

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI YABANI KORUNGA (*Onobrychis* sp.) TÜRLERİNİN KROMOZOM
SAYILARININ TESPİTİ VE KARYOTİP ANALİZİ**

ESRA AKÇELİK

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2009

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI YABANI KORUNGA (*Onobrychis* sp.) TÜRLERİNİN KROMOZOM SAYILARININ TESPİTİ VE KARYOTİP ANALİZİ

Esra Akçelik

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Cengiz SANCAK

Yabani korunga türleri biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanma bakımından oldukça geniş bir adaptasyon yeteneğine sahiptir. Bu türlerde kromozom sayımı ve morfolojilerinin belirlenmesi bitki ıslahı çalışmaları açısından çok önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, Adana, Ankara, Malatya ve Nevşehir illerinden toplanan dört farklı yabani korunga türünün tohumları kullanılmıştır. Kök uçları 1,5 cm'e ulaştığında ilk işlem için 12 saat 0°C' de, tespit için 30 dakika 3:1 (ethanol-asetik asit) çözeltilisinde bekletilmiştir. Sonra 1N HCL de 60°C' de 12 dakika hidroliz edilmiştir. Karanlık koşullarda ve oda sıcaklığında 30 dakika Feulgen ile boyanmış ve ezme preparat yapılmıştır.

Bu türlerin kromozom sayıları sırasıyla *Onobrychis tournefortii* (Willd.) Desv. $2n=14$, *Onobrychis gracilis* Beser $2n=14$, *Onobrychis hypargyrea* BOİSS. $2n=14$, *Onobrychis argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. $2n=16$ olarak bulunmuştur.

Türlerin kromozom sayılarının tespiti ilk kez çalışmamızda ortaya konmuştur. Kromozom boyları *Onobrychis tournefortii*, *Onobrychis gracilis*, *Onobrychis hypargyrea* ve *Onobrychis argyrea*'da sırasıyla 1,40–2,19 μ , 1,46–2,34 μ , 0,80–1,83 μ , 1,39–2,94 μ arasındadır.

Temmuz 2009, 55 sayfa

Anahtar kelimeler: Korunga (*Onobrychis* sp.), sitogenetik, kromozom sayısı, kromozom morfolojisi, karyotip analizi

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF CHROMOSOME NUMBER AND KARYOTYPE ANALYSIS IN SOME WILD TYPE SAINFOINS

Esra AKÇELİK

University of Ankara
Institute Of Natural and Applied Sciences
Department of Agronomy

Supervisor: Prof. Dr. Cengiz SANCAK

Wild sainfoin species (*Onobrychis* sp.) have a large adaptation ability regarding biotic and abiotic stress condition (cold, drought, diseases, pests and salinity). Determination of chromosome number and morphology are very important for plant breeding.

In this thesis study, the seeds of 4 different species collected from Adana, Ankara, Malatya and Nevşehir were used. When the root length reached 1,5 cm, they were placed for 12 h at 0°C before treating them with ethanol-acetic acid (3:1) for 30 minutes. Roots were hydrolysed for 12 minutes in 1 N HCL at 60° C and stained with feulgen for 30 minutes under darkness at room temperature before making prepreparates.

Chromosome number of the species are determined as follows:

<i>O.tournefortii</i> (Willd.) Desv.	: 2n=14
<i>O.gracilis</i> Besser	: 2n=14
<i>O.hypargyrea</i> Boiss.	: 2n=14
<i>O.argyrea</i> Boiss. subsp. <i>argyrea</i> Boiss.	: 2n=16

The chromosome number for this species was determined for the first time in our study. Chromosome lengths in *O.tournefortii*, *O.gracilis*, *O.hypargyrea*, *O.argyrea* are between 1,40–2,19 µ, 1,46–2,34 µ, 0,80–1,83 µ, 1,39–2,94 µ respectively.

July 2009, 55 Pages

Key Words: : Sainfoin, cytogenetic, chromosome number, chromosome morphology, karyotype analysis.

TEŞEKKÜR

Bölümümüz ile TÜBİTAK arasında, “MORFOLOJİK, AFLP VE SEKANSA (MatK ve ITS) DAYALI TEKNİKLERLE KORUNGA (*Onobrychis* sp.) TÜRLERİNİN FİLOGENETİK İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” adı altında yürütülen projeye, Yüksek Lisans Tezi olarak bana verilen “Bazı Yabani Korunga (*Onobrychis* sp.) Türlerinin Kromozom Sayılarının Tespiti ve Karyotip Analizi” ile katkıda bulunmamı sağlayan, çalışmalarım sırasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım, çok değerli hocam Prof. Dr. Cengiz SANCAK’a içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında bütün imkân ve bilgilerini benden esirgemeyen hocam Prof. Dr. Cafer SIRRI SEVİMAY’a, çalışmalarım sırasında bilgilerini benimle paylaşan, önerileri ile beni yönlendiren büyük yardımı olan Araş. Gör. Satı ÇÖÇÜ’ye teşekkür ederim. Ayrıca, araştırmamda kullanılan bitki materyalini temin eden, destek ve yardımlarını esirgemeyen, tezin yazımı ve düzenlenmesinde önemli rolü olan Araş. Gör. Süleyman AVCI’ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda özellikle kromozomların ölçülmesi ve hesaplanması sırasında yardımı olan, kendisinden kromozom boyama metodunda yeni bir yöntem öğrendiğim, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Eissa ZARİFİ’ye teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her konuda yardımı olan, manevi desteğini hiç eksik etmeyen değerli eşime ve sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Esra AKÇELİK
Ankara, Haziran 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 Kuramsal Temeller	5
2.1.1 <i>Onobrychis</i> cinsinin genel özellikleri	5
2.1.2 Cinsaltı taksonlar ve teşhis anahtarları	6
2.1.2.1 <i>Onobrychis gracilis</i> BESSER	7
2.1.2.2 <i>Onobrychis hpargyrea</i> BOISS.....	7
2.1.2.3 <i>Onobrychis tournefortii</i> (WILLD.) DESV	8
2.1.2.4 <i>Onobrychis argyrea</i> BOISS. subsp. <i>argyrea</i> BOISS	8
2.2 Kaynak Özetleri	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal	20
3.2 Yöntem	21
3.2.1 Somatik kromozomların gözlemi için materyalin hazırlanması	22
3.2.1.1 Kök hücre örneklerinin alınması	22
3.2.1.2 İlk işlem	22
3.2.1.3 Materyalin tespiti	23
3.2.1.4 Materyalin muhafazası	24
3.2.1.5 Hidroliz	24
3.2.1.6 Boyama	24

3.2.1.6.1 Feulgen' in hazırlanışı	25
3.2.2 Preparatın yapılışı	26
3.2.3 Devamlı preparatların yapılışı	27
3.2.4 Karyotip analizleri ve kromozomların detaylı olarak incelenmesi	27
3.2.4.1 Fotoğraf çekimi ve film banyosu	27
3.2.4.2 Kromozom boylarının ölçülmesi	28
3.2.4.3 Sentromer indeksinin hesaplanması	28
3.2.4.4 Kromozom kollarının indeksleri	29
3.2.4.5 İdiogramların çizilmesi	30
3.2.4.6 Karyogramların yapılması	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ.....	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HCL	Hidroklorik Asit
°C	Santigrat derece
M	Molar
DNA	Deoksiribo Nükleit Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
1N	1 Normal
cm	Santimetre
μ	Mikron
g	Gram
L	Litre

Kısaltmalar

Glasial Asetik Asit	(CH ₃ COOH)
Etil Alkol	(C ₂ H ₅ OH)
3:1 asetik alkol	3ölçek Absolü Alkol, 1 ölçek Glasial Asetik Asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 <i>O.tournefortii</i> (Willd.) Desv. (2n=14) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları	32
Şekil 4.2 <i>O.tournefortii</i> (Willd.) Desv. türüne ait karyogram.....	32
Şekil 4.3. <i>O.tournefortii</i> (Willd.) Desv. türüne ait idiogram.....	32
Şekil 4.4 <i>O.hypargyrea</i> Boiss. (2n=14) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları.....	35
Şekil 4.5 <i>O.hypargyrea</i> Boiss. türüne ait karyogram.....	35
Şekil 4.6 <i>O.hypargyrea</i> Boiss. türüne ait idiogram.....	35
Şekil 4.7 <i>O.gracilis</i> Besser (2n=14) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları.....	38
Şekil 4.8 <i>O.gracilis</i> Besser türüne ait karyogram.....	38
Şekil 4.9 <i>O.gracilis</i> Besser türüne ait idiogram.....	38
Şekil 4.10 <i>O.argyrea</i> Boiss. subsp. <i>argyrea</i> Boiss. (2n=16) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları.....	41
Şekil 4.11 <i>O.argyrea</i> Boiss. subsp. <i>argyrea</i> Boiss. türüne ait karyogram.....	41
Şekil 4.12 <i>O.argyrea</i> Boiss. subsp. <i>argyrea</i> Boiss. türüne ait idiogram.....	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.2	<i>Onobrychis</i> cinsine ait türlerde yapılan karyolojik çalışmalar	17
Çizelge 3.1	Tez çalışmasında kullanılan türlerin isimleri, toplandıkları lokasyonlar ve koordinatları.....	19
Çizelge 3.2.4.4	Kromozomların adlandırılmasında sentromerlerin kullanılışı (Levan et al 1964).....	28
Çizelge 4.1	<i>O.tournefortii</i> 'nin karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları....	31
Çizelge 4.2	<i>O.hypargyrea</i> 'nın karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları....	34
Çizelge 4.3	<i>O.gracilis</i> 'in karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları.....	37
Çizelge 4.4	<i>O.argyrea</i> 'nın karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları.....	40

1. GİRİŞ

Korunga, Türkiye'nin özellikle Orta ve Doğu Anadolu ile geçit bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen bir yem bitkisidir. Ülkenin engebeli topoğrafik alanlardan oluşmuş milyonlarca hektar mera arazisi, ağır ve zamansız kullanma sonucu bitki örtüsünün önemli bir kısmını yitirmiş ve erozyona açık durumdadır. Bitki örtüsü aşırı derecede seyrekleşmiş alanlarda uygulanabilecek ıslah işlemi ya üstten tohumlama ya da yeniden ektir. Bu nedenle kıraç koşullarda kullanılacak buğdaygil ve baklagil yem bitkilerine gereksinim duyulacaktır. Korunga, bu alanlarda güvenle kullanılacak bir baklagil yem bitkisidir. Soğuğa ve kurağa çok dayanıklı olan korunga, diğer bitkilerin yetişemediği kıraç, kireçli topraklarda iyi bir gelişme gösterir. Kalkerli ve sulanmayan topraklarda yoncadan daha verimlidir. Suyun problem olduğu birçok iklim ve toprak şartlarında yetişebildiği için ekim nöbeti planlamasında önemli bir yeri vardır. En önemli toprak ıslahı bitkilerinden birisidir (Açıkgöz 2001).

Korunganın kök kalıntıları toprakta organik madde birikmesine yardım ederek, kıraç iklim ve toprak koşullarında oluşumu çok güç olan ve üstün bir değeri bulunan humusun artmasını sağlar (Soya vd. 1997). Otu, nitrojensiz öz maddeler, ham yağ ve ham protein oranı açısından yüksektir. Hazmolmayı olumsuz yönde etkileyen lignin maddesi korunga otunda yoncadan daha azdır. Ayrıca, çiftlik hayvanlarına şişkinlik yapmaz. Korunganın otlatma bakımından diğer bir önemi de bu bitkinin ilkbaharda erken gelişmeye başlamasıdır. Böylece korunga, diğer mera bitkileri otlatma olgunluğuna gelmeden önce hayvanlara yem sağlar.

Korunga bitkisinin hastalıkları üzerinde fazla çalışılmamıştır. Bazı bölgelerde *Sclerotinia trifoliorum* ve *Fusarium solani*'nin yol açtığı kök çürüklükleri *Verticillium alboatrum*'un neden olduğu solgunluk, Ramularia, Septoria, Ascochyta funguslarının yol açtığı yaprak ve gövde zararları görülmektedir. Korungada görülen zararlıların başında *Sphenoptera carcieli*, *Bembecia scopigera* ve *Plaginatus florlis* gelmektedir. Bu zararlıların larvaları korunga kök boğazına girerek kökün öz kısmını tahrip etmekte, kökleri zarar gören bitkiler ölmektedir. Aslında 8 ila 20 yıl arasında ömre sahip korunga bitkisi, bu zararlıların etkisi ile Türkiye'de 3-4 yıldan fazla yaşayamamaktadır.

Elçi ve arkadaşları tarafından 1992-1996 yılları arasında Orta Anadolu koşullarında yapılan bir dizi çalışmada korunga tesisinde böcek zararından kaynaklanan ölümlerin tesis yılında başladığı görülmüştür. Yine aynı çalışmada ekim yılı ile birlikte üçüncü yılında tesisin ekonomik ömrünü tamamladığı belirlenmiştir. Orta Anadolu'da bu yıllarda böcek zararından dolayı korunga tarımından vazgeçilmek zorunda kalınmıştır.

Korunga tarımını engelleyen zararlılar üzerinde yapılan çalışmalarda, incelenen çok çeşitli tür ve genotiplerin bu zararlılara dayanıklı olmadığı görülmüştür (Büyükburç vd. 1987).

Ülkemiz çayır ve meraları için yem kalitesi ve adaptasyon yeteneği bakımından önemli bir yem bitkisi olan korunga üzerinde yeterince ıslah çalışması bulunmamaktadır. Bu bitkinin çeşitlilik merkezlerinden biri olarak bilinen Türkiye, korunga ıslahında kullanılabilir yabani korunga türleri açısından oldukça zengindir.

Yabani korunga türleri (*Onobrychis* sp.) biyotik ve abiyotik stres koşullarına (soğuğa, kuraklığa, hastalık ve zararlılara, tuzluluğa) dayanma bakımından oldukça geniş bir adaptasyon yeteneğine sahiptir. Ancak, bu türler üzerinde çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Yabani korunga türleri, gerek biyolojik çeşitliliği artırmaya yönelik çalışmalarda gerekse ıslah çalışmalarında çok önemli olan doğal gen kaynaklarıdır. Genetik çeşitliliğin düzeyini artırmak ıslah programının başarısı için mutlaka gereklidir. Geniş bir çeşitlilik gösteren bu yabani korunga türlerinden ıslah çalışmalarında yararlanmak mümkündür. Korunganın kromozom sayısı ve kromozom morfolojisi hakkında bilgi sahibi olmak ve bunlardan yararlanmak ıslah çalışmalarında emin bir yol takip edebilmek için gereklidir. Çünkü ıslahın ana kaynağı olan kromozomlar en büyük yardımcıdır (Darlington and La Cour 1976). Kromozomlar, özellikle anaçların ileriki döllerde etkisini ortaya koyma bakımından çok büyük kolaylıklar ve aydınlatıcı bilgiler verir (Elçi 1996).

Son yıllarda, dünyada yabani türlerdeki zengin çeşitliliği ortaya çıkarmaya yönelik çalışmalar büyük hız kazanmıştır. Bu çalışmalar bitki ıslahı için yabani türlerin sahip olduğu zengin gen havuzlarının değerlendirilmesine, korunmasına ve kullanılmasına olanak sağlayacaktır. Bu yabani türlerin sitolojik özelliklerinin bilinmesinin büyük önemi vardır.

Sitolojik karakterler genellikle kromozomlarla ilgili karakterlerdir. Bu karakterlerin başında kromozom sayısı gelmektedir. Kromozom sayısı doğru gözlemler yapıldığı takdirde çok kullanışlı bir karakterdir. Ancak, bu gözlemler sırasında satelitler sanki bir kromozommuş gibi muamele görmekte ve yanlış sayımlar ortaya çıkmaktadır. Bu durumun göz önünde bulundurulması gerekir. Satelitlerin sayısı ve pozisyonu ile sentromerin yeri kullanılabilen diğer karakterlerdir. Kullanılan bütün bu karakterlerin kromozom takımının A kromozomlarına dayandırılması gerektiği, B kromozomları ile eşey kromozomlarının kullanılmayacağı belirtilmektedir (Moore 1968). Mayoz bölünmede kromozom yapısı ve davranışlarının populasyonlar arasındaki akrabalık ve onların evrimlerini anlamamıza yardımcı olabileceği bildirilmektedir. Bütün bu karakterlerin ortaya çıkarılabilmesi için karyotip analizlerinin yapılması gerekmektedir. Karyotip, mitotik metafazda kromozomların görünüşüdür. Bir karyotip, beş farklı karakterin karşılaştırılmasıyla ortaya çıkmaktadır. Bu karakterler, takımın kromozomlarının büyüklüklerinde, sentromerin pozisyonunda, kromozomların nisbi büyüklüklerinde, temel kromozom sayısında ve satelitlerin pozisyonu ve sayısındaki farklılıklardır (Stebbins 1971).

Gerek taksonomistler gerek ve gerekse botanikçiler ile bitki ıslahçılar herhangi bir türü tespit ve tayin edebilmek için morfolojik ve sitolojik çalışmalar yapmak durumundadırlar. Herhangi bir türün kesinlik kazanması için ne sadece morfolojik, ne de sadece sitolojik çalışmalar ve kromozom sayımları tek başına yeterlidir. Bir türün sistematikteki klasik yerini tayin etmek ve bazı ıslah sorunlarını çözebilmek için o türün kromozomlarının büyüklüğü, morfolojisi, boyanması, sentromerlerinin kromozom üzerindeki yeri ve şeklinin nasıl olduğunun bilinmesi gereklidir. Bitki ıslahçıları, sistematikçilerin ve stologların yaptıkları kromozom çalışmalarından yararlanarak türler

arası melezlemeler ve bu melezlemelerde etkili olan kromozomlar konusunda bilgi sahibi olarak istenilen sonuçlar almaya gayret etmektedirler (Nazırdeh ve ark. 2009).

Bu çalışmada ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren dört farklı *Onobrychis* türünün (*O. tournefortii* (Willd.) Desv. , *O. gracilis* Besser, *O. hypergyrea* Boiss. , *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss.) kromozom sayısı ve kromozom morfolojileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar karyolojik açıdan tartışılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kuramsal Temeller

2.1.1 *Onobrychis* Cinsinin Genel Özellikleri

Korunga bitkisi, Fabaceae familyasına bağlıdır. *Onobrychis* cinsinin geçerli adı ilk kez Miller tarafından verilmiştir. Bu tarihten önce Linne (1753) bu cinse ait türleri *Hedysarum* cinsi içerisinde vermiştir. Sonradan bu türler *Onobrychis* cinsine aktarılmıştır. Türkiye türleri ile ilgili ilk ayrıntılı çalışma ve toplu bilgiler, birçok türü de bizzat kendisi tanımlayan Boissier'in (1872) *Flora Orientalis* adlı eserinde yer almıştır. Bu eser, Davis'in (1965-1985, 1988) editörlüğünü yaptığı Türkiye Florası'nın tamamlanmasına kadar Türkiye bitkileri için en kapsamlı Flora ve en önemli kaynak olarak yer almıştır. Daha sonraki yıllarda ise Türkiye türleri ile ilgili en kapsamlı çalışma Hedge'in (1970) Türkiye Florası için yaptığı revizyondur.

Dünyada korunga cinsine ait 162 tür bilinmektedir. Yabani korungalar Baltık Denizi'nden, Akdeniz; Ön Asya ve Sibirya'ya kadar uzanan çok geniş bir alana yayılmıştır. Türkiye'de ise 52 tür (60 takson) yapılan son revizyon çalışması ile ortaya konmuştur (Aktoklu 1995). Bu 52 türün 27 tanesi ülkemize endemiktir.

Onobrychis cinsi tek yıllık veya çok yıllık otsul yapıda olmakla birlikte, nadiren de dikenli yarıçalılardır. Genellikle tabanda odunlaşmış veya kalın toprakaltı gövdelidir. Gövdesi genellikle kıvrık ve belirgin açık yeşil çizgili ve basit tüylü yahut tüsüzdür. Stipülleri (kulakçıklar) serbest veya birleşik olup, genellikle tabandakiler uzun saplı, üsttekiler ise kısa saplı veya nadiren sapsızdır. Yaprakçıkları tam kenarlıdır, yuvarlaktan linear-oblonga kadar mukronulat (küçük sivri sert bir uç), nadiren mukronat (sivri sert bir uç) bulunmaktadır.

Çiçek durumu eksenseldir ve salkıma benzer. Brakteleler zarsı ve kalıcıdır. Brakteoller 2 adettir, zarsı yapıda, filiform (ipliksi), genellikle kaliks tüpü üzerinde, nadiren çiçek sapı üzerindedir. Kaliks çan şeklinde, tüpün alt kısmı dışa doğru şişkin, dişler eşit değil

genellikle mızraksı sivri bir uzantı şeklindedir. Korolla pembe, leylak, sarı, krem veya beyaz, genellikle koyu mor damarlıdır. Bayrakçık dairemsi, eliptik veya dikdörtgenimsi eliptik, bazen yatık yumuşak tüylüdür. Kanatçıklar genellikle kaliksten kısa, nadiren uzun, kulakçıklı ve saplıdır. Ovaryum 1–2 yahut 3 ovüllü, sapsız, bazen çok kısa saplı, en azından uçta yumuşak kılsı ve nadiren tüsüzdür. Meyva 1 (-2) tohumlu, kuruyunca açılmaz, genellikle hafif dairemsidir. Tohumları 1 (-2) adettir.

2.1.2 Cinsaltı Taksonlar ve Teşhis Anahtarları

Onobrychis cinsi Türkiye’de 2 subgenus ile temsil edilmektedir. Bu subgenuslar için ayırım anahtarı:

1.Çiçekleri genellikle pembe, nadiren krem veya beyaz renkli, meyvası hemen hemen sapsızdır.

Subgenus:*Onobrychis*

2.Çiçekleri sarı, nadiren krem veya beyaz renkli, meyvası belirgin saplıdır.

Subgenus:*Sisyrosema*

Subgenus 1.**Onobrychis**

Section 1.**Dendrobtychis** D.C

Section 2.**Lophobrychis** Hand-Mazz

Section 3.**Onobrychis** (*O.gracilis*)

Subgenus 2.**Sisyrosema** (Bunge) Grossh.

Section 4.**Heliobrychis** Bunge (*O.argyrea*)

Section 5.**Hymenobrychis** D.C (*O.tornefortii*, *O.hypargyrea*)

Bu çalışmada yukarıdaki türlerden dört tanesinde çalışılmıştır.

2.1.2.1 *Onobrychis gracilis* Besser

Çok yıllık otsu olan bu tür gövde tabanında odunlu, dik veya yükselici, 40–70 cm boyunda, tüysüz veya seyrek yatık tüylüdür. Yaprakları 5–9 çift olup, yaprakçıkları linear veya linear oblang'tır. Yaprakçıkların alt yüzü yatık tüylü, üst yüzü tüysüz veya çok seyrek yatık tüylüdür. Çiçek durumu dar ve uzun, çok çiçeklidir ve meyva döneminde çok uzar. Korolla pembe renklidir. Bayrakçık 5–7 X 3,5–4 mm ve meyvası 2,5X 3,5 mm'dir.

— Çiçeklenme ve meyva zamanı: Nisan-Ağustos.

— Yetiştirme ortamı ve yükseklik: Çayırliklar, açık alanlar, taşlı yamaçlar, çamlık, meşelik, yol kenarı, tarla içi.

2.1.2.2 *Onobrychis hypargyrea* Boiss.

Çok yıllık otsu olan tür, gövde yükselici-diktir ve tabandan dallanır. En fazla 80 cm boyundadır. Taban yaprakları 3–4 çift, 4–8 cm saplı, üstteki yaprakları 4–7 çift, hemen hemen sapsız ve yaprakçıkları ise ovat, oblong ovat veya oblong lanseolat yapıdadır. Çiçek durumu sapı yapraklardan çok uzun, çiçekte en çok 30 cm, meyvada en çok 40 cm, çiçek sapı yaklaşık 2mm. Çiçek durumu çok çiçekli, meyva döneminde uzar. Korolla krem rengi veya açık sarı, kırmızı damarlı, nadiren kırmızı damarsızdır. Meyva kıvrıkcık tomentoz ve seyrek uzun piloz.

— Çiçeklenme ve meyva zamanı: Nisan-Temmuz

— Yetiştirme ortamı ve yükseklik: Taşlı yamaçlar, kalkerli yerler, açık araziler, meşelikler, 300–1750 m

2.1.2.3 *Onobrychis tournefortii* (Willd.) Desv.

Çok yıllık otsudur. Gövde yükselici-dik, tabandan dallanır, yoğun, kısa ve daha az yoğun, en çok 70 cm boyunda, uzun yaygın piloz. Stipüller en çok 10 mm, serbest, kısa ve uzun yaygın piloz. Yapraklar 3–5 çift, yaprakçıklar ovat-oblang, oblong-lanseolata kadar. Çiçek durumu seyrek, çok çiçekli meyva döneminde uzar. Brakteler 2–4 mm, kalıks 5–8 mm'dir. Korola açık sarı veya krem rengi, genellikle kırmızı damarlı, bazen damarsız. Ovaryum 2X 1 mm, tüsüzdür. Meyva yuvarlaktan böbreksiye kadar, gençken tüylü, olgunlaştıkça tüyler dökülür; kenar çok kısa dişli veya hemen hemen tam kenarlı; disk kısa ve sert dikenli veya dikensizdir.

— Çiçeklenme ve meyva zamanı: Nisan-Ağustos

— Yetiştirme ortamı ve yükseklik: Taşlı ve kalkerli yamaçlar, çayırıklıkla, step orman açıklığı, jipsli yamaçlar, 600–1950 m

2.1.2.4 *Onobrychis argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss.

Çok yıllık otsudur. Gövde dik, çok dallı, en çok 45 cm boyunda, tamamı ipeksi veya beyaz keçemsi sık tüylü. Stipüller 5–8 (-14) mm, serbest. Yapraklar genellikle 2–3 (-4) çift, tabanda bazen basit veya 1 çift, yaprakçıklar genişçe ovat veya oblong, alt yüzü daha parlak ipeksi veya beyaz keçemsi sık tüylü, iki renk, üst yüzü yeşil. Çiçek durumu sapı yapraklardan uzun; çiçek sapı 1,5-2mm. Korolla kükürt sarısı, nadiren kırmızı damarlıdır. Ovaryum 1,5 X 1mm, hafif dairemsidir. Meyvanın kenarı yaklaşık 4 mm boyunda çok sayıda dikenlerle kaplı.

— Çiçeklenme ve meyva zamanı: Haziran-Ağustos

— Yetiştirme ortamı ve yükseklik: Step, yamaçlar, 700–1750 m

2.2 Kaynak Özetleri

Darlington and La Cour (1945), *Trillium grandiflorum*'un 24°C'dan 0°C'a getirilmesi ve orada 2 gün bekletilmesi sonucunda mitoz bölünmenin metafazının oran olarak çok arttığını ve bu işlemin çok fazla kromozom büzülmesine (Contraction) sebep olmadığını bildirmişlerdir.

Hill and Myres (1945), buğdaygillerde örneğin domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) köklerinde kromozom sayımında ilk işlem olarak materyali 2°C'da 24 saat bekletmiştir; böylece, somatik kromozomlarda büzülme olduğu için kromozom sayısının belirlenmesinde kolaylık sağlandığını, metafaz plaklarında çok keskin bir şekilde kromozomların sayıldığını açıklamışlardır.

Warmke (1946), kesilmiş kök uçlarının damıtık su ile doldurulmuş küçük cam kaplarda 0°C'da buzdolabında 1,5 saat bekletilerek ilk işlemin yapılmasından son derece iyi sonuçlar aldığını bildirmektedir. Araştırmacı bu teknik ile birbirinden çok farklı buğdaygillerde, örneğin *Panicum*, *Paspalum*, *Stenotaphrum*, *Pennisetum*, *Cymbopogon*, *Melandrium*, *Saccharum* tür ve varyetelerinde değerli sonuçlar elde ettiğini belirtmiştir.

Heneen (1962) ve Elçi (1965a, 1966c), karyotip analizlerinde kromozomların kol indeksi ve nisbi boylarının hesaplanması için kromozomların çekilmiş fotoğraflarından yararlanmışlardır. Karyotip analizlerini ve kromozom ölçümlerini yaparken devamlı preparatlarda buldukları kromozom morfolojisi iyi görülebilen somatik hücrelerden faydalanmışlar ve bu hücrenin mikroskopta fotoğraflarını çekmişlerdir.

Levan *et al.*, (1964), karyotip analizlerinde sentromer durumunu median noktalı (M), median bölge (m), submedian bölge (Sm), subterminal bölge (st), terminal bölge (t) ve terminal noktalı (T) biçiminde kodlandırarak adlandırmışlardır.

Elçi (1965a, 1966c), Darlington and La Cour (1969), mitoz bölünmede somatik kromozomların incelenmesinde ön işlem olarak α -monobromonaftalin kullanarak iyi sonuçlar elde etmişlerdir.

Sitolojik çalışmalarda kullanılan fiksatifler incelenmek istenen kısımlara göre değişirler. Çeşitli amaçlar için muhtelif fiksatifler kullanılabilir. En çok kullanılan fiksatif 3:1 oranında hazırlanan etil alkol ve asetik asit karışımıdır. Fikse maddelerinden asetik asit bu karışımların çoğunda bulunur. Asetik asit suratle köke nüfuz eder. Kromozomları biraz kabartırsa da gerçek görünüşlerini daha güvenli bir şekilde tesbit eder. Özellikle çekirdek yapılarına etkisi iyidir; plazmayı kısmen çözer, berrak bir fon elde edilir ve böylece karyotip araştırmaları için önemli olan kromozomların morfolojik yapıları daha iyi seçilir. Bütün kromozom boyama metodları arasında Feulgen önemli bir yer tutar. Çekirdek boyama maddelerinin çoğu daha ziyade kromatinle birleşirse de bu konuda hiçbirisi Feulgen kadar etkili olamaz. Feulgen'den daha iyi sonuç almak için daha önce materyali hidroliz etmek gerekir (Elçi 1965a).

Elçi (1966a), mitoz kromozomlarının analizinin zor olduğu bazı baklagil bitkilerinde kromozom sayımı ve karyotip analizi için elverişli bir metod bulmak amacıyla adi fiğ (*Vicia sativa* L.), sarı çiçekli fiğ (*Vicia galeata* Boiss.), eflatun çiçekli fiğ (*Vicia noeana* Boiss.), yem bezelyesi (*Pisum arvense* L.), sarı çiçekli gazal boynuzu (*Lotus corniculatus* L.), korunga (*Onobrychis arenaria* Kit. D.C.), İran üçgülü (*Trifolium resupinatum* L.) ve yemeklik bir baklagil olan fasülye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkilerinin tohumlarını labaratuvarında oda sıcaklığında çimlendirmiş ve elde ettiği kök uçlarını araştırmada materyal olarak kullanmıştır. Araştırmada analiz edilen materyal için hidroliz süresinin çok önemli olduğunu belirtmiştir. Hidroliz süresi uzun olduğu takdirde kromozomlarda herhangi bir boyanma mümkün olmamıştır. Diğer taraftan kısa hidroliz süreleri kromozomlar için seçici bir boyama sağlamamıştır. 1 N HCL'de 60°C de fiğ türleri ve yem bezelyesi için en elverişli hidroliz süresini 12 dakika, sarı çiçekli gazal boynuzu, korunga ve İran üçgülü için 10 dakika ve fasülye için bu süre 5 dakika olarak tespit etmiştir. Standart Feulgen metodu, bu araştırmada kullanılan bitkilerin mitoz kromozomlarını boyamak için yeterli bulunmamıştır. Buna karşılık ilk işlem

fiksasyon ve hidrolizden sonra kromozomların boyanmasında asetokarmin kullanılması elverişli sonuçlar vermiştir.

Elçi (1966a), tabii floradan toplanan otlak ayrığı (*Agropyron cristatum* L.) tohumlarını materyal olarak kullanmıştır. Materyalin kök uçlarında meristem hücrelerde mitoz bölünmeyi incelemiş, araştırmanın sonucunda otlak ayrığının kromozom sayısının $2n=28$ olduğunu belirtmiştir. Metafazda incelediği kromozomlarda satelitli kromozomlar gözlemlemiştir. Mitoz kromozomların genel olarak submedian surumda sentromerleri bulunduğunu belirtmiştir.

Elçi (1966b), çok yıllık çavdar (*Secale montanum* Guss.) 'ı materyal olarak kullandığı çalışmada, tabii vejetasyondan alınarak üretilen çok yıllık çavdar ve bu çavdarın kolkisin ile muamele edilmesi suretiyle elde edilen tetraploid çavdar numunelerinde kromozom morfolojisini tesbit etmek ve karyotip analizi yapmak için serada saksılarda yetiştirilen bitkilerin kök uçlarından yararlanmıştır. Araştırmanın sonucunda çok yıllık çavdarda diploid kromozm sayısının $2n=14$ olduğunu ve iki satelitli kromozom olduğunu belirtmiştir. Ayrıca tetraploid çavdarda somatik kromozom sayısını $2n=28$ olarak tespit etmiş, dört kromozomunun satelitli olduğunu ve bu kromozomların en küçük kromozomlar olduğunu belirtmiştir.

Elçi (1966c), yem bezelyesi (*Pisum arvense* L.)'nde yaptığı sitolojik çalışmalar sonucunda kromozm sayısının $2n=14$ olduğunu, kromozomların normal yapıda olduğunu ve büyüklük bakımından birbirlerinden fazla farklar göstermediğini belirtmiştir.

Malik and Thomas (1966), karyotip çalışması için 5'ten 10'a kadar hücrede orta derecede büzülmüş metafazdaki kromozmları mikroskoptan çizim aleti ile çizmişler ve kromozom kollarını kusursuz bir şekilde ölçmüşlerdir.

Zeybek ve Baltepe (1968), orsein boyaması ile ezme preparatların yapılmasında pektik lamel ve selüloz çeperin eritilmesi için, pektinaz ve sellulaz enzimlerinin uygulanmasını

önermişler ve bu metodun özellikle *Graminea*, *Scrophulariaceae*, *Compositae*, *Solanaceae*, *Cyperaceae*, *Malvaceae* familyaları üyelerinde çok iyi sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

Dvorak (1971), buğdayda soğuk etkisiyle yapılan ilk işlemin genellikle, kromozomların birbirinden ayrılıp yayılmaları ve büzülmeleri bakımından çok iyi sonuçlar verdiğini açıklamaktadır.

Mercy *et al.* (1974), *Cicer* cinsinin 3 türünde (*Cicer arietinum*, *Cicer soongaricum*, *Cicer pinnatifidum*) çalışmışlar ve mitotik analiz için tohumları 30°C'de çimlendirmişlerdir. Kökleri öğlen saat 12.00-13.00 arasında kesmişler ve 0,002 M 8-hydroxiquinoline ile 10°C'de 2-3 saat ön işleme tabi tutmuşlar, daha sonra kök uçlarını 15 dakika musluk suyunda yıkamış ve Nevcomber fiksatifile fikse etmişlerdir. Hidrolize gerek görmeyen araştırmacılar, bir damla %2 'lik propionokarmine kök uçlarını boyayarak ezme preparatlar hazırlamışlardır. Her 3 çeşitin de kromozom sayısını $2n=16$ olarak tespit ederek 1 çift olarak bulunan satelitli kromozomun diğer kromozomların en büyüğü olduğunu belirtmişlerdir.

Rajhaty and Thomas (1974), çok sayıda yulaf bitkisinde kromozom sayısını belirlemek için soğuk suda (+2°)-(4°)C'da buzdolabında 24 saat kök uçlarını bekletmenin en elverişli bir yöntem olduğunu bildirmektedir.

Thomas and Pickering (1979), arpa çavdar melezinde yaptıkları sitolojik çalışmalarda kuvvetli büyüyen kök uçlarını keserek, damıtık suda 1°C'de 24 saat ilk işlem ve 3:1 etanol-asetik asitte 2 saat fiksasyon yapmışlardır. 1 N HCL'de 60°C'de 10 dakika hidroliz yaparak, Feulgen ile boyamışlar ve %1'lik asetokarmine ezme preparat hazırlamışlardır.

Ahmad and Godward (1980), *Cicer arietinum* L.'un F10, C612, CSIMF varyetelerinde mitoz çalışmaları yapmışlardır. Kültür tohumlarını nemli filtre kağıdı üzerinde çimlendirip, aktif kök uçlarını 8-hydroxiquinoline'in 0,002 M solüsyonuyla ön işleme

tabi tutmuşlar ve asetik alkolde 24 saat fikse etmişlerdir. 1N HCL’de 60°C’de 16 dakika hidroliz ettikten sonra Feulgen ile boyamışlar, boyadan çıkan kök uçlarını bir damla astokarminde ezmişler ve preparat hazırlamışlardır. Kromozom sayısının $2n=16$ olduğunu, her varyetede 1 çift satelitli kromozom bulunduğunu, ayrıca kromozomlardan 8. çiftin çok küçük olduğunu belirterek bu yüzden küçük kromozomların kol oranlarının ölçülemediğini bildirmişlerdir.

Lavana and Sharma (1980), kromozom analizlerinde; karyogramların hazırlanmasında kromozomları küçükten büyüğe doğru dizmişlerdir.

Elçi (1982), kromozom boyamada Feulgen’i en etkili boyalardan birisi olarak bulmuştur. Feulgen kromozomların nükleik asitlerini boyar, kromatini ise seçici olarak boyar. Dokular hidroliz edildikten sonra kullanılır.

Sharma and Gupta (1982), bazı baklagil ürünlerinin karyotip analizleri üzerinde durmuşlardır. Çimlenen kök uçlarını 3-4 saat paradiklorobenzen ile ön muameleye tabi tuttukten sonra 24 saat asetik alkolde (1:3) fikse edip standart Feulgen metoduyla boyayarak çok başarılı sonuçlar almışlardır.

Lavana and Lavana (1983), 8 Hindistan baklagil bitkisi üzerinde sitolojik çalışmalar yapmışlardır. 2-25 °C’de ıslak kumda çimlendirilen tohumlardan iyi gelişme gösteren kök uçlarını 3-3,5 saat, 12-14°C’de paradichlorobenzenin sudaki doymuş eriğiyle ön işleme tabi tutmuşlar, buradan çıkardıkları kökleri iyice yıkayarak Carnoy fiksatifinde 1 gece bekletmişlerdir. 3-4 saat, 1N HCL’de hidroliz yaptıktan sonra kökleri asetoorsein ile boyamışlar ve preparatları da %45’lik asetik asitle hazırlamışlardır.

Gu *et al.* (1984), karyotip analizinde, satellitlerin toplam boya ilave edileceğini belirtmiştir. Ayrıca idiogramların hazırlanmasında, homolog kromozomlardan sadece birisinin gösterileceğini bildirmiştir.

Nwankiti (1985), kromozom analizlerinde kol oranlarının hesaplanmasında, kısa kol / uzun kol oranını kullanmıştır, karyogramların hazırlanmasında ise kromozomları küçükten büyüğe doğru dizmiştir.

Sevimay (1986), yabancı olarak yetişen çok yıllık çavdar (*Secale montanum* Guss.)'ın tohumlarını materyal olarak kullanmıştır. Tohumları petri kaplarında çimlendirme dolabında 18-22 °C'de çimlendirmiş, 10-15 mm uzunluğa erişen kökleri keserek, +4°C'de α -monobromonaftalin doymuş çözeltisinde 16 saat ilk işlem ve oda sıcaklığında glacial asetik asitte 30 dakika fiksasyon yapmıştır. 1 N HCL 'de 60°C'de 12 dakika hidroliz yaparak, Feulgen ile boyamıştır. Sitolojik çalışmalar sonucunda çok yıllık çavdar (*Secale montanum* Guss.)'da diploid kromozom sayısının $2n=14$ olarak, çok yıllık çavdardan kolkisin etkisi ile elde edilen tetraploid çok yıllık çavdarda kromozom sayısını $2n=28$ olarak bulmuştur.

Morgan *et al.* (1988), kök ucu mitozunda ilk işlem olarak, kök ucunu henüz buz tutmakta olan suda 16 saat bekletmiş, fiksasyon için 3 ölçek alkol ve 1 ölçek asetik asit kullanmışlardır. Fiksasyonu tamamlanan kök ucunu Feulgende boyamışlar ve %1.5'lük asetokarmın kullanarak ezme preparat tekniği le preparatlar yapmışlardır.

Chen *et al.* (1990), *Triticum aestivum* ile *Agropyron* sp. arasında yapılan türlerarası melezleme çalışmalarında, elde edilen F_1 'in somatik kromozom sayısını tespit etmek için kök ucu meristemlerinden yararlanmışlardır. İçerisinde α -monobromonaftalin bulunan buzlu suda, 2°C'de 24 saat ilk işlem yapmışlardır. Fiksasyon için 1 ölçek asetik asit ve 3 ölçek alkol ve boyama için de Feulgen kullanmışlardır. Ezme preparat yapılırken %1 'lik asetokarminden yararlanmışlardır.

Sancak (1994), Kamışsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.) ve çok yıllık çim (*Lolium perenne* L.)'in doğal kısır melezinden poliploid bitkiler elde edilmesi konulu araştırmasında kamışsı yumak ve diploid çok yıllık çimde mitoz kromozomların özelliklerini incelemiştir. Serada bitkilerin yetiştiği 10-15 cm çapındaki toprak saksıları ters çevirerek gelişmeleri iyi olan kökleri 10-15 mm uzunluğunda kesmiştir. İlk işlemde

kök uçlarına α -monobromonaftalinin doymuş çözeltisini uygulamış ve tesbit işlemi için kökleri oda sıcaklığında 30 dakika glacial asetik asitte bekletmiştir. 1 N HCL 'de 60°C'de *Lolium perenne* L'de 10 dakika, *Festuca arundinacea* Schreb.'de 12 dakika süre ile hidroliz yapmıştır. Hidroliz edilen kök uçlarını Feulgende boyamıştır. Kamışsı yumakta yaptığı sitolojik çalışmalar sonucunda, somatik kromozom sayısını $2n=42$ olarak bulmuş, kromozom boyları birbirine çok yakın olduğundan, homologların belirlenmesinde güçlük çekmiştir. Boyları 2.960-7.640 μ arasında değişen kromozomların 11 tanesinin median (metasentrik) , 10 tanesinin ise submedian (submetasentrik) olduğunu belirtmiştir. Kamışsı yumağın 5.kromozomunda satelit tesbit etmiştir. Diploid çok yıllık çimin ise $2n=14$ somatik kromozoma sahip olduğunu, kromozom boylarının 3.83-6.39 μ arasında değiştiğini, sentromerlerden 5 tanesinin median, 2 tanesinin submedian durumda olduğunu belirtmiştir. Ayrıca 2, 3 ve 4 nolu kromozomlarda ikincil yapılar (satelit) gözlemiştir.

Yüzbaşıoğlu (1996), bazı *Sternbergia* türlerinin karyolojisi adlı çalışmasında ilk işlem olarak kök uçlarını %0,05 kolkisin çözeltisinde oda sıcaklığında 3 saat bekletmiştir. Kolkisinden çıkardığı kök uçlarını asetik asit: absolu alkol (1:3) çözeltisinde tespit etmiş ve buzdolabında en az bir gece bekletmiştir. Daha sonra 1 N HCL'de 12-13 dakika hidroliz yapmış ve hidroliz edilen kök uçlarını Feulgen'de boyamıştır.

Carolan *et al.* (2002), *Oxytona* seksiyonu türlerinin kromozomlarının boyanmasında erimekte olan buz yöntemini kullanarak başarılı sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir.

Güloğlu (2002), bazı fiğ bitkilerinde karyotip analizi konulu çalışmasında ilk işlem olarak kök uçlarına α -monobromonaftalinin doymuş çözeltisini uygulamış ve tespit işlemi için kökleri oda sıcaklığında 30 dakika glacial asetik asitte bekletmiştir. 1N HCL'de 60°C'de 12 dakika hidroliz yaparak, Feulgen ile boyamıştır. Ayrıca ezme preparat hazırlarken laktopropionik orsein kullanmıştır.

Seijo *et al.* Fernandez (2003), *Lathyrus* türlerinde yaptıkları çalışmada kök uçlarını 0°C'de 24 saat bekletmişler, tespit işlemi için 5:1 ethanol –laktik asit kullanmışlardır.

Daha sonra kök uçlarını Feulgen ile boyayarak ezme preparat hazırlarken %3'lük asetik orsein kullanmışlardır.

Martin (2003), *Sideritis* L. cisine ait türlerde karyolojik bir çalışma yapmıştır. Çimlendirme sonucunda 1-1,5 cm'e ulaşan kök uçlarını α -monobromonaftalinde +4 °C'de 16-17 saat ön işleme tabi tutmuştur. Ön işlem sonrasında 3:1 (etil alkol-glasial asetik asit) çözeltisi ile 24 saat fiksasyon yapmıştır. Kök uçlarını daha sonra %70'lik alkolde +4 °C'de depolamıştır. Somatik metafaz kromozomlarının çok küçük olması nedeniyle kromozomların toplam boylarını BsChromosome adı verilen karyotip analiz program aracılığı ile mikron cinsinden ölçmüştür.

Osalou (2004), bazı yabani haşhaşlarda kromozom sayılarının belirlenmesi konulu araştırmasında kök uçlarını ilk işlem olarak 0°C'de 24 saat bekletmiş ve tespit için 3:1 (ethanol-asetik asit) kullanmıştır. Daha sonra 1N HCL'de 60°C'de 8 dakika hidroliz yapmıştır. Hidroliz edilen kök uçlarını Feulgende boyamıştır. Araştırma sonucunda büyük bir çoğunlukla numunelerde 42 kromozom ve sadece bir numunede 28 kromozom bulmuştur.

Zarifi (2004), Azerbaycanda bulunan bazı korungalarda karyotip analizi adlı çalışmasında Aceto-Iron-Hematoxylin yöntemini kullanmıştır. Boyanan kök uçlarını yarım saat yıkadıktan sonra 3mm kadar kesip Cytase enzimiyle ıslatarak yarım saat bekletmiştir.

Ayrıca dünyada korunga türleri ile yapılan çalışmaların, araştırmacıların isimleriyle birlikte yılları , çalışılan türlerin adları ve kromozom sayıları Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Onobrychis cinsine ait türlerde yapılan karyolojik çalışmalar

Türler	Kromozom sayıları	Araştırmacılar ve yılları
<i>O. aequidentata</i>	16	Montmolin, 1984
<i>O. aequidentata</i>	28	Romano et al, 1987
<i>O. aequidentata</i>	14	Baltisberge , 1991
<i>O. alba ssp. calcarea</i>	14	Kozoharov et al ,1975
<i>O. alba ssp laconica</i>	14	Kozoharov et al , 1975
<i>O. amoena</i>	14	Baykabilov, 1977
<i>O. antasiatica</i>	14	Polishvaik , 1973
<i>O. altissima</i>	28	Ornduff, 1965
<i>O. angustifolia</i>	28	Chapman & Yuan , 1968
<i>O. angustifolia</i>	28	Ornduff, 1965
<i>O. arenarid</i>	14	Favarge , 1953
<i>O. arenaria</i>	14	Cave, 1963
<i>O. arenaria</i>	28	Ornduf ,1966
<i>O. arenarid</i>	28	Chapman & Yuan , 1968
<i>O. biebersteinii</i>	28	Ornduff ,1966
<i>O. biebersteinii</i>	14	Ornduff ,1968
<i>O. bobrovii</i>	14	Magulaev, 1995
<i>O. caput-galli</i>	14	Senn, 1938
<i>O. caput-galli</i>	14	Larsen, 1956
<i>O. caput-galli</i>	14	Cave,1959
<i>O. caput-galli</i>	14	Baykabilov,1977
<i>O. chorassanica</i>	14	Krashibaev,1992
<i>O. chorassanica</i>	14	Rahimi et al, 1999
<i>O. cornuta</i>	16	Cartier, 1976
<i>O. cornuta</i>	16	Astanova et al ,1981
<i>O. cornuta</i>	14	Magulaev et al ,1989
<i>O. crista-galli</i>	14	Corti, 1931
<i>O. crista-galli</i>	16	Senn, 1938
<i>O. crista-galli</i>	16	Baykabilov,1977
<i>O. crista-galli</i>	16	Lifante et al , 1992
<i>O. crista-galli</i>	32	Oberprieler et al ,1994
<i>O. cyri</i>	28	Ornduff,1966
<i>O. cyri</i>	14	Magulaev et al , 1989
<i>O. daghestanica</i>	28	Ornduff, 1989
<i>O. dielsii</i>	28	Magulaev et al ,1989
<i>O. echidna</i>	28	Astanova et al ,1981
<i>O. echidna</i>	14	Cartier, 1976

<i>O. elata</i>	14	Baykabilov ,1977
<i>O. ferganica</i>	14	Al-Mayah et al, 1977
<i>O. galegifolia</i>	16	Astanova et al, 1981
<i>O. gontscharouii</i>	14	Astanova et al, 1981
<i>O. gontscharouii</i>	16	Baykabilov, 1977
<i>O. grandis</i>	14	Al-Mayah et al, 1977
<i>O. haussknechtii</i>	16	Ornduff , 1966
<i>O. inermis</i>	28	Ornduff , 1966
<i>O. iberica</i>	28	Magulaev et al, 1989
<i>O. iberica</i>	28	Ornduff, 1966
<i>O. kemulariae</i>	28	Zakharov, 1985
<i>O. kemulariae</i>	28	Chapman & Yuan, 1968
<i>O. oxodonta</i>	14	Magulaev et al, 1989
<i>O. oxytropoides</i>	28	Magulaev et al , 1989
<i>O. o ytropoides</i>	14	Rossello et al , 1969
<i>O. peduncularis</i>	28	Andreev , 1981
<i>O. pindicola</i>	28	Cave, 1957
<i>O. ptolemaica</i>	16	Zohary, 1972
<i>O. ptolemaica</i>	16	Baykabilov, 1972
<i>O. pulchella</i>	16	Astanova et al, 1981
<i>O. pulchella</i>	16	Ornduff , 1966
<i>O. petraea</i>	14	MagWaev et al, 1989
<i>O. petraea</i>	14	Oraduff, 1966
<i>O. ruprechtii</i>	14	Magulaev et al , 1989
<i>O. ruprechtii</i>	28	Baykabilov, 1977
<i>O. seravschanica</i>	14	Mesicek & Sojak , 1992
<i>O. sibirica</i>	28	Baykabilov , 1977
<i>O. sintinisii</i>	14	Montmollin et al , 1986
<i>O. sphaciotica</i>	14	Cave, 1963
<i>O. squarrosa</i>	32	Zohary, 1972
<i>O. squarrosa</i>	32	Baykabilov ,1977
<i>O. squarrosa</i>	32	Guinochet et al ,1962
<i>O. supina</i>	14	Natamjan, 1977
<i>O. supina</i>	14	Garnatje et al,1978
<i>O. supina</i>	14	Ornduff ,1966
<i>O. sosnowskyi</i>	14	Baykabilov,1977
<i>O. tanailica</i>	28	Rostavtseva, 1977
<i>O. taitaitica</i>	14	Baykabilov , 1977
<i>O. tavernieriaefolia</i>	16	Baykabilov , 1977
<i>O. transcarpica</i>	14	Baykabilov , 1977
<i>O. transcarpica</i>	28	Ornduff , 1966

<i>O. transcaucasica</i>	28	Ornduff , 1966
<i>O. trawcaucasica</i>	28	Baykabilov ,1977
<i>O. trawcaucasica</i>	28	Lungeanu, 1975
<i>O. transsilvanica</i>	14	Magulaev,1995
<i>O. vassilzenkoi</i>	14	Romanenko, 1937
<i>O. viciaefolia</i>	14	Maude, 1939
<i>O. viciaefolia</i>	28	Polishvaiko, 1973
<i>O. viciaefolia</i>	28	Zhu et al,1989
<i>O. viciaefolia</i>	14	Diosdado et al, 1993
<i>O. viciaefolia</i>	28	

Kaynak: (Cave, 1957; Chapman and Yuan. 1968; Goldblatt and Johnson, 1978,1981; Goldblatt, 1983; Cao ,1984; Goldblatt, 1985; Goldblatt and Johnson,1987,1989,1991,1993,1995; Magulaev et al ,1996; Goldblatt and Johnson,1998)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan tohumlar 2006–2007 yılları arasında arazi çalışmaları sonucunda doğal yetiştirme alanlarından toplanmıştır.

Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan türlerin isimleri, toplandıkları lokasyonlar ve koordinatları

Tür adı	Bulunduğu iller	Bulunduğu Mevki	Toplayan	Teşhis Eden
<i>O.tournefortii</i> (Willd.) Desv.	Nevşehir, Zelve 1.vadi açık hava müzesi (Volkanik Tüf)	38 ⁰ 40 09K 35 ⁰ 51 49 D 1060m	S.Avcı, C.Sancak	A. Duran
<i>O.gracilis</i> Besser	Adana Pozantı Orman İşletmesi Önü (Kızılcım Ormanaltı)	37 ⁰ 24 31K 31 ⁰ 52 44D 780m	S.Avcı, C.Sancak	A.Duran
<i>O.hypargyrea</i> Boiss.	Ankara Çubuk II Barajı Ormanaltı	40 ⁰ 17 27K 33 ⁰ 00 57D 1161m	S.Avcı, C.Sancak	A. Duran
<i>O.argyrea</i> Boiss. subsp. argyrea Boiss.	Malatya, Darende Aşağılupınar'dan sonra yaklaşık 6 km.	38 ⁰ 23 50K 37 ⁰ 35 25D 1408m	S.Avcı, C.Sancak	A.Duran

3.2 Yöntem

Araştırma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Sitoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada *O. tournefortii* (Willd.) Desv. , *O. gracilis* Besser, *O. hypergyrea* Boiss. , *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türleri kullanılmıştır. Bu türlerin tohumları oda sıcaklığında Jacobsen çimlendirme kaplarında çimlendirilmiştir. Çimlenmeyi kolaylaştırmak amacıyla tohum kabukları mekanik olarak çizilmiştir. Bu amaçla Jacobsen kaplarının camları uzunluğunda kurutma kâğıdı kesilmiştir. Kesilen kurutma kâğıtları camlara yerleştirilmiş ve musluk suyu ile ıslatılmıştır. Nemli olan kurutma kâğıtları üzerine tohumlar seyrek olarak konulmuştur. Tohumların üzerine yine camların uzunluğundaki kurutma kâğıdı ıslatılarak kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan Jacobsen kapları 2–3 gün süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Her gün yapılan kontrollerle çimlenen tohumların 10–15 mm boyundaki kökleri kesilerek alınmıştır. Küçük tüplere konulan kök uçlarına açıklanan sıraya göre işlem uygulanmış ve somatik hücrelerde karyotip araştırmaları yapılmıştır.

3.2.1 Somatik kromozomların gözlemi için materyalin hazırlanması

Karyotip analizi için gerekli somatik kromozomlar, kök ucu meristem hücrelerinden elde edilmiştir. Kullandığımız materyal aşağıdaki yöntem ile hazırlanmıştır.

3.2.1.1 Kök ucu örneklerinin alınması

Somatik kromozomların gözlemi için kullanılan doku materyali kök ucundan alınmıştır. Yöntem olarak şimdiye kadar değişik işlemler ve materyaller uygulanmıştır ki bunlar bir bitkiden diğerine değişebilmektedir. Ancak bütün yöntemler aynı aşamalardan oluşmaktadır.

- Tespit
- Hidroliz
- Boyama

Bu çalışmadaki amaç kromozomların sayımının net bir şekilde yapılmasıdır. Bunun için metafaz I evresinde yakalanan hücrelerin kromozomlarının birbirlerinden ayırt edilebilir bir hale gelmeleri için kısaltılmaları şarttır. Böylelikle üst üste gelmemeleri sağlanmaktadır. Mitoz bölünmedeki kromozomların gözleminde bu ilk işlem sayılır (Osalo 2004).

3.2.1.2 İlk işlem

Bu işlemde α -monobromonaftalin başta olmak üzere çok çeşitli çözeltiler bulunmaktadır.

Bu çalışmada iki farklı yöntem denenmiştir.

Öncelikle; ilk işlemde kök uçlarına doymuş α -monobromonaftalin çözeltisi uygulanmıştır. Bu çözelti mitoz bölünmede iğ ipliklerinin oluşumunu durdurmakta, kromozomların kısalmasına ve düzelmesine etki etmektedir (Elçi 1965a).

α -monobromonaftalin çözeltisi 250 cm³ saf su içine 4-5 damla α -monobromonaftalin damlatılarak hazırlanmıştır. Çözelti 4-5 cm boyunda, 1,5-2 mm çapındaki tüplere 2 cm yüksekliğinde doldurulmuştur. Tüplerin içine üzerinde bitki adı, köklerin alınma tarihi ve saatinin yazıldığı küçük etiketler konmuştur. Kök uçları bu tüpler içerisinde 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir (Elçi 1982). Ancak bu yöntem uygulamasından sonra kromozomların çok az derecede boyandığı gözlenmiş ve bir sonuç alınamamıştır.

İkinci yöntem; kimyasal yöntemin dışında etkili bir yöntem olan soğuk ortam uygulamasıdır. Bu yöntemde bitki materyalleri kimyasal çözeltiler yerine soğuk ortamda bekletilmiştir. Uygulanan sıcaklık derecesi ve bekletme süresi bitkiden bitkiye göre değişir. Bu çalışmada soğuk ortam olarak başarıyla sonuçlanan erimekte olan buz yöntemi tercih edilmiştir.

α –monobromonaftalin yöntemiyle kıyaslandırıldığında, erimekte olan buz yöntemi kromozomların daha çok kısaltılarak kalınlaşmasını ve daha iyi boyanmasını sağlamıştır. Soğuk ortam uygulamasında farklı bekletme süreleri uygulanmıştır.

a) Buzdolabında büyük bir kap içerisinde erimekte olan buz üzerine çimlenmiş tohumlar içeren petri kutusu uygun bir şekilde yerleştirilerek 24 saat bekletilmiştir. Ancak incelenen kromozomlarda aşırı kısalma olması nedeniyle sonuç alınamamıştır.

b) Kök uçları yukarıda olduğu gibi erimekte olan buz içerisinde buzdolabında 16 saat bekletilmiş ancak yine kromozomların boyunun çok kısa olduğu gözlenmiştir.

c) Kök uçları yine yukarıdaki gibi erimekte olan buz içerisinde buzdolabında 12 saat bekletilmiş ve istenilen sonuç alınmıştır.

3.2.1.3 Materyalin tespiti

Sitogenetik çalışmalarda kullanılan tespit çözeltilerinin sayısı çok fazla değildir. Kromozomların canlılığının hayattaki durumuna mümkün olduğu kadar yakın bir şekilde gözlenmesi için çözeltinin öldürücü etkisi oldukça hızlı olmalıdır. Somatik hücreler üzerinde kullanılan bu çözeltilerin en önemlisi Glasial asetik asit ve 3:1 çözeltisi (3 birim etil alkol, 1 birim asetik asit) olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışmada Carolan *et al.* (2002) 'ın metodu izlenerek ikinci çeşit fiksatif kullanılmıştır. Bu da 1 birim glasial asetik asit (CH_3COOH), 3 birim etil alkol (absölu alkol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)'dür.

Kesilmiş olan kök uçları yarım saat 3:1 alkol: asetik asitte bekletildikten sonra hidroliz işlemine hazır sayılmaktadır.

3.2.1.4 Materyalin muhafazası

Materyalin tespitinden sonra kökler 3:1 alkol: asetik asitten alınarak musluk suyunda 2 defa 5'er dakikalık süreyle yıkanmıştır ve böylece asetik asitten temizlenmiştir. Kök uçları hemen kullanılmıştır. Kök uçları daha sonra kullanılmak üzere %70'lik alkol içerisine konulmuş, depolanmış ancak iyi sonuç alınamamıştır. Bu nedenle daima yeni çimlenen kök uçları kullanılmıştır.

3.2.1.5 Hidroliz

Hidroliz, dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp, onların daha iyi gözlenmesini sağlamaktadır. Bu ayırma işleminden sonra dokular, aralarında birleştirici kuvvet bulunmayan bir hücre yığını durumunu almaktadır. Böylece her hücre kendi içlerindeki kısımları ile birlikte mikroskop altında üst üste gelmeden tek bir tabaka halinde gözlenmektedir.

Zamanlama, sıcaklık derecesi ve hidrolizde kullanılan HCL'in konsantrasyonu DNA moleküllerine zarar vermeden sadece purin-deoxyriboz bağlarını koparacak derecede ayarlanmalıdır. Hidroliz süresi kromozomların iyi boyanmasında büyük rol almaktadır. Doğru bir süre içerisinde doğru sıcaklık derecesini uygulayabilmek için 1N HCL içerikli tüpün önceden inkübatörde hazır bir şekilde bulundurulması gerekmektedir (Arzani 1996). Bu çalışmada 60°C, 1N HCL, 12 dakika uygulanmıştır (Elçi 1982).

3.2.1.6 Boyama

Bu çalışmada, kromozomların boyanmasında farklı yöntemler uygulanmıştır. Kök uçlarına uygulanan yöntemler aşağıda verilmiştir:

- a) % 1'lik lakto-propiyonik orsein boyaması

Kök uçları 1N HCL'de 60° C'de 12 dakika hidrolizden sonra % 1'lik lakto-propiyonik orsein'de yaklaşık yarım saat ve bir saatlik sürelerde boyanmış ve ezme preparat yapılmıştır. Bu metot ile kromozomların yeterince boyanmadığı gözlenmiştir.

b) % 1'lik aseto-karmin boyaması

Kök uçları hidrolizin ardından, % 1'lik aseto-karmin boyasında 45–60 dakika bekletilmiş ve ezme preparat yapılmıştır. Ancak kromozomlar yeterince boyanmamıştır.

c) Feulgen boyaması

Kök uçları hidrolizden sonra, 30 dakika Feulgen'de bekletilmiştir. Feulgen kromozomları vişneçürüğü (koyu viole) rengine boyama özelliğine sahiptir. Feulgen kromozomları ve hücre çekirdeğini boyamaktadır. Dolayısıyla mitoz bölünmenin en yoğun olduğu bölgeyi daha koyu bir şekilde boyamaktadır. Bu bölge kökün 1–3 mm'ye kadar uç kısmının hücreleridir. Bu boyama ile *O.gracilis*, *O. tornefortii*, *O.hypergyrea* türlerinin kromozomları yeterince boyanmışlardır.

3.2.1.6.1 Feulgen' in hazırlanışı

- 1g kristal halinde fuksin bazik alınır.
- 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 baziği konur.
- Bir başka erlenmayerde 200 cm³ lük damıtık su kaynatılır.
- Toz halindeki fuksin bazik üzerine bu kaynamış damıtık suyu yavaş yavaş dökülür.
- Bir yandan da cam çubuk ile boyayı devamlı bir şekilde karıştırılır.
- Boyayı 50°C'a kadar soğuyuncaya değin karıştırmaya devam edilir.
- 20 cm³ N HCI ilave edilir.
- Süzülür.
- 2 g potasyum metabisülfid (K₂S₂O₅) ilave edilir.

- Boya ağzı iyice kapatılmış bir şişeye koyulur. Karanlık bir yerde, dolapta 24 saat kadar, en az bir gece bekletilir. Böylece vişneçürüğü rengindeki boya açık çay rengini alır.
- Boya +4 °C da buzdolabında muhafaza edilir.

Hidrolizden çıkarılan kök uçları 5 dakika musluk suyu ile yıkanıp, boya içerisinde oda sıcaklığında, karanlık ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Ayrıca ezme preparat yapılırken laktopropionik orsein kullanılmıştır.

Ancak *O. argyrea* Boiss sp *argyrea* Boiss türünde Feulgen ile boyama sonucunda istenilen sonuç elde edilememiş, farklı yöntem uygulamasına gidilmiştir. Bu türde Aceto-Iron-Hematoxilin yöntemi kullanılmıştır. Kök uçları bu boya içerisinde 30 °C’de 20 saat bekletilmiştir. Boyanan kök uçları yarım saat yıkandıktan sonra 3mm kadar kesilip Cytase enzimiyle ıslatılarak yarım saat bekletilmiştir (Zarifi 2004).

3.2.2 Preparatın yapılışı

Boyama sonunda kök uçlarının 1–2 mm’lik büyüme meristemlerinin koyu viyole rengine boyandığı görülmüştür. Bu kısımlar jilet ile kesilerek lam üzerine alınmış ve çok küçük parçalara bölünmüştür. Parçalanmış kısımların ok uçlu iğne ile laktopropionik orsein içinde homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Bu parçacıklar üzerine lamel kapatılmıştır. Daha sonra bir kurşun kalemin arkası ile lamele hafif hafif vurulmuştur. Böylece, hücrelerin preparat içinde daha iyi dağılması ve yassılaştırılarak hücre içerisindeki tüm kromozomların aynı düzleme gelmesi sağlanmıştır. Ancak gerektiğinden fazla vurulduğunda hücrelerin çeperlerinin parçalanıp, kromozomların dağıldığı ve sentromerlerin ayrıldığı görülmüştür. Kurutma kâğıdı arasına alınan preparata bir elin başparmağı ile kuvvetle bastırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenmeye alınmıştır (Elçi 1965b, 1966, 1982).

3.2.3 Devamlı preparatların yapılışı

Hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenerek iyi derecede boyanan ve aynı düzlem üzerinde dağılım gösteren hücrelere sahip olanlar bir başka deyişle kromozomları karyotip analizi için uygun olan preparatlar devamlı hale getirilmiştir.

Devamlı preparatları yapmak için lam ile lamel arasında alkol buharı değiş tokuşunu sağlayan yöntemden yararlanılmıştır. Bu amaçla preparatların dik olarak içine konulduğu cam kapların iç yüzeyleri kurutma kâğıdı ile kaplanmıştır. Cam kabın dip kısmına 4–5 mm yüksekliğinde absölu alkol konularak kurutma kâğıdı ıslatılmıştır. Cam kabın kapağı, içindeki alkol buharını tutabilmesi için vazelin sürülerek kapatılmıştır. Böylece hazırlanan kaplara, devamlı hale getirilmek istenen preparatlar konularak, buzdolabında 0–4 °C'de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün çıkarılan preparatlar iç yüzeyleri ve kapağı kurutma kâğıdı ile kaplı ve absölu alkol ile ıslatılmış petri kutularına yerleştirilmiştir. Lamelin üç kenarına 1–2 damla euparal damlatılmıştır. Bu damlalar ok ucu yardımıyla lamelin kenarı boyunca dağıtılmıştır. Petri kutusunun kapağı kapatılarak oda sıcaklığında 2–3 gün bekletilip kuruyan preparatlar devamlı hale getirilmiştir.

3.2.4 Karyotip analizleri ve kromozomların detaylı olarak incelenmesi

3.2.4.1 Fotoğraf çekimi ve film banyosu

Karyotip analizleri ve kromozom ölçümlerini yapmak için, preparatlarda iyi bir dağılıma gösteren, fazla büzülmemiş kromozom morfolojileri iyi görülebilen ve kromozomları bir düzlem üzerinde bulunan her bir tür için en iyi on tane somatik hücrenin fotoğrafları Olympus marka mikroskopta 24×36 mm 25 ASA'lık filmler üzerine çekilmiştir. Filmin banyosunda 2 çeşit çözelti (developer, fixer) kullanılmıştır. Film 3 dakika developer çözeltisinde bekletildikten sonra 3 defa durulanmış fixer çözeltisinde 5 dakika bekletildikten sonra yine 3 defa durularak işlem tamamlanmıştır. Bu negatifler agrandizör ile Ilford RC5 kartlarına basılmıştır.

3.2.4.2 Kromozom boylarının ölçülmesi

Kromozomların mikroskoptan fotoğrafları çekilirken, gerçek büyütmenin ne kadar olduğunu belirlemek için bir objektif mikrometrenin de fotoğrafı çekilmiştir. Bu mikrometrenin fotoğrafı da aynı agrandizörde basılmış ve bir mikronun ne kadar büyütüldüğü belirlenmiştir. Basılan kartlar fotokopi ile iki katı büyütülmüştür. Böylece kromozomların uzun ve kısa kol boyları ve satellitleri kumpas ile milimetrik olarak kolaylıkla ölçülmüştür. Bu ölçümler daha sonra objektif mikrometre ile oranlanarak mikron cinsinden değerlendirilmiştir. Araştırmamızda kromozom boylarının gerçek büyüklüğünün 3000 katı kadar büyütüldüğü dikkate alınmıştır. Kromozom boylarının ölçümü Elçi (1965b)'ye göre yapılmıştır.

3.2.4.3 Sentromer indeksinin hesaplanması

Her ne kadar araştırmalar sırasında kök ucundan örnek alma işleminden başlayarak boyama, preparatların yapılışı ve kromozomların morfolojilerinin belirlenmesine kadar olan bütün işlemlerde eşitliğin sağlanması için gereken bütün çabalar gösterilse de hücredeki kromozomların yapılarında farklılıklar görülebilmektedir. Bu farklılığı da en aza indirmek için mümkün olduğunca birbirine en yakın morfolojik yapı gösteren kromozomlarla araştırmanın yapılması sağlanmıştır.

Aynı hücre içinde bulunan kromozomların boylarını birbirleri ile karşılaştırmak için kromozomların sentromer indeksinden yararlanılmıştır.

$$\text{Sentromer indeksi} = \frac{\text{Kromozomun kısa kol boyu}}{\text{Kromozomun Toplam Boyu}} \times 100$$

3.2.4.4 Kromozom kollarının indeksleri

Levan et al. (1964) kol indekslerini hesaplarırken kromozomun uzun kolunu, kısa kola bölmüşlerdir. Bu sayede, kromozomların tanımında sentromerin yeri ve hangi kolun uzun kol olduğu kolayca bulunur. Araştırmamızda da kromozomun uzun kol boyu kısa kol boyuna bölünerek kol indeksleri hesaplanmıştır. Sentromerin yerine göre kromozomların adlandırılması Çizelge 3.2.4.4.'deki gibi yapılmıştır.

Çizelge 3.2.4.4 Kromozomların adlandırılmasında sentromerlerin kullanılışı (Levan et al. 1964)

Sentromerin yeri	Kol oranı (r)	Kromozom sembolü	Kromozomun adı
Median Bölgesi	1	m	Metasentrik
Submedian	1,7	sm	Submetasentrik
Subterminal	3,0	st	Subtelosentrik
Terminal Bölgesi	7,0	t	Akrosentrik

Kromozomların nisbi boyu ve kol indeksleri, bir karyotipteki homolog kromozomların belirlenmesinde kullanılmıştır. Çeşitlerin her birinde beş somatik hücrede kromozom ölçümleri yapılmıştır. Böylece, bir hücre içerisinde iki homolog kromozom olduğuna göre, bir hücrenin bütün kromozomları ölçüldüğü zaman, bir kromozom ve bir de homologu olan aynı değerdeki iki kromozom ölçülmüş olmuştur. Beş hücrede ölçüm yapılmış on kromozom ölçüsü elde edilmiştir. Hesaplamalarımız bu on kromozomun ölçüleri hesap alınarak yapılmıştır. Her kromozomun boyu, kısa kol ve uzun kol boyları, daha önce anlatılan yöntem ile kâğıtlar üzerinde mm olarak ve mm'nin 0,1'ine kadar ölçülmüştür. Bir kromozomun boyu, iki kol boyunun ayrı ayrı nisbi boyu ve kol indeksleri hesaplanmıştır. Kol indeksleri ve nisbi boyları birbirine yakın olanlar homolog kromozomlar olarak belirlenmiştir. Ayrı bir cetvel hazırlanarak, homolog kromozomlar birbirinin yanına getirilmiştir. Bu durumda beş hücrenin her birinde en uzun olan ikişer kromozoma (homolog kromozomlar) I numarası verilmiştir. Sıra ile diğer homolog kromozomlar da numaralandırılmıştır. Aynı numarayı alan beş ayrı

hücredeki on homolog kromozomun kısa kollarının boyu toplanıp, ortalaması alınarak, I numaralı kromozomun uzun kol boyu hesaplanmıştır. Aynı yöntem ile kısa kol boyu da hesaplanmıştır. Kısa kol ve uzun kol boylarının toplamının ortalaması bu kromozomun ortalama boyu olarak alınmıştır.

3.2.4.5 İdiogramların çizilmesi

En uzun kromozom en başta olmak üzere kromozomlar boylarına göre sıralanmıştır. Kâğıda çizilen yatay eksen üzerine belli bir oranda kromozomların ortalama boylarını belirten 5 mm'lik kalın, dik çizgiler halinde kromozomların önce uzun kolları çizilmiştir. Sonra 2 mm sentromerin yerini belirleyen bir aralık bırakılmıştır. Aynı kalınlıktaki çizgiler ile kromozomun kısa kolu çizilmiştir. Sonra iki kromozom arasında 5 mm'lik aralık bırakılarak diğer kromozomlar çizilmiş ve idiogramlar hazırlanmıştır (Elçi 1982) .

3.2.4.6 Karyogramların yapılışı

Karyogramlar, bir bireyin kendi genomu içindeki kromozomlarının birbirleri ile karşılaştırılmasında ve diğer bireylerden kromozom yapıları bakımından farklarının belirtilmesinde, aynı zamanda aralarındaki ilginin görülmesinde kullanılır. Karyogram yapmak için önceden tespit edilmiş homolog kromozomların fotoğrafları eşler halinde yan yana getirilmiştir. Bunun için bir hücrenin çok iyi çekilmiş fotoğrafları seçilmiştir (Elçi 1982).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

O.tournefortii (Willd.) Desv. türünde yapılan sitolojik çalışmalar sonucunda, kromozom sayısı $2n=14$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.1.). Türe ait karyogram Şekil 4.2.'de, idiogram ise, Şekil 4.3.'de gösterilmiştir. Kromozomların morfolojilerine ait ölçümleri hesaplanarak Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Kromozom özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

Kromozom I: *O.tournefortii* türünün en uzun kromozomudur. Boyu 2,19 μ 'dur. Median sentromerli olup kol oranı 1,35 μ , uzun kolun uzunluğu 1,25 μ , kısa kolun uzunluğu 0,94 μ 'dur. Sentromer indeksi 42,79 μ 'dur.

Kromozom II: Submedian sentromerlidir. Kol oranı 1,89 μ , sentromer indeksi 34,75 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,33 μ , kısa kolun uzunluğu 0,71 μ 'dur.

Kromozom III: Submedian sentromerlidir. Kol oranı 1,95 μ , sentromer indeksi 34,32 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,25 μ , kısa kolun uzunluğu 0,66 μ 'dur.

Kromozom IV: Median sentromerli olup kol oranı 1,32 μ , uzun kolun uzunluğu 1,00 μ , kısa kolun uzunluğu 0,77 μ 'dur. Sentromer indeksi 43,68 μ 'dur.

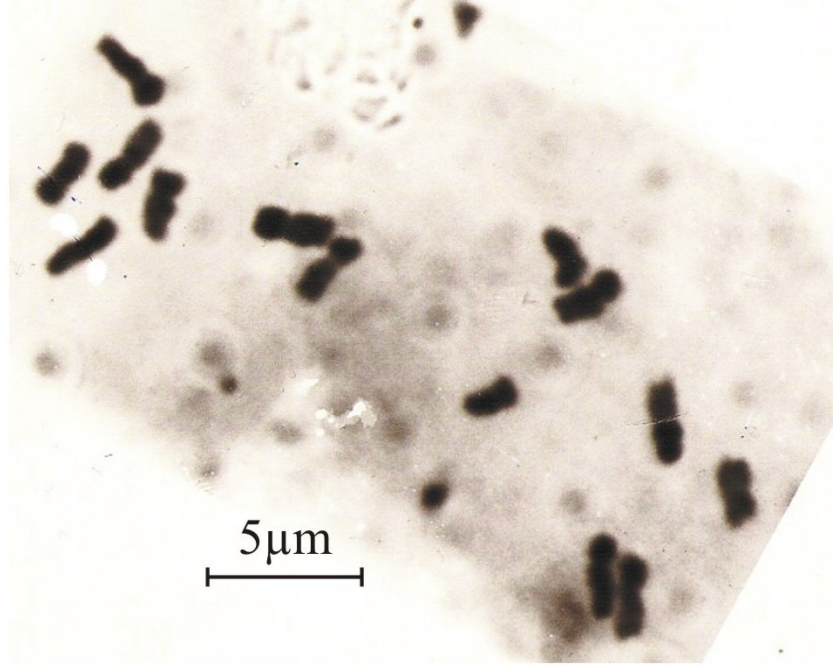
Kromozom V: Median sentromerlidir. Kol oranı 1,37 μ , sentromer indeksi 42,39 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 0,92 μ , kısa kolun uzunluğu 0,68 μ 'dur.

Kromozom VI: Submedian sentromerlidir. Kol oranı 1,97 μ , sentromer indeksi 34,01 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,05 μ , kısa kolun uzunluğu 0,54 μ 'dur.

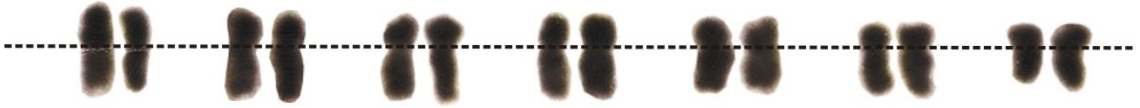
Kromozom VII: Median sentromerlidir. Kol oranı 1,68 μ , sentromer indeksi 37,82 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 0,87 μ , kısa kolun uzunluğu 0,53 μ 'dur.

Çizelge 4.1 *O. tournefortii* (Willd.) Desv.'nin karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları

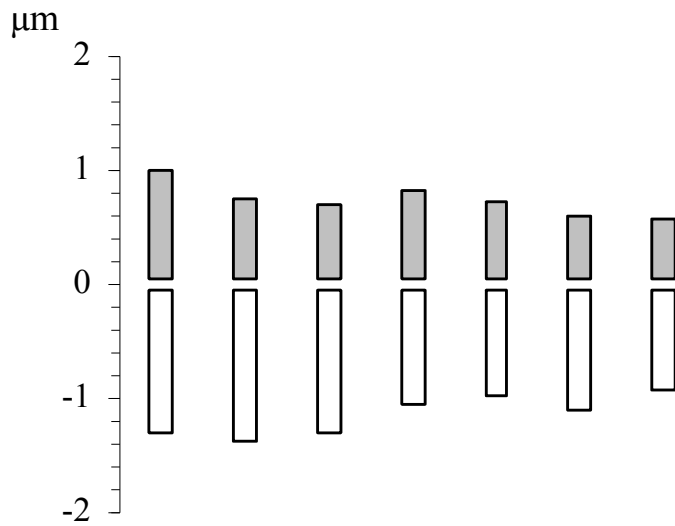
Kromozom No	Hata Miktarı	Toplam (L+S)	Uzun Kol (L) (µ)	Kısa Kol (S) (µ)	Kol Oranı (L/S)	Sentromer İndeksi $[(S/(L+S)) \times 100]$	Kromozom Tipleri
1	Ortalama	2,19	1,25	0,94	1,35	42,79	m
	Standart Sapma	0,09	0,06	0,05	0,05	0,90	
2	Ortalama	2,03	1,33	0,71	1,89	34,75	sm
	Standart Sapma	0,09	0,06	0,03	0,04	0,50	
3	Ortalama	1,91	1,25	0,66	1,95	34,32	sm
	Standart Sapma	0,09	0,06	0,04	0,10	1,00	
4	Ortalama	1,78	1,00	0,77	1,32	43,68	m
	Standart Sapma	0,09	0,06	0,04	0,08	1,21	
5	Ortalama	1,59	0,92	0,68	1,37	42,39	m
	Standart Sapma	0,09	0,05	0,04	0,05	0,88	
6	Ortalama	1,60	1,05	0,54	1,97	34,01	sm
	Standart Sapma	0,08	0,05	0,03	0,08	0,90	
7	Ortalama	1,40	0,87	0,53	1,68	37,82	m
	Standart Sapma	0,04	0,03	0,03	0,09	1,18	
Ortalama	Ortalama	1,79	1,10	0,69	1,65	38,53	
	Standart Sapma	0,04	0,03	0,02	0,04	0,54	



Şekil 4.1 *O.tournefortii* (Willd.) Desv. ($2n=14$) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları



Şekil 4.2 *O.tournefortii* (Willd.) Desv. türüne ait karyogram



Şekil 4.3 *O.tournefortii* (Willd.) Desv. türüne ait idiogram

O.hypargyrea Boiss. türünde yapılan sitolojik çalışmalar sonucunda, kromozom sayısı $2n=14$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.4.). Türe ait karyogram Şekil 4.5.'de, idiogram ise, Şekil 4.6.'de gösterilmiştir. Kromozomların morfolojilerine ait ölçümleri hesaplanarak Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Kromozom özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

Kromozom I: Submedian sentromerli olup kol oranı $1,74 \mu$, uzun kolun uzunluğu $1,14 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,69 \mu$ 'dur. Sentromer indeksi $38,26 \mu$ 'dur.

Kromozom II: Submedian sentromerlidir. Kol oranı $2,04 \mu$, sentromer indeksi $33,35 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,08 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,54 \mu$ 'dur.

Kromozom III: Submedian sentromerlidir. Kol oranı $2,22 \mu$, sentromer indeksi $31,43 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,02 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,46 \mu$ 'dur.

Kromozom IV: Median sentromerli olup kol oranı $1,65 \mu$, uzun kolun uzunluğu $0,84 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,52 \mu$ 'dur. Sentromer indeksi $38,43 \mu$ 'dur.

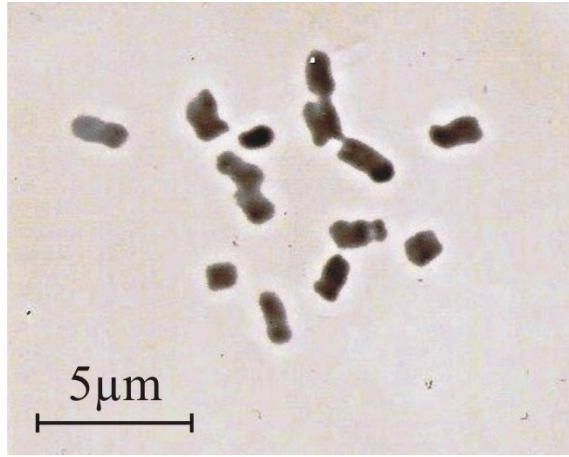
Kromozom V: Submedian sentromerlidir. Kol oranı $1,80 \mu$, sentromer indeksi $36,54 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $0,79 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,46 \mu$ 'dur.

Kromozom VI: Median sentromerlidir. Kol oranı $1,58 \mu$, sentromer indeksi $39,21 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $0,67 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,43 \mu$ 'dur.

Kromozom VII: Türün en kısa kromozomu olup total uzunluğu $0,80 \mu$ 'dur. Median sentromerlidir. Kol oranı $1,41 \mu$, sentromer indeksi $31,24 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $0,50 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,30 \mu$ 'dur

Çizelge 4.2 *O.hypargyrea* Boiss.'in karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları

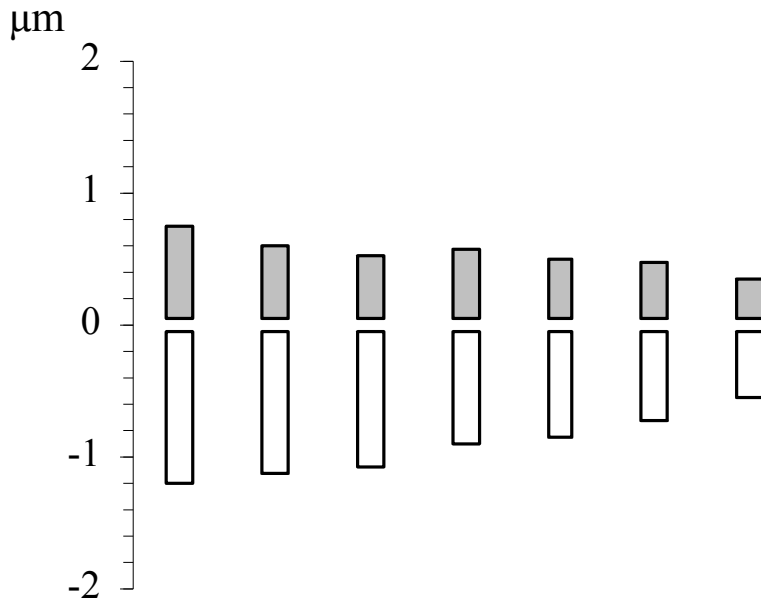
Kromozom No	Hata Miktarı	Toplam (L+S)	Uzun Kol (L) (µ)	Kısa Kol (S) (µ)	Kol Oranı (L/S)	Sentromer indeksi [(S/(L+S))x 100]	Kromozom Tipleri
1	Ortalama	1,83	1,14	0,69	1,74	38,26	sm
	Standart Sapma	0,06	0,10	0,05	0,28		
2	Ortalama	1,62	1,08	0,54	2,04	33,35	sm
	Standart Sapma	0,05	0,06	0,03	0,17		
3	Ortalama	1,48	1,02	0,46	2,22	31,43	sm
	Standart Sapma	0,05	0,05	0,02	0,14		
4	Ortalama	1,36	0,84	0,52	1,65	38,43	m
	Standart Sapma	0,03	0,04	0,02	0,16		
5	Ortalama	1,25	0,79	0,46	1,80	36,54	sm
	Standart Sapma	0,03	0,03	0,04	0,19		
6	Ortalama	1,10	0,67	0,43	1,58	39,21	m
	Standart Sapma	0,05	0,04	0,02	0,13		
7	Ortalama	0,80	0,50	0,30	1,41	31,24	m
	Standart Sapma	0,16	0,11	0,06	0,30		
Ortalama	Ortalama	1,35	0,86	0,49	1,78	35,50	
	Standart Sapma	0,06	0,04	0,02	0,08		



Şekil 4.4 *O.hypargyrea* Boiss. ($2n=14$) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları



Şekil 4.5 *O.hypargyrea* Boiss. türüne ait karyogram



Şekil 4.6 *O.hypargyrea* Boiss. türüne ait idiogram

O.gracilis Besser türünde yapılan sitolojik çalışmalar sonucunda, kromozom sayısı $2n=14$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.7.). Türe ait karyogram Şekil 4.8.'de, idiogram ise Şekil 4.9.'da gösterilmiştir. Kromozomların morfolojilerine ait ölçümleri hesaplanarak Çizelge 4.3'de verilmiştir. Kromozom özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

Kromozom I: Submedian sentromerli olup türün en uzun kromozomudur. Kol oranı $1,99 \mu$, uzun kolun uzunluğu $1,55 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,79 \mu$ 'dur. Sentromer indeksi $33,74 \mu$ 'dur.

Kromozom II: Median sentromerlidir. Kol oranı $1,60 \mu$, sentromer indeksi $39,49 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,32 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,88 \mu$ 'dur.

Kromozom III: Median sentromerlidir. Kol oranı $1,29 \mu$, sentromer indeksi $43,95 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,08 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,86 \mu$ 'dur.

Kromozom IV: Submedian sentromerli olup kol oranı $1,83 \mu$, uzun kolun uzunluğu $1,18 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,66 \mu$ 'dur. Sentromer indeksi $36,28 \mu$ 'dur.

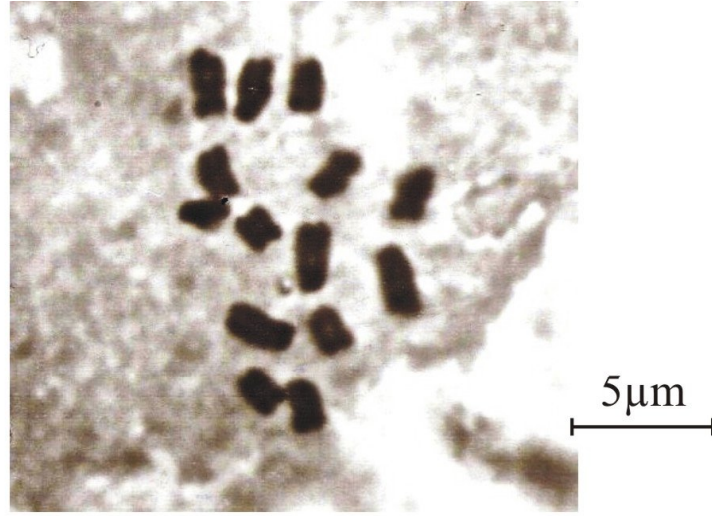
Kromozom V: Submedian sentromerlidir. Kol oranı $1,86 \mu$, sentromer indeksi $35,51 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,09 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,60 \mu$ 'dur.

Kromozom VI: Submedian sentromerlidir. Kol oranı $1,80 \mu$, sentromer indeksi $35,88 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $1,00 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,56 \mu$ 'dur.

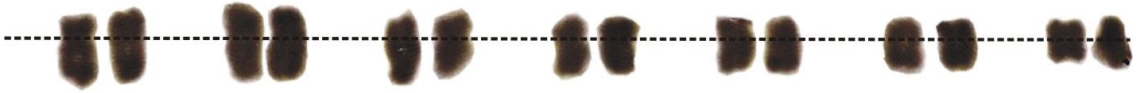
Kromozom VII: Median sentromerlidir. Türün en kısa kromozomudur, total uzunluğu $1,46 \mu$ 'dur. Kol oranı $1,55 \mu$, sentromer indeksi $39,90 \mu$ 'dur. Uzun kolun uzunluğu $0,87 \mu$, kısa kolun uzunluğu $0,59 \mu$ 'dur.

Çizelge 4.3 *O.gracilis* Besser'in karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları

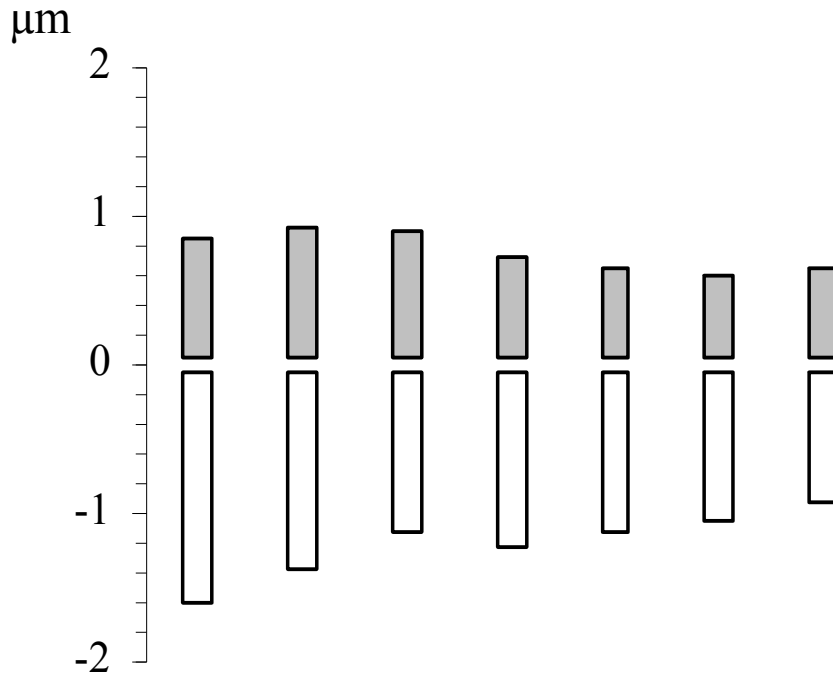
Kromozom No	Hata Miktarı	Toplam (L+S)	Uzun Kol (L) (µ)	Kısa Kol (S) (µ)	Kol Oranı (L/S)	Sentromer İndeksi [(S/(L+S))x 100]	Kromozom Tipleri
1	Ortalama	2,34	1,55	0,79	1,99	33,74	sm
	Standart Sapma	0,01	0,04	0,04	0,17	1,73	
2	Ortalama	2,20	1,32	0,88	1,60	39,49	m
	Standart Sapma	0,11	0,03	0,11	0,25	3,47	
3	Ortalama	1,94	1,08	0,86	1,29	43,95	m
	Standart Sapma	0,14	0,06	0,09	0,11	1,98	
4	Ortalama	1,85	1,18	0,66	1,83	36,28	sm
	Standart Sapma	0,08	0,11	0,04	0,29	3,25	
5	Ortalama	1,68	1,09	0,60	1,86	35,51	sm
	Standart Sapma	0,01	0,05	0,04	0,21	2,63	
6	Ortalama	1,56	1,00	0,56	1,80	35,88	sm
	Standart Sapma	0,04	0,00	0,04	0,12	1,60	
7	Ortalama	1,46	0,87	0,59	1,55	39,90	m
	Standart Sapma	0,07	0,04	0,06	0,20	3,04	
Ortalama	Ortalama	1,86	1,16	0,71	1,70	37,82	
	Standart Sapma	0,06	0,04	0,03	0,08	1,07	



Şekil 4.7 *O. gracilis* Besser ($2n=14$) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları



Şekil 4.8 *O. gracilis* Besser türüne ait karyogram



Şekil 4.9 *O. gracilis* Besser türüne ait idiogram

O. argyrea Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türünde yapılan sitolojik çalışmalar sonucunda, kromozom sayısı $2n=16$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.10.). Türe ait karyogram Şekil 4.11.'de, idiogram ise, Şekil 4.12.'de gösterilmiştir. Kromozomların morfolojilerine ait ölçümleri hesaplanarak Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Kromozom özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

Kromozom I: Kol oranı 4,74 μ olup subtelosentriktir. Total uzunluğu 2,94 μ , uzun kolun uzunluğu 1,52 μ , kısa kolun uzunluğu 0,40 μ 'dur. Sentromer indeksi 13,49 μ 'dur. Kromozomun uzun koluna bağlı 1,03 μ uzunluğunda bir satelit gözlenmiştir.

Kromozom II: Subedian sentromerlidir. Kol oranı 1,99 μ , sentromer indeksi 33,79 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,74 μ , kısa kolun uzunluğu 0,89 μ 'dur.

Kromozom III: Subedian sentromerlidir. Kol oranı 2,05 μ , sentromer indeksi 33,25 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,60 μ , kısa kolun uzunluğu 0,80 μ 'dur.

Kromozom IV: Submedian sentromerli olup kol oranı 2,41 μ , uzun kolun uzunluğu 1,58 μ , kısa kolun uzunluğu 0,67 μ 'dur. Sentromer indeksi 29,75 μ 'dur.

Kromozom V: Submedian sentromerlidir. Kol oranı 2,13 μ , sentromer indeksi 32,42 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,43 μ , kısa kolun uzunluğu 0,68 μ 'dur.

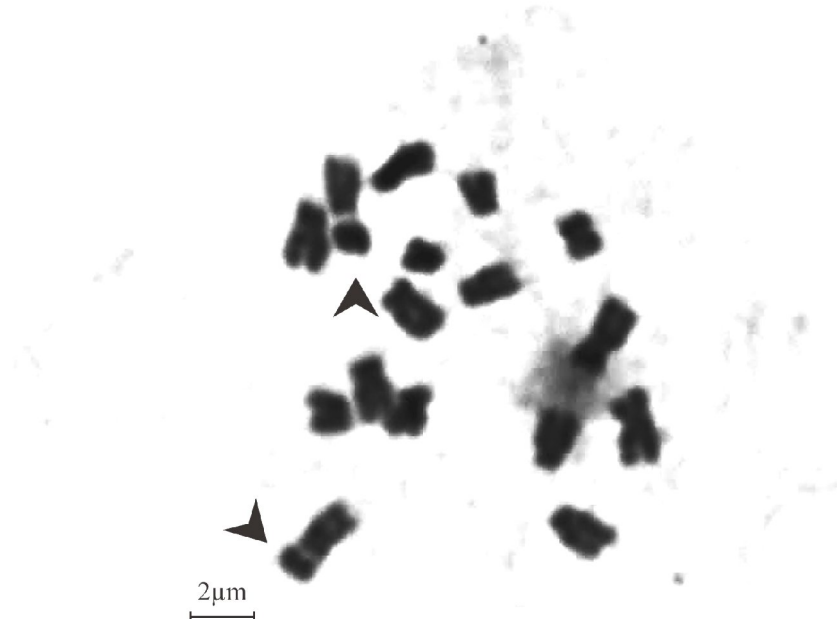
Kromozom VI: Submedian sentromerlidir. Kol oranı 1,95 μ , sentromer indeksi 34,14 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,24 μ , kısa kolun uzunluğu 0,64 μ 'dur.

Kromozom VII: Median sentromerlidir. Total uzunluğu 1,65 μ 'dur. Kol oranı 1,58 μ , sentromer indeksi 39,63 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 1,00 μ , kısa kolun uzunluğu 0,65 μ 'dur.

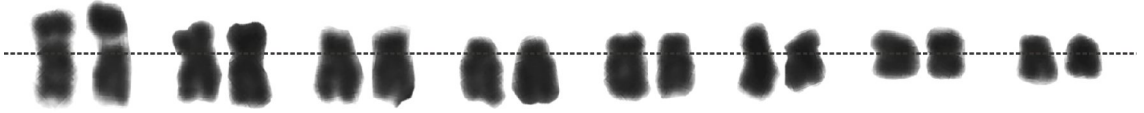
Kromozom VIII: Median sentromerlidir. Total uzunluğu 1,39 μ 'dur. Kol oranı 1,37 μ , sentromer indeksi 42,60 μ 'dur. Uzun kolun uzunluğu 0,80 μ , kısa kolun uzunluğu 0,59 μ 'dur.

Çizelge 4.4 *O. argyrea* Boiss subsp. *argyrea* Boiss.'in karyotipinde kromozom tipleri ve uzunlukları

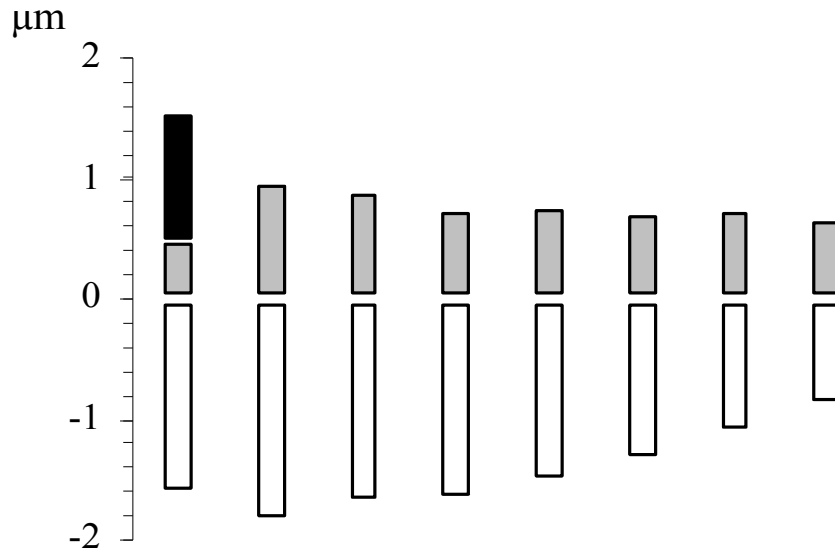
Kromozom No	Hata Miktarı	Toplam (L+S)	Uzun Kol (L) (µ)	Kısa Kol (S) (µ)	Kol Oranı (L/S)	Sentromer indeksi $[(S/(L+S)) \times 100]$	Satellit	Kromozom Tipleri
1	Ortalama	2,94	1,52	0,40	4,74	13,48	1,03	st
	Standart Sapma	0,08	0,05	0,06	0,89	2,10		
2	Ortalama	2,63	1,74	0,89	1,99	33,79		sm
	Standart Sapma	0,10	0,08	0,05	0,12	1,34		
3	Ortalama	2,40	1,60	0,80	2,05	33,25		sm
	Standart Sapma	0,07	0,04	0,05	0,14	1,43		
4	Ortalama	2,25	1,58	0,67	2,41	29,75		sm
	Standart Sapma	0,07	0,05	0,04	0,15	1,40		
5	Ortalama	2,10	1,43	0,68	2,13	32,42		sm
	Standart Sapma	0,05	0,06	0,02	0,15	1,50		
6	Ortalama	1,88	1,24	0,64	1,95	34,14		sm
	Standart Sapma	0,08	0,06	0,03	0,09	1,04		
7	Ortalama	1,65	1,00	0,65	1,58	39,63		m
	Standart Sapma	0,06	0,06	0,02	0,14	2,21		
8	Ortalama	1,39	0,80	0,59	1,37	42,60		m
	Standart Sapma	0,03	0,02	0,02	0,08	1,26		
Ortalama	Ortalama	2,15	1,36	0,66	2,28	32,38		
	Standart Sapma	0,06	0,04	0,02	0,17	1,15		



Şekil 4.10 *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. ($2n=16$) türünün mitotik metafazdaki somatik kromozomları



Şekil 4.11. *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türüne ait karyogram



Şekil 4.12. *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türüne ait idiogram

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada dört farklı yabancı korunga türünün kromozomlarının karyotipleri belirlenmiştir. Amacımız türlerin kromozom sayısını saptamak ve her bir bireyin kendi genomu içindeki kromozomları birbiriyle karşılaştırmaktır. Kromozom farklılığının ve benzerliklerinin belirtilmesinde aralarındaki yakınlık ve uzaklığın saptanması önem taşımaktadır. Literatürde, *O.tournefortii* (Willd.) Desv., *O.gracilis* Besser, *O.hypargyrea* Boiss., *O.argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss.'in kromozom sayıları ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu türlerin kromozom sayıları ve karyotip analizleri ilk kez bizim çalışmamızda saptanmıştır.

Karyolojik çalışmalar kromozomların morfolojileri, boyları ve sayılarını belirlemede temel bilgiler sağlar (Tan et al., 2004). Günümüzde kromozom çalışmalarının çok değişik amaçlarla kullanılmalarının yanı sıra taksonomik amaçlarla da kullanıldığı bilinmektedir. Moore (1968), taksonomide sadece A kromozomları sayısının, satelitlerin sayısı ve pozisyonunun, sentromer durumunun ve sekonder yapılarının kullanıldığı bir karakter olduğu ileri sürmüştür. Ayrıca Heywood (1972), mayoz bölünmede kromozom yapısı ve davranışlarının popülasyonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini anlamamıza yardımcı olabileceğini ifade etmiştir. Bundan başka Stebbins (1971), kromozom sayısı ve morfolojisinin anlaşılabilmesi için karyotip analizlerinin yapılması gerektiğini ve bir karyotipin beş farklı karakterin kıyaslanması olduğunu bildirmektedir. Bu karakterler kromozomların büyüklüğünde, sentromerin pozisyonunda, kromozomların nispi büyüklüğünde, temel kromozom sayısında, satelitlerin sayısı ve pozisyonundaki farklılıklardır.

Sözü edilen bütün bu karakterlerin gözlenebilmesi için kromozomlarla çalışmada çok değişik metodlar geliştirilmiştir. Bu metodların hepsinin ortak yanı hücre bölünmesi esnasında bölünmeyi kontrol edecek ve kromozomların istenen şekilde gelmesine yardımcı olacak ön muamele çözeltilerinin kullanılmasıdır. Bunun için değişik araştırıcılar tarafından kolkisin, 8-hidroksikinolin, buzlu su, α -monobromonaftalin ve paradiklorobenzen gibi ön muamele çözeltileri kullanılmıştır. Kolkisin'in kromozomları iyi ayırdığını, ancak fazla büzüldüğünü bu nedenle bazı yapıların kaybolabileceğini, 8-

hidroksikinolinin ise kromozomlarda haç işareti şekillerini artırdığından sentromer yerinin tespitinin zorlaştırdığını belirtmişlerdir. Bunun yanında paradiklorobenzenin kromozomların çok iyi bir şekilde dağılmasını sağladığını, özellikle sekonder yapıları daha iyi belirlediğini bildirmektedirler. Ayrıca Elçi (1982) α –monobromonaftalinin iyi bir ön muamele çözültisi olduğunu bunun yanı sıra paradiklorobenzenle de 3-4 saatlik ön muamelenin başarılı sonuçlar verdiğini belirtmektedir. Sharma and Gupta (1982) bazı baklagil ürünlerinde yaptıkları karyotip analizi adlı çalışmalarında ön muamele çözültisi olarak paradiklorobenzen ile 3-4 saat muameleden sonra kök uçlarını asetik alkolde (3:1) 24 saat fikse edip feulgen ile boyamışlardır.

Warmke (1946), kesilmiş kök uçlarının damıtık su ile doldurulmuş küçük cam kaplarda 0°C’da buzdolabında 1,5 saat bekletilerek ilk işlemin yapılmasından son derece iyi sonuçlar aldığını bildirmiştir. Araştırmacı bu teknik ile birbirinden çok farklı buğdaygillerde, örneğin *Panicum*, *Paspalum*, *Stenotaphrum*, *Pennisetum*, *Cymbopogon*, *Melandrium*, *Saccharum* tür ve varyetelerinde değerli sonuçlar elde ettiğini belirtmiştir. Dvorak (1971), buğdayda soğuk etkisiyle yapılan ilk işlemin genellikle, kromozomların birbirinden ayrılıp yayılmaları ve büzülmeleri bakımından çok iyi sonuçlar verdiğini açıklamıştır.

Rajhaty ve Thomas (1974), yulaf bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada kök uçlarını soğuk suda (+2°)-(4°)C’da buzdolabında 24 saat bekletmişlerdir. Yine Morgan *et al.* (1988), kök ucu mitozunda ilk işlem olarak, kök ucunu henüz buz tutmakta olan suda 16 saat bekletmiş, fiksasyon için 3 ölçek alkol ve 1 ölçek asetik asit kullanmışlardır. Fiksasyonu tamamlanan kök ucunu Feulgende boyamışlar ve %1.5’luk asetokarmin kullanarak ezme preparat tekniği le preparatlar yapmışlardır. Carolan *et al.* (2002), Oxytona seksiyonu türlerinin kromozomlarının boyanmasında erimekte olan buz yöntemini kullanarak başarılı sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir. Osalou (2004), yabani haşhaşlarda kromozom sayılarını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada ilk işlem olarak kök uçlarını 24 saat 0°C’de bekletmiş ve iyi sonuç aldığını belirtmiştir. Araştırmamızda α –monobromonaftalin ve buzlu su yöntemi denenmiştir. Buzlu su yöntemi, α –monobromonaftalin yöntemiyle kıyaslandırıldığında, erimekte olan buz kromozomların daha çok kısaltılarak kalınlaşmasını ve daha iyi boyanmasını sağlamıştır. Bu nedenle

çalışmamızda başarıyla sonuçlanan erimekte olan buz yöntemi tercih edilmiştir. Böylece de Morgan *et al.* (1988)' nin yaptığı çalışmayla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Tespit işlemi materyali canlı durumuna en yakın halde öldürmesi ve aseptik şartlarda muhafaza etmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Bu aşamada da sadece asetik asit kullanıldığı gibi (Ünal, 1990; Ünal ve Elçi, 1996), absolü alkol; kloroform: glasiyal asetik asit (Newton, 1985), absolü alkol: glasiyal asetik asit (3:1) karışımı da oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Nwankiti, 1985; Davina and Fernandez, 1989; Ünal *et al.*,1995).

Sitolojik çalışmalarda kullanılan fiksatifler incelenmek istenen kısımlara göre değişirler. Çeşitli amaçlar için muhtelif fiksatifler kullanılabilir. En çok kullanılan fiksatif 3:1 oranında hazırlanan etil alkol ve asetik asit karışımıdır. Fikse maddelerinden asetik asit bu karışımların çoğunda bulunur. Asetik asit suratle köke nüfuz eder. Kromozomları biraz kabartırsa da gerçek görünüşlerini daha güvenli bir şekilde tesbit eder. Özellikle çekirdek yapılarına etkisi iyidir; plazmayı kısmen çözer, berrak bir fon elde edilir ve böylece karyotip araştırmaları için önemli olan kromozomların morfolojik yapıları daha iyi seçilir (Elçi 1965a, 1966c; Darlington and La Cour, 1969). Yaptığımız çalışmalar sonucunda bu türler için en iyi tespit çözeltilisinin 3:1 (3 ölçek Absolü Alkol, 1 ölçek Glasiyal Asetik Asit) olduğu ortaya koyulmuştur.

Hidroliz dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp onların daha iyi gözlenmesi bakımından oldukça önemlidir. Özellikle, bitki dokularını feulgen ile boyamadan önce hidroliz yapılması gerekir (Fox 1969).

Elçi (1966a), araştırmada analiz edilen materyal için hidroliz süresinin çok önemli olduğunu belirtmiştir. Hidroliz süresi uzun olduğu takdirde kromozomlarda herhangi bir boyanmanın mümkün olmadığını, kısa hidroliz sürelerinde ise seçici bir boyama sağlanmadığını belirtmiştir.

Kalın dokulardan iyi preparatların yapılabilmesi için, en önemli nokta mikroskop alanında düzgün dağılımı ve birbirinden ayrılmış hücreleri görece kadar elverişli bir hidroliz işlemi uygulamaktır. Hidroliz için zaman, sıcaklık derecesi ve hidrolizde kullanılan HCL'in konsantrasyonu önemlidir. En çok kullanılan hidroliz yöntemlerinde 60°C 1 N HCL'de materyalin 5 ile 20 dakikaya kadar uzayan sürelerde bekletilmesidir. Çünkü bu süre materyalden materyale büyük değişimler gösterir. Özellikle feulgen ile yapılan boyamalarda kromozomlarda optimum boyayı almasının en önemli kurallarından biri de hidroliz süresinin materyale göre doğru belirlenmiş olmasıdır.

Çalışmamızda Fox (1969), ve Elçi (1966a)' nin kullandıkları hidroliz metodu esas alınmıştır. Çalışmamızda sürenin türlere göre farklı olmadığı tespit edilmiş ve her tür için aynı hidroliz süresi tayin edilmiştir. En uygun hidroliz, 1 N HCL'in 60°C'de 12 dakika uygulanmasıyla elde edilmiştir.

Çalışılan türlerde sert tohumluluk (tohum kabukları sert ve kalın olduğundan tohumun içerisine suyun geçememesi) olduğundan çimlenme sağlanamamıştır. Bunun için tohum kabuğu mekanik olarak çizilmiştir. Bu suretle çimlendirilen kök uçları için uygun kesilme zamanının da sabah 08:00-09:00 olduğu tespit edilmiştir.

Bütün kromozom boyama metodları arasında Feulgen önemli bir yer tutar. Çekirdek boyama maddelerinin çoğu daha ziyade kromatinle birleşirse de bu konuda hiçbirisi Feulgen kadar etkili olamaz. Feulgen'den daha iyi sonuç almak için daha önce materyali hidroliz etmek gerekir (Elçi 1965a).

Çalışmamızda da *O.tournefortii* (WILLD.) DESV., *O.gracilis* BESSER ve *O.hypargyrea* BOISS. türlerinde kromozomların boyanmasında, yaygın olarak kullanılan Feulgen boyası kullanılmıştır. Ancak uygulanan metot kök uçlarını yeteri kadar boyamamıştır. Bu yönteme ek olarak, kök uçlarının üzerine damlalık ile bir damla %1'lik laktopropionik orsein damlatılarak boyamanın daha da artırılması düşünülmüştür. Mikroskopta inceleme sonucunda laktopropionik orsein damlatılarak

hazırlanan preparatlardaki kromozomların sadece feulgen ile boyanan kromozomlara oranla boyanmasının çok daha iyi olduğu gözlenmiştir.

O. argyrea Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türünde feulgen ile boyama kullanılmış, ancak kök uçları yeteri kadar boyanmamıştır. Laktopropionik orsein damlatılarak da denenmiş yine bir sonuç alınamamıştır. Bunun üzerine farklı bir yöntem uygulamasına gidilmiştir. Çalışılan türlerde preparat hazırlarken çok güçlük çekilmiş defalarca preparat hazırlanmıştır. Özellikle *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. türünde feulgen ile bir sonuç alınamamış bunun üzerine *Onobrychis* cinsinin yabani türlerinde hücrelerin selüloz çeperinin kalın olduğu sonucuna varılmıştır. *O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* BOISS. türünde selüloz çeperin eritilmesi için Cytase enzimi kullanılmıştır. Ayrıca Aceto-Iron-Hematoxilin yöntemi kullanılmıştır. Kök uçları bu boya içerisinde 30°C'de 20 saat bekletilmiştir. Boyanan kök uçları yarım saat yıkandıktan sonra 3mm kadar kesilip Cytase enzimiyle ıslatılarak yarım saat bekletilmiştir (Zarifi 2004).

Karyotip analizleri için devamlı preparatlar kullanılmıştır. Bu preparatlarda kromozomları metafaz safhasında bulunan, iyi bir şekilde dağılmış, fazla büzülmemiş, bir düzlem üzerinde bulunan ve morfolojileri belirgin olan en iyi hücreler belirlenmiştir.

Analizlerde kromozomların öncelikle uzun kol, kısa kol ve varsa satellit uzunlukları belirlendikten sonra, toplam kromozom boyları tespit edilmiştir. Birçok araştırmada olduğu gibi (örneğin Gu *et al.*, 1984) burada da satellitler toplam boya ilave edilmiştir.

Kromozom analizlerinde ikinci bir önem taşıyan kol oranlarının hesaplanmasında, kısa kol / uzun kol oranı kullanılabildiği gibi (Nwankiti, 1985; Ünal 1990, Limaye and Patil, 1989), burada olduğu gibi uzun kol / kısa kol oranı da kullanılmaktadır (Levan *at al.*, 1964).

Ayrıca bu çalışmada kromozom tipinin belirlenmesinde Levan ve arkadaşlarının (1964) sistemi kullanılmıştır.

Karyogramların yapılmasında da farklılıklar mevcut olup, önemli olan karyotipinin hangi şekilde yapıldığının belirtilmesidir. Bazı çalışmalar da kromozomlar küçükten büyüğe dizilirken (Nwankiti, 1985), bazılarında bu çalışmada da olduğu gibi büyükten küçüğe doğru dizilmektedir (Lavania and Sharma, 1980; Verma 1978).

İdiogramların hazırlanması da karyogramlara uygun şekilde yapılmaktadır. Ancak homolog kromozomlardan sadece birisi gösterilmektedir (Vosa 1974; Gu et al. 1984).

Çalışmalarımız sonucunda, *O.tournefortii* (Willd.) Desv., *O.gracilis* Besser ve *O.hypargyrea* Boiss.'de kromozom sayılarının $2n=14$, *O.argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss. de ise $2n=16$ olduğu belirlenmiştir.

O.tournefortii türünde kromozom boy ortalamasının 1,40-2,19 μ arasında değiştiği belirlenmiştir. Karyotip formülü $K (x=7): 1m + 2sm + 3sm + 4m + 5m + 6sm + 7m$ olarak belirlenmiştir. Bu incelemede 1, 4, 5 ve 7 nolu kromozomlar metasentrik; 2, 3, 6 nolu kromozomlar submetasentriktir.

O.gracilis türünde kromozom sayısı $2n= 12$ olup, kromozomların boy ortalaması 1,46-2,34 μ arasında değişmektedir. Karyotip formülü $K (x=7): 1sm +2m +3m + 4sm + 5sm +6sm+7m$ olarak belirlenmiştir. 1, 4, 5 ve 6 nolu kromozomlar submetasentrik diğerleri yani 2, 3 ve 7 nolu kromozomlar metasentriktir.

O.hypargyrea türünün kromozomlarının diğer türlere oranla daha küçük yapılı olduğu belirlenmiştir. Kromozom sayısı $2n=14$ olup, kromozomların boy ortalaması 0,80-1,83 μ arasında değişmektedir. Karyotip formülü $K (x=7): 1sm +2sm +3sm + 4m + 5sm +6m+7m$ olarak belirlenmiştir. 1, 2, 3 ve 5 nolu kromozomlar submetasentrik, 4, 6 ve 7 nolu kromozomlar ise metasentriktir.

O.argyrea türünün kromozom sayısı $2n=16$ olarak belirlenmiştir. Kromozomlarının diğer türlere oranla daha büyük yapılı olduğu belirlenmiştir. Karyotip formülü $K (x=8): 1st+2sm +3sm +4sm+ 5sm +6sm +7m +8m$ olarak belirlenmiştir. 1 nolu kromozom

çiftinin uzun koluna bağlı 1,03 μ uzunluğunda bir satelit gözlenmiştir. Kromozomlarının boy ortalaması 1,39-2,94 μ arasında değişmektedir.

Onobrychis cinsinin bu yabani türlerinde araştırmamızda elde edilen verilere dayanarak kromozomların karyolojik yönden birbirine çok yakın olduğu, kromozom morfolojileri bakımından da hemen hemen aynı yapıda olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada, yabani korunga türlerinin sitogenetik yapısı ortaya konmuştur. Yabani türler geniş bir genetik tabana sahip olduklarından, üzerinde sürekli araştırmalar yapılması gereken değerli birer gen kaynağıdır. Materyal olarak kullanılan yabani korunga türlerinde yapılan karyotip analizi sonucunda elde edilen veriler, türlerin melezlenmelerinde ve ileriki döllerin kromozom özelliklerinin belirlenmesinde işe yarayacak önemli bilgileri sağlayacaktır.

Bu araştırma gelecekte yapılacak korunga ışlah çalışmalarına ışık tutacaktır. İşlah yöntemlerinden biri olan melezleme çalışmalarıyla, hastalık ve zararlılara dayanıklı yabani korunga türlerinden kültürü yapılan korunga türlerine dayanıklılık özelliği aktarılabilir. Bu çalışmaların ilk aşamasında, melezlemede kullanılacak yabani korunga türlerinin kromozom sayıları ve morfolojileri ile ilgili bilgilere ihtiyaç duyulacaktır. Yaptığımız bu tez çalışmasıyla önemli genetik yapıyı barındıran dört farklı yabani korunga türünün kromozom sayıları ve morfolojileri saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, ileride yapılacak melezleme çalışmalarına temel bilgiler sağlayacaktır. Ayrıca elde edilen bu sonuçlar, bitki sistematide problemlerin giderilmesinde ve türlerin gen kaynaklarının korunmasında kullanılacak önemli verilerdir.

KAYNAKLAR

- Açıköz, E. 2001. Yem Bitkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. 3. Baskı, Bursa 2001.
- Ahmad, S. and Godward, M.B.E., 1980. Cytological studies on the cultivars of *Cicer arietinum* L. From Pakistan. *Caryologia*, 33, 55-68.
- Aktoklu, E. 1995. Türkiye’de yetişen *Onobrychis* Miller (Fabaceae) türlerinin revizyonu. T.C. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Arzani, A. 1996. Laboratory Manual of Genetic and Cytogenetics. University of Esfahan-İran, 1,10-13.
- Avcı, S. 2006. Türkiye’nin Yabani Korunga Türleri, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Seminer, Ankara.
- Boisser, B.E, 1843. Diagnose Series. 1(2), 91-98
- Büyükburç, U., Açıköz E. , H. Ekiz ve N. Karagüllü, 1987. Değişik kökenli kültür ve yabani korunga türlerinin tarımsal özellikleri üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK-TOAG, KBTBAÜ 22.
- Carolan, J.C., Hook, I.L.I., Wlash, J.J. and Hodkinson, T.R 2002. Using AFLP markers for species differentitaion and assesment of genetic variability of in vitro-cultured *Papaver bractetaum* (section Oxytona) In *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 38,300-307.
- Cao, Z. 1984. Study of the karyotype of *Onobrychis viciaefolia*. *Zhongguo Caoyuan Grassland of China*, No. 1, 54-55.
- Cave, M. S. 1957. Index to plant chromosome numbers for 1956. Univ. N.C. Press, Chapel Hill, N. C.
- Chen, Q., Jahier, and J. , Cauderon, Y., 1990. Intergenic hybrids between *Triticum aestivum* and three crested wheatgrass: *Agropyron mongolicum*. *A. michnoi* and *A. desertorum*. *Genome*, 33, 663-667.
- Champa, C. 1980. Crop production. Surject Publication.
- Chapman, S. R. and M. Yuan. 1968. Cytological and morphological variation in breeding stocks of *Onobrychis*. A Preliminary Report. Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1978. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- Çetin, T. 2006. Bazı Lathyrus L. Türlerinin Karyotip Analizleri, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Darlington, C. D. and La Cour, L.F.,1945. Chromosome breakage and the nucleic acid cycle (Trillium, Tradescantia, Vicia). *J. Genet.* 46,180-267
- Darlington, C. D. and La Cour, L.F.,1969. The handling of chromosomes. Sixth edition. London, George Allen and Unwin Ltd. S.248.
- Darlington, C. D. and La Cour, L.F., 1976. The handling of chromosomes. Sixth edition. London, George Allen and Unwin Ltd. S.248
- Davina, J.R. and Fernandez, A., 1989. Karyotype and meiotic behaviour in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from South America. *Cytologia*, 54, 269-274.
- Davis, P.H. 1988. Flora of Turkey and East Aegean Island. Vol. 10 (Supplement), Univ. Pres, Edinburg, pp. 129-131.

- Davis, P.H. 1965-1985. Flora of Turkey and East Aegean Island. Vol. 1-9, Univ. Pres, Edinburg.
- Dvorak, J. 1971. Reducing breakage of metaphase plates in Feulgen stained root tips of wheat; ice-water storage before squashing. *Stain Technology* 46(2), 93-94.
- Elçi, Ş., 1965a. Diploid çavdar (*Secale cereale* L.) ile tetraploid çavdarlarda karyotiplerin analizi ve mukayesesi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 256, Çalışmalar:160, Ankara.
- Elçi, Ş., 1966a. Mitoz kromozomların tetkikinın zor olduğu bazı baklagil bitkilerinde kromozom sayımı ve karyotip analizi için elverişli bir metot. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 282, Çalışmalar 177, Ankara.
- Elçi, Ş., 1966b. Çok yıllık çavdarın (*Secale montanum* Guss) bazı morfolojik ve diğerk özellikleri, meiosis analizi ve kromozom morfolojisi ile tetraploid çok yıllık çavdarın elde edilmesi üzerine araştırmalar. A.Ü. Ziraat fakültesi Yayınları: 281, Ankara.
- Elçi, Ş., 1966c. Yem bezelyesinde (*Pisum arvense* L.) kromozom sayısının tespiti ve karyotip analizi.A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 259, Ankara.
- Elçi, Ş., 1982. Sitogenetikte gözlemler ve araştırma yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji:3, Elazığ.
- Elçi, Ş.,1996. Mitoz Kromozomlarının Tetkikinın Zor Olduğu Bazı Baklagil Bitkilerinde Kromozom sayımı ve Karyotip Analizi İçin Elverişli Bir Metot. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 282, Ankara.
- Fox, F.D., 1969. Some characteristics of The Cold Hydrolysis Technique For Staining Plant Tissues by the Feulgen Reaction. *J.Histo Cytochem*, 17,206.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1987. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- Gu, M.H., Ma, H.T and Liang, G.H. 1984. Karyotype analysis of seven species in the genus *Sorghum*. *The Journal of Heredity*, 75, 196-202.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1989. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1991. Index to plant chromosome numbers for 1988-1989. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1995. Index to plant chromosome numbers for 1992-1993. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1998. Index to plant chromosome numbers for 1994-1995. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson.1981. Index to plant chromosome numbers, Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. 1983. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. 1985. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson.1993. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden. *Montana State University, Bulletin* 627, pp. 93-96.
- Güloğlu, D. 2002. Bazı Fiğ Türlerinde (*Vicia sativa* L.) Karyotip Analizi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Hedge, I.C. 1970. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Univ. Pres, Edinburg. Vol.3: pp. 560-589

- Heneen, W.K., 1962. Karyotype studies in *Agropyron junseum*, *A.repens* and their spontaneous hybrids. *Hereditas*, 48: 471-502.
- Heywood, V.H., 1972. *Plant Taxonomy*. Edward Arnold Ltd. London. P: 48-52.
- Hill, H. D. and Myres W. M.1945. A schedule including cold treatment to facilitate somatic chromosome counts in certain forage grasses. *Stain Technology* 20, 89-92
- Kalbassi, M., H. Seyed., T. Reza 2008 .Karyotype Analysis in *Schizothorax zarudnyi* from Hamoon Lake. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 8:335-340.
- Lavania, U.C. and Lavania, S., 1983. Karyotype studies in Indian pulses. *Genet. Agr.*37, 299-308.
- Lavania, U.C. and Sharma, A.K. 1980. Giemsa C banding in *Lathyrus* L. *Bor. Gaz.* , 141 (2), 199-203.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A, 1964.Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
- Linne, C. 1753. *Species Plantarum* pp:750-751.
- Limaye, V.A. and Patil, V.P., 1989. Karyomorphological studies in the genus *Capsicum* Linn. *Cytologia*, 54, 455-463.
- Malik, C.P., Thomas, P.T., 1966. Karyotype studies in some *Lolium* and *Festuca* species. *Caryologia*, 19 (2): 167-196.
- Martin, E. 2003. Türkiye *Sideritis* L. (Lamiaceae) Türleri Üzerinde Karyolojik Bir Araştırma. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Magulaev, A. Yu. 1996. Chromosome numbers, distribution and some taxonomic problems of *Onobrychis* species of subgenus *Hymenobrychis* (Fabaceae) from northern caucasus. *Botaniche Skiizhurnal*, 80: 7, 55-59.
- Mercy, S.T., Kakar, S.N. and Chowdhury, J.B. 1974. Cytological studies in three species of genus *Cicer*. *Cytologia*, 39: 383-390.
- Morgan, W.G., Thomas, H. and Lewis, E.J. 1988. Cytogenetic studies of hybrids between *Festuca gigantea* Vill. and *Lolium multiflorum* Lam. *Plant Breeding* 101, 335-343.
- Moore, D. M., 1968. *The Karyotype in Taxonomy 'Modern Methods in Plant Taxonomy'* Academic Press., London, p. 58-75.
- Nazırdeh, A., Zarifi E., Mokhtarzadeh, S., Er, C. 2009. *Artemisia* cinsinin iki türünün (*Artemisia Fragrans* Willd., *A. Absinthium* L.) karyolojik incelenmesi ve karyotip analizi. *Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* 15(1) 31-37
- Newton, M.E. 1985, Heterochromatin diversity in two species of *Pellia* (Hapiticae) a revealed by C-,Q-, N- and Hoechst 33258-banding. *Chromosome*, 92, 378-386.
- Nwankiti, O.C., 1985, Cytotaxonomic survey of some tropical ornamental species V. Karyotype of two species of the genus *Crinum* and a related genus *Hymenocallis*. *Cytologia*, 50, 797-803.
- Osalou, A. 2004. Doğu Anadolu Bölgesinden (Van, Ağrı, Hakkâri) Toplanan Bazı Yabani Haşhaşlarda Kromozom Sayılarının Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Rajhatty, T. and Thomas, H. 1974. Cytogenetics of oats (*Avena* L.), Canada, *Miscellaneous Publications of the genetic society of Canada* No.2.

- Sancak, C. 1994. Kamyşsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.) ve çok yıllık çim (*Lolium perene* L.)'nin doğal kısır melezinden poliploid bitkiler elde edilmesi. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara.
- Seijo G. and Fernandez A., 2003. Karyotype analysis and chromosome evolution in South American species of *Lathyrus*. American Journal of Botany 90(7), 980-987.
- Sevimay, C.S., 1986. Diploid çok yıllık çavdardan (*Secale montanum* Guss.) kolkisin etkisiyle tetraploid çavdarın elde edilmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Sharma, P.C. and Gupta P.K., 1982. Karyotype in Some Pulse Crops. The Nucleus, Vol 25 (3), 181-185.
- Stebbins, G.L., 1971 Chromosomal Evolution in Higher Plants, Edward Arnold Ltd., p. 85-89, London.
- Soya, H., Avcıoğlu, R., Geren, 1997. Yem Bitkileri, Hasad yayıncılık 223:5.
- Tan, X. , Jian G.Q., Chen B., Chen L., and Li, X. 2004. Karyological Analysis on redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture, 234;65-76.
- Thomas, H.M. and Pickering R.A., 1979. Barley X rye crosses the morphology and cytology of the hybrids and the amphidiploids. Z. Pflanzenzüchtg, 82, 193-200.
- Ünal, F. 1990. Kamyşsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.)'ta karyotip bir çalışma. J.Biol. Fac. Sci. Ars. Gazi Üniversitesi. 1, 1-14.
- Ünal, F., Wallace, A.J. and Callow, R.S., 1995. Diverse heterochromatin in *Lathyrus*. Caryologia. 48(1), 47-63.
- Ünal, F. ve Elçi, Ş., 1996. *Festuca arundinacea* Schreb. X *Lolium perenne* L. doğal melezinden amfidiploid elde etmede etkili bir yöntem. Tr. J. Of Botany, 20, 37-39.
- Verma, S.C., 1978. Proximal localization of constitutive heterochromatin in the Legume *Lathyrus tingitanus*. The nucleus, 21(2), 125-131.
- Vosa, C.G., 1974. The basic karyotype of rye (*Secale cereale*) analysed with Giemsa and Fluorescence methods. Heredity, 33, 403-408.
- Warmke, H.E. 1946. Precooling combined with chromosome acetic fixation in studies of somatic chromosomes in plants. Stain Technolgr 21: 87-89
- Yüzbaşıoğlu, D. 1996. Bazı Sternbergia Wadst.& Kit. Türlerinin Karyotip Analizi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Zarifi, I., 2004. Cytogenetical analysis of some species of saifoin genus (*Onobrychis* sp.) in East Azerbaijan province University of Tabriz, Yüksek Lisans Tezi, İran.
- Zeybek, N. ve Baltepe, Ş. 1968. Kawano Metoduna Göre Pektinaz ve Sellulaz Enzimleri Tatbik Ederek Orsein İle Ezme Preparatlar Hazırlanması, Türk Biyoloji Dergisi, Cilt 18, Sayı 1:35-37.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Esra AKÇELİK

Doğum Yeri : Keçiören/ANKARA

Doğum Tarihi : 18/02/1984

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Fatih Sultan Mehmet Lisesi Yabancı Dil Ağırlıklı Bölümü
(1998-2002)

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi (2002-2006)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü (2006-2009)