölgesinde önemli bir çayır-mera bitkisidir. Domuz ayrığı sahip olduğu agronomik özellikler ve performansı nedeniyle bozulmuş çayır ve meralarımızın ıslahı ve kuru ot üretiminde kullanılabilecek en önemli bitkilerden birisidir.

Bu güne kadar yapılmış olan araştırma sonuçlarına göre *Dactylis* cinsinin çoğu diploid ( $2n=2X=14$ ) ve tetraploid ( $2n=2x=28$ ) olan yaklaşık 25 taksonu içeren sadece bir türden oluştuğu düşünülmektedir. Cinsin tanımlanmış taksonomik birimleri arasında belirgin morfolojik farklılıkların olmayışı ve her birimin coğrafi dağılışının kesin olmaması cinsin klasik yöntemler ile taksonomik sınıflandırmasını güçleştirmektedir. Dolayısıyla cinsin içerisinde yer alan taxonların taksonomi, genom yapısı ve ilişkileri günümüzde tartışılmaktadır. Bu nedenle *Dactylis* L. taksonlarını nispeten daha yeni olan genom analiz yöntemleri ile tanımlamak gerekmektedir.

Bu çalışmada amacımız flow sitometri metodu kullanılarak *Dactylis* taksonlarının çekirdek DNA içeriklerini belirlemek ve elde edilen bilgiyi taksonların ploidi ve genom karakterizasyonunda ilk defa kullanmak ve bazı taksonlar için klasik (asetokarmin) yöntemler ile karyotipler elde etmektir.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

Domuz ayrığı bazı tarım sistemlerinde iyi mevsimsel dağılıma ve yüksek yem verimine sahip olması ile tanınan birçok yıllık serin mevsim buğdaygil yem bitkisi türüdür (Borril 1991). Bitki yaprak bakımından zengin olup, 100-160 cm boylanabilmekte ve yumak oluşturmaktadır (Löve 1969, Gençkan 1983, Serin ve Gökkuş 1989, Açıköz 1991). Bitkinin doğal populasyonları arasında büyük bir varyasyon mevcut olup, varyasyon çoğunlukla ot verimi ve fenolojik karakterlerden kaynaklanmaktadır (Tuna ve ark. 2004). Serin mevsim buğdaygilleri arasında erken baharda gelişmeye başlayan biçmeye, gölgeye ve kurağa en dayanıklı türlerden biridir ( Norris and Thomas 1982). Domuz ayrığı Avrupa ülkeleri, ABD Avustralya ve Yeni Zelanda da bu üstün özellikleri nedeniyle mera tesisinde günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Miller 1984). Japonya ve Yeni Zelanda gibi bazı ülkelerde en önemli buğdaygil yem bitkilerinden birisidir (Santen ve Sleper 1996). Yalnız batı Avrupa ülkelerinden Hollanda da daha az bir öneme sahipken Fransa'nın güneyindeki Pyrenees dağları ve İsviçre'nin Jura dağlarında bulunan çayır ve meralarda yaygın olarak yetiştirilmektedir (Rossi ve ark. 1992 , Jans ve Troxler 1992). Buğdaygil yem bitkileri türleri arasında ülkemiz şartlarına en iyi adapte olmuş, yüksek performanslı türlerdendir (Altın ve ark. 2005).

İlk olarak ünlü çek botanikçi Karel Domin (1943) türün yer aldığı *Dactylis* cinsinin taksonomi ve evrimine ilişkin bilgi ile bu bitkinin ıslahı arasındaki ilişkinin önemli olduğunu belirtmiştir. Domin (1943) ilk defa farklı taksonomik birimlerin (tür ya da alttürler) muhtemelen farklı ekonomik değerlere sahip olabileceğini ifade etmiştir. Bu da Orta Avrupa'da domuz ayrığı üzerine yapılan araştırmalarda bu bitkinin ekonomik önemi ile ilgili çelişkili araştırma sonuçlarını anlaşılır kılmaktadır. Domin (1943), bu tür çalışmaların bitki tiplerini belirleyip, bu stabil formları morfolojik olarak tanımladıktan sonra yapılmasının daha yerinde olacağını belirtmiştir. Diğer taraftan Borril (1991) sınıflandırma gerçekleştirildikten sonra, *Dactylis* cinsinde olduğu gibi, kolay bir şekilde melezlenebilen türlerde doğru genotiplerin açıkta tozlanmasını sağlayarak ve daha sonra uygun seleksiyon tekniklerinin doğru bir şekilde kullanılmasıyla yüksek performansa sahip populasyonların kolayca geliştirilebileceğini bildirmiştir.

*Dactylis* (*Poaceae*) cinsi çoğu diploid ( $2n = 2x = 14$ ) ve tetraploid ( $2n = 2x = 28$ ) olan yaklaşık 25 tür veya alt tür olarak tanımlanan taksonomik birimi içermektedir (Lumaret 1988). Onbeş diploid ( $2x$ ) *Dactylis* alttürü' nün beş tanesi için tetraploid tiplerinin de var

olduğu belirlenmiştir (Santen ve Sleper, 1996). Yakın zamanlarda da *ibizensis*, *juncinella*, ve *smithii* alt türleri içinde tetraploid (4x) tiplerin varlığı rapor edilmiştir (Santen ve Sleper 1996). Bu araştırmalar sonucunda şu ana kadar tetraploid tiplerinin varlığı bildirilmemiş olan diğer diploid alttürlerinde henüz rapor edilmemiş tetraploid (4x) formlarının olabileceği düşünülmektedir. *Dactylis* cinsi içerisinde sadece *hispanica* alttürünün tetraploid (4x) ve hexaploid (6x) formlarının olduğu belirlenmiştir. Tetraploidler dünyanın ılıman bölgelerine geniş bir şekilde yayılmış iken diploidler çevre şartlarının değişimi sonucu bazı bölgelerden çekilerek yok olmak zorunda kalmışlar, bu yüzden de lokal olarak dağılım göstermektedirler. Hexaploidler ise bu güne kadar sadece Ceyreanaica da iki lokal bölgede ve Mısır'ın batısında gözlenmiştir (Borril 1991).

*Dactylis* cinsi içerisinde tanımlanmış taksonomik birimler arasında genetik sınırlar her zaman tam değildir ve morfolojik farklılıklar her zaman sitolojik farklılıklar ile ilişkili olmayabilmektedir (Mizianty 1991a). Hatta bazı sympatric (aynı coğrafik bölgede karışım halinde yaşamlarını sürdüren) diploid ve tetraploid *Dactylis* bitkilerini morfolojilerine bakarak birbirinden ayırt etmenin neredeyse olanaksız olduğu bildirilmektedir (Lumaret ve Barrientos 1990). Morfolojik farklılıkların olmayışı ve her bir taksonomik birimin coğrafi olarak dağılımının kesin olarak bilinmiyor olması cinsin taksonomik sınıflandırmasını son derece güçleştirmektedir (Mizianty 1986 ve 1991b). Diploid *D. glomerata subsp. aschersoniana* ve *subsp. glomerata*'nın filogenetik olarak yakın ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bazı sitolojik bulgulara göre *subsp. glomerata* ya *subsp. aschersoniana*'nın farklı genomlarına sahip oldukça heterozigot bir autopoliploid (Mizianty 1991b) ya da bir genomunun *subsp. aschersoniana*'dan olup diğerinin orijini belli olmayan bir allotetraploid olduğu sanılmaktadır (Wetschnig 1983 ve Mizianty 1991b). Bununla beraber araştırma sonuçlarının çoğu domuz ayrığının autotetraploid olduğunu işaret etmekte olup yakın zamanda bu sonuçlar kloroplast DNA polimorfizmi ile de doğrulanmıştır (Lumaret ve ark. 1989).

Bir bitkinin ayrı bir tür olarak sınıflandırılabilmesi için, genetik izolasyonu ve adaptasyonu ile birlikte farklı fenotipik özelliklere sahip olması da gereklidir (Borril 1991). *Dactylis* cinsine bu açıdan yaklaşınca türlerin morfolojik olarak birbirlerine benzemesi, birçok türün doğada genelde bir arada bulunuyor olmaları ve birbirleriyle kolayca melezlenebilmeleri cinsin speciationun (yeni türlerin oluşumu) henüz tamamlanmadığının bir delili olabilir. Öte yandan, Murray (2005) yeni türlerin oluşumunda hücre çekirdeği içerisinde bulunan DNA miktarının bitki morfolojisinden daha önce farklılaştığını bu yüzden de, eğer bir tür içerisinde çekirdek DNA içeriği farklılığı belirlenmişse bunun tür içerisinde



taksonomik çeşitliliğin ve yeni bir tür oluşum sürecinin varlığını gösteren bir delil olabileceğini belirtmiştir. Çekirdek DNA miktarı hem bir bitkinin hücreleri arasında, hem de 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 (yaklaşık 1000 kat) farklılıklar gözlenmektedir (Cavalier ve Smith 1985). Bu nedenle, çekirdek DNA içeriği bilgisi taksonomik ve evrim çalışmaları için son derece yararlıdır (Rees ve Walters 1965, Southern 1967, Price ve Bachmann 1975, Ohri 1998, Tuna ve ark. 2001b, Özkan ve ark. 2003, Budak ve ark. 2004).

Bu gün itibarıyla literatürde *Dactylis* cinsi içerisinde yer alan türlerden sadece tetraploid *D. glomerata*'nın çekirdek DNA içeriğine dair bilgiler mevcuttur. Ancak, değerler bir birlerinden farklı olup, raporlarda *D. glomerata*'nın çekirdek DNA içeriğinin 12.4 (Schifino ve Winge 1983), 11.2 (Creber ve ark. 1994), 8.6 (Vilhar ve ark. 2002), 8.3 (Greilhuber ve Baranyi 1999) ile 6.4 pg (Horjales ve ark. 1995) arasında değişmektedir. Vilhar ve ark. (2002) göre tetraploid *Dactylis*'in çekirdek DNA içeriğine ait değerler arasındaki bu yaklaşık iki kata varan farkın kullanılan metotlar arasındaki fark, insan hatası ve türün bireyleri arasındaki kromozom veya genetik farklılıklar gibi gerçek bir biyolojik varyasyondan kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir. Bununla beraber, Tuna ve ark. (2004a), Trakya bölgesinden toplamış oldukları 57 ayrı *Dactylis* populasyonundan seçilmiş 342 tek bitkinin çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri metodu kullanarak ayrı ayrı analiz ederek bölgede yetişen domuz ayrığı bitkilerinin çekirdek DNA içeriklerine ait ortalama değeri  $9.57 \text{ pg} \pm 0.33$  olarak bildirmişlerdir. Tuna ve ark. (2004a) tetraploid *Dactylis glomerata* için saptanmış çekirdek DNA içeriği değerleri arasındaki yaklaşık iki kata kadar ulaşan bu varyasyonun kaynağının, cins tarafından kapsanan tüm taksonların çekirdek DNA analizlerinin aynı metot kullanılarak aynı laboratuarda yapılması ve bitkilere ait karyotiplerin incelenmesi ile daha iyi anlaşılabilceğini bildirmişlerdir.

Bütün bunlara ilave olarak, Creber ve ark. (1994) ve Reeves ve ark. (1998) deniz seviyesinden yüksekliğin *Dactylis glomerata* genomunun hacmi (çekirdek DNA içeriği) üzerine etkisi olup olmadığını araştırmışlar ve araştırmalarında genom hacmi ile yükseklik arasında negatif bir korelasyon olduğunu saptamışlardır. Bu sonucu da, yüksek bölgelerde iklimin nispeten daha sert ve vejetasyon süresinin daha kısa olmasından dolayı bitkilerin vegetatif ve generatif gelişmelerini daha kısa sürede tamamlayabilmeleri için küçük genomun doğal seleksiyon için bir avantaj oluşturuyor olabilir şeklinde yorumlamışlardır. Benzer bir çalışmada ise Vilmar ve ark. (2002) deniz seviyesinden yükseklik ile *Dactylis* genom hacmi

arasında herhangi bir ilişki saptayamamışlardır. Değişik araştırmacılar tarafından değişik bitki türleri üzerinde gerçekleştirilen benzer çalışmalarda birbiri ile uyuşmayan benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu sebeple yükseklik ve diğer iklim koşullarının genom hacmi üzerine olan etkisi bu gün bir tartışma konusu olmaktadır (Cavallini ve ark. 1993, Graham ve ark. 1994, Bennett ve Leitch 1995, Singh ve ark. 1996, Greilhuber 1998, Temsch ve Greilhuber 2000, Bennett 2000, Greilhuber 2005).

Bitkilerin taksonomik sınıflandırılmalarında karşılaşılan güçlüklerin aşılması ve genom yapılarının incelenmesinde sıkça başvurulanan diğer bir metot ise karyotip analizleri olup bu güne kadar çok sayıda cins ve türde bu amaçlar için yaygın olarak kullanılmıştır (Gill ve Kimber 1974, Lavania ve Sharma 1980, Mizianty 1985, Fominaya ve ark. 1988, Badaeva et al. 1990, Friebe et al. 1996, Badaeva et al. 1998, Bauchan ve Hossain 1999, Linc et al. 1999, Tuna ve ark. 2001a ve 2004b).

Bununla birlikte *Dactylis* cinsi üzerinde yapılmış olan karyotip çalışmaları birkaç tane ile sınırlıdır. Karyotip çalışmalarında kromozom teşhislerinin doğru bir şekilde yapılmasını sağlayan ve dolayısıyla bu tür çalışmaları kolaylaştıran ve güvenilirliğini arttıran kromozom bantlama teknikleri ise bir çalışma dışında cins üzerinde hiç uygulanmamıştır. Yapılmış olan bu çalışmalara göre *Dactylis* kromozomları farklı uzunluklara sahip iken, sentromerin kromozom üzerindeki lokasyonunun da oldukça değişken olduğu gözlenmiştir (Wetschnig 1983 ve Mizianty 1991b). Bu bilgilere ek olarak bu gün *D. glomerata subsp. glomerata* alt türünün dört çift satellit kromozomuna (Wetschni 1983 ve Mizianty 1991b) diploid *D. glomerata subsp. aschersoniana* alt türünün ise iki çift satellit kromozomuna sahip olduğu saptanmıştır (Wetschnig 1983). Hatipoğlu ve ark. (1992) Çukurova Üniversitesi kampüsünden toplanan domuz ayrığı bitkileri üzerinde yaptığı sitolojik çalışmalarda dört çift satellit kromozom saptamıştır. Hatipoğlu ve ark. (1992) yaptıkları bu çalışmada elde ettikleri karyotipin daha önce rapor edilmiş olan *D. glomerata subsp. glomerata* karyotipine çok benzediğini fakat bu sonucun *Dactylis* türlerinin bilinen yayılım alanları ile çeliştiğini saptamış ve bu konunun açıklığa kavuşturulabilmesi için benzer çalışmaların daha kapsamlı olarak yapılmasının yararlı olacağını söylemişlerdir. Öte yandan, Türkiye’de sadece tetraploid domuz ayrığı bitkilerinin (Hatipoğlu ve ark. 1992, Tosun ve ark. 1999, Tuna ve ark. 2004a) varlığı rapor edilmiş olup bu sonuçlar bazı bölgelerde diploidlerin de bulunduğunu ileri süren literatür (Lumaret 1988) bilgileri ile çelişmektedir. Tuna ve ark. (2004) bu araştırma sonuçlarının diploid *Dactylis* türlerinin değişen çevre şartları sonucu yok olarak Türkiye de ya

tamamen yok olduklarını ya da miktarlarının yapılan bu çalışmalarda ortaya çıkmayacak kadar azalmış olabileceğinin bir işareti olabileceğini söylemişlerdir.

*Dactylis* cinsi üzerinde bu güne kadar DNA markörleri ile yapılan analizler ise daha da sınırlı sayıda olup sadece bazı lokal populasyonlar ve birkaç kültür çeşidi arasındaki genetik çeşitliliğin karakterizasyonu amacıyla kullanımından ibarettir (Kölliker ve ark. 1999 ve Tuna ve ark. 2004a). Bildiğimiz kadarıyla literatürde, bu metotların *Dactylis* türlerinin filogenetik ilişkilerinin incelenmesinde kullanıldığına dair bir bilgi şu an itibarıyla mevcut değildir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışmada toplam olarak 40 adet diploid *Dactylis* aksasyonu (Çizelge 3.1.) kullanılmıştır. Kullanılan aksasyonlar IPK (Gaterslaben, Almanya), IBER (Aberystwyth, İngiltere), Western Regional Plant Introduction Station (Pulmann, Washington, ABD) gibi araştırma enstitülerinin bünyelerinde bulunan gen bankalarından temin edilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Çalışma için oluşturulan *Dactylis* genetik kaynak koleksiyonunda yer alan *Dactylis* taxonlarının adı ve ploidy düzeyleri

Alt tür (taxon) adı	Ploidy düzeyi
1. <i>Dactylis glomerata subsp glomerata</i>	Diploid (2n = 14)
2. <i>Dactylis glomerata subsp himalayensis,</i>	Diploid (2n = 14)
3. <i>Dactylis glomerata subsp lobalata</i>	Diploid (2n = 14)
4. <i>Dactylis glomerata subsp polygama</i>	Diploid (2n = 14)
5. <i>Dactylis glomerata subsp smithi</i>	Diploid (2n = 14)
6. <i>Dactylis glomerata subsp parthiana</i>	Diploid (2n = 14)
7. <i>Dactylis glomerata subsp forma galicia</i>	Diploid (2n = 14)
8. <i>Dactylis glomerata subsp slovenica</i>	Diploid (2n = 14)
9. <i>Dactylis glomerata subsp marei</i>	Diploid (2n = 14)
10. <i>Dactylis glomerata subsp hispanica</i>	Diploid (2n = 14)
11. <i>Dactylis glomerata subsp judaica</i>	Diploid (2n = 14)
12. <i>Dactylis glomerata subsp woronovii</i>	Diploid (2n = 14)
13. <i>Dactylis glomerata subsp ibizensis</i>	Diploid (2n = 14)
14. <i>Dactylis glomerata subsp aschersoniana</i>	Diploid (2n = 14)
15. <i>Dactylis glomerata subsp marine</i>	Diploid (2n = 14)
16. <i>Dactylis glomerata subsp lusitanica</i>	Diploid (2n = 14)
17. <i>Dactylis glomerata subsp santai</i>	Diploid (2n = 14)
18. <i>Dactylis glomerata subsp castellata</i>	Diploid (2n = 14)

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Tohumların çimlendirilmesi ve fidelerin elde edilmesi

Her bir aksasyon için yaklaşık olarak 30-40 adet tohum içerisinde bir tabaka çimlendirme kağıdı bulunan plastik petri kaplarına yerleştirilmiş ve üzerleri bir tabaka daha çimlendirme kağıdı yerleştirilmek suretiyle örtülmüştür. Daha sonra petri kabı içerisine önceden hazırlanmış olan captain (Captan WP 50%, 250gr/100lt) solüsyonu ilave edilerek çimlendirme kağıtları ıslatılmış ve petri kapları 20 °C ye ayarlanmış bir çimlendirme kabini içerisinde çimlenmeye bırakılmıştır. Petri kapları çimlendirme işlemi süresince belli aralıklar ile kontrol edilmiş ve ihtiyaç halinde su ilavesi yapılmıştır.

Çimlenme işleminin tamamlanmasından sonra her aksesyon için sağlıklı ve iyi gelişmiş olan 10 adet fide içerisinde 1/3 oranında toprak, torf ve dere kumu bulunan saksılara şaşırtılmış ve analiz edilene kadar serada yetiştirilmiştir.

### **3.2.2. Çekirdek DNA analizi**

Çekirdek DNA analizi, laboratuvar çalışmalarında kullanılmak üzere her aksesyon için yetiştirilmiş olan 10 fideden elde edilen taze yaprak dokuları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz her aksesyon için 10 tek bitki üzerinde yapılmış ve ortalama alınarak aksesyonun çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Ancak bazı aksesyonlarda çimlenme çok düşük olduğu için tüm tohumların kullanılmasına rağmen 3-5 taneden fazla fide elde edilememiştir. Bu gibi aksesyonlarda elde edilen tüm fideler analiz edilmiş ve analiz edilen fide sayısının ortalaması alınmıştır.

Analizde kullanılan çekirdeklerin izolasyonu Arumuganathan ve Earle (1991) tarafından tanımlanan metod kullanılarak Tekirdağ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Sitogenetik Laboratuvarında yapılmıştır. Çekirdekler ertesi gün Trakya Üniversitesi, Edirne Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarında bulunan Coulter marka flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilmişlerdir. Çekirdek DNA içeriğinin hesaplanmasında standart olarak 3.35pg DNA içeriğine sahip olan adi fiğ (*Vicia sativa*) bitkileri kullanılmıştır. Çekirdek izolasyonunda kullanılan protokol aşağıdaki gibidir.

Kullanılan solusyonlar

Solusyon A

20 ml MgSO<sub>4</sub> buffer

20 mg Dithiothreitol

500 µl PI stok

550 µl TritonX-100 stok

Solusyon B

5 ml solusyon A

10 µl RNase, DNase free

### Çekirdek izolasyonu prosedürü

1. Serada yetişmekte olan 4-5 haftalık ve sağlıklı bitkilerden taze yaprak dokuları (yaklaşık 50-60 mg) elde edilir.
2. Elde edilen bitki dokuları, içinde buz bulunan bir kap üzerindeki petri kabına yerleştirilir.
3. Petri kabına 1 ml (A) solusyonundan ilave edilir ve bitki dokuları sıvı içerisinde keskin bir bıçak veya jilet yardımıyla çok küçük parçalara ayrılanaya kadar parçalanır.
4. Elde edilen solusyon üzerinde 30-33 µm lik nylon mesh bulunan mikro-santrifüje transfer edilerek filtre edilir.
5. Mikro-santrifüj tüpleri yüksek hızda kısa bir süre santrifüj edilir ve tüp içerisindeki sıvı boşaltılır.
6. Mikro-santrifüj tübü dibinde oluşan tortu 400 µm B solusyonu içerisinde çözülür.
7. Örnekler 37 °C de 15 dakika inkübe edilir.
8. Örnekler flow sitometri aleti ile analiz edilir

Flow sitometri analizi sonucunda her örneğin çekirdek DNA içeriği aşağıdaki formül kullanılarak pg olarak hesaplanmıştır.

**Çekirdek DNA içeriği:** (bilinmeyen örneğin florasan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)) / (standardın florasan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)) X standardın pikogram olarak bilinen DNA içeriği

### 3.2.3. Karyotip analizleri

Karyotipler, bitki kök uçlarında bulunan ve hızlı bölünme gösteren (meristem) hücrelere sahip dokular kullanılarak ezme yöntemiyle hazırlanmış slaytlar üzerinde morfolojisi düzgün ve iyi dağılmış mitoz kromozomlarına sahip hücrelerin fotoğrafları kullanılarak elde edilmiştir.

#### 3.2.3.1. Bitki kök uçlarının elde edilmesi ve muamelesi

Bitki kök uçları saksılarda büyümekte olan ergin bitkilerden elde edilmiştir. İyi bir preparat elde edebilmek için kullanılan kök ucu dokularının hızlı bölünen hücreler içermesi gerekmektedir. Bu tür kök uçları da çevre şartlarının (besin maddesi, sıcaklık, su, ve ışık) uygun olduğu ortam ve zamanlarda elde edilebilmektedir. Kontrollü seramız olmadığı için

kök ucu elde etmede kullandığımız bitkiler dışarıda doğal şartlarda yetiştirilmiştir. Bu yüzden sitolojik çalışmalara uygun kök uçları ancak baharda (15 Nisan-15 Mayıs) elde edilebilmiştir. Bu tarihten önce veya sonra hasad edilen kök uçlarının sıcaklığın düşük veya yüksek olmasından dolayı çok az veya hiç bölünen hücre içermediği görülmüştür. Kök ucu hasadı sabah 8 ile 10 arasında yapılmıştır. Saksıların dibinde beyaz görünümlü hızlı büyüyen kök uçları keskin bir alet ile kesilerek hemen içerisinde 8-hydroxyquinoline bulunan kaplara yerleştirilerek yaklaşık 20 saat kadar 4<sup>0</sup>C de muamele edilmiştir.

### **3.2.3.2. Tespit**

Şişe içerisindeki 8-hydroxyquinoline solüsyonu damıtılmış su ile değiştirilmek suretiyle kök uçları iyice yıkanmıştır. Son yıkamadan sonra boşaltılan suyun yerine kök uçlarının bulunduğu şişe içerisine yeni hazırlanmış olan Farmer çözeltisi ( 3 kısım % 99 luk etanol + 1 kısım glacial asetik asit) doldurulmuştur. Kök uçları böylece tespit edilmiş olur. Tespit edilmiş olan kök uçları 2-3 gün oda şartlarında bekletildikten sonra uzun süre depolanabilecekleri ve sıcaklığın 2-4 <sup>0</sup>C civarında bulunduğu bir soğutucu içerisine transfer edilmiştir. Kök uçları böyle bir ortamda özelliklerini kaybetmeden yaklaşık 2-3 ay gibi bir süre korunabilmektedir.

### **3.2.3.3. Preparatların hazırlanması:**

Preparat yapmada kullanılacak olan kök uçları boyanmak amacıyla tespit çözeltisinden çıkarılarak içerisinde bir miktar asetokarmin boyası bulunan küçük şişelere transfer edilmiş ve en az 3 saat süre ile boyamaya bırakılmıştır. Preparat hazırlamaya başlamadan önce şişe içerisindeki asetokarmin boyası kaynama noktasına gelene kadar kısaca ısıtılmıştır. Boya solüsyonu yeterince soğuduktan sonra boyanan kök uçlarından bir tanesi şişe içerisinden çıkarılarak lam üzerine yerleştirilmiş ve kalıptıra kısmı jilet yardımı ile kesilerek uzaklaştırılmıştır. Kökün geri kalan kısmının uç kısmı bir miktar öz sıvısı çıkana kadar bir pens ile hafifçe bastırılmak suretiyle ezilmiştir. Bu öz suyu üzerine küçük bir damla %45'lik asetik asit damlatılmıştır. Bu damla üzerine jilet yardımıyla lamel yerleştirilmiş ve arkası düz bir kurşun kalem ile lamel üzerine hafifçe vurarak ezme işlemi yapılmıştır. Ardından lameli kaydırmadan jilet alınmış, lamel etrafından taşan fazla sıvı bir kağıt mendil ile temizlenmiş ve birkaç defa daha kalem ile vurularak ezme işlemine devam edilmiştir. Daha sonra preparat ispirto ocağında hafifçe ısıtıldıktan sonra kromozomların aynı düzlemde olması için lamel kaydırılmadan başparmak ile kuvvetlice bastırılarak preparat mikroskop ile incelemeye hazır hale getirilmiştir.

#### **3.2.3.4. Kromozom boy ve kol uzunluklarının ölçülmesi**

Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 marka mikroskop ile gözlenmiştir. Dağılım ve boyut bakımından düzgün, iyi boyanmış kromozomlara sahip hücrelerin resimleri mikroskoba bağlı olan Spot marka CCD dijital kamera yardımı ile çekilmiştir. Çekilen bu fotoğraflar üzerinde kameranın paket programı kullanılarak kromozomların kol ve boy uzunlukları mikron düzeyinde ölçülüp orijinal fotoğraflar üzerine yazılarak her aksesyon için kromozom ve kol uzunluklarını gösteren tablolar hazırlanmasında kullanılmıştır.

#### **3.2.3.5. Kromozom teşhisi ve karyotip yapımı**

Çekilen fotoğraflar üzerinde kromozomlar morfolojilerine göre teşhis edilip, homolog kromozomlar eşleştirildikten sonra Adobe Photoshop bilgisayar paket programı kullanılarak her aksesyon için karyogram ve idiogramlar yapılmıştır.



## 4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

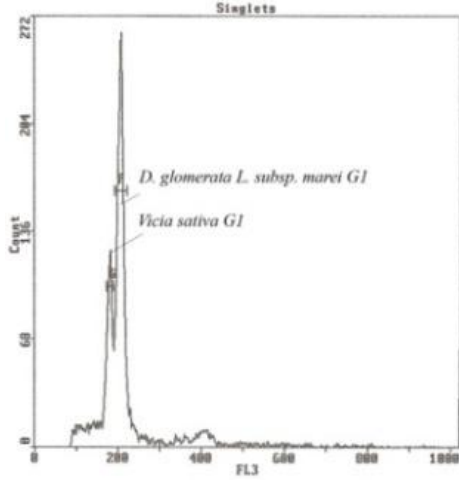
### 4.1.Flow Sitometri Bulguları

Araştırmada kullanılan diploid *Dactylis* aksesyonlarına ait çekirdek DNA içeriği (genom hacmi) miktarları Çizelge 4.1.'de, ve onlardan 3 tanesine ait flow histogramları Şekil 4.1.'de, sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre araştırmada kullanılan diploid *Dactylis* aksesyonları arasında 2C çekirdek DNA içeriği 5.12 pg (*D. glomerata subs woronovi*, PI 310393) ile 3.65 pg (*D. masai*) arasında değişim göstermektedir.

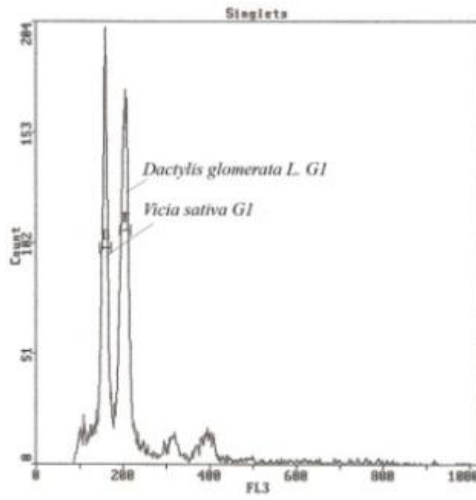
Bu gün itibarıyla literatürde *Dactylis* cinsi içerisinde yer alan türlerden sadece tetraploid *D. glomerata*'nın çekirdek DNA içeriğine dair bilgiler mevcuttur. Ancak, değerler bir birlerinden farklı olup, raporlarda *D. glomerata*'nın çekirdek DNA içeriğinin 12.4 (Schifino ve Winge, 1983), 11.2 (Creber ve ark., 1994), 9.57 (Tuna ve ark., 2004), 8.6 (Vilhar ve ark., 2002), 8.3 (Greilhuber ve Baranyi, 1999) ile 6.4 pg (Horjales ve ark., 1995) arasında değişmektedir. Vilhar ve ark., (2002) göre tetraploid *Dactylis*'in çekirdek DNA içeriğine ait değerler arasındaki bu yaklaşık iki kata varan farkın kullanılan metotlar arasındaki fark, insan hatası, ve türün bireyleri arasındaki kromozom veya genetik farklılıklar gibi gerçek bir biyolojik varyasyondan kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada bitki materyali olarak kullanılan diploid *Dactylis* taksonlarının çekirdek DNA içerikleri arasındaki farklılıklar daha önce rapor edilen tetraploid *Dactylis* çekirdek DNA içerikleri arasındaki farklılıkları da açıklamaktadır. Tetraploid *Dactylis* taxonları arasındaki çekirdek DNA içeriği farklılıklarının bir kısmı insan hatası, yöntem ve kullanılan standart farklılığından olması olasıdır. Ancak tetraploid *Dactylis* taxonlarının genomları aynı diploid *Dactylis* taxonun genomunun 2 kopyasının veya farklı 2 *Dactylis* taxonun genomunun birer kopyasının aynı hücre çekirdeği içerisinde bir araya gelmesi ile meydana gelmektedir. Bu nedenle diploid taksonların çekirdek DNA miktarları arasında farklılıkların bulunmasından dolayı diploid taksonların genomlarının bir araya gelmesiyle oluşan tetraploid taksonlar arasında bulunan farkın da normal karşılanması gerekmektedir.

Kök uçlarından elde edilen meristem dokuları kullanılarak yapılan preparatlar üzerinde ışık mikroskobu ile mitoz kromozomu sayımlarında tüm bitkilerin 14 kromozoma sahip oldukları gözlenmiştir. Diğer bir deyişle tüm aksesyonların diploid olduğu anlaşılmıştır.

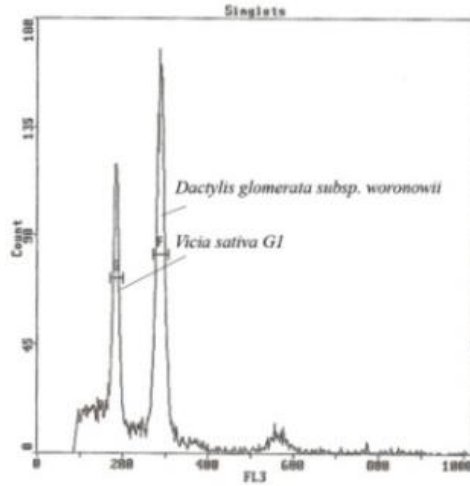
PI 283243, PI 314081, PI 418678 gibi aksesyonların 2C çekirdek DNA içerikleri bu aksesyonların saf olmayıp yüksek oranda farklı ploidy veya alt türe ait bitkileri içerdiğini göstermektedir (Çizelge 4.1.).



Şekil 4.1.a



Şekil 4.1.b



Şekil 4.1.c

Şekil 4.1.(a,b,c). Diploid *Dactylis* taksonlarının G1 pikleri ile *Vicia sativa* (standart) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları (*Vicia* ile *Dactylis* taksonlarına ait G1 pikleri arasındaki açıklığın yukarıdaki histogramdan aşağıdaki histograma doğru genişlemesi diploid *Dactylis* taksonlarının çekirdek DNA içerikleri arasındaki varyasyonun genişliğini göstermektedir).

**Çizelge 4.1.** Çekirdek DNA analizinde kullanılan diploid *Dactylis* aksesyonlarının pikogram olarak 2C çekirdek DNA içerikleri.

No	Accession no	Tür adı	Origin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
1	ABY-Bc 4800-1980U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>judaica</i> Stebbins&Zohary		4.88	4.72	4.74	4.75	4.86	4.8	4.76	4.75	4.83	4.8	4.78±0.05
2	ABY-Bc 6106-1975U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>marei</i>		3.87	3.6	3.76	3.74	3.86	3.75	3.68	3.67	3.77	3.74	3.74±0.08
4	ABY-Bc 6977-1979U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. forma <i>galicia</i>		4.3	4.2	4.35	4.38	4.19	4.2	4.23	4.31	4.25	4.29	4.27±0.06
5	ABY-Bc 5368-1982U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>parthiana</i> Borrill&Parker		4.8	4.68	4.83	4.84	5.69	4.74	4.77	4.69	4.79	4.82	4.77±0.05
6	ABY-Bc 5196-1979U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>ibizensis</i> Stebbins&Zohary		4.23	4.03	4.09	4.06	4.16	4.08	4.09	4.19	4.1	4.14	4.11±0.06
8	ABY-Bc 4355-1983U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>woronowii</i> (Ovcz.) Stebbins&Z		4.5	4.52	4.37	4.43	4.3	4.67	4.56		4.49	4.51	4.48±0.10
10	ABY-Bc 5367-1974U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>castellata</i> Borrill&Parker		3.84	3.87	3.72	3.75	3.79	3.76	3.77	3.82	3.81	3.77	3.79±0.04
11	ABY-Bc 6320-1968U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>juncinella</i> (Bory) Stebbins&Zo		3.79	3.83	3.81	3.84	3.76	3.78	4.26	3.78	3.82	3.77	3.84±0.14
12	ABY-Bc 5194-1980U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>himalayensis</i> Domin		4.45	4.33	4.43	4.39	4.43	4.47	4.42	4.4	4.36	4.45	4.41±0.04
13	ABY-Bc 4454-1982U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>santai</i> Stebbins&Zohary		4.13	3.85	3.77	3.77	3.68	3.77	3.68	3.78	3.78	3.85	3.79±0.12
14	ABY-Bc 5562-1973U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>lusitanica</i> Stebbins&Zohary		4.58	4.24	4.3	4.34	4.31	4.47		4.24	4.3	4.39	4.35±0.11
15	ABY-Bc 6425-1984U-	<i>Dactylis glomerata</i> L. subsp. <i>smithii</i> (Link) Stebbins&Zohary		4.31	4.28	4.3	4.16	4.53	4.14	4.2	4.25	4.08	4.37	4.26±0.12
18	-	<i>D. ibizensis</i>		4.13	4.12	3.97	4.15	4.1	4.16	4.06	4.06	4.14	4.13	4.1±0.05
19	-	<i>D. judicea</i>		4.86	4.68	4.73	4.81	5.19	4.83	4.89		4.73	4.72	4.82±0.15

20	-	D. himalayensis		4.41	4.42	4.34	4.47	4.39	4.42	4.34	4.37	4.41	4.46	4.44±0.04
21	-	D. masei		-----	3.66	3.4	3.4	3.73	3.73	3.7	3.69	3.79	3.78	3.65±0.14
24	-	D. parthiana		4.71	4.75	4.56	4.69	4.69	4.71	4.73	4.66	4.73	4.59	4.68±0.06
26	-	D.lusitanica		4.61	4.42	5.27	4.88	4.59	4.92	4.92	4.91	5.06	4.86	4.84±0.24
27	PI 368880	D. santai (not:77'de olabilir)		4.24	4.16	4.22	4.1	4.46	4.1	4.22	4.29	4.12	4.14	4.2±0.11
<b>46</b>	<b>PI 314081</b>	<b>Dactylis glomerata subsp. woronowii</b>	<b>Former Soviet Union</b>	<b>4.94</b>	<b>4.82</b>	<b>8.87</b>	<b>9.59</b>	<b>9.15</b>	<b>9.29</b>	<b>5.55</b>	<b>5</b>	<b>5.53</b>	<b>5.15</b>	
47	PI 310393	Dactylis glomerata subsp. woronowii	Former Soviet Union				5.44	5.25	5.12	4.98	4.86	5.19	5.01	5.12±0.19
<b>48</b>	<b>PI 283243</b>	<b>Dactylis glomerata subsp. woronowii</b>	<b>Former Soviet Union</b>	<b>5.02</b>	<b>4.9</b>	<b>5.02</b>	<b>9.29</b>	<b>9.03</b>	<b>5.12</b>			<b>4.77</b>	<b>5.1</b>	
55	PI 368880	Dactylis glomerata subsp. santai	Algeria	4.27	4.34	4.15	4.3	4.2	4.11	4.16	4.29	4.19	4.38	4.23±0.08
56	PI 237602	Dactylis glomerata subsp. lusitanica	Portugal	4.47	6.04	4.76	4.8	5.06	4.72	5.01	4.07	4.8	4.1	
58	PI 283242	Dactylis glomerata subsp. lobata	Germany	5.02	4.84	5.16	5.04	5.16	4.79	4.76	4.84	4.77	5.07	4.94±0.16
65	PI 237609	Dactylis glomerata subsp. ibizensis	Spain	4.04	4.04	4.22	4.01	4.08	4	4.39	4.01	4.06	3.91	4.07±0.13
66	PI 418678	<i>D. g. subsp juncinella</i>	Spain	<b>4.65</b>	<b>8.33</b>	<b>4.3</b>	<b>4.43</b>	<b>4.49</b>	<b>6.41</b>	<b>8</b>	<b>7.83</b>	<b>4.25</b>	<b>4.12</b>	
67	PI 237601	Dactylis glomerata subsp. juncinella	Spain	3.84	3.77	3.82	3.87	<b>3.4</b>	<b>4.14</b>	3.85	3.85	3.84	3.85	3.82±0.17
70	GT 10643\97	Dactylis glomerata		4.45	4.48	4.75	4.43	4.38	4.4	4.83	4.76	4.52	4.26	4.52±0.18
74	GR 8211\80	Dactylis polygama 'Pomar'		4.71	4.72	4.67	4.66	4.69	4.83	4.79	4.68	4.62	4.79	4.71±0.06
76	GR 11801\00	Dactylis polygama		4.37	4.36	4.52	4.42	4.51	4.43	4.42	4.41	4.45	4.4	4.42±0.05
79	GR 10666\97	Dactylis glomerata		4.72	4.73	4.66	4.63	4.61	4.79	4.72	4.71	4.76	4.66	4.69±0.05

80	GR 11803\81	Dactylis woronowii		4.71	5.04	4.77	4.94	4.79	4.81		4.73	4.72	4.94	4.82±0.11
84	GRA 712\81	İsimsiz		5.13	4.75	4.72	4.93		4.98	5.07	4.82	5.07	4.8	4.91±0.15
85	GRA 1\81	İsimsiz		4.14	4.33	4.21	4.2	4.35	4.41	4.42	4.47	4.44		4.33±0.11
89	GRA 831\99	İsimsiz		4.42	4.41	4.4	4.41	4.34						4.39±0.03
91	GR 6353\98	Dactylis glomerata ssp. himalayensis		4.97	5.12	5.25								5.11±0.14
91	GR 6353\98	Dactylis glomerata ssp. himalayensis		4.45	4.31	4.38	4.32	4.49	4.44	4.35	4.52	4.52	4.41	4.42±0.07
92	GR 1099\94	Dactylis polygama -CZE-		4.31	4.4	4.36	4.3	4.35						4.34±0.04
93	GR 1229\926	Dactylis polygama -CZE-		4.84	5.18	4.67	4.61	4.52	4.59	4.6	5.07	4.86	4.58	4.75±0.12
96	14G1000154	Dactylis polygama HORVATOVŠZKY CZE (Tosca)		4.43	4.44	4.63	4.36	4.45	4.41	4.61	4.41	4.87	4.38	4.49±0.15

TARİST istatistiki bilgisayar paket programı kullanılarak tesadüf parselleri deneme desenine göre 10 tekrarlamalı olarak yapılan analiz sonucunda çekirdek DNA içeriği bakımından farklılığın diploid *Dactylis* aksesyonlarının arasında 0.01 seviyesinde önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve 4.3.). Diploid aksesyonların çekirdek DNA içeriği ortalamalarının süreklilik (continuous type variation) arz ettiği gözlenmektedir.

Bu durum, taxonların genomlarının yeterince farklılaşmadığını işaret etmektedir. Bu yüzden de *Dactylis* taxonları birbirleriyle kolayca melezlenebildiklerini, bundan dolayı da taxonlar arasında geniş çaplı bir genetik materyal değişimi olduğunu işaret etmektedir. Diğer bir değişle *Dactylis* cinsi içerisinde speciation (yeni türlerin oluşumu) henüz tamamlanmamış ve hala devam eden bir süreçtir. Sonuçlar yeni türlerin oluşumunda, hücre çekirdeği içerisinde bulunan DNA miktarının bitki morfolojisinden daha önce farklılaştığını, bu yüzden de eğer bir tür içerisinde çekirdek DNA içeriği farklılığı belirlenmişse, bunun tür içerisinde taksonomik çeşitlilik, ve yeni bir tür oluşum sürecinin varlığını gösteren bir delil olabileceğini savunan Murray (2005)' in teorisini destekler niteliktedir.

**Çizelge 4.2.** Diploid *Dactylis* aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesapl. F	Tablo Değeri %5	%1
Varyete	37	58.635	1.585	124.152**	1.000	1.000
HATA	342	4.365	0.013			
Genel	379	63.000	0.166			

ns = önemsiz (not significant)

\* = önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %5)

\*\* = önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

**Çizelge.4.3.** Diploid *Dactylis* aksesyonlarının Çekirdek DNA içeriklerine göre gruplandırılması (Duncan testi).

GR 6353/98	<i>Dactylis glomerata ssp himalayensis</i>	5.121 a
ABY-Bc 7279-0000U	<i>Dactylis glomerata L subsp. lobata</i> (Drejer) H. Lindb	5.111 a
GR 10643/97	<i>Dactylis glomerata</i>	4.985 ab
GR 8211/80	<i>Dactylis polygama (Dactylis pomar polygama)</i>	4.945 bc
GR 7297/02	<i>Dactylis smithii</i>	4.918 bc
GR 1099/94	<i>Dactylis polygama CZE</i>	4.844 cd
GRA 191/98		4.827 cde
GR 8202/80	<i>Dactylis smithii</i> (Elite 99)	4.826 cde
GR 760/ 80	<i>Dactylis glomerata</i>	4.789 def
GR 1241 / 94	<i>Dactylis polygama</i> (pol)	4.773 def
GR 7297/02	<i>Dactylis smithii</i>	4.716 ef
ABY-Bc 6977-1979U	<i>Dactylis glomerata L forma galicia</i>	4.699 f
GRA 712/81		4.682 f
GRA 833/83		4.677 f
ABY-Bc 5368-1982U	<i>Dactylis glomerata L subsp. parthiana</i> Borril & Parker	4.526
GR 669/96	<i>Dactylis glomerata</i>	4.499 gh
GR 1087/03	<i>Dactylis glomerata ssp slovenica</i>	4.483 gh
GRA 104/92		4.429 ghi
ABY-Bc 6106-1975U	<i>Dactylis glomerata L subsp. marei</i>	4.419 ghi
ABY-Bc 5645-2004U	<i>Dactylis glomerata L subsp. hispanica</i> (Roth) Nyman	4.413 ghi
ABY-Bc 4800-1980U	<i>Dactylis glomerata L subsp. judaica</i> Stebbins & Zohary	4.403 ghi
GR 10638/96	<i>Dactylis glomerata</i>	4.393 hij
GR 1229/92b	<i>Dactylis polygama CZE</i>	4.352 ijk
GR 1276/99 (GRA 617/99)		4.342 ijk
GR 11803/83	<i>Dactylis woronowii</i>	4.330 ijk
ABY-Bc 5196-1979U	<i>Dactylis glomerata L subsp. ibizensis</i> Stebbins & Zohary	4.270 jkl
ABY-Bc 6223-1971U	<i>Dactylis glomerata L subsp. aschersoniana</i> (Graebner) Thell	4.262 kl
ABY-Bc 7213-0000U	<i>Dactylis marine</i> Borril	4.239 klm
ABY-Bc 4355-1983U	<i>Dactylis glomerata L subsp. woronowii</i> (Ovcz.) Steb & Zohary	4.205 lmn
ABY-Bc 5562-1973U	<i>Dactylis glomerata L subsp. lusitanica</i> Stebbins & Zohary	4.117 mno
ABY-Bc 4454-1982U	<i>Dactylis glomerata L subsp. santai</i> Stebbins & Zohary	4.102 no
ABY-Bc 6425-1984U	<i>Dactylis glomerata L subsp. smithii</i> (Link) Stebbins & Zohary	4.076 o
GR 6353/98	<i>Dactylis glomerata ssp himalayensis</i>	3.844 p
GRA 1/81		3.823 p
ABY-Bc 5367-1974U	<i>Dactylis glomerata L subsp. castellata</i> Borril & Parker	3.806 p
GR 1230/81	<i>Dactylis polygama</i>	3.790 p

ABY-Bc 5194-1980U	<i>Dactylis glomerata L subsp. himalayensis</i> Domin	3.744 pr
-	<i>D. masei</i>	3.653 r

#### 4.2.Karyotip Analizi Bulguları

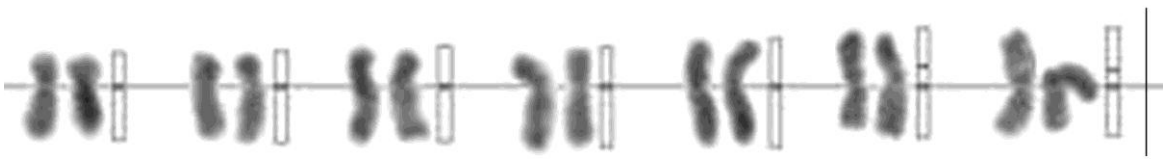
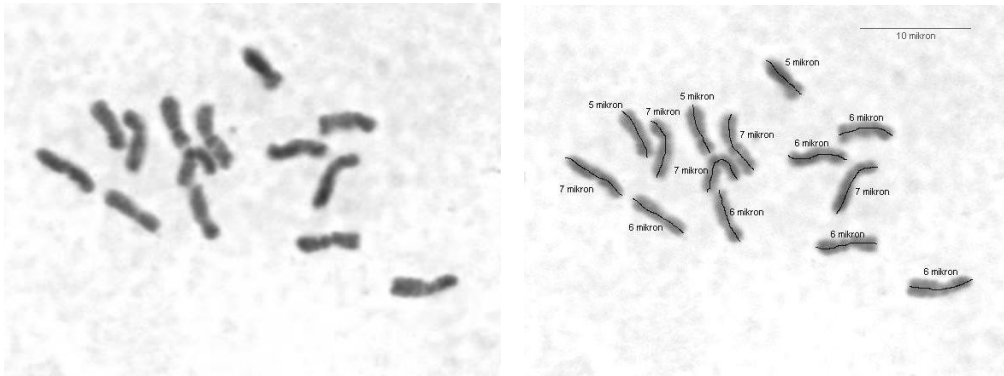
*Dactylis* kromozomlarının morfolojik olarak birbirine benzer olmasından dolayı kromozomların kesin olarak teşhislerinin yapılarak homologları ile eşleştirilmesi bu çalışmada kullanılan klasik yöntemle mümkün olamamıştır. Bu yüzden karyotip yapımında kromozomlar kendilerine en çok benzeyen kromozomlar ile eşleştirilmiş ve birbirinin homoloğu olarak kabul edilmiştir.

##### 4.2.1. *Dactylis glomerata subsp judaica* (ABY-Bc 4800-1980U, 1 nolu popülasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.

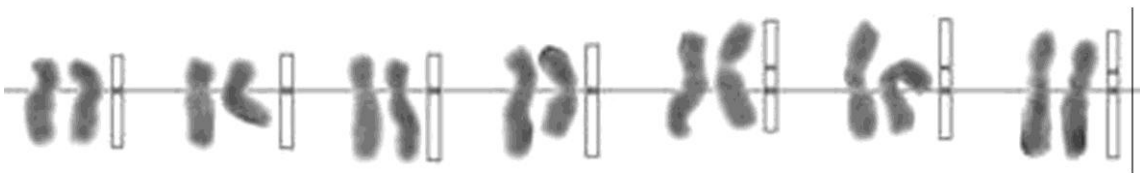
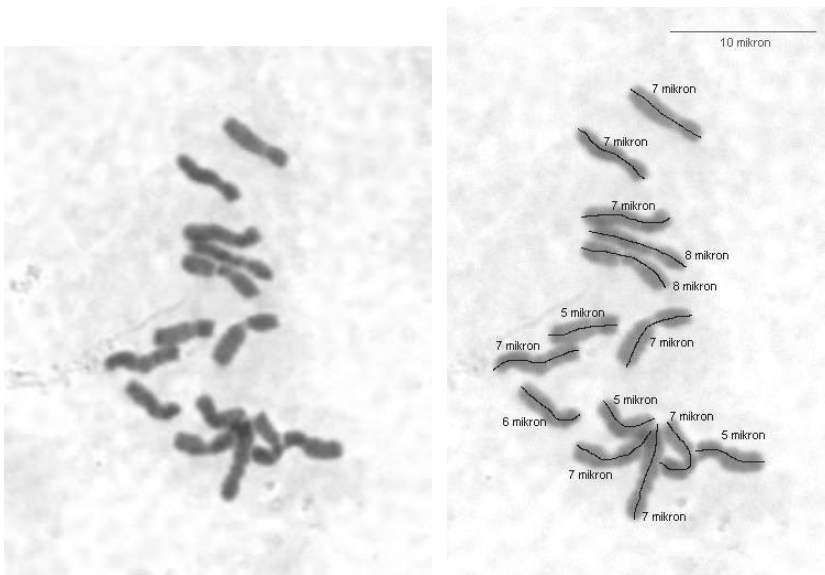
Taksonun bir çift metasentrik kromozom, 4 çift submetasentrik kromozoma sahip olduğu gözlenmiştir. En uzun kromozom 8 $\mu$  olarak ölçülmüştür. Yapılan karyotip analizlerinde taksonun satellit kromozom sayısı bazı hücrelerde 1 çift bazılarında 2 çift bazılarında ise 3 çift olarak gözlenmiştir. Sonuçlar bu alanda tek yayın olan Wetschnig (1990)'in türün bir çift metasentrik, 4 çift submetasentrik ve satellit taşıyan 2 çift kromozoma sahip olduğunu belirten raporu ile genelde uyum içerisindedir. Yapılan çalışmada hücreler arasında satellit kromozomların sayısının farklı çıkması preparat yapma esnasında uygulanan işlem ve basınçtan dolayı bazen bu bölgenin yeterince açılmamış olmasından ve dolayısıyla gözlenememesinden ya da aksesyonun DNA içerikleri birbirine yakın olan birden fazla taksona ait bireyleri içermesinden kaynaklanmış olması muhtemeldir.



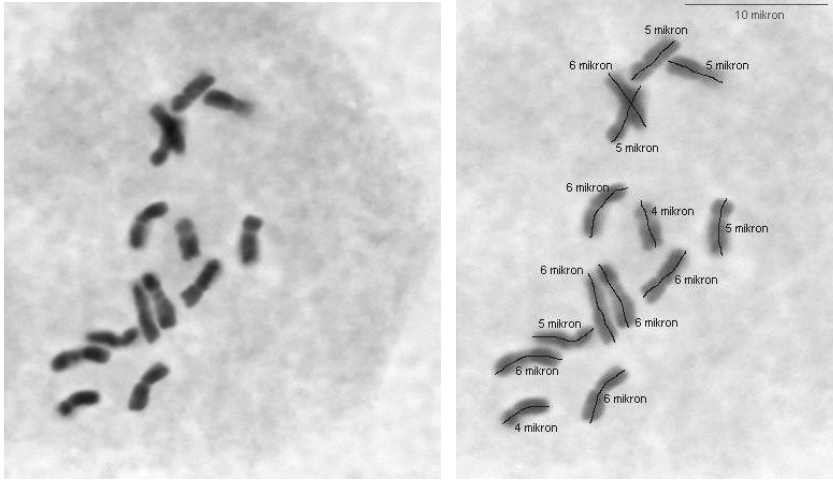
**a**



**b**



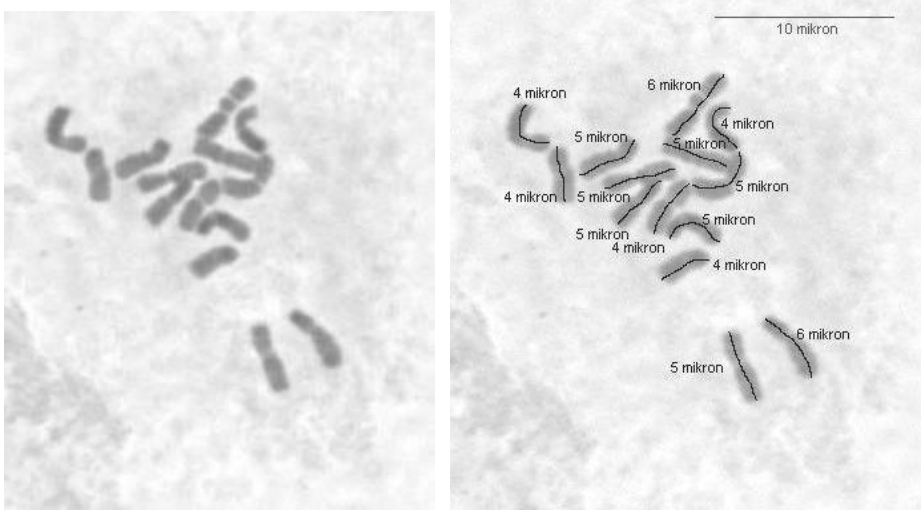
C



**Şekil 4.2.a,b,c.** Diploid *Dactylis glomerata subsp judaica* (ABY-Bc 4800-1980U, 1 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.2. *Dactylis glomerata subsp marei* (ABY-Bc 6106-1975U, 2 nolu populasyon) mitoz kromozom ve karyotipi.**

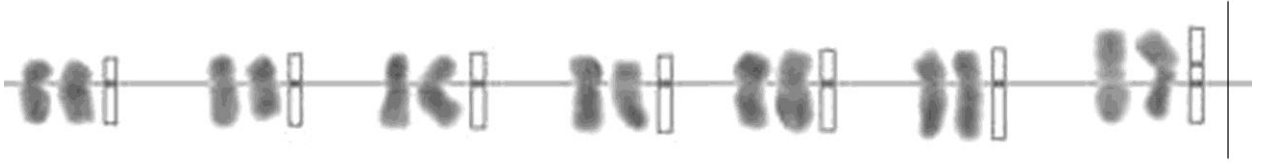
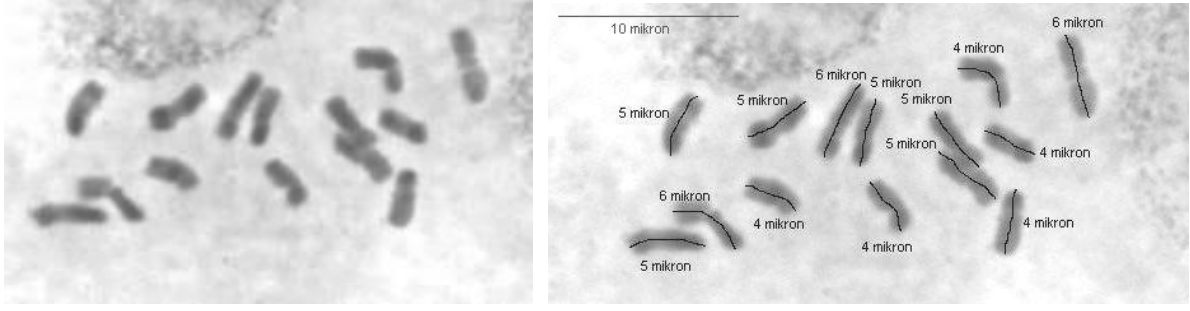
Taksonun üç çift metasentriğe benzer kromozom, 3 çift submetesentrik kromozom ve bir çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 6  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar taksonun 2 çift submetasentrik kromozom, 3 çift metasentrik kromozom ve birisi büyük diğeri küçük (kromozomun ucunda nokta şeklinde) satellit bölgesi taşıyan 2 çift satellit kromozoma sahip olduğunu rapor eden Wetschnig (1990) ile uyumludur. Çalışmada gözlenen submetasentrik kromozomlardan bir çifti bu küçük satellit taşıyan kromozom olma ihtimali yüksektir.



**Şekil 4.3.** Diploid *Dactylis glomerata subsp marei* (ABY-Bc 6106-1975U, 2 nolu populasyon) mitoz kromozom ve karyotipi (Bar 10  $\mu$ ).

#### **4.2.3. *Dactylis glomerata L. forma galicia* (ABY-Bc 6977-1979U, 4 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.**

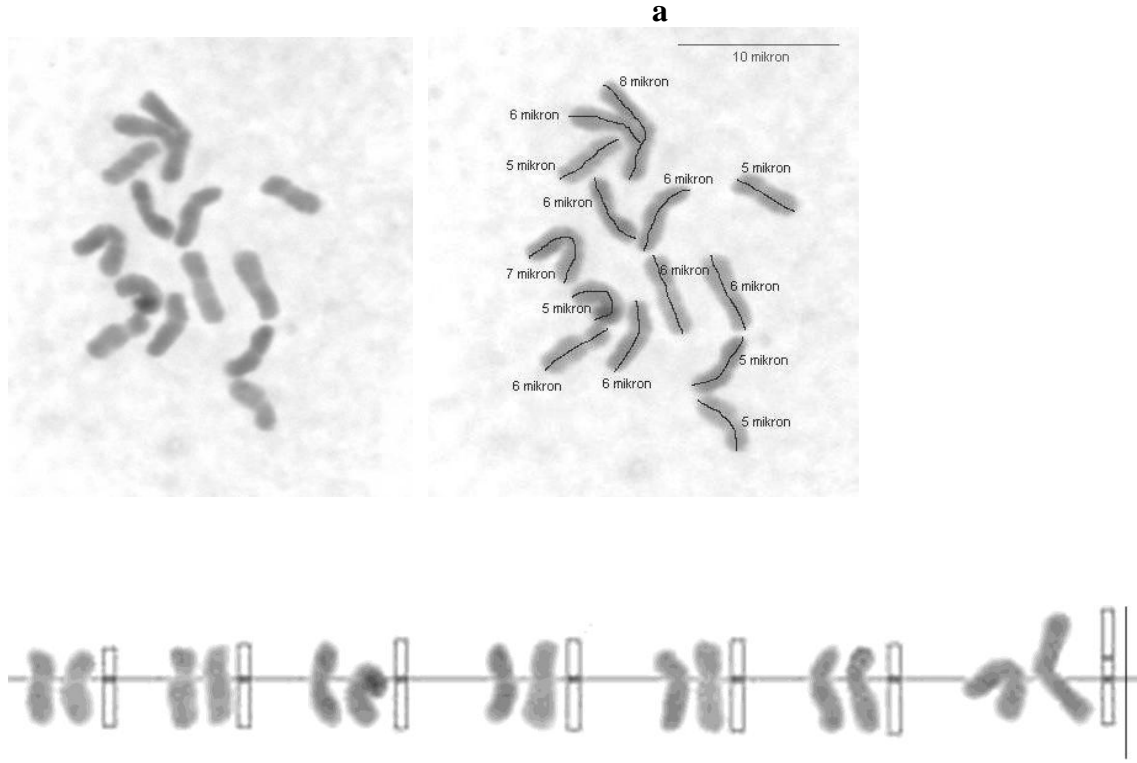
Taksonun kromozomları genelde submetasentriğe benzer ve bir çift satellit kromozoma sahip olduğu gözlenmiştir. En uzun kromozom 6 $\mu$  olarak ölçülmüştür. Takson için elde edilen bu karyotipin karşılaştırılabileceği daha önce yayınlanmış bir rapor bulunamadığından karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır. Ancak taksonun tüm kromozomlarının submetasentrik olması oldukça ilginçtir. Bu taksona ait elimizde tek bir karyotip olduğundan kromozomların kimyasallarla muamele esnasında veya preparat yapma esnasında oluşan etkilerden dolayı metasentrik kromozomlarında submetasentrik olarak gözlendiklerinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir.



**Şekil 4.4.** *Dactylis glomerata* L. *forma galicia* (ABY-Bc 6977-1979U, 4 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.4. *Dactylis glomerata* subsp *woronowii* (ABY-Bc 4355-1983U, 8 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

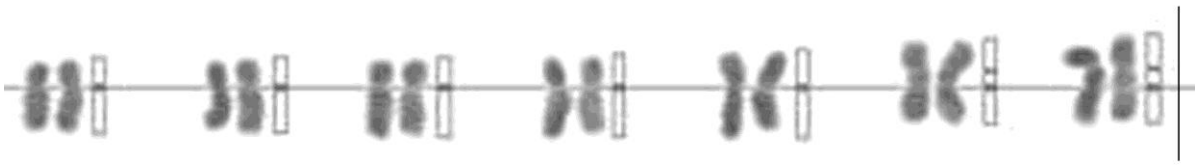
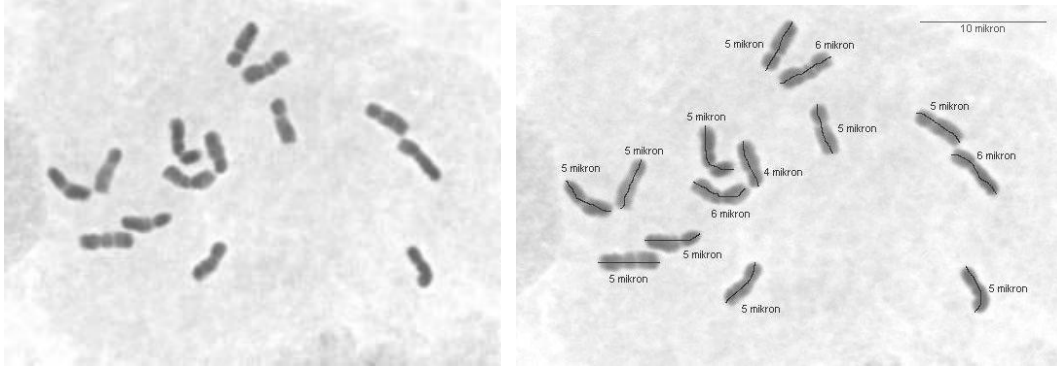
Taksonun 2 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetesentrik kromozom ve bir çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8 $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde ettiğimiz bu karyotipi karşılaştırabileceğimiz daha önce yayınlanmış bir yayın bulamadığımızdan karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır.



**Şekil 4.5.a,b.** *Dactylis glomerata* subsp *woronowii* (ABY-Bc 4355-1983U, 8 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

#### 4.2.5. Diploid *Dactylis glomerata subsp himalayensis* (20 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.

Taksonun 1 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom ve 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu gözlenmiştir. En uzun kromozom 6µ olarak ölçülmüştür. Sonuçlarımız Guignard (1991) 'in sonuçları ile benzerdir. Wetschnig (1990)'e göre ise takson bizim karyotipimizdeki kromozom morfolojisine sahip 3 satellit kromozom ve 4 submetasentrik kromozoma sahiptir. Aradaki farklılık metot farklılığından dolayı ya da materyal farklılığından olabileceğini düşünmekteyiz. Elde etmiş olduğumuz karyotipte yer alan 1 metasentrik kromozomun satellit kromozom olduğu halde metasentrik olarak gözlenmiş olabilir. Ya da Wetschnig (1990) metasentrik kromozomu yanlışlıkla satellit olarak gözlemiştir.

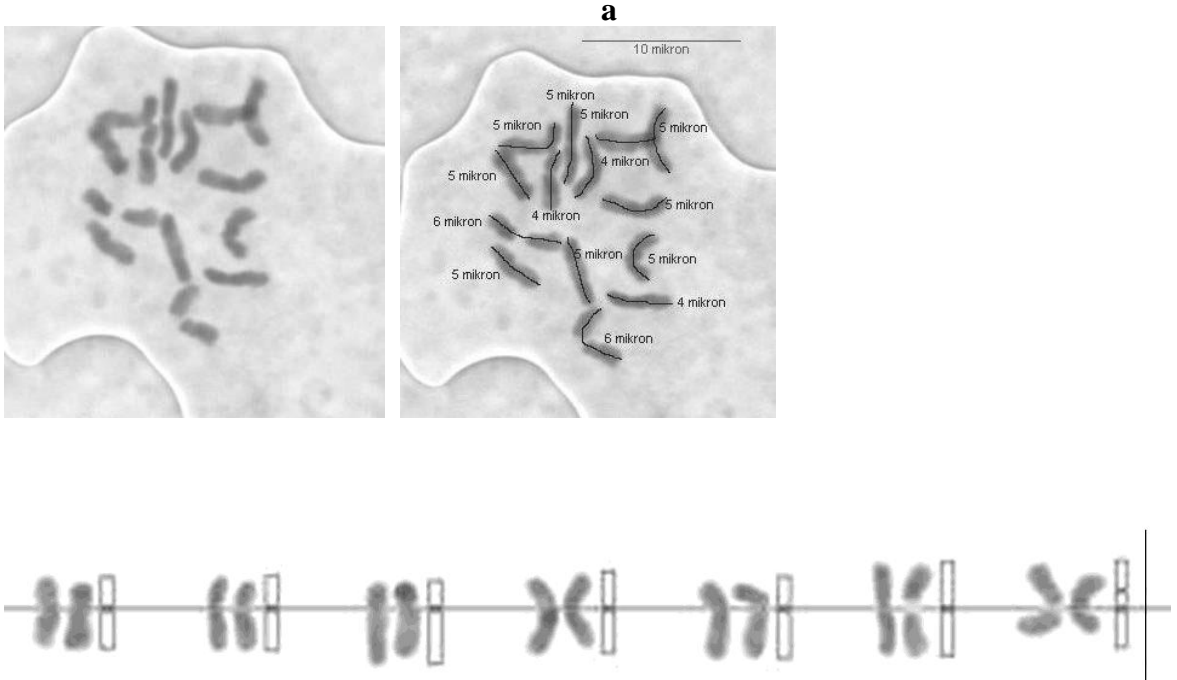


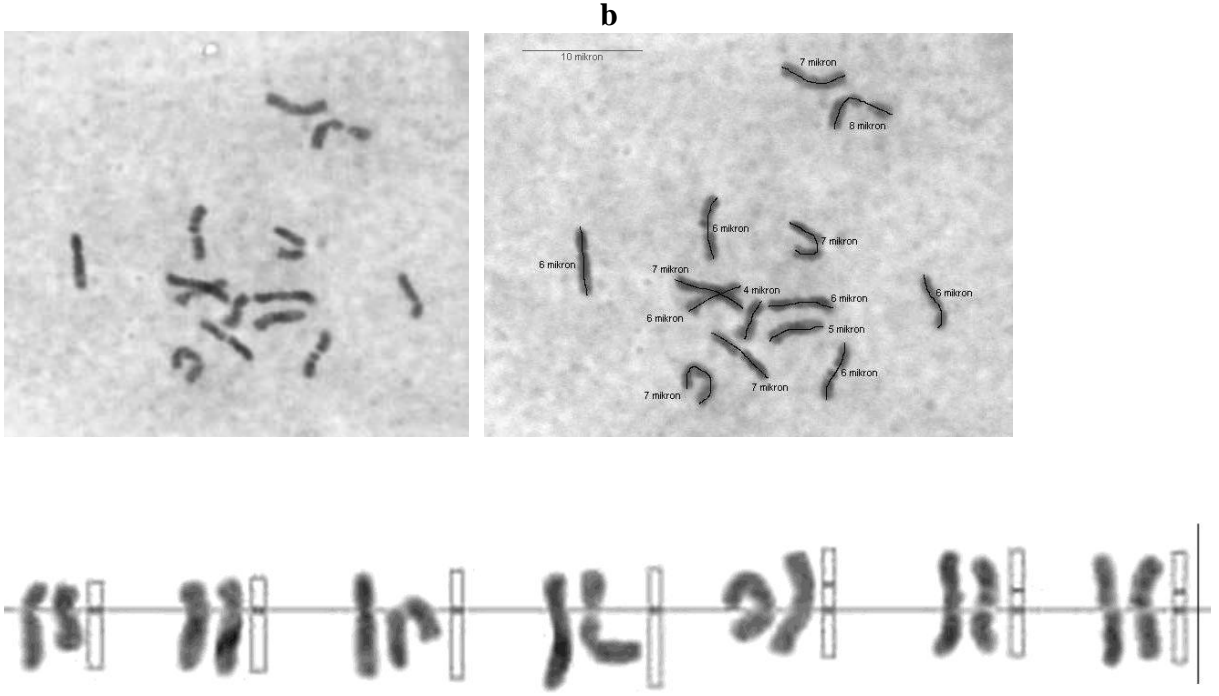
Şekil 4.6. Diploid *Dactylis glomerata subsp himalayensis* (20 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi (Bar 10 µ).

#### 4.2.6. *Dactylis glomerata subsp lusitanica* (26 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.

Taksonun 2 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom, 1 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8µ olduğu gözlenmiştir.

Takson için elde etmiş olduğumuz sonuçlar Wetschnig (1990) ile aynıdır. Bununla birlikte bu çalışma sırasında elde etmiş olduğumuz bir diğer slaytta satellit kromozom sayısı 3 çift olarak gözlenmiştir. Bu durum bu slaytın yapımında kullanılan bitkinin *D. g. subsp lusitanica* olmayabileceği ihtimalini işaret etmektedir. Nitekim aksesyonların çekirdek DNA içeriklerinin sunulduğu Çizelge 4.1 incelendiğinde 26 nolu aksesyona ait bitkiler arasında çekirdek DNA içeriğinin 4.42 ile 5.27 pg arasında değiştiği görülmektedir. Aksesyonun içerisindeki çekirdek DNA içeriği varyasyonunun bu derece yüksek olması aksesyonun bir taksondan daha fazla taksona ait bitkiler içerdiğini işaret etmektedir. Bu durum da aksesyonun toplandığı bölgede ya taksonların dağılım alanları örtüşmesi dolayısıyla birlikte karışım halinde yaşıyor olmalarından ya da tohum çoğaltma esnasında mekanik bir karışıklığın meydana gelmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir.





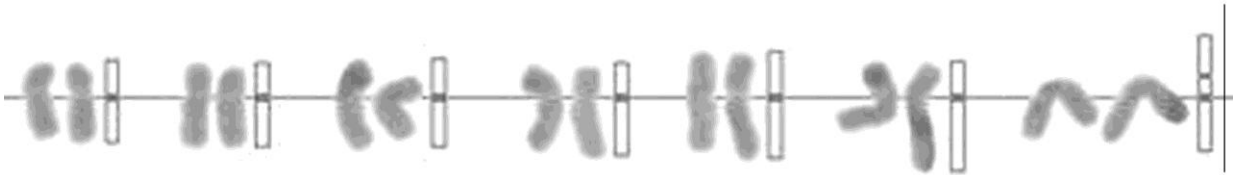
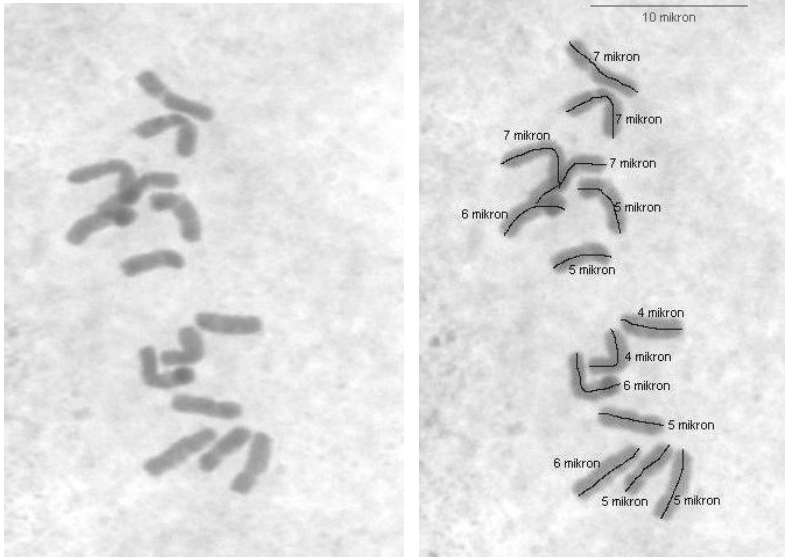
**Şekil 4.7.ab.** *Dactylis glomerata subsp lusitanica* (26 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.7. *Dactylis glomerata subsp woronowii* (PI 314081, 46 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

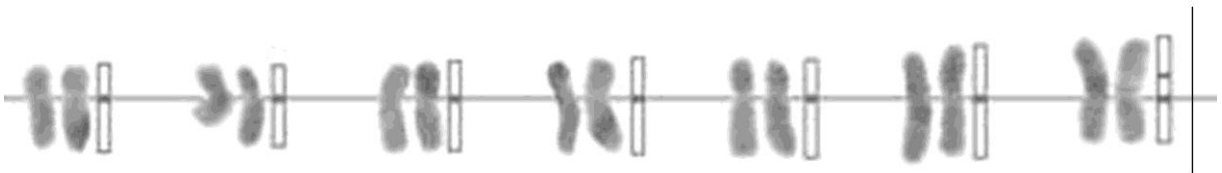
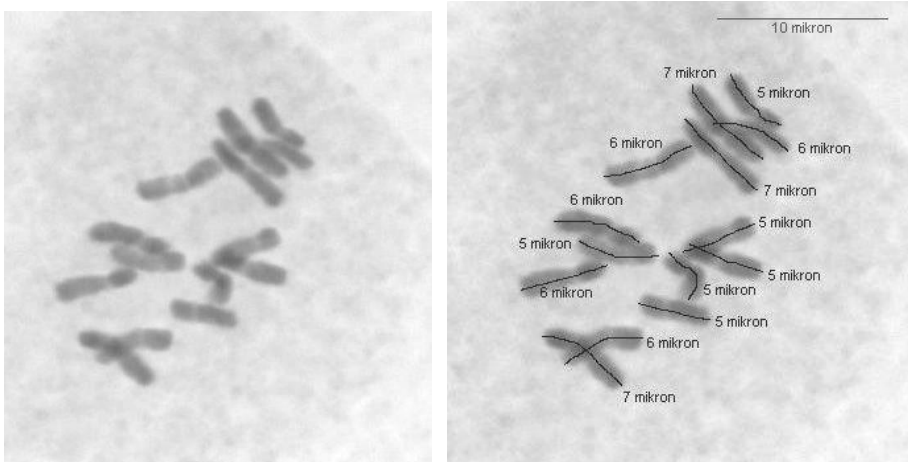
Taksonun 2 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom ve 1 veya 2 çiftte satellit kromozoma sahip ve en uzun kromozomun 7  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde ettiğimiz bu karyotipi karşılaştırabileceğimiz daha önce yayınlanmış bir rapor bulamadığımızdan karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır.

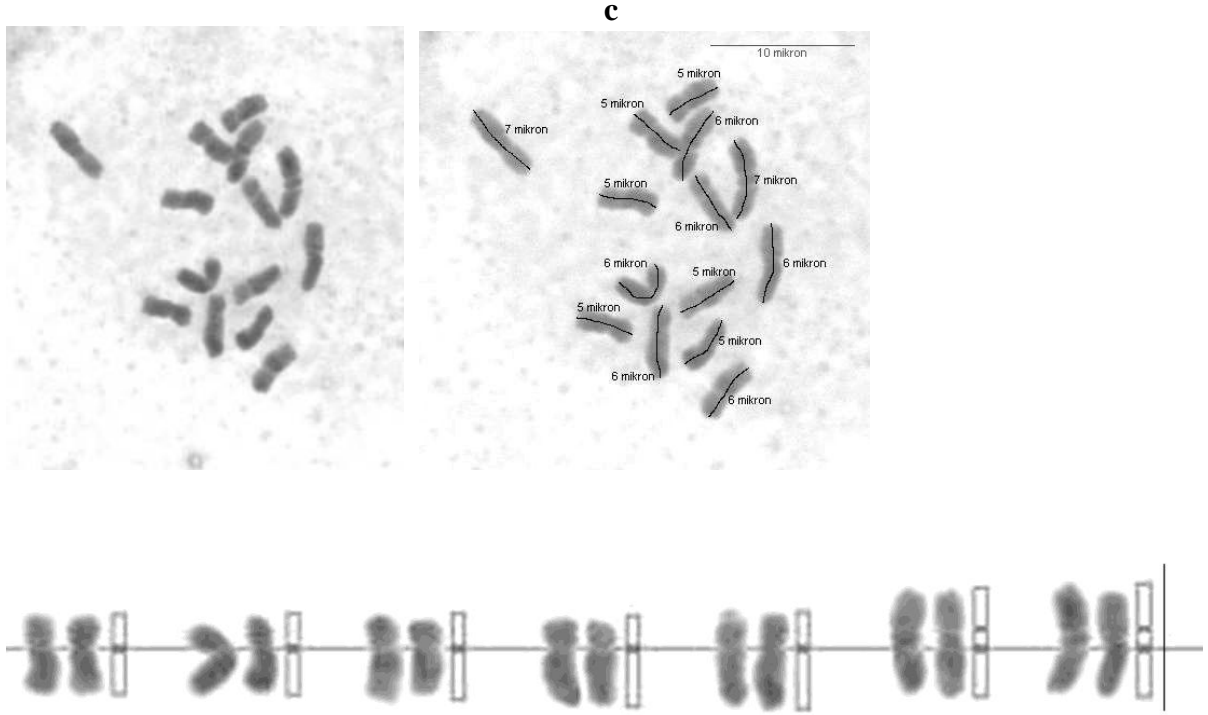


**a**



**b**



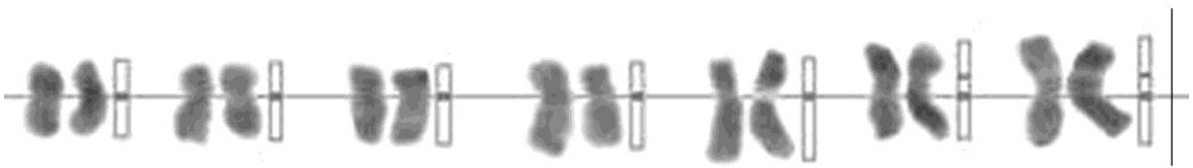
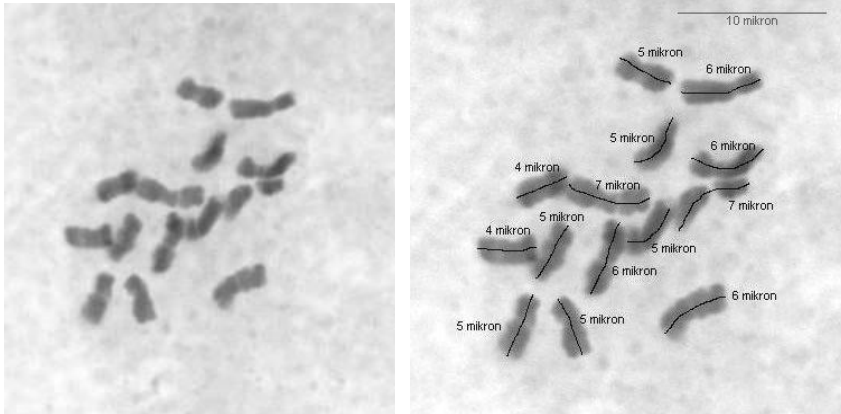


**Şekil 4.8.a,b,c.** *Dactylis glomerata subsp woronowii* (PI 314081, 46 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

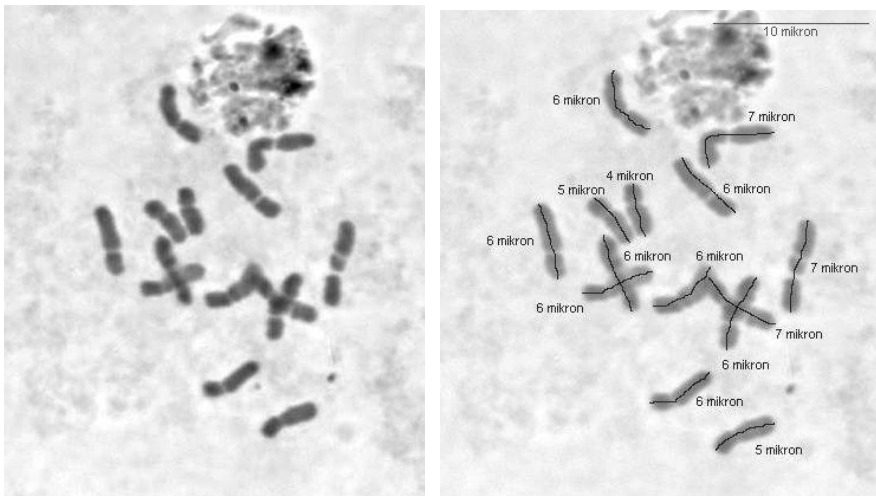
**4.2.8. *Dactylis glomerata subsp woronowii* (PI 310393, 47 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

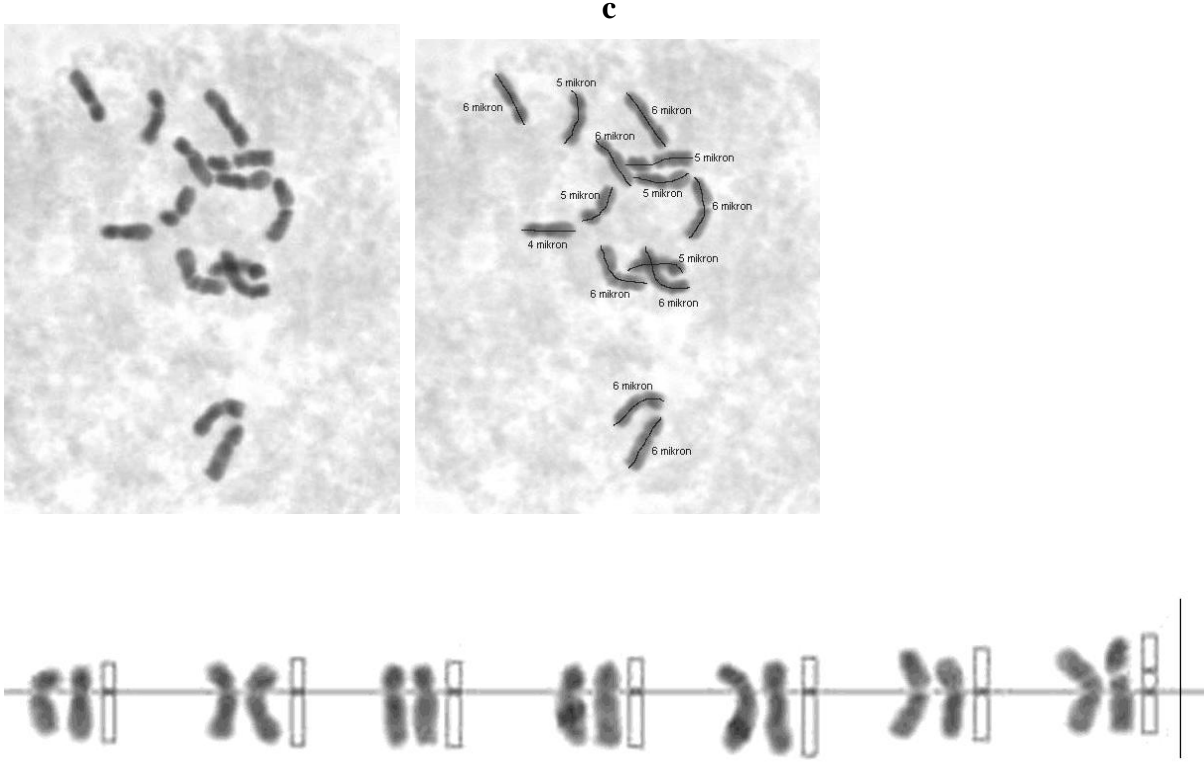
Taksonun genelde 2 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetesentrik kromozom ve 1 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 7  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde ettiğimiz bu karyotipi karşılaştırabileceğimiz daha önce yayınlanmış bir yayın bulamadığımızdan karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır. Çalışma süresince yapmış olduğumuz karyotip analizleri sonucunda *Dactylis glomerata subsp woronowii* için farklı aksesyonları kullanarak yapılmış olan karyotiplerin benzer olduğu gözlenmiştir.

**a**



**b**



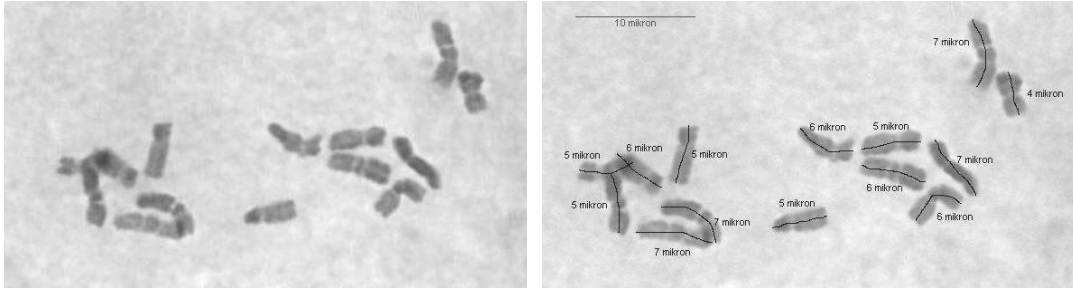


**Şekil 4.9.a,b,c.** Diploid *Dactylis glomerata subsp woronowii* (PI 310393, 47 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

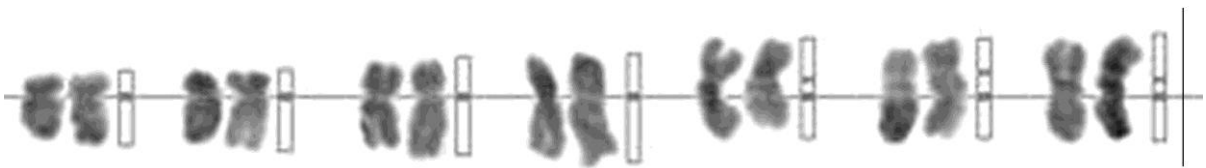
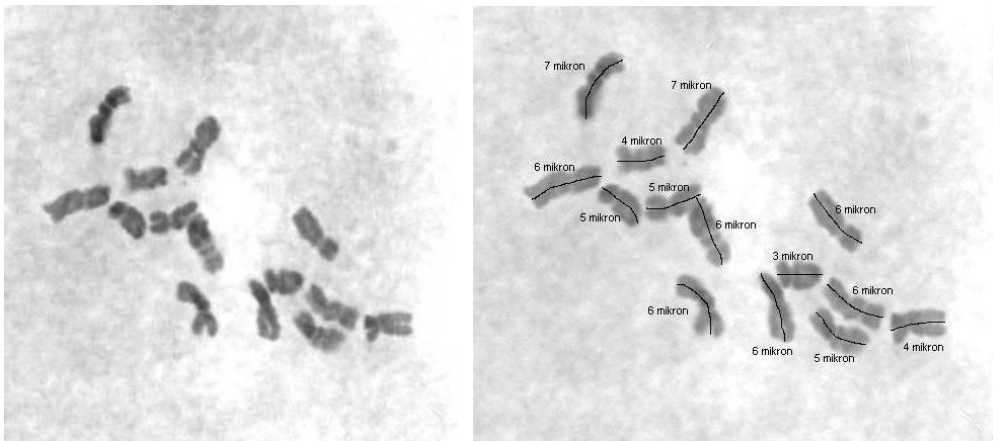
**4.2.9. *Dactylis glomerata subsp lobata* (PI 283242, 58 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

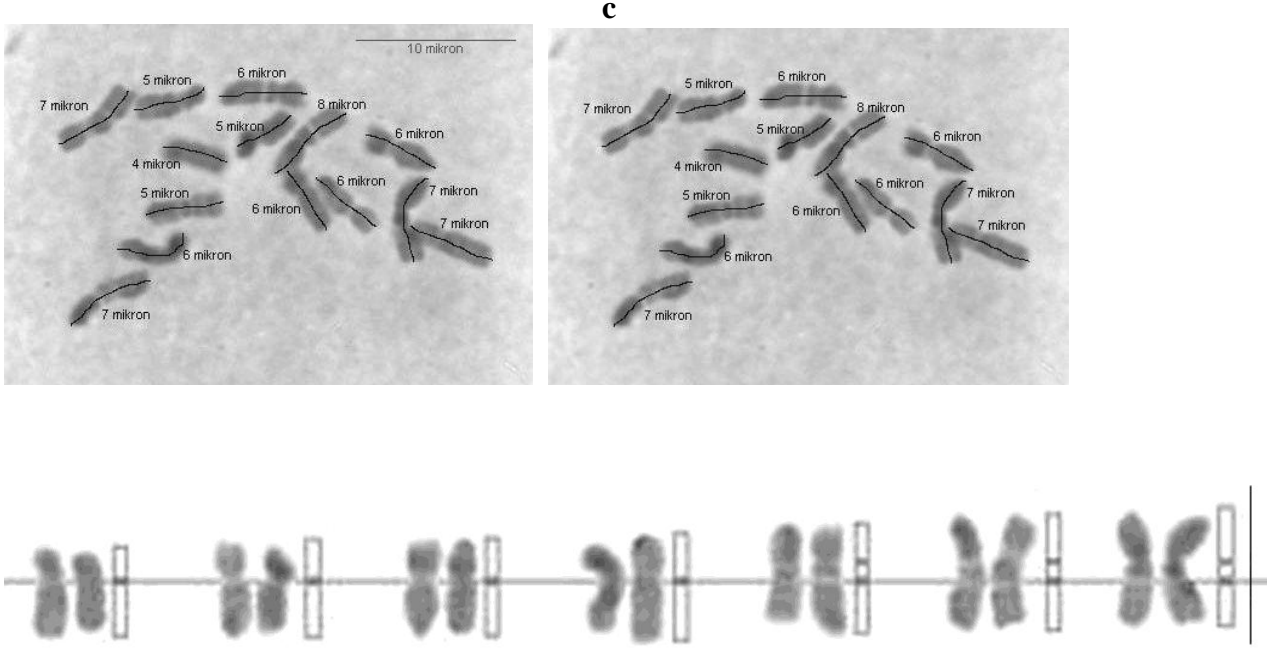
Taksonun 4 çift submetasentrik kromozom ve 3 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde ettiğimiz bu karyotipi karşılaştırabileceğimiz daha önce yayınlanmış bir rapor bulamadığımızdan karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır.

**a**



**b**



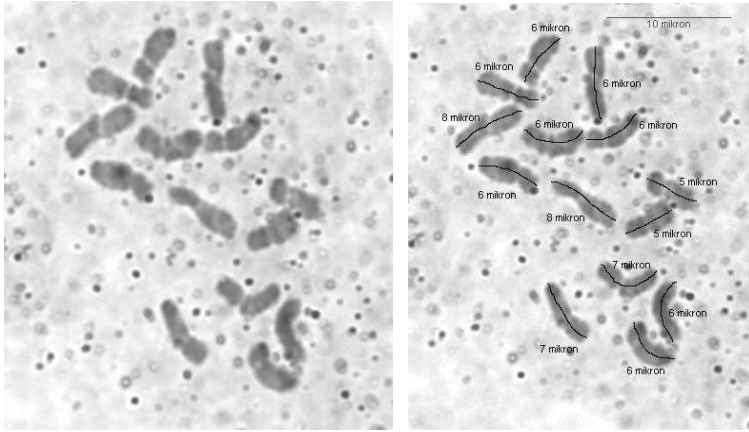


**Şekil 4.10.a,b,c.** Diploid *Dactylis glomerata* subsp *lobata* (PI 283242, 58 nolu populyasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

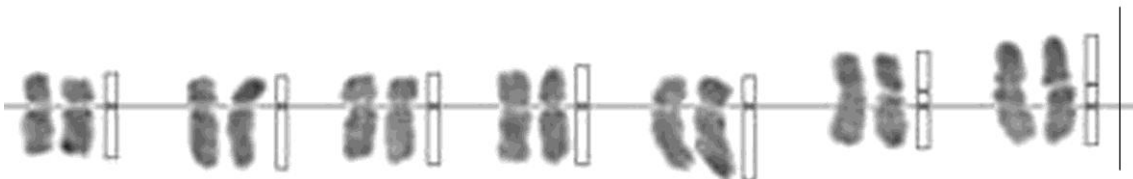
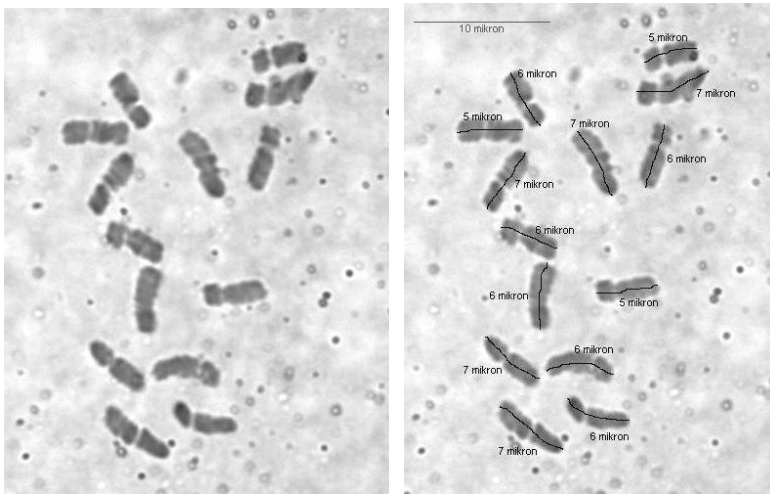
**4.2.10. *Dactylis glomerata* subsp *himalayensis* (PI 295271, 64 nolu populyasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

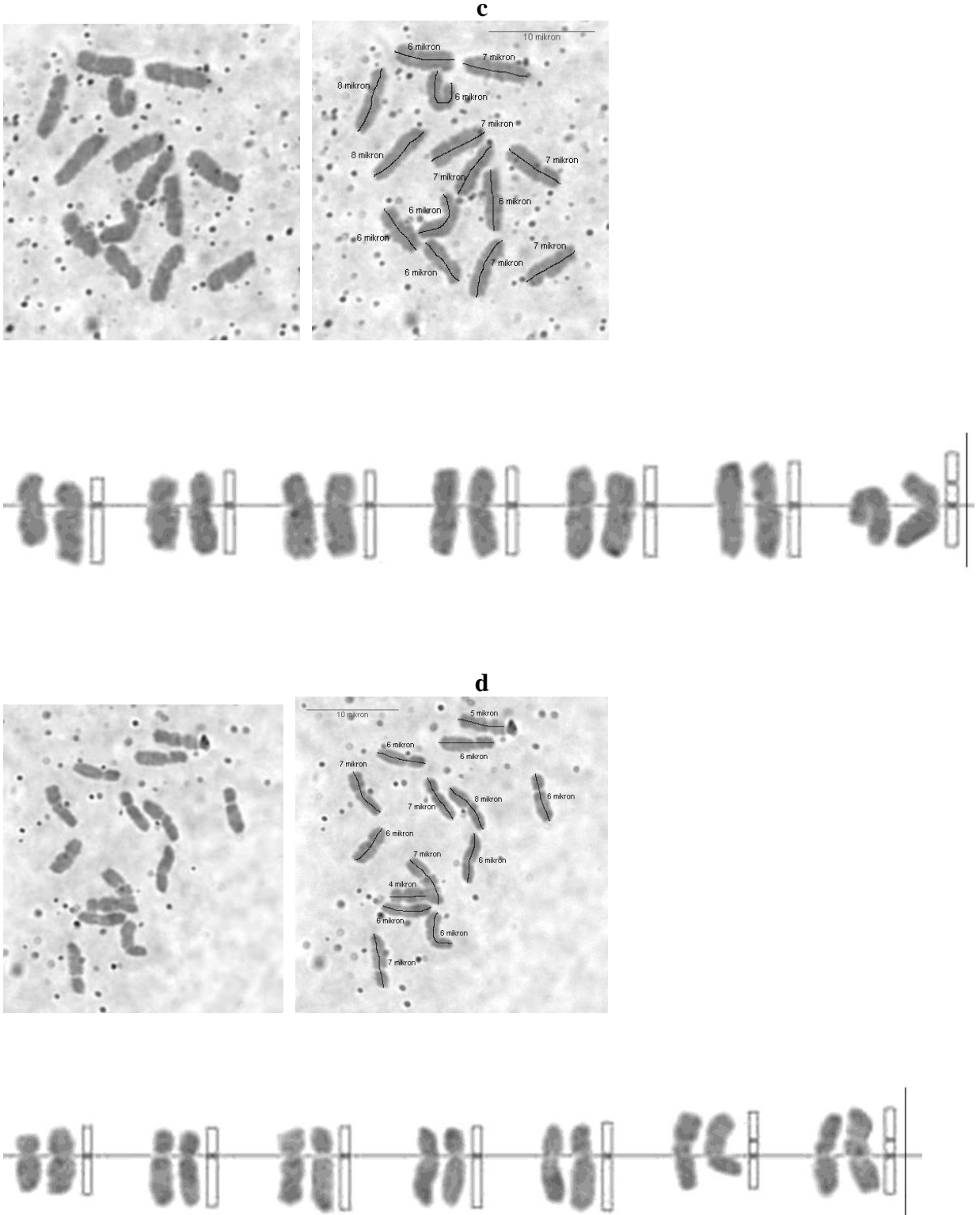
Taksonun 1 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetesentrik kromozom, 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8 $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde ettiğimiz karyotip aynı taksonun farklı bir aksesyonu kullanılarak yapılan karyotip ile benzer olduğu gözlenmiştir. Wetschnig (1990)'e göre ise taxon bizim karyotipimizdeki kromozom morfolojisine sahip 3 satellit kromozom ve 4 submetasentrik kromozoma sahiptir. Aradaki farklılık metot farklılığından dolayı ya da materyal farklılığından olabileceğini düşünmekteyiz. Elde etmiş olduğumuz karyotipte yer alan 1 bir metasentrik kromozomun satellit kromozom olduğu halde metasentrik olarak gözlemiş olmamız ihtimal dahilindedir.

**a**



**b**



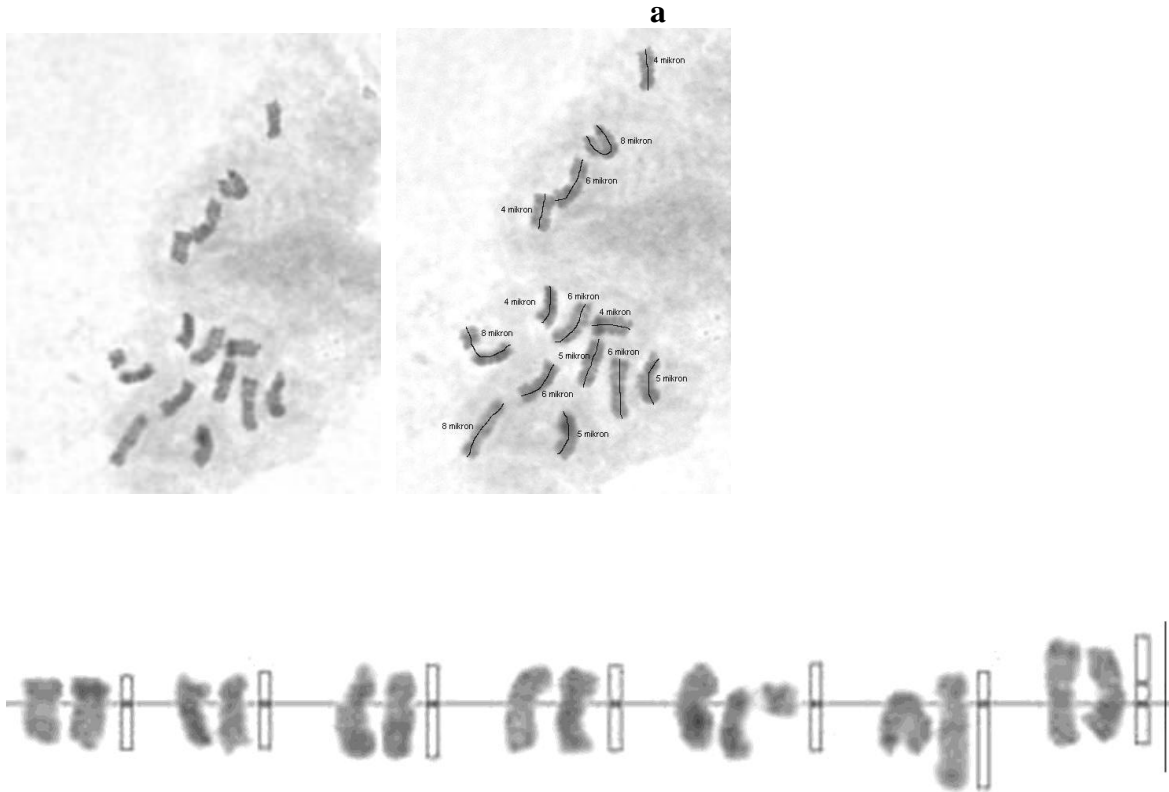


**Şekil 4.11.a,b,c,d.** *Dactylis glomerata subsp himalayensis* (PI 295271, 64 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

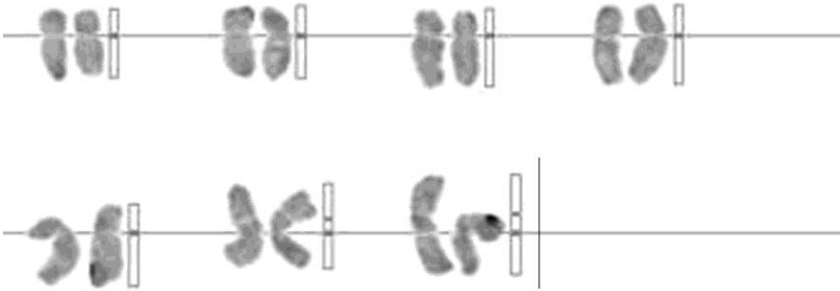
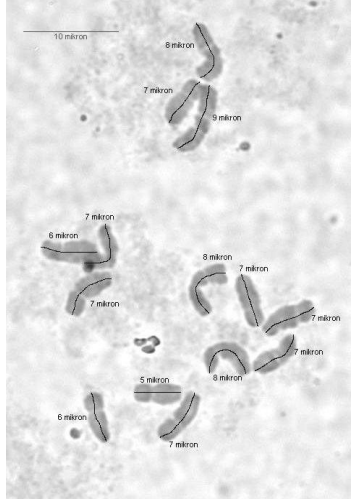
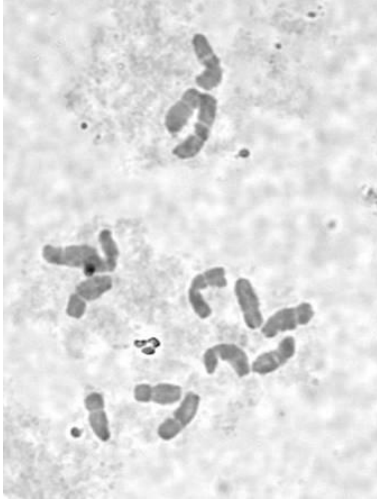


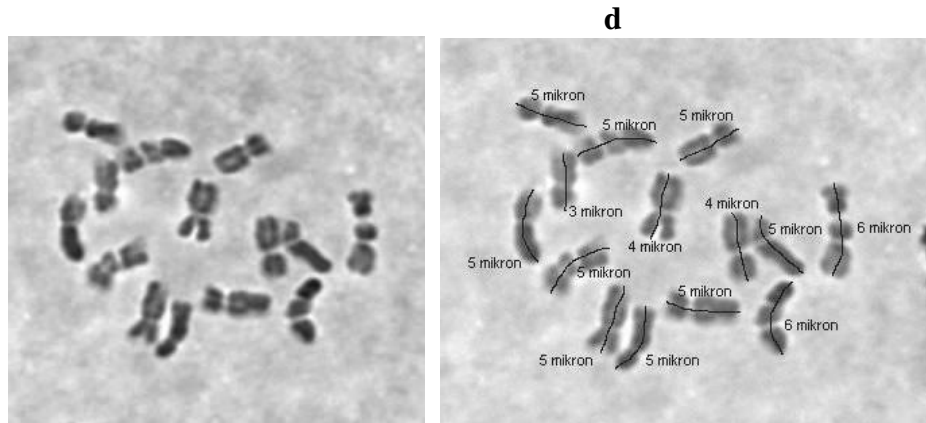
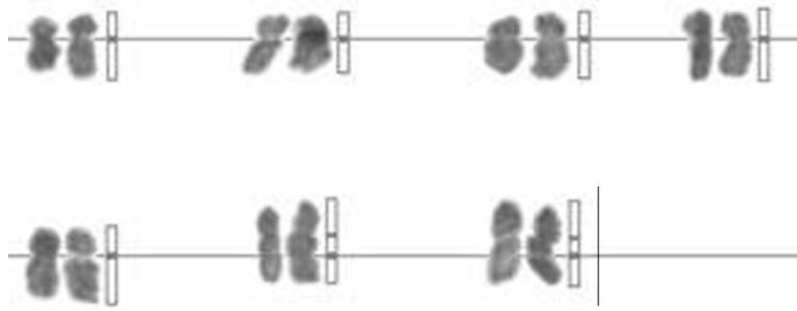
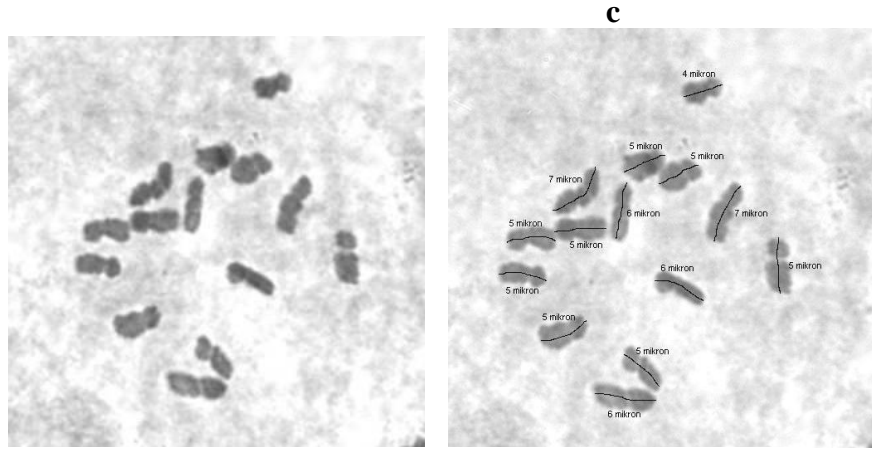
**4.2.11. Diploid *Dactylis glomerata subsp juncinella* (PI 418678, 66 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

Taksonun 5 çift submetasentrik kromozom, 2 çift satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Takson için elde etmiş olduğumuz sonuçlar Wetschnig (1990) ile aynıdır. Ancak bu takson için elde ettiğimiz 3 karyotipten birinde bir çift satellit kromozom gözlenmiştir. Çizelge 4.1'de yer alan çekirdek DNA analizi sonuçlarına baktığımızda aksesyonun karışık olduğu açık şekilde gözlenmektedir. Bundan dolayı bir satellit kromozoma sahip karyotipin elde edildiği bitkinin *Dactylis glomerata subsp juncinella* olmaması ihtimali olasıdır.



**b**

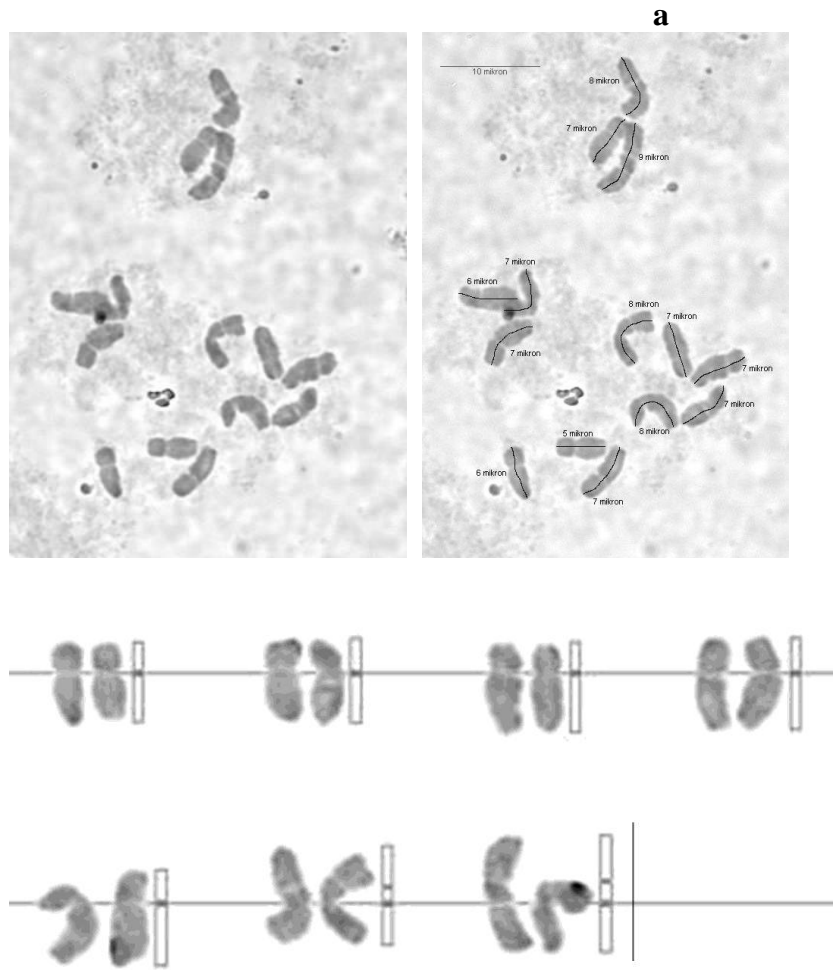


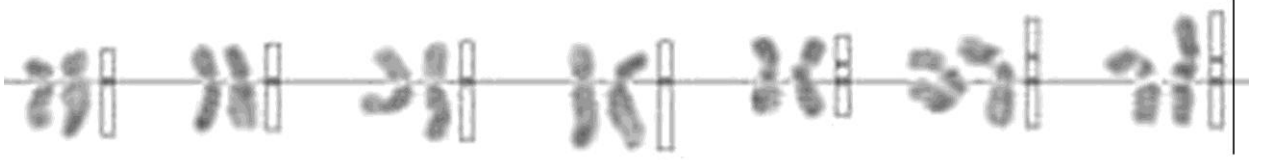
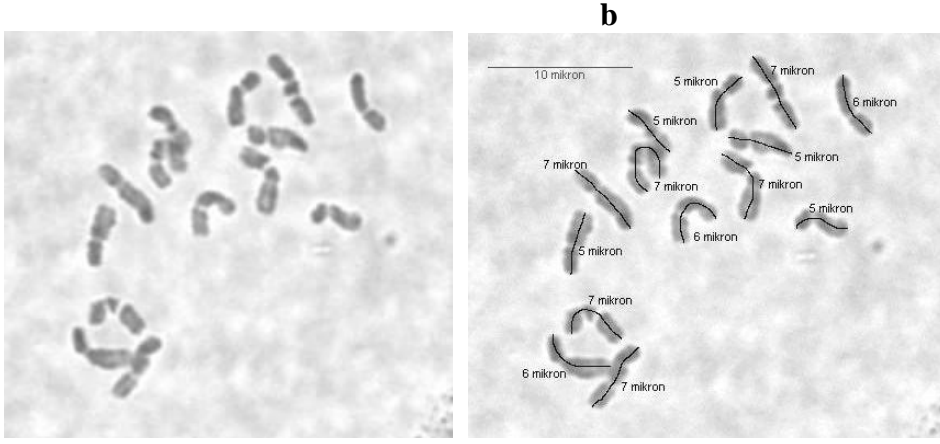


**Şekil 4.12.a,b,c,d.** Diploid *Dactylis glomerata subsp. juncinella* (PI 418678, 66 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.12. *Dactylis glomerata* subsp *juncinella* (PI 237601, 67 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

Taksonun farklı bir aksesyonundan elde edilen bu karyotipte 5 çift submetasentrik kromozom, 2 çift satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 9µ olduğu gözlenmiştir. Takson için elde etmiş olduğumuz sonuçlar takson için diğer bir aksesyonu kullanarak elde ettiğimiz karyotip ile ve Wetschnig (1990) ile aynıdır. Ancak bu aksesyondan elde ettiğimiz bir karyotipte 3 çift satellit kromozom gözlenmiştir. Bu durumun kullanılan bitki materyalinin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Nitekim, Tablo 3 de sunulan çekirdek DNA analizi sonuçları bu durumu teyit eder niteliktedir.

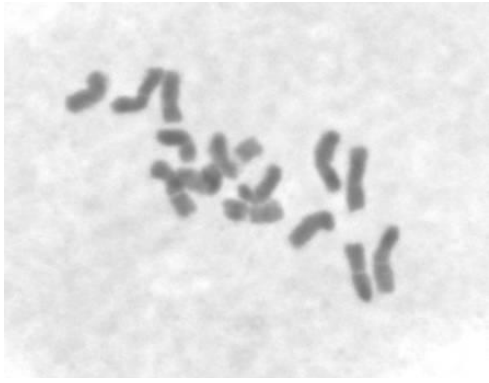




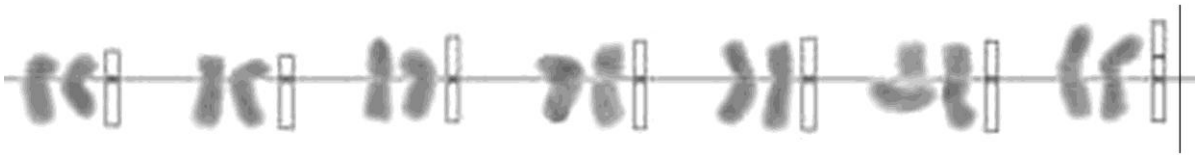
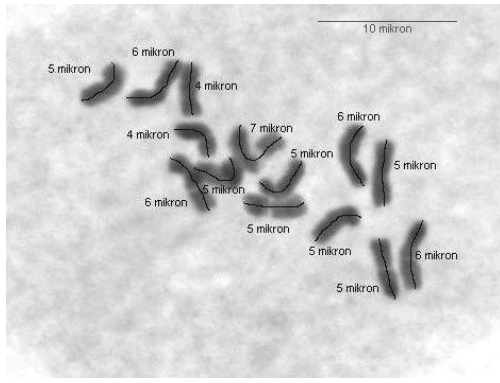
**Şekil 4.13.a,b.** *Dactylis glomerata subsp juncinella* (PI 237601, 67 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.13. *Dactylis glomerata* (GR 10643/97, 70 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

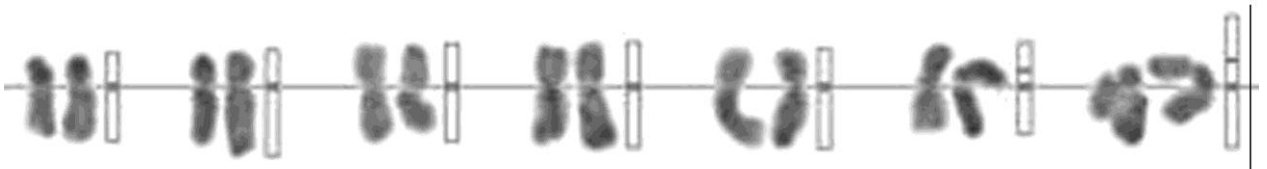
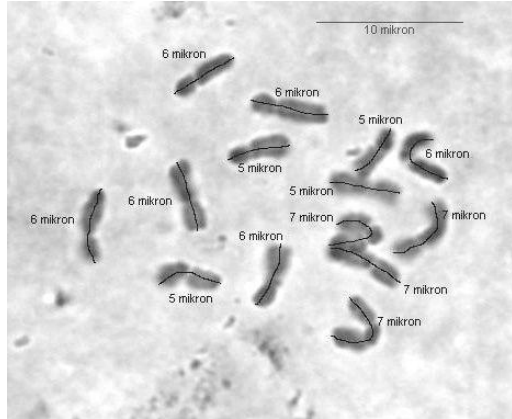
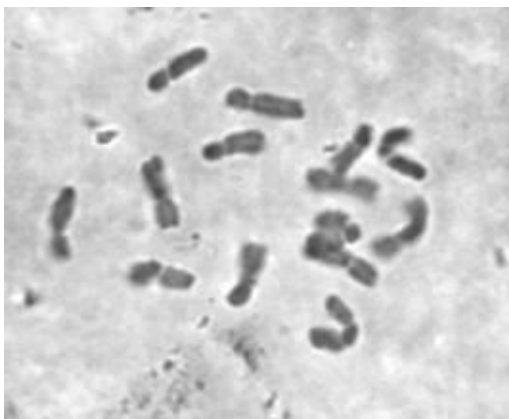
Taksonun 1 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom, 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 8  $\mu$  olduğu gözlenmiştir.

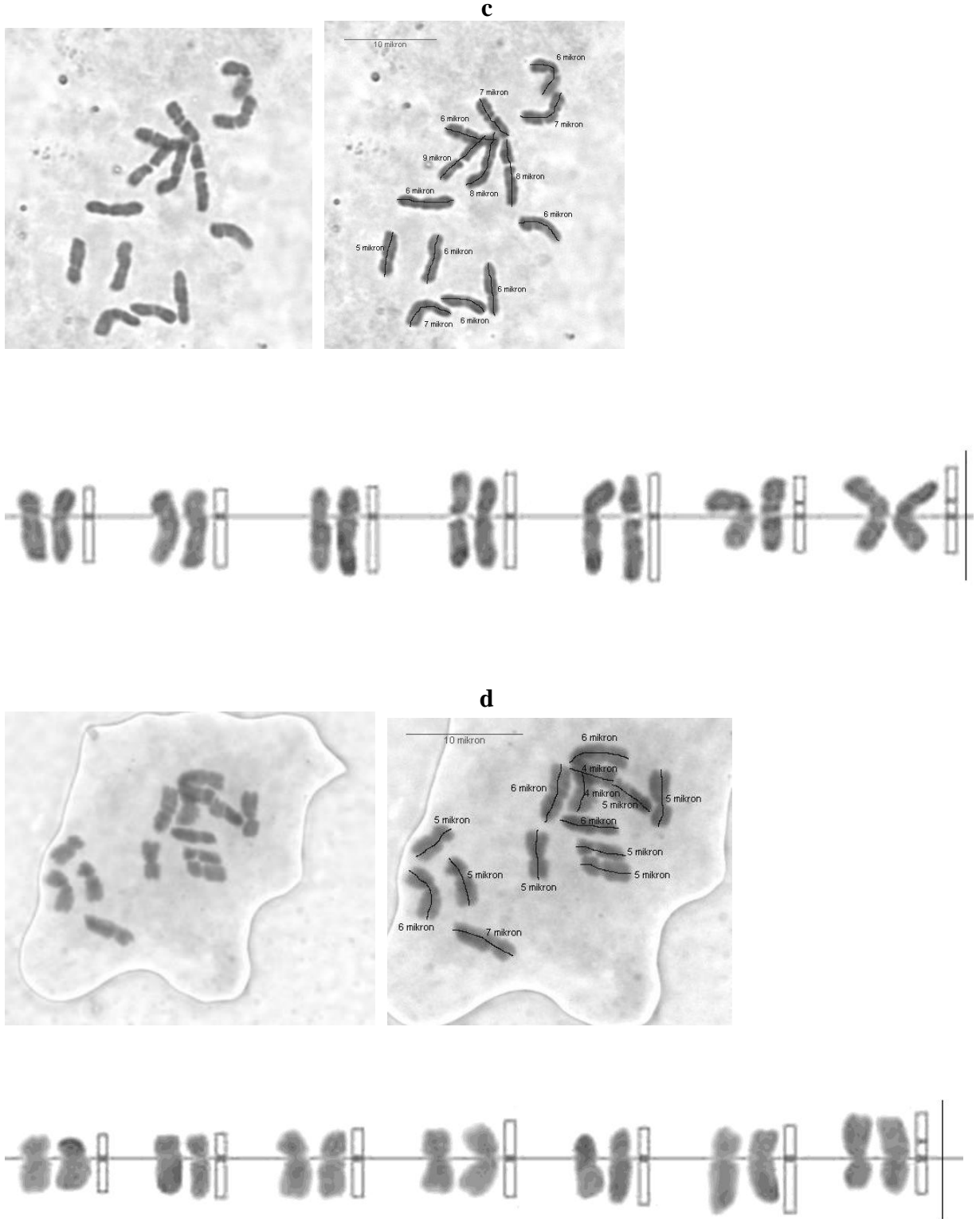


**a**



**b**

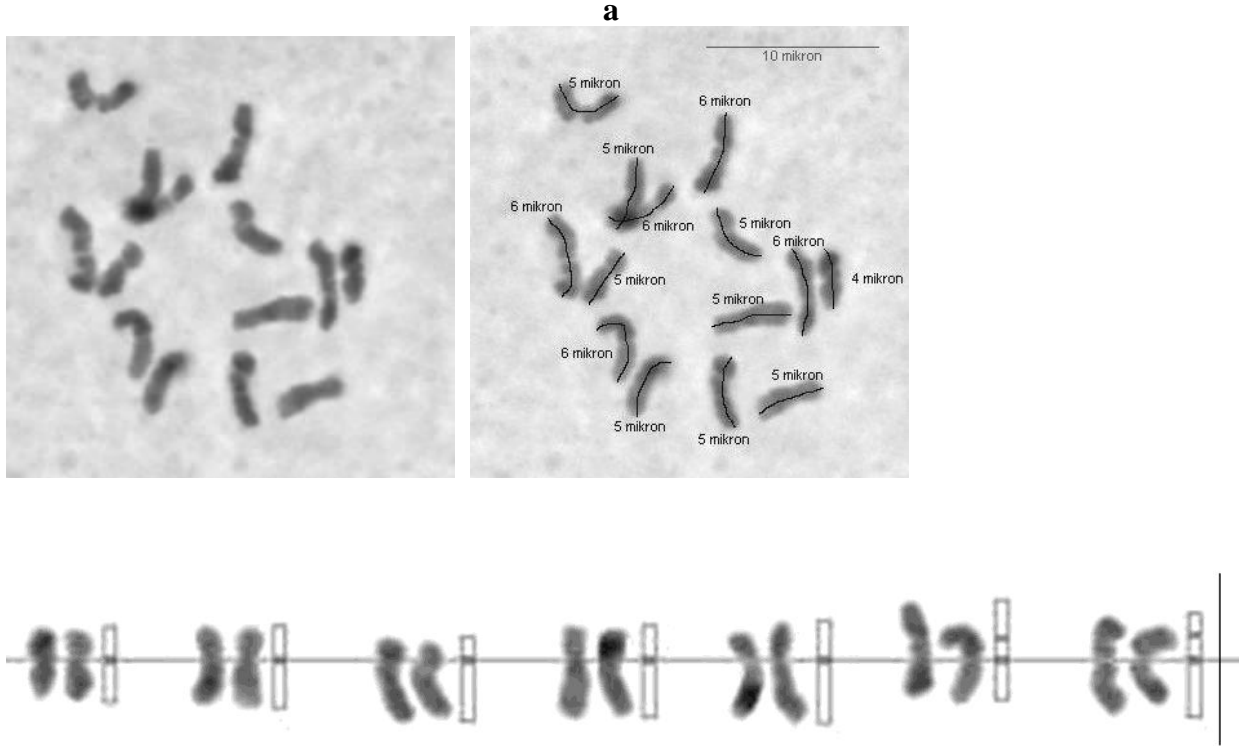




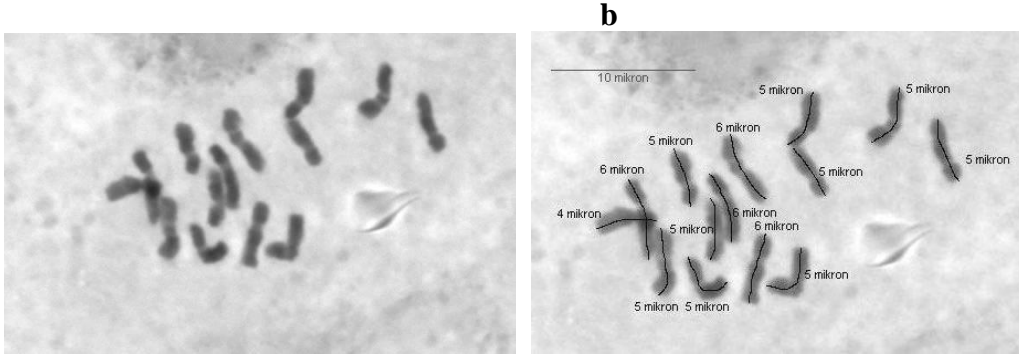
**Şekil 4.14.a,b,c,d.** *Dactylis glomerata* (GR 10643/97, 70 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.14. *Dactylis glomerata* (GR 10666, 79 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

Taksonun 1 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom , 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 6  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Bu yönüyle takson için elde edilen bu karyotip aynı takson için başka bir aksesyon kullanılarak elde edilmiş olan karyotip ile aynıdır.





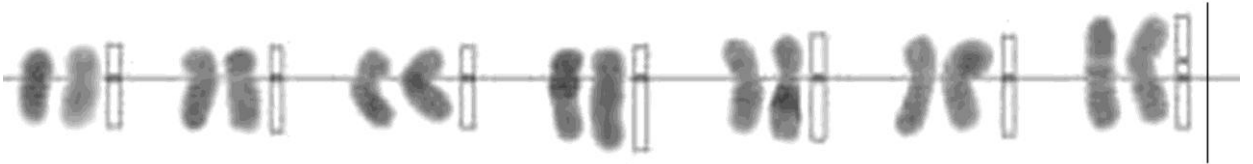
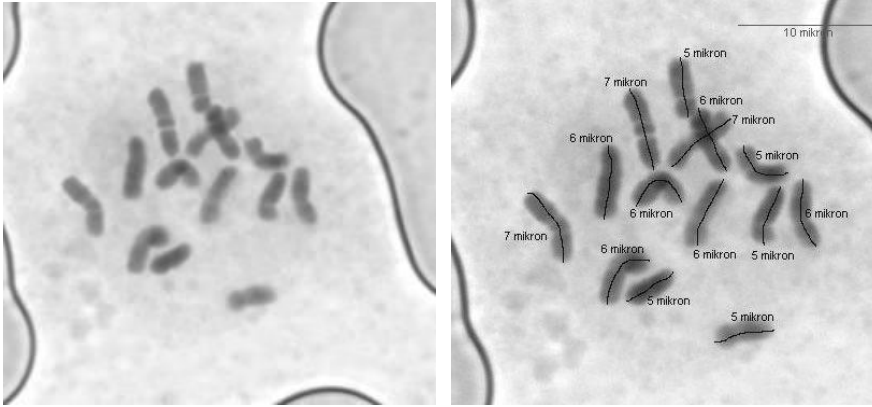


**Şekil 4.15.a,b.** *Dactylis glomerata* (GR 10666, 79 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

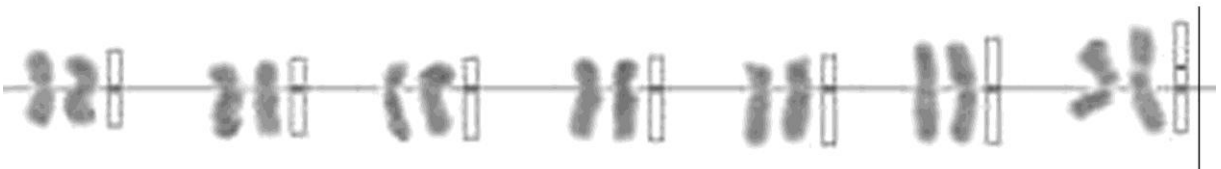
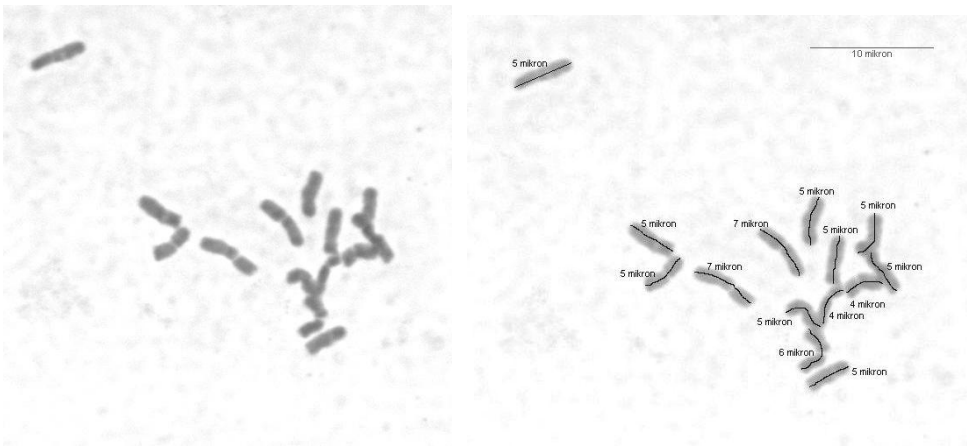
**4.2.15. *Dactylis glomerata* subsp *woronowii* (GR 11803/81, 80 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.**

Taksonun 2 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom ve 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 7  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Bu yönüyle elde edilen karyotip takson için başka bir aksesyon kullanılarak elde edilmiş olan karyotip ile aynıdır. Takson için elde ettiğimiz bu karyotipi karşılaştırabileceğimiz daha önce yayınlanmış bir rapor bulamadığımızdan karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır.

**a**



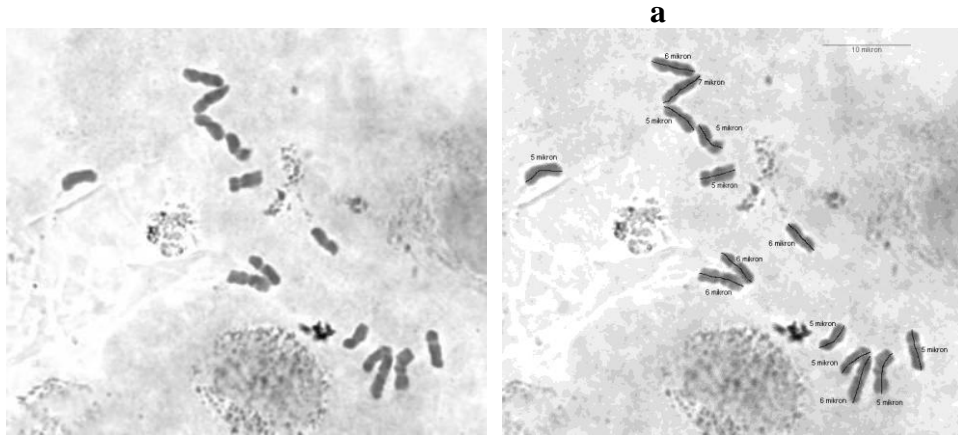
**b**

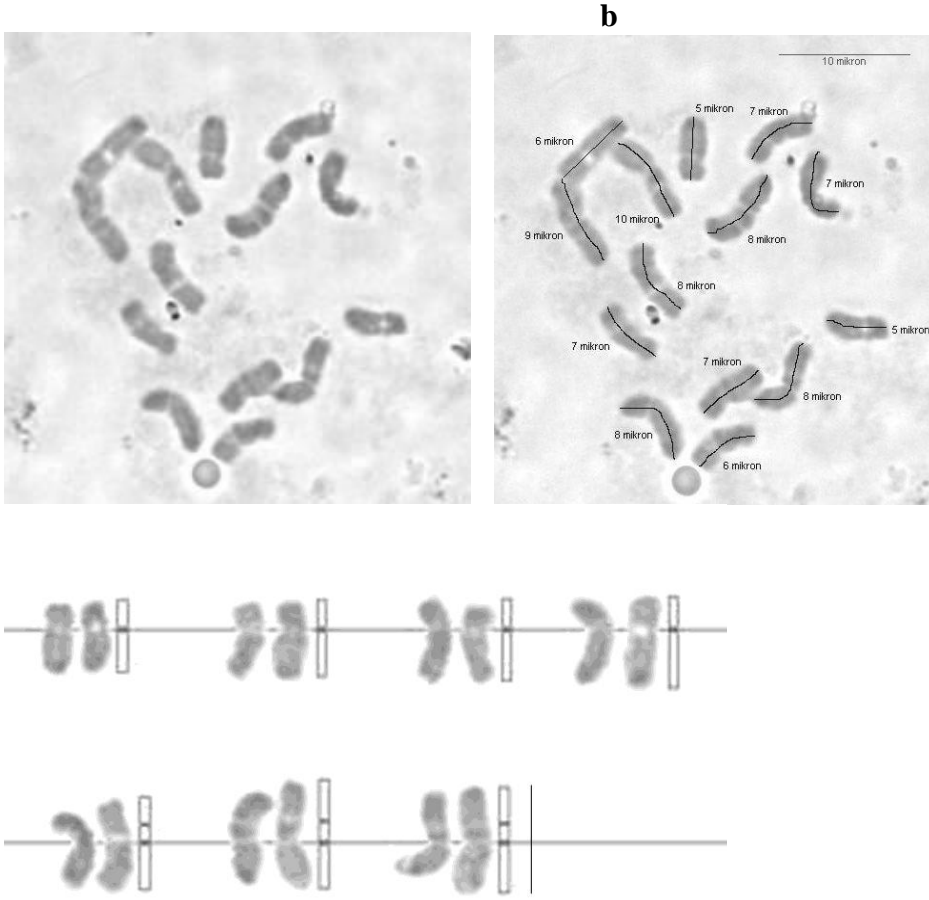


**Şekil 4.16.a,b.** *Dactylis glomerata* subsp. *woronowii* (GR 11803/81, 80 nolu popülasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

#### 4.2.16. *Dactylis glomerata* (GRA 712/81, 84 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri.

Bu takson için elde ettiğimiz 2 karyotipten birinde 1 çift diğerinde ise 3 çift satellit kromozom olduğu ve en uzun kromozomun 10  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4.1’de yer alan çekirdek DNA analizi sonuçları incelendiğinde gözlenen varyasyonun yabancı döllenmiş bir tür için normal gibi gözükmesine rağmen karışımın çekirdek DNA içeriği birbirine benzer iki takson arasında olması ihtimali olasıdır.

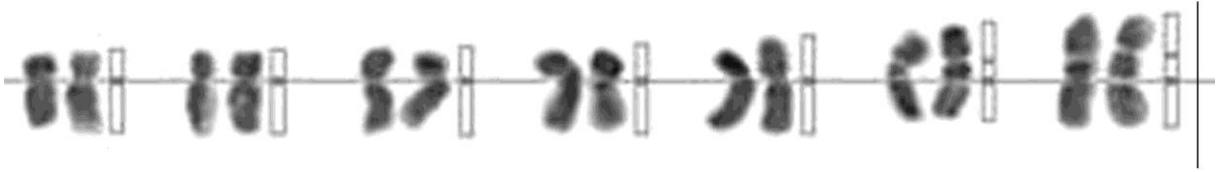
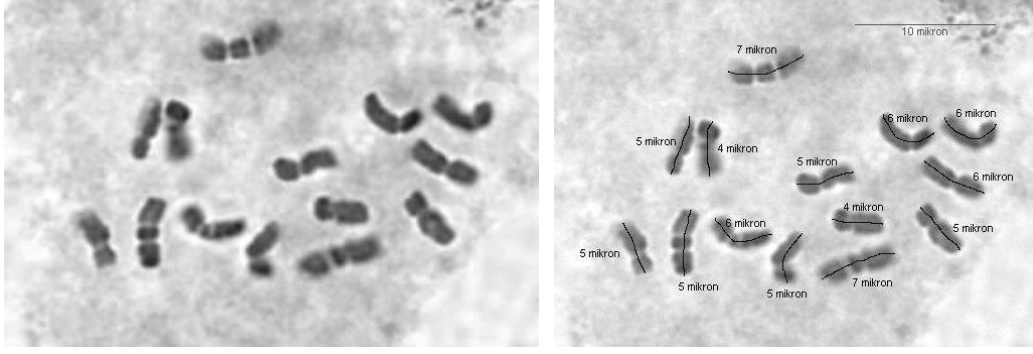




**Şekil 4.17.a,b.** *Dactylis glomerata* (GRA 712/81, 84 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipleri (Bar 10  $\mu$ ).

**4.2.17. Diploid *Dactylis glomerata subsp woronowii* (GRA 1/81, 85 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi.**

Taksonun 1 çift metasentriğe benzer kromozom, 4 çift submetasentrik kromozom ve 2 çiftte satellit kromozoma sahip olduğu ve en uzun kromozomun 7  $\mu$  olduğu gözlenmiştir. Bu yönüyle elde edilen karyotip takson için başka bir aksesyon kullanılarak elde edilmiş olan karyotipler ile satellit kromozom sayısı hariç benzerdir. Aradaki farklılık bitki materyalinin farklı taksondan olmasından kaynaklanıyor olabilir.



**Şekil 4.18.** Diploid *Dactylis glomerata* subsp *woronowii* (GRA 1/81, 85 nolu populasyon) mitoz kromozomları ve karyotipi (Bar 10  $\mu$ ).

## 5. SONUÇ

Bir bitkinin ayrı bir tür olarak sınıflandırılabilmesi için, genetik olarak cinsin diğer türlerinden izole edilmiş ve farklı ekolojilere adapte olmuş olması yanında farklı fenotipik özelliklere sahip olması da gereklidir (Borril, 1991). *Dactylis* cinsine bu açıdan yaklaşıncı taksonların morfolojik olarak birbirlerine benzemesi, birçok taksonun doğada genelde bir arada bulunuyor olmaları ve birbirleriyle kolayca melezlenebilmeleri nedeniyle cinsin içerisinde yeni türlerin oluşumu sürecinin (speciation) henüz tamamlanamamış olduğu anlaşılmaktadır. Öte yandan, Murray, (2005) bir cins içerisinde yeni türlerin oluşumunda hücre çekirdeği içerisinde bulunan DNA miktarının bitki morfolojisinden daha önce farklılaştığını bu yüzden de, eğer bir tür içerisinde çekirdek DNA içeriği farklılığı belirlenmişse bunun tür içerisinde taksonomik çeşitliliğin ve yeni türlerin oluşum sürecinin varlığını gösteren bir delil olabileceğini belirtmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *Dactylis* cinsi içerisinde yer alan aynı ploidy düzeyindeki (diploid) taksonlar arasında 2C çekirdek DNA içeriği bakımından büyük bir fark (1.5 pg) vardır. Bu fark cinsin içerisinde farklılaşmanın (speciation) başladığını ancak varyasyonun süreklilik (continuous type) gösteren varyasyon olmasından dolayı bu farklılaşmanın henüz daha tamamlanmadığını ve hala devam eden bir süreç olduğunu ifade etmektedir. Diğer taraftan bu süreklilik gösteren varyasyon cinsin içerisindeki taxonların birbirleri ile hala kolayca melezlenebilmelerinden dolayı aralarında fazla miktarda genetik materyal değişimi yaptıklarını da ifade etmektedir.

*Dactylis* kromozomlarının morfolojik olarak birbirine benzer olmasından dolayı kromozomların kesin olarak teşhislerinin yapılması bu çalışmada kullanılan klasik yöntemle mümkün olamamıştır. Klasik yöntemlerle yapılan sitolojik incelemelerde taksonların karyotiplerinin bazı taxonlar arasındaki satellite kromozom sayısı hariç genelde bir birine çok benzedikleri belirlenmiştir. Bu da cinsin içerisinde kromozom morfolojisi bakımından belirgin bir farklılaşmanın olmadığını bu yüzden de yeni türlerin oluşma sürecinin (speciation proces) henüz tamamlanamamış olduğunun bir başka delili sayılabilir. Bundan dolayı *Dactylis* taxonları için daha güvenilir ve informatif karyotiplerin ancak kromozom banding ve in situ hybridization metotları kullanılarak elde edilebileceği anlaşılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar gen bankalarındaki *Dactylis* aksesyonlarının bazılarının etiket bilgilerinin yanlış bazılarının da karışık olabileceğini işaret etmektedir. Bu yüzden taksonların saf olarak buldukları bölgelerden uzman kişilerce teşhis edilip vakit geçirmeden toplanmaları ve gen bankalarında muhafaza altına alınmaları son derece büyük bir öneme sahiptir.

## 6.KAYNAKLAR

- Altın M, Gökkuş A ve Koç A (2005). Çayır Mer'a ıslahı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü Yayınları ISBN 975-407-188-8
- Arumuganathan K and Earle ED (1991). Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Molecular Biology Reporter*. 9:229-241.
- Badaeva ED, Boguslavsky RL, Badev NS, and Zelenin AV (1990). Intraspecific chromosomal polymorphism of *Triticum araraticum* detected by C-banding technique. *Plant. Syst. Evol.* 169: 13-24.
- Badaeva ED, Friebe B, Zoshchuk SA, Zelenin AV and Gill BS (1998). Molecular cytogenetic analysis of tetraploid and hexaploid *Aegilops crassa*. *Chromosome Research*. 6: 629-637.
- Bauchan GR and Hossain MA (1999). Constitutive heterochromatin DNA polymorphisms in diploid *Medicago sativa* ssp. *falcata*. *Genome*. 42: 930 – 935.
- Bennett MD and Leitch IJ (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann. Bot. (London)* 76:113-176.
- Bennett MD, Bhandol P and Leitch IJ (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. *Ann. Bot. (London)* 86:859-909.
- Borril M (1991). Evolution and genetic resources in cocksfoot. p. 379-397. In Tsuchiya and Gupta (ed.) *Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution, Part B*. Elsevier Science Publishers B. V.
- Cavallini A, Natali L, Cionini G, Gennai D (1993) Nuclear DNA variability within *Pisum sativum*: Nucleotypic effects on plant growth. *Heredity*, 70: 561-565.
- Creber HMC, Davies MS, Francis D and Walker HD (1994). Variation in DNA C value in natural populations of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist*. 128:555-561.
- Cuadrado M and Cardoso N (2008). Physical organisation of simple sequence repeats (SSRs) in *Triticeae*: structural, functional and evolutionary implications. *Cytogenet Genome Res* 120:210–219.
- Domin K (1943). Monografica studie o rodu *Dactylis* L. *Acta Bot. Bohem.* 14: 3-147.
- Fominaya A, Vega C and Ferrer E (1988). Giemsa C-banded karyotypes of *Avena* species. *Genome*. 30: 627 – 632.
- Friebe B and Gill BS (1996). Chromosome banding and genome analysis in diploid and cultivated polyploid wheats. In *methods of genome analysis in plants* edited by Prem P. Jauhar. pp. 39 - 60.
- Gençkan MS (1983). Yem bitkileri tarımı. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın no 467, İzmir, s 342-347.
- Gill B and Kimber G (1974). Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 71: 1247-1249.
- Graham MJ, Nickell CD, Rayburn AL (1994) Relationship between genome size and maturity group in soybean. *Theor. Appl.Genet.*, 88: 429-432.
- Greilhuber J (1998) Intraspecific variation in genome size: A critical reassessment. *Annals of Botany*, 82 (suplement A): 27-35.

- Greilhuber J (2005) Intraspecific variation in genome size in angiosperms: Identifying its existence. *Annals of Botany*, 95: 91-98.
- Hatipoğlu R, Hesemann CU and Gland A (1992). Cytological research on the populations of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) collected on the pastures in the campus of Cukurova University. *J. Agric. Fac. C. U.*, 7(4): 141-156. (in Turkish with English abstract).
- Kölliker R, Stadelmann FJ, Reidy B and Nösberger J (1999). Genetic variability of forage grass cultivars: A comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L., and *Dactylis glomerata* L. *Euphytica*. 106:261-270.
- Lavania UC, Sharma AK (1980). Giemsa C-banding in *Lathyrus* L. *Bot. Gaz.* 141:199-203.
- Lim KB, Wennekes J, Jong JH, Jacobsen E, Tuyl JM (2001). Karyotype analysis of *Lilium longiflorum* and *Lilium rubellum* by chromosome banding and fluorescence in situ hybridization. *Genome* 200, 44:911-918.
- Linc G, Friebe BR, Kynast RG, Molnar-Land M, Köszegi B, Sutka J and Gill BS (1999). Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. *Genome*. 42: 497 – 503.
- Löve RM (1969). Registration of Paletsine orchardgrass. *Crop Sci.* 9, 523.
- Lumaret R (1988). Cytology, genetics and evolution in the genus *Dactylis*. *C. R. C. Critical Rev. Plant Sci.* 7:55-91.
- Lumaret R, Bowman CM and Dyer TA (1989). Autopolyploidy in *Dactylis glomerata* L. Further evidence from studies of chloroplast DNA variation. *Theor. Appl. Genet.* 78:393-399.
- Lumaret R and Barrientos E (1990). Phylogenetic relationships and gene flow between sympatric diploid and tetraploid plants of *Dactylis glomerata*. *Pl. Syst. Evol.* 169:81-96.
- Miller DA (1984). Forage Crops. Univ. Of. Illinois. Urbana Champaign. P. 13-20
- Mizianty M (1985). Banding patterns in chromosomes. III. *Dactylis glomerata* subsp. *Aschersoniana* from Poland. *Acta Soc. Bot. Pol.* 54: 169
- Mizianty M (1986). Biosystematic studies on *Dactylis*. I. Review of previous studies. I. I. Systematics. Variability, ecology, biology and cultivation problems. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 55: 467
- Murray BG (2005). When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany*, 95(1): 119-125.
- Norris IB, Thomas H (1982). Recovery of ryegrass species from drought. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*. 98: 623-628.
- Ohri D (1998). Genome size variation and plant systematics. *Ann. Bot.*, 82 (Suppl. A.): 750-812.
- 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.
- Price HJ, Bachmann K (1975). DNA content and evolution in the *Microseridinae*. *Am. J. Bot.*, 62: 262-267.
- Rees H and 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*, 82 (suppl. A): 99-105.
- Schifino MT and Winge H (1983). Systematics and evolution of the *Briza* complex (Gramineae). 2. Karyotypes and nuclear-DNA content of species of *Briza* complex and some other genera of *Poaceae* (Gramineae). *Revista Brasileira de Genetica* 6:245-259.
- Serin ve Gökkuş (1989). Buğdaygil yem bitkileri uygulama klavuzu. Atatürk Üniversitesi. Ziraat fak. Yard. Ders Notu: no 2, Erzurum, s 85-109.
- Southern DI (1967). Species relationships in the genus *Tulipa*. *Chromosoma*, 23: 80-94.
- Singh KP, Raina SN, Singh AK (1996). Variation in chromosomal DNA associated with the evolution of *Arachis* species. *Genome*, 39: 890-897.
- Temsch EM, Greilhuber J (2000). Genome size variation in *Arachis hypogea* and *A. monticola* re-evaluated. *Genome*, 43: 449-451.
- Tosun M, Akgun I, Sagsoz S (1999). Determination of some cytological characters of wild orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) growing in Erzurum district. *Turk. J. Agric. For.*, 23:219-228. (in Turkish with English abstract)
- Tuna M, Vogel KP, Arumuganathan K, Gill KS (2001b). DNA content and ploidy determination of bromegrass germplasm accessions by flow cytometry. *Crop Sci.*, 41: 1629-1634.
- Tuna M, Khadka DK, Shrestha MK, Arumuganathan K, Golan-Goldhirsh A (2004a). Characterization of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations of Thrace Region of Turkey based on ploidy and DNA polymorphisms. *Euphytica*, 135: 39-46.
- Tuna M, Vogel KP, Gill KS and Arumuganathan K (2004). "C-Banding Analysis of *Bromus inermis* Genomes", *Crop Science*, 44:31-37.
- Tuna M, Sabancı CO, Golan-Goldhirsh A (2004). Evaluation of Some Agronomic Characters of Natural Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) Populations Collected from Thrace Region of Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 10:57-64.
- Vilhar B, Vidic T, Jogan N and Dermastia M (2002). Genome size and the nuclear number as estimators of ploidy level in *Dactylis glomerata* in Slovenian Alps. *Plant Syst. Evol.* 234:1-13.
- Wetsching W (1983). Zur Karyologie von *Dactylis glomerata* L. am Südost-Rand der Alpen. *Thyton* (Austria) 2: 271-305.
- Wetsching W (1990). Karyotype Morphology of Some Diploid Subspecies of *Dactylis glomerata* L. (*Poaceae*). *Phyton* (Horn, Austria) Vol. 31. Fasc. 1. P. 35-55.

## TEŐEKKÖR

Bu araştırma konusunun belirlenmesinde, tezimin hazırlanmasında ve bana her konuda rehberlik eden değerli hocam, danışmanım Sayın Doç. Dr. Metin TUNA'ya, çalışmalarımın her aşamasında vermiş olduğu bilgilerinden ve desteklerinden dolayı Sayın Yar. Doç. Dr. İlker NİZAM'a ve Arař. Gör. Eyüp Erdem TEYKİN'e ve her türlü desteği benden esirgemeyen sevgili annem ve babama teşekkür ederim.